

三聚氰胺磁性印迹固相萃取材料的制备及其应用

刘玉楠^{a,b} 张朝晖^{a,b,c,*} 陈星^a 陈红军^a 饶维^a 蔡蓉^a

(^a吉首大学林产化工重点实验室 张家界 427000; ^b吉首大学化学化工学院 吉首 416000;

^c湖南大学化学生物传感与计量国家重点实验室 长沙 410082)

摘要 采用磁性氧化石墨烯(GO)为载体,三聚氰胺(MEL)为模板分子,甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂,制备了新型三聚氰胺磁性印迹聚合物。采用扫描电子显微镜(SEM)、透射电子显微(TEM)、差热分析(TG)和样品振动磁强计(VSM)对该磁性印迹聚合物进行表征和分析,结果表明,在氧化石墨烯表面成功制备磁性印迹聚合物。结合高效液相色谱分析技术对该印迹聚合物的吸附性能进行检测,结果表明,该磁性印迹聚合物对三聚氰胺表现出特异性吸附性能,最大吸附容量为33.11 mg/g;相对于环丙氨嗪和三聚氰酸,三聚氰胺的选择因子(β)分别是2.43和2.84。结合磁固相萃取与液相色谱检测技术,实现了牛奶样品溶液中三聚氰胺的分离、富集和检测。

关键词 印迹聚合物,三聚氰胺,磁性氧化石墨烯,磁固相萃取技术,高效液相色谱

中图分类号:O657

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2013)10-1222-09

DOI:10.3724/SP.J.1095.2013.30018

三聚氰胺(MEL)是一种白色的氮杂环有机化合物,广泛用于生产 MEL-甲醛树脂,它是制造表面涂料、层压板、粘合剂和火焰阻燃剂的必要成份^[1]。由于 MEL 的高含氮量(66.7%),将其添加至乳制品中,可提高其蛋白的虚假含量。MEL 进入人体后水解产生三聚氰酸,并与三聚氰酸结合成溶解度低的网状结构氰酸化物,危害身体健康,若婴幼儿摄入了添加 MEL 的乳制品,会增加肾功能衰竭的发生率^[2-4]。目前,国内外检测食品及饲料中三聚氰胺含量通常采用液相色谱法、气相色谱-质谱法、液相色谱-质谱法和毛细管电泳-质谱法等方法^[5-6]。但是这些方法在检测前均需要对样品进行复杂的预处理。由于样品成分复杂,目标物含量低,给色谱分离带来困难,严重影响检测速度和结果;而质谱联用仪成本较高。故需研制一种能高效地、特异地从复杂环境中分离和富集 MEL 的萃取材料,简化样品前处理过程,降低检测成本。

自 1972 年 Wulff 研究小组^[7]首次成功制备出分子印迹聚合物(MIP)以来,MIP 因其对目标分子具有特异吸附能力,已广泛应用于色谱固定相、固相萃取、传感器、膜分离和酶催化等领域^[8-11]。而固相萃取技术(SPE)由于其设备简单、节省溶剂和容易实现自动化操作等优点,已在样品前处理中广泛应用。将磁性纳米材料与固相萃取技术结合发展成磁性印迹固相萃取技术,相对于传统固相萃取技术,磁性印迹颗粒能够快速分离,且萃取过程中无需装柱,简化了实验操作,缩短了实验周期。石墨烯(Graphene)因其较大的比表面积、良好的结构稳定性和耐酸耐碱性等特点被广泛关注。氧化石墨烯(GO)又被称为功能化石墨烯,是石墨烯重要的派生物之一,具有较高的机械强度,电子迁移率和较大的比表面积,适合作为载体运用于表面印迹聚合物。磁性石墨烯复合材料的研究已有文献^[12-13]报道,但是这类磁性复合材料在使用过程中磁性粒子容易脱落,影响磁性复合材料的磁性能。本文将 GO 与 Fe₃O₄相结合后,再包覆一层二氧化硅壳层,可有效防止因磁性粒子脱落而造成聚合物的磁性减弱或丢失,使制备出的聚合物磁性能稳定。近年来,国内外已有成功制备三聚氰胺印迹聚合物的研究报道,多采用本体聚合法和沉淀聚合制备三聚氰胺印迹聚合物^[14-16]。

本文首先制备出包覆二氧化硅壳层的磁性氧化石墨烯(Fe₃O₄-GO@SiO₂),然后以甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂,在 Fe₃O₄-GO@SiO₂表面包覆 MEL 印

迹壳层。采用扫描电子显微镜、透射电子显微镜、热重 (TG) 和样品振动磁强计 (VSM) 对磁性印迹聚合物进行了表征和分析。以该磁性材料为萃取材料,结合液相色谱分析技术,建立磁性印迹固相萃取技术,并成功用于牛奶样品中 MEL 的分离与检测。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

正硅酸乙酯 (TEOS)、甲基丙烯酸 (MAA) 和乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EGDMA) 均购自 Sigma 公司;偶氮二异丁腈 (AIBN) 购自长沙化学试剂公司;三聚氰胺 (MEL)、环丙氨嗪 (CYR) 和三聚氰酸 (CYA) 均购自杭州大自然化工实业有限公司。除特殊说明外,其它试剂均为分析纯,实验用水均为二次蒸馏水。

LC-2010AHT 型高效液相色谱仪 (日本岛津公司);IRAffinis-1 型傅里叶变换红外光谱仪 (日本岛津公司);台式高速离心机 (北京医用离心机厂);FEI Quanta 200F 型扫描电子显微镜 (美国 FEI 公司);HF-3300 型场发射型透射式电子显微镜 (日本);DZF-6020 型真空干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司);WCT-2C 型微机差热天平 (北京光学仪器厂);NOVA 2000e 型比表面积分析仪 (美国康塔)。

1.2 印迹聚合物的制备

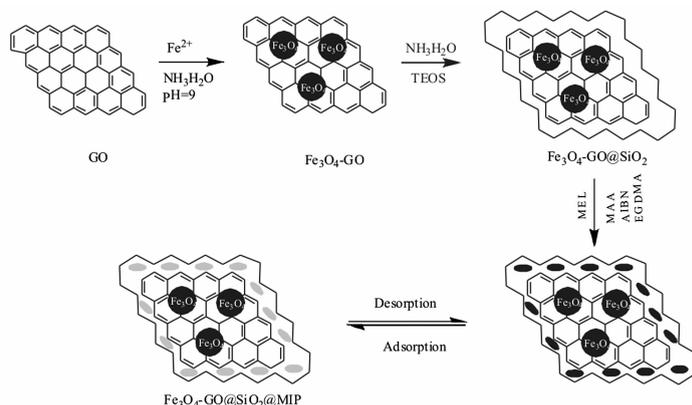
1.2.1 氧化石墨烯的制备 采用改进的 Hummers 法制备氧化石墨烯:将 1.0 g 石墨和 1.2 g 硝酸钾充分研磨,使之混合均匀。然后向混合物中加入 46 mL 浓硫酸,在冰水浴控制温度 4 °C 缓慢搅拌,继续缓慢加入 6 g 高锰酸钾。高锰酸钾加完后移去冰水浴,将温度控制在 35 °C 保温 1 h,然后缓慢加入 90 mL 水,使温度上升至 98 °C 左右,保温 30 min,再向其中加入 200 mL 去离子水。接着向该溶液中缓慢滴加 6 mL 30% H_2O_2 溶液,当溶液变成亮黄色即反应完成。抽滤,产物先用去离子水洗涤,再在烘箱中干燥 36 h,得到块状固体产物,稍加研磨即可得到氧化石墨烯粉末,备用。

1.2.2 Fe_3O_4 -GO 的合成 取 10 mg 氧化石墨烯加至 50 mL H_2O 中,用 1.5 mol/L $\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$ 调整溶液 pH=9,通 N_2 气 1 min,备用。取 100 mg $\text{FeCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 溶于 5 mL 水中,超声 1 min 后的 Fe^{2+} 溶液加入氧化石墨烯溶液中,通 N_2 气保护,并调整溶液 pH=9,温度控制在 80 °C 反应 1 h。

1.2.3 Fe_3O_4 -GO@ SiO_2 的制备 取 0.8 g Fe_3O_4 -GO 分散于 300 mL 乙醇中,冰水浴下搅拌 15 min。然后依次加入 24.0 mL 氨水和 1.6 mL 正硅酸乙酯,在冰水浴下搅拌 12 h。产物在外加磁场下分离,然后用乙醇洗涤至中性,干燥、备用。

1.2.4 Fe_3O_4 -GO@ SiO_2 @MIP 的制备 氧化石墨烯磁性印迹固相萃取材料的制备过程如 Scheme 1 所示。先取 0.2 g Fe_3O_4 -GO@ SiO_2 超声分散于 100 mL 乙醇中,然后加入 35 mg MEL、97 μL MAA、355 μL EGDMA 和 20 mg AIBN,60 °C 下搅拌反应 12 h。磁性分离,产物分别用乙醇和水洗涤至中性。最后采用甲醇/乙酸混合溶液 (体积比 9:1) 洗脱模板分子,直到洗脱液中检测不到 MEL 为止,干燥、备用。

磁性非印迹聚合物 (Fe_3O_4 -GO@ SiO_2 @NIP) 的制备与 Fe_3O_4 -GO@ SiO_2 @MIP 的制备过程完全一致,只是在制备过程中不加入模板分子 MEL。



Scheme 1 Preparation procedure of magnetic melamine imprinted polymers

1.3 静态平衡吸附实验

准确称取一系列印迹聚合物($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$)和非印迹聚合物($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}$)各20 mg,分别置于吸附管中,各加入10 mL浓度为10~200 mg/L的MEL溶液,室温静止吸附1 h,吸附饱和后在外加磁场作用下分离,取上清液用高效液相色谱测定平衡液中MEL浓度。

液相色谱检测条件:检测波长 $\lambda = 240\text{ nm}$,流动相为离子缓冲液与乙腈混合溶液(体积比9:1),流速为1.0 mL/min,柱温为30 °C,进样量为10 μL ,离子缓冲液由10 mmol/L 辛酸磺酸钠和10 mmol/L 柠檬酸($\text{pH} = 3.0$)配制而成。

1.4 选择性吸附实验

分别取20 mg 聚合物 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}$,加入10 mL浓度均为10 mg/L的MEL和竞争吸附物(CYR、CYA)溶液,室温静止吸附1 h。吸附饱和后在外磁场作用下分离,取上清液用高效液相色谱测定平衡时MEL和竞争吸附物的浓度。通过初始浓度和吸附平衡浓度的差与初始浓度的比值,计算聚合物对各种物质的吸附量。

1.5 磁性萃取实验

准确称取50 mg 印迹聚合物($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$),置于吸附管中,加入20 mL加标牛奶样品提取液。室温静止吸附1 h后,吸附饱和后 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 在外磁场作用下分离,弃去溶液, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 先用5.0 mL乙醇洗涤,再用5.0 mL甲醇与乙酸混合溶液(体积比9:1)洗脱,磁性分离,采用高效液相色谱分析洗脱液中的MEL。

2 结果与讨论

2.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 的制备及表征

本文先利用改进的Hummers法制备氧化石墨烯,然后在碱性条件下将 Fe_3O_4 修饰在氧化石墨烯表面制备出磁性氧化石墨烯,再采用溶胶-凝胶法在磁性氧化石墨烯表面包覆一层 SiO_2 。最后以MAA为功能单体,EGDMA为交联剂,AIBN为引发剂,在 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2$ 表面接枝MEL印迹壳层,制备出印迹聚合物 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 。通过改变TEOS和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ 的比例,可以调节 SiO_2 层的厚度。研究表

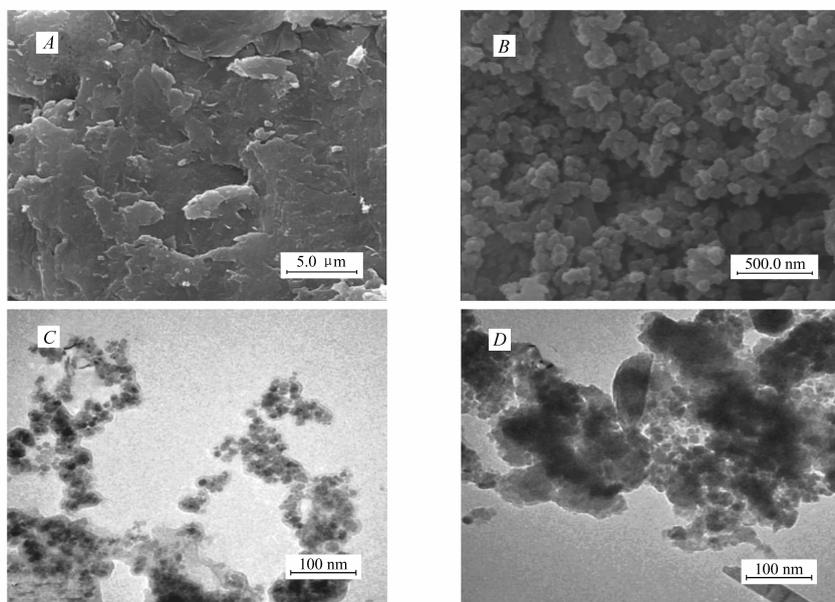


图1 GO(A)与 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ (B)的扫描电子显微镜照片和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2$ (C)与 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ (D)的透射电子显微镜照片

Fig. 1 SEM images of GO(A) and $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ (B); TEM images of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2$ (C) and $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ (D)

明,当 $V(\text{TEOS}):V(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}) = 2:1$ 时,所制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 的 SiO_2 层厚度刚好,既不会太薄影响印迹聚合物的稳定性,也不会太厚影响磁性强度。分别采用扫描电子显微镜和透射电子显微镜对其形貌进行表征,结果如图 1 所示。图 1A 为采用改进的 Hummers 法制备的氧化石墨烯扫描电子显微镜照片,从其可以观察到该氧化石墨烯是薄层片状结构;图 1B 是 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ 的扫描电子显微镜照片,从其可清楚看到薄层片状结构上修饰了 Fe_3O_4 颗粒。图 1C 和 1D 分别是 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 的透射电子显微镜照片,从图 1C 中可清晰地观察到磁性 GO 外包覆了 SiO_2 壳层,从图 1D 可以看到壳层明显加厚,即在 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 表面包覆 MIP 层。

为了进一步探讨氧化石墨烯表面修饰印迹层后的比表面积变化情况,采用 N_2 吸附法对各氧化石墨烯复合材料的比表面积进行了表征。结果表明, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 的比表面积分别为 116.3、133.4 和 137.1 m^2/g 。这表明磁性氧化石墨烯表面包覆二氧化硅后,其比表面积并没有减小,而是稍有增大。这是因为二氧化硅层也是一层多孔的材料,可以进一步增加该复合材料的比表面积,所以 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 具有较大的比表面积,更有利于该印迹复合材料的吸附能力。

采用红外光谱技术对氧化石墨烯表面印迹复合材料制备过程中每一步产品的化学结构进行表征,结果如图 2 所示。图 2 谱线 a 中, 1732 cm^{-1} 为 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动峰,这是 GO 的特征峰^[14]。图 2 谱线 b, 581 cm^{-1} 为 $\text{Fe}-\text{O}$ 的伸缩振动峰,这表明 Fe_3O_4 纳米粒子成功覆盖在 GO 表面。图 2 谱线 c 中, 945 与 1080 cm^{-1} 分别是 $\text{Si}-\text{OH}$ 与 $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$ 的伸缩振动峰,这表明 SiO_2 成功包覆在 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ 表面。图 2 谱线 d 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 的红外光谱图, 2966 cm^{-1} 是酰胺中的 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动吸收峰; 1080 与 945 cm^{-1} 处的吸收峰明显减弱,这是由于 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 表面包覆了印迹壳层。

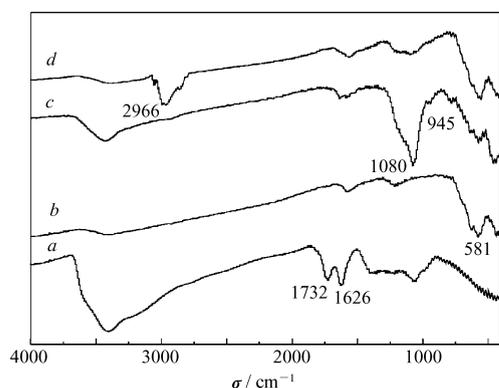


图 2 GO(a)、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ (b)、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ (c) 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ (d) 的红外光谱曲线

Fig. 2 IR spectra of GO(a), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ (b), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ (c) and $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ (d)

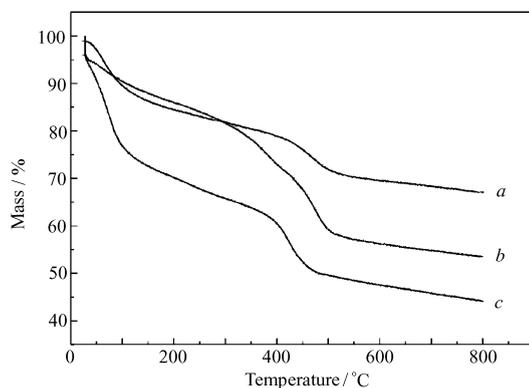


图 3 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ (a)、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ (b) 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ (c) 的热重分析曲线

Fig. 3 TG curves of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ (a), $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ (b) and $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ (c)

图 3 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 在 $80 \text{ }^\circ\text{C}$ 下干燥 12 h 后的 TG 曲线,升温速率为 $10 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 。由图 3 可知, TG 曲线可分为 4 个阶段:一是从室温至 $130 \text{ }^\circ\text{C}$, 此阶段的失重主要是水与溶剂的蒸发引起的;二是从 $130 \sim 350 \text{ }^\circ\text{C}$, 此阶段曲线呈持平状,表明 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 在 $120 \sim 350 \text{ }^\circ\text{C}$ 之间很稳定;三是从 $350 \sim 500 \text{ }^\circ\text{C}$, 此阶段失重主要是有机物的燃烧引起的;四是从 $500 \sim 800 \text{ }^\circ\text{C}$, 此阶段失重减缓,趋于稳定。同时,图 3 谱线 b 比图 3 谱线 a 在第三阶段的失重率增大了 5.81%,这是因为在 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}$ 外修饰的 SiO_2 壳层受热分解所致;图 3 谱线 c 比图 3 谱线 b 的失重率再次增大了 13.44%,这是修饰的印迹壳层受热分解所致。

2.2 磁性能

磁性能的高低是磁性材料在应用中能否快速分离的关键因素。为了探讨该印迹材料的磁性能,分别对 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 与 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 进行磁性能检测,结果如图 4 所示。 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$ 与 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 的饱和磁化强度分别为 54.33 和 42.44 $\text{A}\cdot\text{m}^2/\text{kg}$ 。 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2@ \text{MIP}$ 比 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO}@ \text{SiO}_2$

GO@SiO₂的磁强度略微减小,这是由于在Fe₃O₄-GO@SiO₂包覆的MIP层所致。图4插图展示了Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP的分散和磁性分离过程效果图。经过超声分散,黑色的磁性印迹聚合物均匀的分散在溶液中;当外部磁铁靠近瓶壁时,Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP迅速向磁铁所在方向移动,混合溶液变澄清,这表明制备的Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP具有良好磁性,适合于M-SPE分离应用。

2.3 吸附性能

为了探讨该印迹材料的吸附动力学行为,分别取20 mg Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP和Fe₃O₄-GO@SiO₂@NIP加入到10 mL 1.0 mg/L的MEL溶液中,探讨不同吸附时间印迹复合材料对MEL的吸附量。结果表明,前30 min内,Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP对MEL吸附速率比较快,60 min可以达到对MEL吸附饱和。尽管Fe₃O₄-GO@SiO₂@NIP对MEL也能在60 min达到吸附饱和,但其对MEL的吸附率要低很多。这一方面归因于印迹聚合物印迹壳层中存在大量有效结合位点,能够对模板分子产生特异性吸附作用;另一方面由于采用表面印迹技术,印迹壳层厚度较薄,结合位点均分布在印迹材料的表面,故有效结合位点对模板分子的结合速度比较快。

为了进一步研究该印迹材料的吸附容量,采用静态平衡吸附实验探讨Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP和Fe₃O₄-GO@SiO₂@NIP对MEL的吸附等温线,吸附容量由如下公式求^[17]得:

$$Q = (c_0 - c) \frac{V}{m}$$

式中, Q 为聚合物的吸附量(mg/g), c_0 和 c 分别为MEL溶液吸附前的浓度和吸附饱和后MEL的浓度(mg/L), V 为溶液的体积(mL), m 为聚合物质量(mg)。

如图5A所示,Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP对MEL的吸附量明显大于Fe₃O₄-GO@SiO₂@NIP,主要是由于印迹壳层内含有对模板分子具有特异吸附的结合位点,通过官能团与模板分子之间的氢键作用结合,增大了吸附容量。采用Langmuir吸附模型对静态吸附进行线性拟合^[18],拟合方程为:

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{Q_{\max}} + \frac{1}{bQ_{\max}c_e}$$

式中, q_e 为MEL的静态吸附量, Q_{\max} 为最大吸附量, c_e 为吸附平衡时MEL的浓度, b 为吸附平衡常数。以 $1/q_e$ 为Y轴, $1/c_e$ 为X轴作图,得拟合曲线图见5B。从图5B可以得出 $Q_{\max} = 33.11$ mg/g。

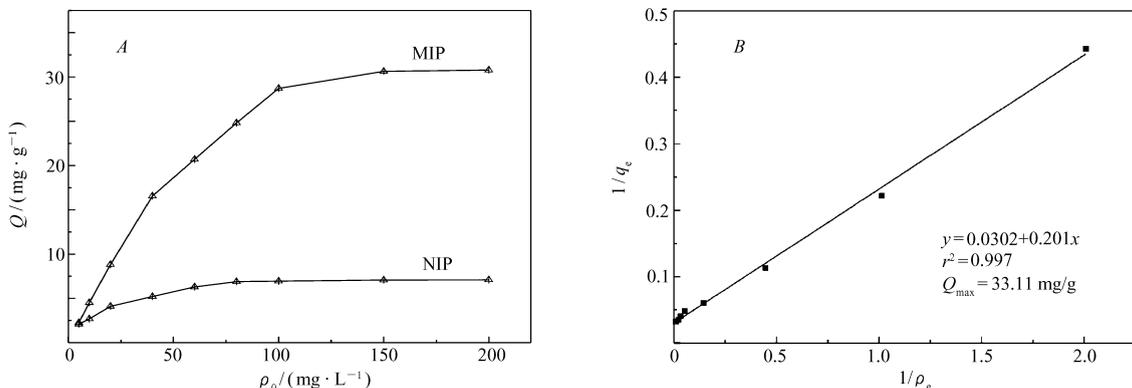


图5 Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP的吸附等温线(A)和Langmuir拟合曲线(B)

Fig. 5 Adsorption isotherms of Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP(A) and fitted Langmuir curve of Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP(B)

为了深入探讨该印迹复合材料的选择吸附性能,将Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP分别对MEL与CYR以

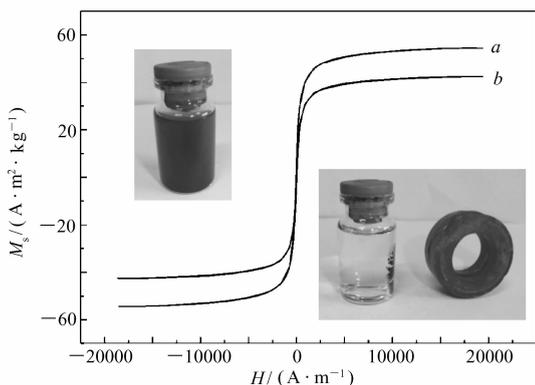


图4 Fe₃O₄-GO@SiO₂(a)与Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP(b)的磁滞回线

Fig. 4 Hysteresis loops of Fe₃O₄-GO@SiO₂(a) and Fe₃O₄-GO@SiO₂@MIP(b)

及 CYA 进行竞争吸附试验,结果如图 6 所示。 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 对 MEL 有较大吸附量,而对 CYR 和 CYA 的吸附量较小,这是由于在 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 的印迹壳层形成的有效结合位点对 MEL 存在印迹特异性吸附效应。

与 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 相比, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}$ 对 3 种物质的吸附量均很小,而且几乎没有选择性,这是因为 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}$ 没有形成有效的印迹识别位点。

为了深入探讨该印迹聚合物的印迹效果,采用印迹因子和选择因子对其进行分析。印迹因子(α)的计算公式如下^[19]:

$$\alpha = Q_A / Q_B$$

式中, Q_A 为印迹聚合物分别对模板分子(MEL)和竞争吸附分子(CYR、CYA)的吸附量, Q_B 为非印迹聚合物分别对模板分子(MEL)和竞争吸附分子(CYR、CYA)的吸附量。

选择因子(β)计算公式如下^[19]:

$$\beta = \alpha_1 / \alpha_2$$

式中, α_1 为模板分子(MEL)的印迹因子, α_2 为竞争吸附分子(CYR、CYA)的印迹因子。

计算结果如表 1 所示, MEL 的印迹因子(α)远远大于 CYR 和 CYA 的印迹因子(α);相对于 CYR 和 CYA, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 对 MEL 的选择因子(β)分别是 2.43 和 2.84。这表明 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 对模板分子 MEL 有较高的选择性,可用于分离 MEL、CYR 和 CYA 混合溶液。

表 1 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}$ 的印迹因子(α)和选择因子(β)

Table 1 Imprinting factor(α) and selectivity factor(β) of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ and $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}$

| Target | $Q_A(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP})/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ | $Q_B(\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP})/(\text{mg}\cdot\text{g}^{-1})$ | α | β |
|--------|---|---|----------|---------|
| MEL | 30.78 | 7.10 | 4.34 | - |
| CYR | 11.45 | 6.69 | 1.78 | 2.43 |
| CYA | 10.56 | 6.91 | 1.53 | 2.84 |

2.4 应用研究

取 2.0 g 牛奶样品于 10 mL 刻度离心管中,加入一定量的标准溶液,再加入 4.0 mL 40.0 g/L 氯化钠溶液和 0.1 mL 磷酸,混匀,以 4000 r/min 离心 10 min,将上层清液转入另一个 10 mL 离心管中,再加入 2.0 mL 40.0 g/L 氯化钠溶液,重复上述操作,合并上清液,得到牛奶样品提取液。

洗脱液一般采用极性较强的溶剂如甲醇等,而酸的存在能够破坏模板分子与功能单体之间的氢键作用,所以往往在溶剂中添加少量的酸以增强洗脱效果。称取 50 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$,置于吸附管中,加入 20 mL 加标牛奶样品提取液,室温静止吸附 1 h 后,吸附饱和后 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 在外磁场作用下分离,先用 5.0 mL 乙醇洗涤,再用 5.0 mL 不同比例的乙酸/甲醇混合液进行洗脱,考察不同体积分数的乙酸-甲醇洗脱液对 MEL 洗脱效果的影响,结果如表 2 所示。随着乙酸含量的增加,洗脱剂

表 2 采用不同百分比甲醇/乙酸洗脱液对 MEL 回收率的影响

Table 2 Recoveries of MEL after eluted with different percentage of acetic acid in methanol

| Recoveries | $V(\text{methanol}):V(\text{acetic acid})$ | | | |
|--|--|-------|---------|-------|
| | 9.5:0.5 | 9:1 | 8.5:1.5 | 8:2 |
| $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}(\%)$ | 76.34 | 81.44 | 75.87 | 63.81 |
| $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}(\%)$ | 35.14 | 37.99 | 34.83 | 31.46 |

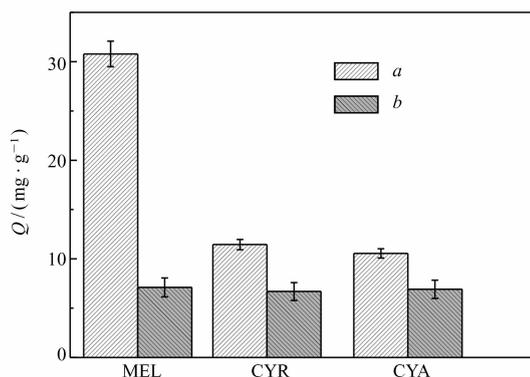


图 6 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}$ 对 MEL 以及其结构类似物的选择吸附性能
Fig. 6 Selective adsorption of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ (a) and $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@NIP}$ (b) toward MEL and its structural similar materials

的极性不断增大, MEL 的回收率迅速增大, 但当乙酸的体积比超过 10% 时, MEL 的回收率却逐渐变小。因此, 采用甲醇与乙酸(体积比 9:1)混合溶液作为洗脱液时, $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 洗脱液中 MEL 回收率最高, 洗脱效果好。

由于 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 具有足够的磁性, 适合于 M-SPE 分离体系, 将 M-SPE 和高效液相色谱检测技术相结合, 对牛奶样品液中 MEL 的分离富集性能进行研究。图 7A 是加标后的牛奶溶液色谱图, 当加标后的牛奶先用 5.0 mL 乙醇洗涤, 再用 5.0 mL 甲醇与乙酸混合溶液(体积比 9:1)对该磁性印迹聚合物进行洗脱, 洗脱液的高效液相色谱如图 7B 所示, 其它的杂质峰明显减少, MEL 的色谱峰明显增高。这表明采用此印迹聚合物可以实现对样品溶液中 MEL 的分离、富集检测。

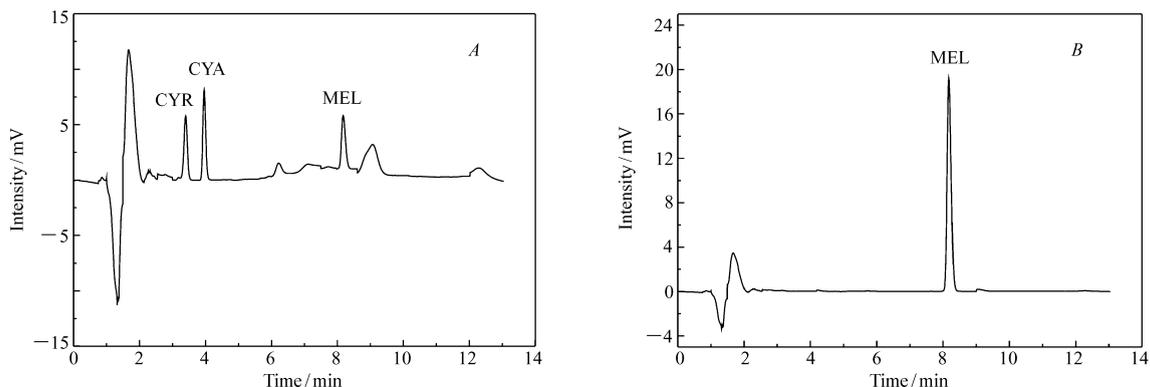


图 7 MEL 的检测色谱

Fig. 7 Chromatograms of MEL detection

A. sample solution of milk; B. solution after imprinted separation and enrichment

选择加标后不同浓度的 MEL 牛奶样品液为探讨对象, 进一步验证 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 用于牛奶样品中 MEL 分离的实用性。准确称取 50 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 置于吸附管中, 加入 20.0 mL 不同浓度的加标牛奶样品提取液, 室温静止吸附 1 h 后, 吸附饱和后 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 在外磁场作用下分离, 先用 5.0 mL 乙醇洗涤, 再用 5.0 mL 甲醇与乙酸混合溶液(体积比 9:1)洗脱, 收集洗脱液, 结合高效液相色谱技术检测洗脱液中 MEL 的含量, 计算回收率, 结果如表 3 所示。回收率为 88.9% ~ 91.8%, 相对标准偏差(RSD)小于 4.5%, 这表明 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 能够有效用于牛奶样品中 MEL 的分离富集。

表 3 牛奶样品中 MEL 的加标回收率

Table 3 Recoveries of MEL in sample solution of milk

| Sample content | Spiked level/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) | Recoveries/% | RSD/% ($n=3$) |
|----------------|--|--------------|-----------------|
| MEL | 10 | 88.9 | 3.5 |
| | 20 | 90.7 | 4.2 |
| | 40 | 91.8 | 3.4 |
| | 60 | 91.1 | 4.5 |

3 结论

采用表面印迹技术在磁性氧化石墨烯表面成功制备出了对三聚氰胺具有选择性吸附的磁性印迹固相萃取材料。磁性能检测表明, 该磁性印迹固相萃取材料具有良好磁性, 适合用于 M-SPE 分离体系。通过 N_2 吸附法测定印迹聚合物的比表面积为 $137.1 \text{ m}^2/\text{g}$, 较大的比表面积使该磁性印迹固相萃取材料对模板分子具有更大的吸附容量。吸附实验结果表明, 制备的磁性 MEL 印迹聚合物印迹壳层中存在大量有效结合位点, 能够对 MEL 产生印迹吸附作用, 且能够快速达到吸附平衡。将印迹固相萃取分离富集技术与高效液相色谱技术相结合, 该 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ 成功用于牛奶中痕量 MEL 的富集和检测。该技术为复杂环境中 MEL 的富集和测定提供了新的方法。

参 考 文 献

- [1] Sugita T, Ishiwata H, Yoshihira K. Release of Formaldehyde and Melamine from Tableware Made of Melamine-formaldehyde Resin[J]. *Food Addit Contam*, 1990, **7**:21-27.
- [2] Wu Y T, Huang C M, Lin C C, et al. Determination of Melamine in Rat Plasma, Liver, Kidney, Spleen, Bladder and Brain by Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2009, **1216**:7595-7601.
- [3] Wu Y N, Zhao Y F, Li J G. A Survey on Occurrence of Melamine and Its Analogues in Tainted Infant Formula in China [J]. *Biomed Environ Sci*, 2009, **22**(2):95-99.
- [4] Chang H, Shi X F, Shen W, et al. Characterization of Melamine-associated Urinary Stones in Children with Consumption of Melamine-contaminated Infant Formula[J]. *Clin Chim Acta*, 2012, **413**(11/12):985-991.
- [5] Mohd M S, Hana H A, Wan A W I, et al. Dispersive Liquid-liquid Microextraction Method Based on Solidification of Floating Organic Droplet for the Determination of Triazine Herbicides in Water and Sugarcane Samples[J]. *Food Chem*, 2012, **133**(2):557-562.
- [6] Song X Y, Shi Y P, Chen J. Carbon Nanotubes-reinforced Hollow Fibre Solid-phase Microextraction Coupled with High Performance Liquid Chromatography for the Determination of Carbamate Pesticides in Apples [J]. *Food Chem*, 2013, **139**(1/4):246-252.
- [7] Wullf G, Sarhan A. Use of Polymer with Enzyme-analogous Structures for Theresolution of Racemates[J]. *Angew Chem Int Ed Eng*, 1972, **11**(4):341-344.
- [8] WANG Jun, LV Tian, ZHAO Meiping, et al. Recognition Performance of Phthalic Acid-Cu(Ac)₂ Molecular Imprinting Polymers[J]. *Chem J Chinese Univ*, 2006, **27**(8):1566-1569 (in Chinese).
王俊, 吕恬, 赵美萍, 等. 邻苯二甲酸-乙酸铜分子印迹聚合物识别性能的研究[J]. 高等学校化学学报, 2006, **27**(8):1566-1569.
- [9] ZHANG Maosheng, HUANG Jiarong, ZHENG Xianghua, et al. Preparation and Selective Permeation Characterization of Molecularly Imprinted Membranes with Malachite Green as Template[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2010, **27**(1):107-111 (in Chinese).
张茂升, 黄佳蓉, 郑向华, 等. 孔雀石绿分子印迹膜的制备和渗透性[J]. 应用化学, 2010, **27**(1):107-111.
- [10] HUANG Dandan, LI Li, YIN Yongguan, et al. Synthesis of Molecularly Imprinted Polymers for the Application of Selective Clean-up Vinblastine from Catharanthus Roseus Extract[J]. *Sci China: Ser B*, 2010, **40**(6):794-800 (in Chinese).
黄丹丹, 李莉, 殷勇冠, 等. 分子印迹聚合物选择性富集长春碱的研究[J]. 中国科学: B 辑, 2010, **40**(6):794-800.
- [11] LI Lili, ZHOU Wenhui, LI Yong, et al. Synthesis of Domoic Acid Imprinted Polymer and Its Extraction Application[J]. *Chinese J Appl Chem*, 2010, **27**(2):132-136 (in Chinese).
李丽丽, 周文辉, 李永, 等. 软骨藻酸分子印迹聚合物的制备及其固相萃取应用[J]. 应用化学, 2010, **27**(2):132-136.
- [12] Ying L, Xin L, Dong C K, et al. Synthesis of Core-shell Magnetic Molecular Imprinted Polymer by the Surface RAFT Polymerization for the Fast and Selective Removal of Endocrine Disrupting Chemicals from Aqueous Solutions[J]. *Environ Pollut*, 2010, **158**:2317-2323.
- [13] Ying L, Xin L, Dong C K, et al. A Graphene Oxide-based Molecularly Imprinted Polymer Platform for Detecting Endocrine Disrupting Chemicals[J]. *Carbon*, 2010, **48**:3427-3433.
- [14] Zhang Y, Liu R J, Hu Y L, et al. Microwave Heating in Preparation of Magnetic Molecularly Imprinted Polymer Beads for Trace Triazines Analysis in Complicated Samples[J]. *Anal Chem*, 2009, **81**:967-976.
- [15] ZHOU Wenhui, LIN Liming, GUO Xiuchun, et al. Synthesis of Melamine Molecularly Imprinted Polymer and Separation of Melamine in Milk Products[J]. *J Instrum Anal*, 2009, **28**(6):687-691 (in Chinese).
周文辉, 林黎明, 郭秀春, 等. 三聚氰胺分子印迹聚合物的制备及奶制品中三聚氰胺的分离[J]. 分析测试学报, 2009, **28**(6):687-691.
- [16] YANG Weihai, YAN Shoulei, WEI Chen, et al. Preparation of Melamine Molecularly Imprinted Polymer Microspheres by Precipitation Polymerization[J]. *Acta Polym Sin*, 2010, **10**:1163-1169 (in Chinese).
杨卫海, 严守雷, 卫晨, 等. 沉淀聚合法制备三聚氰胺分子印迹聚合物微球[J]. 高分子学报, 2010, **10**:1163-1169.
- [17] Zhang Z H, Zhang M L, Liu Y N, et al. Preparation of L-Phenylalanine Imprinted Polymer Based on Monodisperse Hybrid Silica Microsphere and Its Application on Chiral Separation of Phenylalanine Racemates as HPLC Stationary Phase[J]. *Sep Purif Technol*, 2012, **87**:142-148.
- [18] Li Z, Di P, Li D, et al. Mixed Hemimicelles SPE Based on CTAB-Coated Fe₃O₄/SiO₂ NPs for the Determination of Herbal Bioactive Constituents from Biological Samples[J]. *Talanta*, 2010, **80**:1873-1880.
- [19] Zhang W, Qin L, He X, et al. Molecularly Imprinted Polymer Prepared with Bonded β -Vyclodextrin and Acrylamide on

Functionalized Silicagel for Selective Recognition of Tryptophan in Aqueous Media[J]. *J Chromatogr A*, 2008, **1187**:94-102.

Preparation and Application of Melamine Magnetic Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction Material

LIU Yunan^{a,b}, ZHANG Zhaohui^{a,b,c*}, CHEN Xing^a, CHEN Hongjun^a, RAO Wei^a, CAI Rong^a

(^aKey Laboratory of Hunan Forest Products and Chemical Industry Engineering,

Jishou University, Zhangjiajie 427000, China;

^bCollege of Chemistry and Chemical Engineering, Jishou University, Jishou 416000, China;

^cState Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, Hunan University, Changsha 410082, China)

Abstract A novel melamine magnetic molecularly imprinted polymer($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$) was prepared based on graphene oxide(GO) using melamine(MEL) as the template molecule, methacrylic acid(MAA) as the functional monomer and ethylene glycol dimethacrylate(EGDMA) as the cross-linker. The $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ was characterized by scanning electron microscope(SEM), transmission electron microscope(TEM), thermogravimetric analysis(TGA) and vibrating sample magnetometer(VSM). The results showed that MEL imprinted layer was grafted on magnetic GO surface successfully. The adsorption properties were investigated by high performance liquid chromatography, and the results demonstrated that the $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ exhibited specific selectivity towards MEL. The maximum adsorption capacity of $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-GO@SiO}_2\text{@MIP}$ is 33.11 mg/g, and the selectivity factor of MEL towards CYR and CYA is 2.43 and 2.84, respectively. Combined with magnetic solid phase extraction(M-SPE) and high-performance liquid chromatography with the imprinted material as stationary phase, melamine from the sample solution of milk was successfully separated, enriched and detected.

Keywords imprinted polymer, melamine, magnetic graphene oxide, magnetic solid phase extraction, high-performance liquid chromatography