

文章编号:2095-6002(2013)03-0054-03

引用格式:赵涛,胡燕,董笑含,等. 分子印迹固相萃取-毛细管电泳检测葡萄酒中“敌百虫”. 食品科学技术学报,2013,31(3): 54-56.

ZHAO Tao, HU Yan, DONG Xiao-han, et al. Molecularly imprinted solid-phase extraction coupled to capillary electrophoresis for determination of trichlorfon in grape wine. Journal of Food Science and Technology, 2013,31(3):54-56.

分子印迹固相萃取-毛细管电泳检测葡萄酒中“敌百虫”

赵涛¹, 胡燕², 董笑含¹, 张丽敏¹, 徐志祥^{1,*}

(1. 山东农业大学 食品科学与工程学院, 山东 泰安 271018; 2. 泰安市中心医院, 山东 泰安 271000)

摘要:以制备的“敌百虫”分子印迹聚合物作为固相萃取吸附剂,建立了分子印迹固相萃取与毛细管电泳联用检测葡萄酒中痕量敌百虫的新方法. 样品中“敌百虫”分子被选择性富集到吸附功能材料上,然后用2 mL 甲醇/冰乙酸(90:10, v/v)洗脱,氮吹后0.5 mL 双蒸水复溶,毛细管电泳仪分析. 该方法的最低检出限为75 $\mu\text{g/L}$,连续重复5次的相对标准偏差为4.50%;对两种进口葡萄酒空白样品进行3个浓度的添加回收实验,回收率为80.3%~96.2%.

关键词:葡萄酒; 敌百虫; 分子印迹技术; 固相萃取; 毛细管电泳

中图分类号: TS207.3; TQ317.5

文献标志码: A

随着农药的广泛及不合理使用,农产品农药残留超标问题日益突出,对人类健康造成严重威胁,引起各国政府的广泛关注. 葡萄酒中含有许多营养物质如氨基酸、矿物质元素(包括微量元素)和人体必需的维生素、多酚等成分,适量饮用能防止各种疾病,增强人体健康^[1-2]. 然而,在葡萄的田间管理过程中,经常喷施大量的农药包括杀虫剂、杀菌剂和除草剂等,虽然经过葡萄酒酿造尤其是酒精发酵过程,减少了农药残留量,但仍有一部分残余在葡萄酒中,对人身健康产生潜在的威胁,因此,控制葡萄酒中的农药残留势在必行^[3]. 目前,对于葡萄酒中农药残留的检测方法很多,如气相色谱法、液相色谱法、气相色谱-质谱联用法、液相色谱-质谱联用法等,其中气相色谱法是经典的分析方法^[4-6],但存在仪器价格昂贵,操作时间长等缺点.

毛细管电泳法具有高效、快速、溶剂用量少等优点,广泛应用于食品安全检测领域. 但毛细管电泳法检测灵敏度低,不能满足痕量农药检测的实际需

要,通常需要进行富集.

本研究以制备的分子印迹聚合物作为固相萃取吸附剂,对影响分子印迹固相萃取条件以及毛细管电泳分析体系进行了系统优化,从而建立分子印迹固相萃取与毛细管电泳联用快速检测葡萄酒中“敌百虫”的新方法.

1 实验部分

1.1 实验材料

从超市购买的6种不同品牌的葡萄酒a、b、c、d、e、f,其中a、b分别为卡萨特、弗莱明戈赤霞珠干红葡萄酒(2011年产),c、d、e、f为4种国产干红葡萄酒(2012年产).

1.2 主要试剂

“敌百虫”标准品(99%),农业部药检所;乙二醇二甲基丙烯酸酯, Sigma公司;甲基丙烯酸、偶氮二异丁腈,天津市凯通化学试剂有限公司;硼砂、硼酸、乙酸钠、冰乙酸、柠檬酸、柠檬酸钠、磷酸氢二钠、

收稿日期: 2013-01-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31171699);山东省高等学校科技计划项目(J11LC30).

作者简介: 赵涛,男,硕士研究生,研究方向为食品安全检测与质量控制;

*徐志祥,男,副教授,主要从事食品安全检测与质量控制方面的研究. 通讯作者.

磷酸二氢钠(分析纯),天津市永大化学试剂开发中心.

1.3 主要仪器

TH-3000 型高效毛细管电泳仪,天惠分离科学研究所;固相萃取仪,上海济成分析仪器有限公司;DZF-6030A 型真空干燥箱,上海一恒科技有限公司;SHB-IV 双 A 循环水式多用真空泵,郑州长城科工贸有限公司;KQ-5200E 型超声清洗器,昆山市超声仪器有限公司.

1.4 实验方法

1.4.1 “敌百虫”分子印迹聚合物的制备

“敌百虫”分子印迹聚合物的合成按照文献[7]方法进行.

1.4.2 分子印迹固相萃取-毛细管电泳联用检测流程

将 100 mg 制备的分子印迹聚合物装填在一个空的 SPE 预富集柱中,分别用 6 mL 甲醇和双蒸水润洗固相萃取小柱,然后控制流速为 2.5 mL/min 连续富集 100 mL“敌百虫”标准溶液,未被富集的作为废液排出,然后用 2 mL 甲醇/冰乙酸(90:10, v/v)洗脱. 收集洗脱液,氮吹,0.5 mL 双蒸水复溶,经 0.45 μm 滤膜过滤后,直接进样进行毛细管电泳分析.

2 结果与分析

2.1 检测波长的选择

利用紫外分光光度计对标样进行全波长扫描(170~250 nm),标准样在 190 nm 处有最强的吸收峰,因此选择检测波长为 190 nm.

2.2 电泳条件优化

2.2.1 缓冲溶液种类的选择

本实验考察了几种不同的缓冲体系:磷酸盐、柠檬酸-柠檬酸钠、乙酸-乙酸钠、硼砂-硼酸.

实验结果表明:柠檬酸-柠檬酸钠体系不但背景噪音较大,而且相应值小,导致检测灵敏度低;磷酸盐体系、乙酸-乙酸钠体系背景噪音较大,峰形变宽;硼砂-硼酸体系不但背景噪音较小,未知物的干扰影响小,而且检测灵敏度高,结果见表 1. 所以本实验选择硼砂-硼酸作为缓冲体系.

2.2.2 硼砂-硼酸缓冲体系 pH 值的优化

本研究对硼砂-硼酸缓冲体系的 pH 值进行了详细优化. 结果表明:“敌百虫”的吸收峰在 pH 值 8.0 达到最大值,峰形较好,噪音小,因此选择 pH 值

表 1 缓冲体系对电泳的影响

Tab. 1 Effect of different buffer solutions on CE		
序号	缓冲体系	峰面积
1	磷酸盐	160 054
2	柠檬酸-柠檬酸钠	20 990
3	乙酸-乙酸钠	144 065
4	硼砂-硼酸	794 235

为 8.0(见图 1).

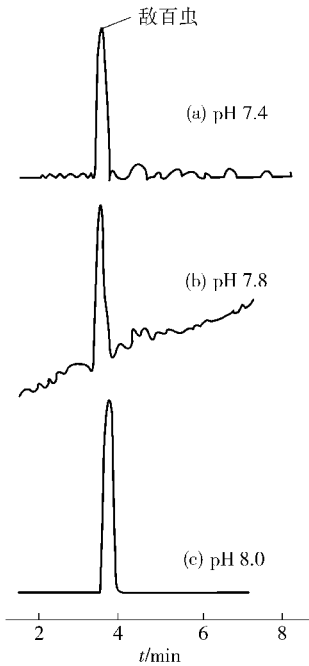


图 1 不同 pH 值下的“敌百虫”电泳图

Fig. 1 Electropherograms of trichlorfon at different pH

2.2.3 电压的选择

操作电压也是影响电泳分离的重要因素. 本实验比较了不同电压(10~20 kV)对分离结果的影响,并综合考虑了分析时间、峰形、灵敏度、噪音等因素,选择 15 kV 作为操作电压.

2.3 MISPE-CE 方法的分析特征量

在上样流速为 2.0 mL/min,富集 100 mL 条件下,该方法的最低检出限为 75 μg/L,连续富集 5 次的精密度(RSD)为 4.50%.

2.4 葡萄酒的添加回收率

为了验证所建立方法的准确性,本实验对葡萄酒样品进行添加回收实验. 两种法国进口干红葡萄酒(a、b)经检测无“敌百虫”,作为空白样品. 取 100 mL 葡萄酒空白样品于 500 mL 容量瓶中,然后加入 1.0 mL “敌百虫”标准溶液(10,100,500 mg/L),超声 15 min,密封静置 24 h. 然后进行分子印迹固相

萃取提取、富集和毛细管电泳检测,结果见表 2.

表 2 葡萄酒的添加回收率

Tab. 2 Recoveries of trichlorfon in grape wine samples after spiking with different levels

进口葡萄酒	添加浓度/(mg·L ⁻¹)	回收率/%
a	5.0	93.5±3.8
a	1.0	88.2±3.6
a	0.1	82.4±3.4
b	5.0	96.2±1.8
b	1.0	85.1±2.5
b	0.1	80.3±3.2

由表 2 可知,该方法对两种进口葡萄酒 3 个浓度的添加回收率为 80.3%~96.2%. 因此该方法准确度高,可应用于实际样品中“敌百虫”的检测.

2.5 国产葡萄酒中“敌百虫”的测定

采用本研究建立的分子印迹固相萃取-毛细管电泳分析方法,对 4 种 2012 年国产干红葡萄酒(c、d、e、f)中“敌百虫”农药残留情况进行筛查(见图 2). 结果表明:所选取的 4 种国产葡萄酒均未检测到“敌百虫”,这与胡媛、庄丽丽等人的研究结果相一致^[8-9]. 目前葡萄种植过程中极少使用“敌百虫”农药,因而在葡萄酒中检测不到“敌百虫”.

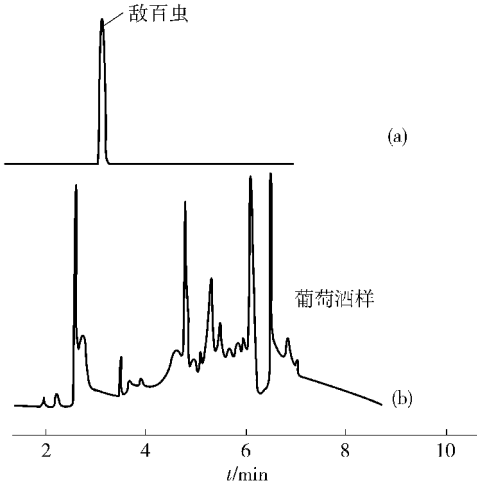


图 2 “敌百虫”标准溶液(a)和葡萄酒实际样(b)的电泳图
Fig. 2 Electropherograms of trichlorfon standard solution (a) and grape wine (b)

3 结 论

本文建立了一种分子印迹固相萃取与毛细管电

泳联用快速检测葡萄酒中“敌百虫”的新方法. 该方法具有较高的灵敏度和良好的精确性,可以满足农产品中“敌百虫”农药快速检测的需要.

参考文献:

[1] 吴新颖,张久慧,曾毅,等. 农药的使用与绿色葡萄生产[J]. 中外葡萄与葡萄酒,2008(4): 21-23.

[2] 冯建国. 浅谈农药残留分析检测技术的应用现状[J]. 农药科学与管理,2010,31(6): 37-41.

[3] Hyötyläinen T, Tuutijärvi T, Kuosmanen K. Determination of pesticide residues in red wines with microporous membrane liquid-liquid extraction and gas chromatography[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2002, 372: 732-736.

[4] Likas D T, Tsiropoulos N G, Miliadis G E. Rapid gas chromatographic method for the determination of famoxadone, trifloxystrobin and fenhexamid residues in tomato, grape and wine sample[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1150: 208-214.

[5] Miliadis G E, Tsiropoulos N G, Aplada-Sarlis P G. High-performance-liquid chromatographic determination of benzoylurea insecticides residues in grapes and wine using liquid and solid-phase extraction[J]. Journal of Chromatography A, 1999, 835(1-2): 113-120.

[6] Bolaños P P, Romero-González R, Frenich A G, et al. Application of hollow fibre liquid phase microextraction for the multiresidue determination of pesticides in alcoholic beverages by ultra-high pressure liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1208(1-2): 16-24.

[7] Meng L, Qiao X G, Song J M, et al. Study of an online molecularly imprinted solid phase extraction coupled to chemiluminescence sensor for the determination of trichlorfon in vegetables[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(24): 12745-12751.

[8] 胡媛,刘文民,周艳明,等. 固相微萃取-气相色谱法测定红葡萄酒中残留的有机磷农药[J]. 色谱,2006,24(3): 290-293.

[9] 庄丽丽. 固相萃取-气相色谱法测定葡萄酒中 16 种有机磷农药残留[J]. 福建分析测试,2012,21(5): 11-16.

(下转第 63 页)

Comparison of Three Extraction Methods about Polysaccharides of Chestnut Shell

LIU Qi¹, YANG Fang¹, DU Ping^{2,3}, ZHANG Cong-lan¹, YANG Deng-xiang^{1,*}

(1. Zhixing College, Hubei University, Wuhan 430011, China;

2. Research Center for Analysis and Measurement, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China; 3. Analytic and Testing Research Center of Yunnan, Kunming 650093, China)

Abstract: This study investigated the optimal extraction conditions of chestnut shells polysaccharides by utilizing three different methods, ultrasonic extraction, water extraction, and alkali extraction. The single factor test and orthogonal experiment were adopted to optimize the extraction conditions. The results indicated that the best extracting method was ultrasonic extraction and the polysaccharides is 9.15%. The yields of polysaccharides from water extraction and alkali extraction were 5.99% and 4.72%. The yields of three methods were significantly different by analyzing with SPSS.

Key words: chestnut shell; ultrasonic extration; water extraction; alkali extraction; polysaccharides

(责任编辑:李 宁)

(上接第56页)

Molecularly Imprinted Solid-phase Extraction Coupled to Capillary Electrophoresis for Determination of Trichlorfon in Grape Wine

ZHAO Tao¹, HU Yan², DONG Xiao-han¹, ZHANG Li-min¹, XU Zhi-xiang^{1,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China;

2. The Central Hospital of Taian, Taian 271000, China)

Abstract: In this study, using the prepared trichlorfon molecularly imprinted polymer as sorbent, a novel method for the determination of trichlorfon residues in grape wine was developed by utilizing molecularly imprinted solid-phase extraction coupled to capillary electrophoresis (CE). Trichlorfon in the sample was selectively adsorbed onto molecularly imprinted polymer (MIP). After the sample loading was completed, the molecularly imprinted solid-phase column was eluted with 2 mL methanol/acetic acid (90:10, v/v). The elution was condensed to dryness under a gentle flow of nitrogen, accurately re-dissolved with 0.5 mL doubly deionized water (DDW), and then injected into CE for analysis. The limit of detection (LOD) was 75 $\mu\text{g/L}$, and the RSD was 4.50%. The blank grape wine samples spiked with trichlorfon at three levels were extracted and determined by this presented method with recoveries ranging from 80.3% to 96.2%.

Key words: grape wine; trichlorfon; molecularly imprinting technology; solid-phase extraction; capillary electrophoresis

(责任编辑:檀彩莲)