

基于分子印迹碳纳米管修饰电极快速测定水中抗生素

孙大明

(辽宁省大连水文局, 辽宁 大连 116023)

【摘要】 将表面分子印迹聚合物和碳纳米管有机结合起来,发展了氧氟沙星分子印迹碳纳米管修饰电极快速测定水体中的氧氟沙星。在最优条件下(pH值为4.0,富集时间为10min,富集电压为0~0.2V),循环伏安响应峰电流与氧氟沙星浓度成线性关系,线性范围为0.1~5 $\mu\text{mol/L}$,检出限($S/N=3$)为0.01 $\mu\text{mol/L}$ 。修饰电极具有良好的测量重现性和稳定性,用该方法测定自来水中添加的不同浓度的氧氟沙星,回收率为81.8%~110.8%,结果令人满意。

【关键词】 分子印迹;碳纳米管;电化学检测;抗生素

中图分类号:TV213.4

文献标志码:A

文章编号:2096-0131(2017)05-0032-05

Rapid determination of antibiotics in water by carbon nanotubes modified electrodes based on molecular imprinting

SUN Daming

(Liaoning Dalian Hydrology Bureau, Dalian 116023, China)

Abstract: Surface molecular imprinting polymer is organically combined with carbon nanotubes for redeveloping the technique of determining ofloxacin in water quickly by ofloxacin molecular imprinted carbon nanotube modified electrodes. Cyclic voltammetric response peak current has linear relationship with ofloxacin concentration under optimal conditions (pH value of 4.0, enrichment time of 10min and enrichment voltage of 0~0.2V). The linear scope is 0.1~5 $\mu\text{mol/L}$, the detection limit ($S/N=3$) is 0.01 $\mu\text{mol/L}$. Modified electrode has excellent measurement repeatability and stability. The method is applied for determining ofloxacin with different concentration added in tap water. The recovery rate is 81.8%~110.8%, and the result is satisfactory.

Key words: molecular imprinting; carbon nanotubes; electrochemical detection; antibiotics

1 引言

氟喹诺酮是一类重要的抗生素,广泛用于疾病治疗、水产养殖、饲料添加剂。除一部分能在生物体内吸收或者转化以代谢产物的形式排出体外,大部分以原型药物的形式进入环境,对人类健康和生态环境产生

巨大的危害。到目前为止氟喹诺酮类抗生素的检测方法主要有以下几种:高效液相色谱法^[1]、液相色谱-质谱联用法^[2]、荧光光谱法^[3]、毛细管电泳法^[4]等,但这些检测方法分析成本高,分析时间长,流动相消耗大且有毒性的居多,日常维护费用高,因此,发展快速、灵敏、选择性强的氟喹诺酮类抗生素检测方法非常重要。

分子印迹技术^[5]具有的三大特点:构效预定性、特异识别性和广泛实用性。基于该技术制备的分子印迹聚合物对被分离物或分析物具有高度的选择性,同时还具有良好的物理化学稳定性。碳纳米管具有大的比表面积、优良的电子传导特性^[5,6]。本文利用表面分子印迹技术,在碳纳米管表面制备了分子印迹聚合物,该聚合物保持了碳纳米管的优良电子特性和大比表面积,同时又具有分子印迹聚合物对模板分子的选择性识别特性。本文的研究将为环境水体中痕量氟喹诺酮类抗生素的检测提供一种快速、灵敏、选择性的方法,具有较好的实际应用价值。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

CHI 630D 电化学工作站(三电极系统:铂丝为对电极,饱和甘汞电极为参比电极[SCE],工作电极),pH 计。

多壁碳纳米管(MWCNTs),十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)(分析纯),氧氟沙星和原硅酸四乙酯(TEOS)均为色谱纯,铁氰化钾(分析纯),N,N-二甲基酰胺(分析纯),其他化学试剂除指明外,均为分析纯。实验用水均为电导率为 $18.25\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 的超纯水。

2.2 氧氟沙星分子印迹碳纳米管的制备

2.2.1 制备氧氟沙星分子印迹碳纳米管材料

称取 2mg 纯化的 MWNTs,20mg 的 CTAB,溶解在 2mL 去离子水中,将混合溶液超声 3h。取 0.5mL MWNTs 溶液于 10mL 小瓶子中,加入 10mmol/L 氧氟沙星水溶液 4mL,0.5mL 的 NaOH(0.01mol/L),超声 1min,然后在水浴中加热到 60℃,25min 后,向小瓶子中加入 25 μL 的 TEOS 的混合溶液($v/v = 1/4$),混合 0.5min,加热到 60℃保持约 12h(不搅拌)。将生成的聚合物用无水乙醇彻底清洗 10 次左右,以去除表面活性剂,最后用红外快速干燥,得到氧氟沙星分子印迹碳纳米管材料(MIPMWCNTs)。非印迹分子聚合物(NIPMWCNTs)除不加氧氟沙星外,其余按上述同样步骤制备。

2.2.2 模板分子的去除

每次用 30mL 甲醇-乙酸混合溶液($v/v = 9:1$)超声清洗制备的 MIPMWCNTs,离心后取上清液进行高效液相色谱分析,直到在上清液中检测不到氧氟沙星为止。在本实验中,清洗约 10 次可以将印迹聚合物纤维中的模板分子完全去除。把氧氟沙星分子印迹碳纳米管聚合物烘干,备用。

2.3 分子印迹碳纳米管修饰电极的制备

在抛光垫上倒上适量的 50nm 的三氧化二铝抛光粉悬浊液,然后在其上对玻碳电极进行打磨抛光处理,打磨后的电极清洗干净。

用 N,N-二甲基甲酰胺配制 1mg/mL 的 MWCNTs、MIPMWCNTs、NIPMWCNTs 溶液,超声 1h,使之充分的分散。用移液器取 6 μL 的 MIPMWCNTs 溶液滴加在处理好的玻碳电极上,在红外快速干燥箱内晾干,即得到了分子印迹碳纳米管修饰电极。用 NIPMWCNTs 按同样的步骤制备非印迹修饰电极。

2.4 自来水中氧氟沙星的测定

在实验室水龙头取一定体积的自来水,然后向其加入一定量不同浓度的氧氟沙星标准溶液和 10mmol/L(终浓度)的硫酸钠,得到不同浓度的氧氟沙星样品;用修饰电极在确定的最佳条件下进行检测不同浓度的样品溶液,根据峰电流计算其回收率。

3 结果与讨论

3.1 修饰电极的电化学表征

以 0.1mol/L 的 KCl + 10mmol/L 的 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 溶液为底液,分别用玻碳电极, MWCNTs、MIPMWCNTs、NIPMWCNTs 修饰电极为工作电极进行循环伏安分析,结果如图 1 所示。四种电极上均可以观察到很好的 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 可逆氧化/还原峰对。其中玻碳电极上峰电流最小,当用 MWCNTs 对玻碳电极进行修饰后,峰电流明显增加,这归功于碳纳米管的大比表面积和良好的电子传导特性。当使用 NIPMWCNTs、MIPMWCNTs 对玻碳电极修饰后,峰电流进一步增加,但 MIPMWCNTs 增加的更多。这表明

尽管在碳纳米管表面引入了非导电的无机硅分子印迹层,但由于印迹层很薄(纳米级),并不影响碳纳米管的导电性,并且,由于生成的无机硅印迹层为多孔结构,进一步增加电极的有效面积,使得峰电流显著增加。

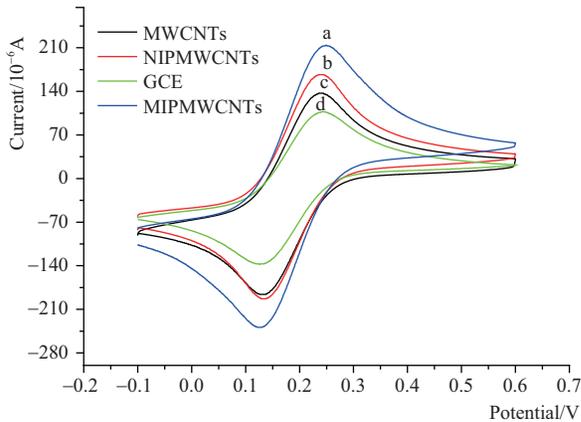


图1 10mmol/L的 $K_3Fe(CN)_6$ 在 GCE、MWCNTs、NIPMWCNTs、MIPMWCNTs 电极上的循环伏安曲线

3.2 氧氟沙星在不同电极上的电化学响应

以 $10\mu\text{mol/L}$ 的氧氟沙星为样品,考察其在玻碳电极、MWCNTs 修饰电极、NIMWCNTs 修饰电极和 MIMWCNTs 修饰电极上的电化学响应,如图 2 所示。从图 2 中可以看出,氧氟沙星在玻碳电极上的响应很小(曲线 a),基本观察不到明显的氧化峰,而在 MWCNTs 修饰电极上,氧氟沙星在 1.05V 出现明显的氧化峰(曲线 b),峰电流也明显增大,这是由于 MWCNTs 修饰后,增加了电极的有效面积和电极的电子传导特性。在 NIMWCNTs 修饰电极上,峰电流比在 MWCNTs 修饰电极上略有增加(曲线 c),这表明,尽管在碳纳米管表面引入非导电的无机硅聚合物层,但由于该聚合物很薄,并不影响电极的电子传导特性,峰电流略有增加可能是由于硅羟基同氧氟沙星的氢键相互作用,促进了氧氟沙星在电极上的反应。而在 MIMWCNTs 修饰电极上,获得的峰电流比其他三个电极都大,这是由于分子印迹碳纳米管对氧氟沙星具有富集作用,使得更多的氧氟沙星在修饰电极发生反应,产生更大的响应信号。

上述实验结果也表明,相对于 NIMWCNTs 修饰电

极,MIMWCNTs 修饰电极可实现氧氟沙星的选择性检测。

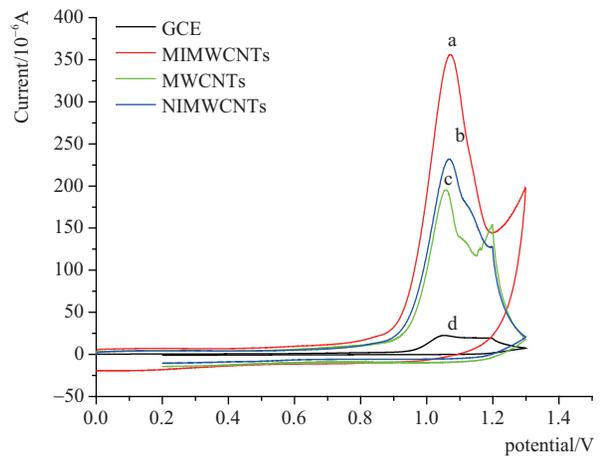


图2 $10\mu\text{mol/L}$ 的氧氟沙星在玻碳电极、MWCNTs 修饰电极、NIMWCNTs 修饰电极和 MIMWCNTs 修饰电极的循环伏安曲线

3.3 电化学检测条件优化

3.3.1 pH 值的影响

溶液 pH 值影响氧氟沙星的解离,这可能影响到氧氟沙星在修饰电极上的反应。因此,本实验考察了 pH 值对氧氟沙星信号的影响。实验采用 20mM 的磷酸二氢钠缓冲溶液,调节溶液到不同的 pH 值(2,3,4,5,6,7,8,9,10),分别向其中加入了 $10\mu\text{mol/L}$ 的氧氟沙星进行循环伏安检测,以氧化峰电流对 pH 值作图,结果如图 3 所示。由图 3 可知,当溶液的 pH 值从 2 增加 4 时,氧氟沙星的峰电流迅速增加并达到最大值,当进一步增加溶液 pH 值时,峰电流又开始下降。因此,在后面的实验中,固定溶液的 pH 值为 4.0。

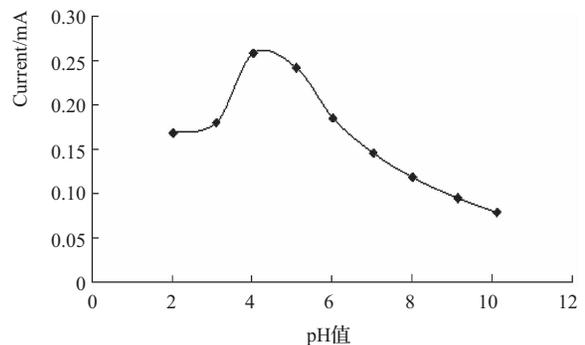


图3 pH 值对响应电流的影响

3.3.2 富集时间的影响

制备的分子印迹碳纳米管材料对模板分子具有特异性识别作用,因此,在进行电化学检测时,将修饰电极置于样品溶液中时,模板分子会吸附在修饰电极上,即对模板分子具有一定的富集作用。本实验考察了富集时间对检测电流的影响。以 $10\mu\text{mol/L}$ 的氧氟沙星为样品,在搅拌情况下分别富集 0.5min, 1.0min, 3.0min, 5.0min, 10min, 15min, 20min, 30min, 40min, 50min, 60min, 然后进行循环伏安检测,再以峰电流对富集时间作图,结果如图 4 所示。从图 4 中可以看出,在 0~10min,随着时间的增加,峰电流迅速增加,并在 10min 达到最大值,进一步增加富集时间,峰电流保持不变。这个结果表明,以分子印迹碳纳米管材料制备的修饰电极确实可以对模板分子具有富集作用,从而增加检测灵敏度,并且修饰电极在 10min 就可以达到饱和吸附。快速的吸附饱和归功于碳纳米管表面的无机硅分子印迹层仅为纳米级,模板分子在印迹层中传质速度很快。因此,在以后的实验中,固定富集时间为 10min。

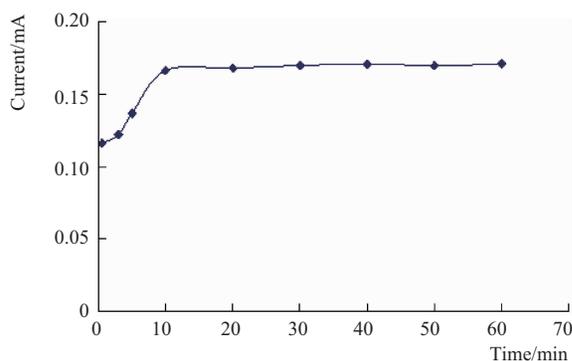


图 4 富集时间对响应电流的影响 ($\text{pH} = 4.0$)

3.3.3 富集电压的影响

考察了富集电压对峰电流的影响。以 $10\mu\text{mol/L}$ 的氧氟沙星溶液为样品,固定溶液的 pH 值为 4.0,分别在 -0.2V , 0V , 0.1V , 0.2V , 0.3V , 0.5V (相对 SCE) 富集时间为 10min, 然后进行循环伏安检测,以测得的峰电流对富集电压作图,结果如图 5 所示。由图 5 可知,使用负电压时获得峰电流最小,而在 $0 \sim 0.5\text{V}$ 范围内,氧氟沙星的峰电流基本保持不变。因此,在进行富

集时,选择进行开路富集,即在零电位情况下进行富集。

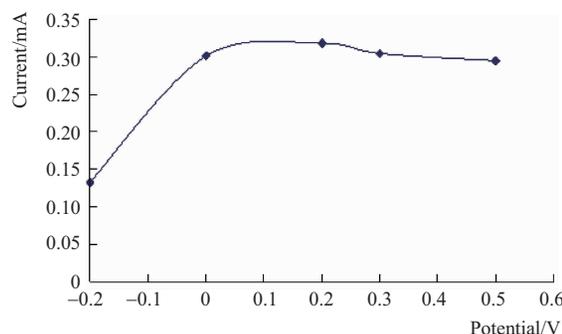


图 5 富集电压对响应电流的影响
($\text{pH} = 4.0$, 富集时间 $t = 10\text{min}$)

3.4 线性范围及检测限

在最佳的检测条件下,利用 MIMWCNTs 修饰电极对不同浓度的氧氟沙星 ($0.1\mu\text{mol/L}$, $0.5\mu\text{mol/L}$, $1\mu\text{mol/L}$, $2\mu\text{mol/L}$, $3\mu\text{mol/L}$, $4\mu\text{mol/L}$, $5\mu\text{mol/L}$) 进行循环伏安检测,以峰电流对浓度作图,结果如图 6 所示。从图 6 中可以看到,在选定的范围内,峰电流随氧氟沙星浓度增加,呈良好的线性关系,线性方程 $i = 0.3618c + 1.1409$ ($R = 0.9993$),最低检测限为 $0.01\mu\text{mol/L}$ 。实验观察到当氧氟沙星的浓度超过 $5\mu\text{mol/L}$ 时,峰电流-浓度响应曲线偏离线性,而且随浓度的增加,偏离线性越严重,这是由于修饰电极对氧氟沙星的吸附容量有限,当修饰电极达到饱和吸附后,继续增加氧氟沙星浓度,在电极上的吸附量不能进一步增加。

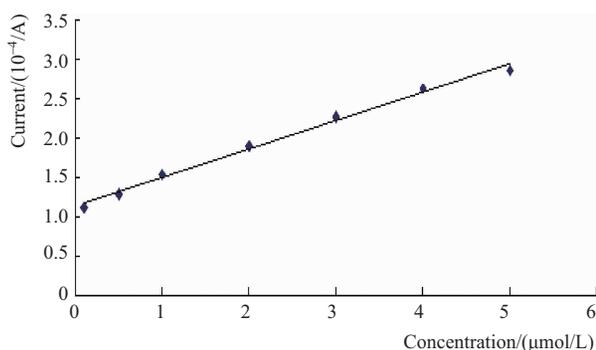


图 6 MIMWCNTs 修饰电极对 $0.1 \sim 5\mu\text{mol/L}$ 浓度氧氟沙星响应电流的拟合曲线

3.5 重现性和稳定性

在电化学检测中,电极的稳定性和测量重现性是非常重要的参数,本实验以 $10\mu\text{mol/L}$ 的氧氟沙星为测试样品,考察了 MIMWCNTs 修饰电极的重现性和稳定性。从表 1 中可以看出,连续 6 次重复测定,相对标准偏差(RSD)为 8.3%,5 天内重复测定相对标准偏差(RSD)为 4.4%。以上结果表明,本方法制备的修饰电极在检测氧氟沙星时的重复性良好,并且电极稳定,可反复使用。

表 1 MIMWCNTs 修饰电极的重现性和稳定性

测量次数	峰电流/mA	
	6 次重复测定	5 天内连续测定
1	0.314	0.314
2	0.324	0.295
3	0.310	0.301
4	0.286	0.335
5	0.304	0.288
6	0.274	—
相对标准偏差/%	8.30	4.40

3.6 自来水样中氧氟沙星的检测

大量使用氟喹诺酮物质通过各种途径最终进入水环境中,并有可能进入到自来水中,对人类饮用水安全构成威胁。因此,选择向自来水中添加氧氟沙星并利用该方法对自来水样品进行检测,结果见表 2,回收率为 81.8% ~ 110.8%,相对标准偏差均小于 7.5%。这个结果表明,本实验发展的方法可以用于自来水中氧氟沙星的检测。

表 2 自来水中添加一定量氧氟沙星的回收率和相对标准偏差 ($n=5$)

添加量/ $(\mu\text{mol/L})$	检测值	
	回收率/%	相对标准偏差/%
0.5	81.8	6.8
1	110.8	5.7
1.5	105.7	4.9
3	104.6	6.6
5	103.0	7.5

4 结论

本文针对当前环境水体中痕量氧氟沙星快速检测的需要,将碳纳米管和表面分子印迹聚合物有机结合起来,制备了氧氟沙星分子印迹碳纳米管复合材料,然后利用该材料对玻碳电极进行修饰,修饰电极具有良好的电化学响应性能和对氧氟沙星的高选择性。构建了氧氟沙星的循环伏安电化学检测方法,并对其电化学检测条件进行了优化。该方法 6 次重复测定和 5 天内连续测定的相对标准偏差为 8.3% 和 4.4%,表现出良好的测量重现性和稳定性。用该方法对自来水样中氧氟沙星进行测定,获得满意结果。◆

参考文献

- [1] 李雅丽,胥传来. 氟喹诺酮类药物残留检测方法[J]. 食品科学,2007(11):628-633.
- [2] 占春瑞,温志海,卜延刚,等. 鸡肉中多种氟喹诺酮类兽药残留量的高效液相色谱测定研究[J]. 食品科学,2005,26(10):172-175.
- [3] 刘媛,谢孟峡,丁岚. 高效液相色谱同时测定鸡蛋中 4 种氟喹诺酮类药物残留[J]. 分析化学研究简报,2004,3(32):352-355.
- [4] 吴凌荔,秦卫东. 氟喹诺酮类抗生素的高效毛细管电泳法分离检测[J]. 北京师范大学学报,2006,42(1):66-69.
- [5] 姜忠义,喻应霞,吴洪. 分子印迹聚合物膜的制备及其应用[J]. 膜科学与技术,2006,26(1):78-84.
- [6] VALCA'RCEL M, CA'RDENAS S, SIMONET B M, et al. Carbon nanostructures as sorbent materials in analytical processes [J]. Journal of Chromatography A, 2008(27):34-43.
- [7] JOHNSTON L, MACKAY L. Determination of quinolones and fluoroquinolones in fish tissue and seafood by high-performance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometric detection [J]. Journal of Chromatography A, 2002(982):97-109.