

基于分子印迹富集及 HPLC-ICP-MS 检测海产品中三丁基锡的研究

杨华^{1,2}, 刘丽君¹, 朱艳杰¹, 朱晓艳³, 潘道东²

(1. 浙江万里学院生物与环境学院, 浙江宁波 315100) (2. 宁波大学海洋学院, 浙江宁波 315211)

(3. 宁波市出入境检验检疫局, 浙江宁波 315012)

摘要: 本文以甲基丙烯酸为功能单体, 三丁基锡为模板分子, 二甲基丙烯酸乙二醇酯为交联剂, 乙腈为致孔剂, 采用分子印迹技术并联合高效液相色谱电感耦合等离子质谱(HPLC-ICP-MS)成功地制备了能特异性识别 TBT 的 MIPs。所合成的 MIPs 经过选择识别、吸附动力学及再生性能等检测, 对三丁基锡具有良好的吸附能力和高选择识别能力。并以分子印迹聚合物作为固相萃取吸附剂分离富集 TBT, 联合高效液相色谱-电感耦合等离子质谱(HPLC-ICP-MS)检测海水及海产品中的三丁基锡。结果表明, 用传统分子印迹聚合物作为吸附剂富集分离, 在海水、贻贝和大黄鱼样品中检测限 (LOD) 分别为 0.06 $\mu\text{g/L}$ 、4.0 ng/g 和 5.0 ng/g , 加标回收率分别是 61.5%~84.5%、76.2%~93.9%和 74.2%~93.3%, 线性范围分别是 0.1 $\mu\text{g/L}$ ~30 $\mu\text{g/L}$ 、5 ng/g ~50 ng/g 和 5 ng/g ~500 ng/g 。为海产品中有机锡等有机金属的检测提供方法。

关键词: 分子印迹聚合物; 三丁基锡; 高效液相色谱联用电感耦合等离子质谱; 海产品

文章编号: 1673-9078(2017)2-243-249

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.2.037

Determination of Trace Tributyltin in Seafood by Molecularly Imprinted Polymer and High Performance Liquid Chromatography-inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry

YANG Hua^{1,2}, LIU Li-jun¹, ZHU Yan-jie¹, ZHU Xiao-yan³, PAN Dao-dong²

(1. Faculty of Biological and Environmental Science, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China) (2. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China) (3. Ningbo Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Ningbo 315012, China)

Abstract: With methacrylate as functional monomer, tributyltin (TBT) as template molecule, ethylene glycol dimethyl ester as crosslinking agent, and acetonitrile as porogen, a molecularly imprinted polymer (MIP) with specific recognition towards TBT was successfully prepared using molecular imprinting technology combined with high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry (HPLC-ICP-MS). Experiments on selective recognition, adsorption kinetics, and regeneration performance showed that the synthesized MIPs had a good adsorption capacity and high selective recognition ability for TBT. Additionally, MIPs were used as solid phase extraction sorbents to separate and enrich TBT, and the TBT in seawater and seafood was detected using HPLC-ICP-MS. The results indicated that, compared with traditional MIPs as an adsorbent for enrichment and separation, the limits of detection (LODs) for seawater, mussels, and large yellow croaker samples were 0.06 $\mu\text{g/L}$, 4.0 ng/g , and 5.0 ng/g , respectively, the recoveries were 61.5%~84.5%, 76.2%~93.9%, and 74.2%~93.3%, respectively, and the linear ranges were 0.1 $\mu\text{g/L}$ ~30 $\mu\text{g/L}$, 5 ng/g ~50 ng/g , and 5 ng/g ~500 ng/g , respectively. This study provides a method for the detection of organic tin and other organometallic compounds in seafood.

Key words: molecularly imprinted polymer; tributyltin; high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry; seafood

收稿日期: 2016-02-18

基金项目: 国家支撑计划 (2015BAD17B02-3); 浙江省公益性项目 (2014C32051); 浙江省水产重中之重学科开放基金资助 (H22SC1423); 宁波市富民专项项目 (2015C10018)

作者简介: 杨华 (1978-), 男, 副教授, 在读博士, 研究方向: 水产品加工及贮藏

通讯作者: 潘道东 (1964-), 男, 教授, 从事食品加工及食品安全检测

分子印迹技术(molecularly imprinting technology, MIT)是 20 世纪末出现的一种高选择性分离技术,在众多领域显示出良好的应用前景^[1-5]。固相萃取(solid-phase extraction, SPE)技术是二十世纪 70 年代中期出现的技术^[6-8],但固相萃取缺乏专一性。分子印迹聚合物有很高的亲和性与选择性,具有从复杂样品中选择性吸附目标分子或与其结构相近的某一族类化合物的能力,非常适合用作固相萃取剂来分离富集复杂样品中的痕量被分析物,克服环境样品体系复杂、预处理繁琐等不利因素,达到样品分离纯化的目的。以分子印迹聚合物作为固相萃取吸附剂,则将这两种技术的各自优点结合在一起。

三丁基锡(TBT)是有机锡中的主要种类之一,被认为是毒性最大及应用最广的有机锡污染物,是迄今为止由人为因素导致进入海水环境的最毒的化学品之一^[9]。由三丁基锡(TBT)引起的污染,不仅能够通过生物富积对海洋生物造成危害,而且会危害人来健康。比如,低浓度的 TBT 就可以对人体生殖系统产生毒性,导致流产、胎儿畸形或前列腺癌细胞增生^[10,11]。因此,建立高灵敏度和高选择性的检测方法,快速有效的检出微量有机锡迫在眉睫。HPLC 与 ICP-MS 联用作为微量元素分析有效的途径,融合 HPLC 高效分离特点及 ICP-MS 低检出限、宽动态线性范围及能跟踪多元素同位素信号变化等优点。HPLC-ICP-MS (High Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry)是目前有机锡常用的分析技术,具有灵敏度高、检测限低等优点^[12]。自 1994 年 Sellergren 首次报道在 SPE 中使用 MIP 材料以来^[13],分子印迹固相萃取技术(molecularly imprinted Solid phase extraction, MISPE)在国内、外已被广泛研究和应用。

本研究主要制备了传统分子印迹聚合物、研究了其性能并以分子印迹聚合物为吸附剂富集三丁基锡,用 HPLC-ICP-MS 对水产品中的微量三丁基锡进行检测分析,以期为水产品的安全生产和消费者的安全健康提供快速检测方法。

1 材料和方法

1.1 主要试剂与仪器

本研究所采用的主要试剂:96%的三丁基锡(TBT)、95%的一丁基锡(MBT)、97%的二丁基锡(DBT)、96%的三苯基锡(TPhT)、甲基丙烯酸(MAA)、二甲基丙烯酸乙二醇酯(EGDMA)、98%的偶氮二乙丁腈(AIBN)、HPLC 级甲醇、HPLC 级乙醇、三乙胺和

乙腈等。水为二次蒸馏水,并用 Milli-Q 超纯水器进行处理,电阻率为 18.2 MΩ cm。

本研究所采用的主要仪器和设备:1100 型高效液相色谱仪(美国,Agilent 公司);7500ce 型等离子体质谱仪(美国,Agilent 公司);色谱柱:Discovery C18, 150 mm×4.6 mm, 5 μm(美国, SUPELCO 公司);ZM200 型研磨仪(德国 Retsch 公司);MS-PB 型磁力搅拌器(美国 SCILOGEX 公司);BiofugePrimo R 7500 型台式冷冻离心机(德国 Heraeus 公司);MG-2200 型氮吹仪(日本 TOKYO RIKAKIKAI CO.LTD.);JEM-1011 型透射电镜(日本电子株式会社)。

海水采自于鄞州咸祥大礁面丹艳水产养殖基地;贻贝和大黄鱼均购置于宁波路林市场。将大黄鱼剔除鱼骨后剪碎,其他干制品和鱼肉在液氮冷冻后用研磨机打成粉末状,再经干燥箱干燥后,用封口袋包装,保存备用。

1.2 方法

1.2.1 分子印迹聚合物的制备

MIPs 的制备^[14]:取 1 mmol 的 TBT 与 4 mmol 的甲基丙烯酸(MAA)混合在 50 mL 的烧瓶中,室温下预聚合 5 min。然后分别加入 20 mmol 的 EGDMA、15 mg 的 AIBN 和 5 mL 的乙腈。在 65 °C 水浴中聚合 20 h。聚合物研磨筛选后,用 0.3 M 盐酸甲醇溶液作洗脱剂,采用索氏提取法反复洗脱模板分子,直至洗脱液中不含 TBT,最后将聚合物颗粒采用真空干燥保存。

1.2.2 MIPs 合成条件的选择

洗脱剂的选择:朱珊珊^[17]用相同体积的甲醇、乙醇和乙腈等溶剂洗脱吸附在 NIPs 中的 TBT,参照上述本文取 20 mg 的 MIPs 加到 20 μg/L 浓度的 TBT 溶液中,搅拌吸附 10 h,用盐酸、甲酸、乙酸、氢氧化钠和氨水调配不同浓度的甲醇二氯甲烷溶液洗脱吸附在 MIPs 里的 TBT,测定洗脱量。选择洗脱效果较好的洗脱剂。洗脱时间的选择:取 7 份 20 mg 的 MIPs 分别加到 20 μg/L 浓度的 TBT 溶液中,搅拌吸附 10 h,用上述洗脱效果较好的洗脱剂,测定不同洗脱时间下 MIPs 中 TBT 的洗脱量。选择洗脱效果较好的洗脱时间。

1.2.3 TEM 表征

分别取真空干燥好的 MIPs 和 NIPs,放在微栅上,用 JEM-1011 透射电子显微镜进行表征^[17]。

1.2.4 MIPs 性能的研究

选择识别性实验:取 20 mg 的 MIPs 和 NIPs 各 4 份,分别加入到各 50 μg/L 浓度的四种有机锡(MBT、

DBT、TBT 和 TPhT)溶液中, 溶剂为乙醇。搅拌吸附 10 h, 用 HPLC-ICP-MS 测试溶液中的剩余的各有机锡的浓度, 计算吸附量。

吸附动力学实验: 取 5 份 20 mg 的 MIPs 分别放入 20 $\mu\text{g/L}$ 的 TBT 溶液 10 mL 于烧杯中, 搅拌吸附 10、20、30、60 和 120 min, 用 HPLC-ICP-MS 测试溶液中的剩余 TBT 浓度, 计算吸附率。

吸附等温线实验: 取 20 mg 的 MIPs 和 NIPs 各 7 份, 分别加入到含有 10、20、40、50、70、90 和 100 $\mu\text{g/L}$ 浓度的 TBT 溶液中, 搅拌吸附 10 h, 用 HPLC-ICP-MS 测试溶液中的剩余 TBT 浓度, 求吸附量。

MIPs 的再生性能: 取 20 mg 的 MIPs 放入 20 $\mu\text{g/L}$ 的 TBT 溶液中, 搅拌吸附 10 h, 洗脱。用 HPLC-ICP-MS 测试溶液中的剩余 TBT 浓度, 求吸附率。将洗脱后的 MIPs 真空干燥回收, 重复上述步骤 5 次。

1.2.5 吸附量(Q)的测定

准确称取 20 mg MIPs 或 NIPs, 加入到 TBT 溶液中, 室温振荡 10 h, 上清液用 HPLC-ICP-MS 测定 TBT 的浓度, 根据吸附前后溶液中 TBT 浓度的改变, 按照下面的计算公式计算吸附量 $Q^{[15]}$:

$$Q = (C_0 - C)V/W \quad (1)$$

式中 Q 为吸附量($\mu\text{g/g}$); C_0 和 C 分别为吸附前、后 TBT 浓度($\mu\text{g/L}$); W 为聚合物干重(mg); V 为溶液体积(L)。

1.2.6 HPLC-ICP-MS 检测 TBT

用 10 $\mu\text{g/L}$ 的调谐液对仪器手动调谐, 使仪器灵敏度、质量数、氧化物和双电荷等各项指标达到要求。采用 SUPELCODiscoveryC18(15 $\text{cm} \times 4.6 \text{ mm}$, 5 μm) 进行色谱分析。流动相为: 甲醇-水=70:30(V/V), 流速: 1.2 mL/min, 进样量: 20 μL 。

色谱条件, 色谱柱: SUPELCO 5 μm -C18(4.6 $\text{mm} \times 15 \text{ cm}$, 5 μm); 流动相: 甲醇:水=70:30(V/V), 水相中含 3%的乙酸和 0.05%三乙胺。流速: 1.2 mL/min, 进样量: 20 μL 。

ICP-MS 的工作参数: 用 10 $\mu\text{g/L}$ 的标准溶液作为样品进样, 利用 ICP-MS 工作软件对 ICP-MS 的工作参数进行自动优化, 使各项指标达到要求。

ICP-MS 主要用于无机元素分析, 当 HPLC-ICP-MS 联用时, 流动相中的有机溶剂进入到等离子体中, 高有机负载会降低分析信号的灵敏度、降低等离子体的稳定性, 甚至有可能会猝灭等离子体炬; 有机溶剂在等离子体中分解产生的碳粉会沉积在样品锥上, 将会降低信号和增大仪器的噪声, 甚至堵塞锥孔。因此必须采用在线加氧装置加入适量的氧气, 将有机物氧化, 以消除矩管和锥口的碳的沉积, 提高分析信号的灵敏度和稳定性^[16]。本实验通过增加 20%的 4:1

的氩氧混合气体、增大射频功率以及调节雾化室温度来提高仪器的稳定性和检测的灵敏度, 降低仪器的噪声。具体工作条件如表 1:

表 1 HPLC-ICP-MS 工作参数

Table 1 HPLC-ICP-MS operating parameters

指标	数值
RF 功率	1500 w
反射功率	<5 w
雾化室温度	-5 $^{\circ}\text{C}$
等离子气流量	Ar, 15 L/min
辅助气流量	Ar, 0.2 L/min
载气流量	Ar, 0.65 L/min
氩氧混合气 (Ar/O ₂) =4:1	0.2 L/min
采样深度	10 mm
检测离子	Sn, $m/z=118$
信号采集模式	时间分辨模式
积分时间	0.1 s

1.2.7 样品制备

海水样品: 取 4 份 50 mL 海水, 其中 3 份添加浓度为 50、100、500 $\mu\text{g/L}$ 的标准 TBT 溶液 100 μL , 即为 5、10、50 ng 的 TBT(加标量分别为 0.1 $\mu\text{g/L}$ 、0.2 $\mu\text{g/L}$ 和 1.0 $\mu\text{g/L}$)。加标后的海水低温存放过夜, 分别加入 20 mg 合成的 MIPS, 磁力搅拌 10 h 后离心, 取 6 mL 的洗脱液洗脱吸附在聚合物中的 TBT, 将洗脱液用氮气吹干, 溶于 1 mL 甲醇水溶液(V/V, 7:3), 过 0.45 μm 的有机滤膜过滤, 待 HPLC-ICP-MS 进样分析。

贻贝样品: 精确称取 4 份 0.1 g 贻贝冰冻组织于 10 mL 离心管中, 其中 3 份添加浓度分别为 5、10、50 $\mu\text{g/L}$ 的标准 TBT 溶液 100 μL , 即为 0.5、1、5 ng 的 TBT(加标量分别为 5 ng/g、10 ng/g 和 50 ng/g)。加标后的组织振动 1 h, 静置过夜。用 5 mL 乙酸甲醇溶液(V/V, 1:1)作为萃取液超声萃取海产品组织中的 TBT 30 s(频率约为 35 kHz), 4000 r/min 离心 3 min。保留上清液, 重复一次^[18]。合并上清液(10 mL), 用 50 mL 的超纯水稀释。然后分别加入 20 mg 的分子印迹聚合物, 磁力搅拌吸附, 离心洗脱液洗脱后, 洗脱液用氮气吹干, 并用 1 mL 甲醇水溶液(V/V, 7:3)定容, 有机滤膜过滤后待 HPLC-ICP-MS 进样分析。

鱼类样品: 精确称取 4 份 0.1 g 大黄鱼冰冻组织于 10 mL 离心管中, 其中 3 份添加浓度分别为 50、100、500 $\mu\text{g/L}$ 的标准 TBT 溶液 100 μL , 即为 5、10、50 ng 的 TBT(加标量分别为 50 ng/g、100 ng/g 和 500 ng/g)。加标后的组织振动 1 h, 并过夜。用 5 mL 乙酸甲醇溶液(V/V, 1:1)作为萃取液超声萃取海产品组织中的 TBT 30 s(频率约为 35 kHz), 4000 r/min 离心 3 min。保留

上清液,重复一次^[18]。合并上清液(10 mL),用50 mL的超纯水稀释。分别加入20 mg的分子印迹聚合物,磁力搅拌吸附,离心,取6 mL的0.1 M的甲酸甲醇溶液洗脱吸附在聚合物中的TBT,将洗脱液用氮气吹干,用1 mL甲醇水溶液(V/V, 7:3)定容,过0.45 μm的有机滤膜过滤,备用,待HPLC-ICP-MS进样分析。

2 结果与分析

表2 不同浓度的酸碱洗脱液对MIPs洗脱TBT的洗脱率

Table 2 Elution rates of TBT from MIPs with different concentrations of acidic and alkaline eluents

洗脱液	盐酸甲醇溶液			甲酸甲醇溶液			乙酸甲醇溶液			
	浓度/M	0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5
洗脱率/%	43±0.02	51.8±0.04	48±0.13	55±0.02	76.3±0.04	64±0.02	65±0.04	66±0.04	69±0.02	
洗脱液	氢氧化钠甲醇			氨水甲醇溶液						
	浓度/M	0.05	0.1	0.5	0.05	0.1	0.5			
洗脱率/%	32±0.04	52.8±0.02	56.4±0.02	43±0.22	55±0.02	46±0.13				

由表2可知:适当的酸碱条件可以使TBT更容易洗脱下来,但是酸碱浓度过高也会导致洗脱率降低。且酸性溶液洗脱效果比碱性溶液洗脱效果好,弱酸性溶液比强酸性溶液的洗脱效果好,因此选择浓度

2.1 MIPs合成条件的选择

2.1.1 洗脱剂的选择

用盐酸、甲酸、乙酸、氢氧化钠和氨水调配不同浓度的甲醇二氯甲烷溶液洗脱吸附在MIPs里的TBT,测定洗脱量。结果如表2。

为0.1 M (mol/L)的甲酸甲醇溶液作为洗脱剂。

2.1.2 洗脱时间的选择

MIPs吸附20 μg/L的TBT 10 h后,用浓度为0.1 M (mol/L)的甲酸甲醇溶液洗脱,结果如表3。

表3 不同洗脱时间对聚合物洗脱TBT的洗脱率

Table 3 TBT elution rate with the polymer at different elution times

聚合物洗脱时间/h	0.5	1	2	3	4	5	6
洗脱率/%	25.9±0.06	45.3±0.25	59.9±0.02	70.1±0.16	80.1±0.06	81.3±0	82.6±0.15

由表3可知:不同的洗脱时间会影响MIPs中TBT的洗脱量,洗脱时间短,则洗脱量小,原因可能为洗脱液与TBT没有充分接触;洗脱时间增长,洗脱液与TBT充分接触,洗脱量增大。4 h后,洗脱量不再有明显变化,说明MIPs中的TBT基本洗脱下来,因此选择4 h为洗脱时间。

2.1.3 TEM表征

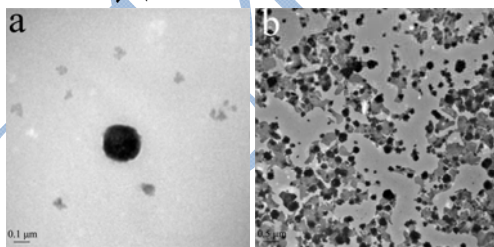


图1 MIP和NIP的透射电镜表征图

Fig.1 TEM images of MIP and NIP

注: a表示MIP(左图)透射电镜表征图; b表示NIP(右图)透射电镜表征图。

由图1可知:经过聚合后的MIPs粒径在300 nm左右,粒径较小,按照基本的特性将更有利于吸附洗脱。且表面较为光滑,原因可能是用酸性溶液洗脱模板分子时,去除了表面多余的聚合残留物。

2.2 MIPs选择性能研究

2.2.1 MIPs的选择识别能力

分子印迹聚合物具有较高的亲和性与选择性,可以从复杂样品中选择性吸附目标分子。20 mg的聚合物,吸附50 μg/L四种有机锡(MBT、DBT、TBT和TPhT),结果如图。

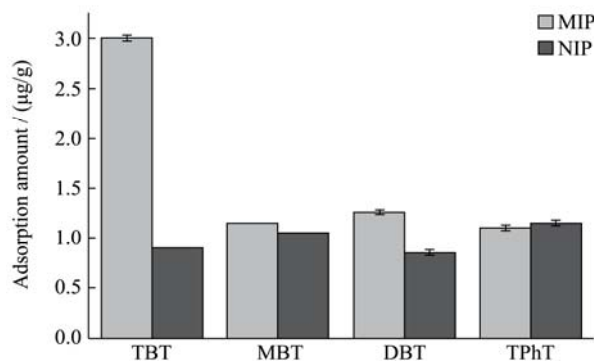


图2 MIP和NIP对四种有机锡化合物的吸附能力

Fig.2 MIP and NIP adsorption capacities of the four organic tin compounds

由图2可知:MIPs对TBT的吸附量最高,是NIPs对TBT吸附量的1.5倍。对MBT、DBT和TPhT的

吸附量接近于 NIPs 对 MBT、DBT 和 TPhT 吸附量。由此可见, MIPs 含有与 TBT 在空间结构和功能基团排布上高度吻合的三维空穴,从而对 TBT 具有良好的记忆效应。原因在于它是对 TBT“量身定制”的,所以,三维空穴的空间形状、大小与 TBT 完全匹配,孔穴体内腔表面基团与 TBT 所含基团电子特征高度互补,这样的空穴对 TBT 具有相当高的专一选择性^[9],即“记忆”功能。

2.2.2 MIPs 的吸附动力学

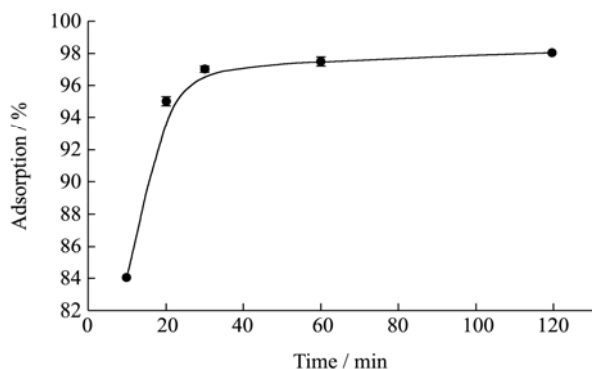


图3 MIP 的吸附动力学曲线

Fig.3 MIP adsorption kinetics

图3为MIP的吸附动力学曲线,由图可知,MIP对TBT的吸附量在20min内增加速度很快,随着吸附时间的增加,其吸附量的增加速度逐渐降低,在35min后基本上趋于饱和。这是因为MIP表面较浅的孔穴有利于对TBT的快速吸附,所以在开始阶段MIP的吸附速率较快,但表面孔穴达到饱和吸附后,TBT向MIP内部孔穴的传质受到一定的阻力,其吸附速度下降,在35min后才能达到吸附平衡。

2.2.3 MIPs 的吸附等温线

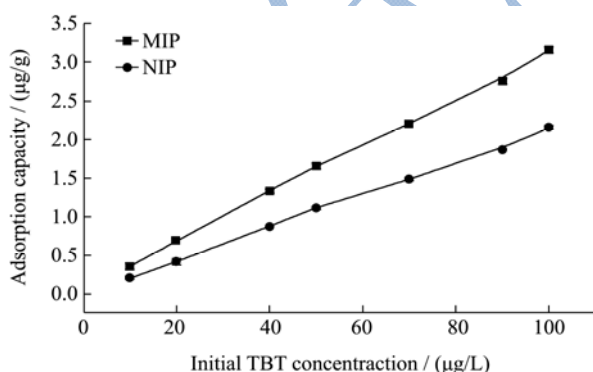


图4 MIP 和 NIP 对 TBT 的吸附等温线

Fig.4 TBT adsorption isotherms of MIP and NIP

图4为MIP和NIP对TBT的吸附等温线,由图可知,MIP及对应的NIP的吸附等温线形状均类似于Freundlich模型,随着TBT浓度的增加,MIP和NIP的吸附量逐渐增大。对于相同浓度的TBT溶液,无论是在低浓度区域还是高浓度区域,MIP的吸附量

均明显大于NIP的吸附量,且二者的吸附量之差随溶液浓度的增加而增大。这是因为两种聚合物的空间结构存在明显的差异。NIP吸附能力相对较弱且没有选择性,原因可能在于其表面的极性基团对TBT产生非特异性吸附;而MIP因含有与TBT空间结构匹配、互补的官能团孔穴,这种空穴对TBT分子具有“记忆”功能,因而选择性吸附能力强,两种聚合物的吸附量的差值主要源于印迹空穴的特异性吸附。

2.2.4 MIPs 的再生性能

表4 MIPs 的吸附率与重复使用次数的关系

Table 4 Relationship between the adsorption rate and numbers of repeated uses of MIPs

重复使用次数	1	2	3	4	5
吸附率/%	81	78.3	76.5	74.9	72

由表4可知:MIPs在重复使用过程中,吸附率有所下降,原因可能在于聚合物的轻微溶胀影响了分子印迹聚合物对TBT的吸附,同时洗涤的过程中有些成分的流失造成表面光滑度变化使得吸附率下降。但实验数据仍可表明,MIPs任然具有较高的强度和刚性,在再生过程中,从电镜等指标看基本没有软化及溶解流失的现象,重复使用性较好。

2.3 样品测定

2.3.1 线性范围和检出限

在优化的工作条件下进行测定,用HPLC-ICP-MS测定TBT的浓度,以吸收峰面积Y对TBT的浓度X(µg/L)作线性回归分析方程。以S/N=3为信噪比,计算此测定方法下各海产品、海水的最低检出限^[108]。结果显示:对海水、贻贝组织液和大黄鱼组织液中样品,TBT分别在0.1 µg/L到30 µg/L、5 ng/g到50 ng/g和5 ng/g到500 ng/g浓度范围内(见表5),具有良好的线性关系,相关系数(R²)不小于0.999,相对标准偏差不超过6%;在海水、贻贝组织液和大黄鱼组织液中检出限分别为0.06 µg/L、4.0 ng/g和5.0 ng/g。取同一浓度的TBT溶液进样,重复6次,测得结果的相对标准偏差为2.82%,表明该仪器分析方法具有良好的重复性。

表5 线性范围及方法检出限(R²≥0.999, RSD<6%)

Table 5 Linear range and method detection limit (R²≥0.999, RSD<6%)

样品	线性范围	检出限
海水	0.1 µg/L 到30 µg/L	0.06 µg/L
贻贝组织	5 ng/g 到50 ng/g	4.0 ng/g
大黄鱼组织	5 ng/g 到500 ng/g	5.0 ng/g

2.3.2 样品分析

取一定量的海水、贻贝和大黄鱼等样品，按照实验方法进行样品前处理，等待进样。用 MIPs 和 NIPs 作为吸附剂进行比较。结果如图所示：

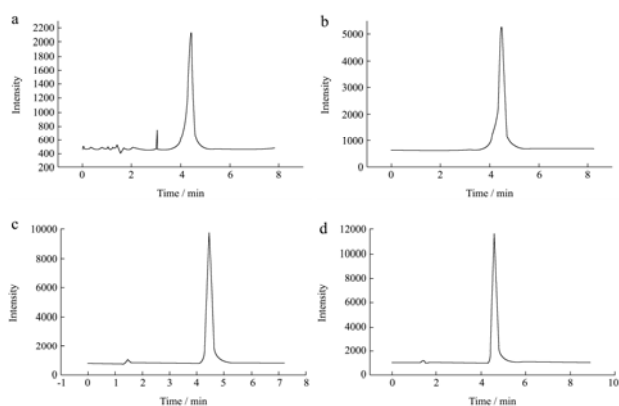


图5 加标海水用 MIPs 和 NIPs 作为吸附剂洗脱后对 TBT 的检测图谱

Fig.5 TBT chromatograms after elution from seawater spiked with MIPs and NIPs as adsorbents

注：加标 TBT 浓度为 1.0 μg/L。

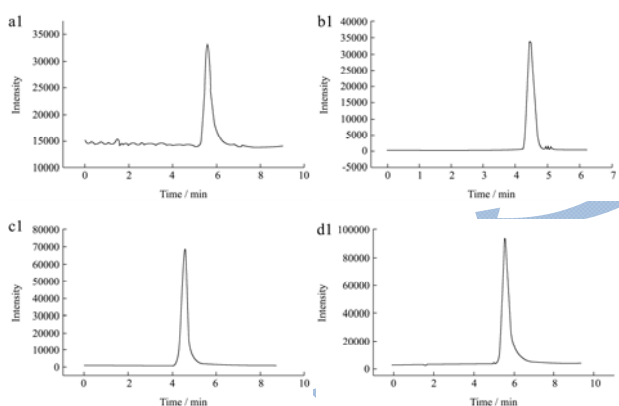


图6 加标贻贝用 MIPs 和 NIPs 作为吸附剂洗脱后对 TBT 的检测图谱

Fig.6 TBT chromatograms after elution from mussels spiked with MIPs and NIPs as adsorbents

注：加标 TBT 浓度为 10 μg/L。

a、a1 和 a2 表示样品加标后萃取溶液的图谱；b、b1 和 b2 表示加标样品溶液用 NIPs 萃取洗脱后溶液的图谱；c、c1 和 c2 表示加标样品溶液用 MIPs 萃取洗脱后溶液的图谱；d、d1 和 d2 表示 TBT 加标浓度的标准溶液的图谱。TBT 进样量为 20 μL。

由图可知：a、a1 和 a2 的噪音强，信号弱，这是因为没有加入任何吸附剂的原因。图 b、b1 和 b2 中，加入 NIPs 进行吸附洗脱后，得到的图谱噪音小，信号强，而加入 MIPs 的图谱 c、c1 和 c2，其信号强度比 NIPs 吸附后洗脱的信号更强，噪音更小，这是因为 MIP 对于 TBT 有更强的吸附作用。值得注意的是，图 c、c1 和 c2 和图 d、d1 和 d2 的信号强度接近，说明

MIPs 比 NIPs 具有更高的吸附效果。

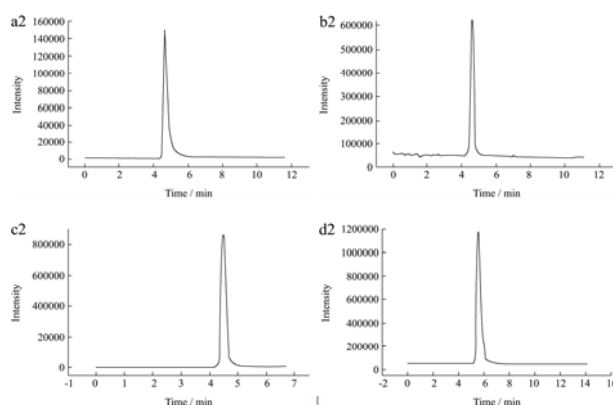


图7 加标大黄鱼用 MIPs 和 NIPs 作为吸附剂洗脱后对 TBT 的检测图谱

Fig.7 TBT chromatograms after elution from large yellow croaker spiked with MIPs and NIPs as adsorbents

注：加标 TBT 浓度为 100 μg/L。

2.3.3 加标回收率及相对标准偏差

表6 加标回收率及相对标准偏差(n=4)

Table 6 Recoveries and relative standard deviations (n=4)

样品	本底值	加标浓度	回收率/%	RSD/%
海水	----	0.1 μg/L	61.5	6.01
	----	0.2 μg/L	80.0	1.97
	----	1.0 μg/L	84.5	2.82
贻贝组织	----	5 ng/g	93.9	2.01
	----	10 ng/g	81.5	3.49
	----	50 ng/g	76.2	1.09
大黄鱼组织	----	50 ng/g	74.2	1.16
	----	100 ng/g	88.5	3.70
	----	500 ng/g	93.3	2.83

在上述优化条件下，用 HPLC-ICP-MS 测定浓缩后的样品中的 TBT 的浓度，每个添加水平平行测定 4 次，扣除样品本底后，计算回收率和相对标准偏差，结果如表 3~4。从表中数据可以看出海水的加标回收率在 61.5%~84.5%，RSD 在 1.97%~6.01%之间；贻贝的加标回收率在 76.2%~93.9%，RSD 在 1.09%~3.49%；大黄鱼的加标回收率在 74.2%~93.3%，RSD 在 1.16%~3.70%。表明该方法测定结果准确可靠，可用于海水及海产品中 TBT 的测定。

3 结论

本论文以 TBT 为模板分子，MAA 为功能单体，EGDMA 为交联剂，AIBN 为引发剂，乙腈为致孔剂，成功地制备了能特异性识别 TBT 的 MIPs。具有较高的吸附能力和明显的特异性吸附。以分子印迹的方法富集提取海水及海产品中的 TBT，经过相关性测定

后,用HPLC-ICP-MS对TBT进行检测。海水的加标回收率在61.5%~84.5%,RSD在1.97%~6.01%之间;贻贝的加标回收率在76.2%~93.9%,RSD在1.09%~3.49%;大黄鱼的加标回收率在74.2%~93.3%,RSD在1.16%~3.70%。通过上述方法的建立为海产品中有机锡等有机金属的检测提供了方法。

参考文献

- [1] Quaglia M, De Lorenzi E, Sulitzky C, et al. Surface initiated molecularly imprinted polymer films: a new approach in chiral capillary electrochromatograph [J]. *Analyst*, 2001, 126(9): 1495-149
- [2] Ye L, Mosbach K. Molecularly imprinted microspheres as antibody binding mimics [J]. *React. Funct. Polym.*, 2001, 48(12): 149-157
- [3] Zhang M L, Me J p, Zhou Q, et al. Online solid-phase extraction of ceramides from yeast with ceramide III imprinted monolith [J]. *J. Chromatogr. A*, 2003, 222(14): 173-183
- [4] Ebarvia B S, Binag C A, Sevilla F. Biomimetic piezoelectric quartz sensor for caffeine based on molecularly imprinted polymer [J]. *Anal Bioanal Chem.*, 2004, 378(5): 1331-337
- [5] Wuiff G. Enzyme-like catalysis by molecularly imprinted polymers [J]. *Chem. Rev.*, 2002, 102(1): 1-27
- [6] Turiel E, Martin2Esteban A, Fernandez P, et al. Molecular recognition in a propazine- imprinted polymer and its application to the determination of triazines in environmental samples [J]. *Anal. Chem.*, 2001, 73(51): 33-41
- [7] Lars LAndersson. Molecular imprinting for drug bioanalysis a review on the application of imprinted polymers to solid-phase extraction and binding assay [J]. *Journal of Chromatography B*, 2000, 739(1): 63-73
- [8] Christine Widstrand, redrik Larsson, Maurizio Fiori, et al. Evaluation of MISPE for the multi-residue extraction of B-agonists from calves urine [J]. *Journal of Chromatography B*, 2004, 804: 85-91
- [9] Viktor Koch kodan, Wilfried weigel, Mathias Ulbricht. Molecularly imprinted composite membranes for selective binding of desmetryn from aqueous solutions [J]. *Desalination*, 2002, 149: 323-328
- [10] 范立民.三丁基锡(TBT)对奥利亚罗非鱼精巢细胞凋亡影响的研究[D].南京:南京农业大学,2010
FAN Li-min. Study on spermary cells apoptosis induced by tbtcl in *Oreochromis aureus* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2010
- [11] Ema M, Haraz ono A, Miyawaki E, et al. Effect of the day of administration on the developmental toxicity of tributyltin chloride in rats [J]. *Arch. Environ. C ontam. Toxicol.*, 1997, 33(1): 90-96
- [12] Y amabe Y, Hoshino A, Imura N, et al. Enhancement of androgen dependent transcription and cell proliferation by tributyltin and triphenyltin in human prostate cancer cells [J]. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 2000, 169(2): 177-184
- [13] 柳英霞,李娟,鄢爱平等.食品中有机锡化合物分析方法研究进展[J].食品科学,2010,31(19):435-442
LIU Ying-xia, LI Juan, YAN Ai-ping, et al. Research progress in analytical methods of organotin in food [J]. *Food Science*, 2010, 31(19): 435-442
- [14] Sellergren B. Direct drug determination by selective sample enrichment on an imprinted polymer [J]. *Ana. Chem.*, 1994, 66: 1578-1582
- [15] 侯信,张哲国,高博,等.制备单分散聚丙烯酰胺微球的方法:中国,200510015571[P]2006-03-29
HOU Xin, ZHANG Zhe-guo, GAO Bo, et al. Method for preparing monodisperse polyacrylamide sphere: China, 200510015571[P]2006-03-29
- [16] 贺小进,谭天伟,戚以政,等.球形壳聚糖树脂制备方法及吸附性能研究[J].离子交换与吸附,2000,16:47-53
HE Xiao-jin, TAN Tian-wei, QI Yi-zheng, et al. Study on synthesis and adsorption properties to metal of chitosan chelated resins [J]. *Ion Exchange and Adsorption*, 2000, 16: 47-53
- [17] 雷晓康.ICP-MS 及其联用技术用于海产品和水样中锡形态分析的研究[D].南昌:南昌大学理学院化学系,2012
LEI Xiao-kang. Study on the speciation analysis of organotin in seafood and water samples by ICP-MS and its hyphenated techniques [D]. Nanchang: Department of Chemistry, Faculty of Science, Nanchang University, 2012
- [18] 朱珊珊.基于分子印迹技术对海产品及海水中痕量有机锡的检测方法研究[D].宁波:宁波大学,2013
ZHU Shan-shan. Determination method research based on molecular imprinting technology in seawater and seafood for trace organotin compounds [D]. Ningbo: Ningbo University, 2013
- [19] Mercedes Gallego-Gallegos, María Liva, Riansares Muñoz Olivas, et al. Focused ultrasound and molecularly imprinted polymers: A new approach to organotin analysis in environmental samples [J]. *Chromatography A*, 2006, 1114(1): 82-88
- [20] Julia Saloni, Pawel Lipkowski, Samuel S R Dasary, et al.

- Theoretical study of molecular interactions of TNT, acrylic acid, and ethylene glycol dimethacrylate-elements of molecularly imprinted polymer modeling process [J]. *Polymer*, 2011, 52(4): 1206-1216
- [21] Shan-shan Zhu, Fu-tao Hu, Ting Yang, et al. Synthesis and characterization of a molecularly imprinted polymer for the determination of trace tributyltin in seawater and seafood by liquid chromatography-tandem mass spectroscopy [J]. *J. Chromatogr. B*, 2013, 921(6): 21-26
- [22] 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(3): 967
- [23] Luo X B, Zhan Y C, Huang Y N, et al. Removal of water-soluble acid dyes from water environment using a novel magnetic molecularly imprinted polymer [J]. *J Hazard Mater*, 2011, 187(1-3): 274-282
- [24] Liu L L, Wang J T, Chung K N, et al. Distribution and accumulation of organotin species in seawater, sediments and organisms collected from a Taiwan mariculture area [J]. *Mar Pollut Bull*, 2011, 63(5-12): 535-540
- [25] 周红,朱明,等.功能化四氧化三铁的合成和表征及其对钙离子的吸附[J].*武汉工程大学学报*,2013,35(4):14-20
- ZHOU Hong, ZHU Ming, et al. Synthesis and adsorption of calcium ions of functionalized core-shell Fe_3O_4 nanoparticles [J]. *J.Wuhan Inst.Tech.*, 2013, 35(4): 14-20
- [26] Li Y, Li X, Chu J, et al. Synthesis of core-shell magnetic molecular imprinted by the surface RAFT polymerization for the fast and selective removal of endocrine disrupting chemicals from aqueous solutions [J]. *Environ. Pollut.*, 2010, 158(6): 2317-2323
- [27] Wang S B, Ng C W, Wang W T, et al. A comparative study on the adsorption of acid and reactive dyes on multiwall carbon nanotubes in single and binary dye systems [J]. *J. Chem. Eng. Data*, 2012, 57(5): 1563-1569