



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105061663 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 18

(21) 申请号 201510540905. 2

C08K 9/10(2006. 01)

(22) 申请日 2015. 08. 28

C08K 3/22(2006. 01)

(71) 申请人 湖南农业大学

B01J 20/26(2006. 01)

地址 410128 湖南省长沙市芙蓉区东湖湖南
农业大学

B01J 20/30(2006. 01)

G01N 1/34(2006. 01)

(72) 发明人 谭君 刘仲华

(74) 专利代理机构 长沙正奇专利事务有限责
任公司 43113

代理人 何为 袁颖华

(51) Int. Cl.

C08F 220/06(2006. 01)

C08F 222/14(2006. 01)

C08F 2/44(2006. 01)

C08J 9/28(2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 发明名称

用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印
迹聚合物及应用

(57) 摘要

一种用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物,该聚合物 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$ 是将油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子、伪模板分子和功能单体 MAA 加入到致孔剂中,自组装后加入交联剂 EGDMA 和引发剂 AIBN,完全溶解后滴加到聚乙烯基吡咯烷酮水溶液中完成聚合反应,再利用外加磁场分离出含有伪模板分子的 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$ 后,除去伪模板分子,真空干燥,制得。本聚合物采用油酸对 Fe_3O_4 纳米粒子进行包覆,有效避免 Fe_3O_4 在制备过程中的团聚和结块现象;以与目标农药结构类似的化合物作为伪模板分子进行分子印迹聚合反应,有效避免模板泄漏问题所造成的结果偏高甚至假阳性结果;利用聚合物的磁性易于从液体样品中快速分离并带出目标农药,选择性强、干扰少、操作简单,洗脱后可循环使用,且适用于水性样品中效果良好。

1. 一种用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物, 其特征在于, 该聚合物是按如下步骤制备而成:

a. 制备 0.02-0.03g/mL 质量体积浓度的聚乙烯基吡咯烷酮水溶液;

b. 将油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子、伪模板分子和功能单体 MAA 按摩尔比为 1:1:4-2:1:4 加入到致孔剂中, 在 4℃ 下自组装 1 小时; 该致孔剂为甲苯或乙腈, 伪模板分子根据目标物农药的结构选择与该农药结构相似的化合物;

c. 将交联剂 EGDMA 和引发剂 AIBN 按摩尔比 100:3 加入到步骤 b 的溶液中, 超声至完全溶解, 然后将混合溶液滴加到步骤 a 的溶液中, 40-80℃ 下进行聚合反应 36-18h; 其中, 加入的交联剂与步骤 b 中反应物伪模板分子的摩尔比为 20:1-30:1;

d. 上述反应结束后, 利用外加磁场分离得到含有伪模板分子的磁性分子印迹聚合物粒子, 该聚合物粒子先采用索氏提取洗脱除去伪模板分子, 再依次以去离子水、甲醇超声洗涤, 至溶液呈中性, 最后真空干燥。

2. 如权利要求 1 所述的用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物, 其特征在于, 所述目标物农药为三氯杀螨醇、氯氰菊酯、o, p'-滴滴涕及六六六, 相应地, 伪模板分子为 p, p'-DDT、氟氯氰菊酯、o, p'-DDT 及六氯苯。

3. 如权利要求 1 所述的用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物, 其特征在于, 所述步骤 b 中油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子是采用共沉淀法, 将反应物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 与 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 按摩尔比 2:3 溶解在脱气超纯水中, 再按每 0.02 摩尔反应物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 加 2mL 油酸的比例加入油酸, 超声水浴 20min, 再在 600r/min 下氮吹搅拌, 当温度升至 60℃ 时滴加 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的加入量为每 0.02 摩尔反应物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 加 15mL $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 反应 30min 后, 一边搅拌一边滴加油酸, 油酸的加入量为每 0.02 摩尔反应物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 加 2mL 油酸, 80℃ 下反应 1h, 在外加磁场作用下分离出沉淀, 沉淀依次用蒸馏水和乙醇洗涤, 最后于 50℃ 真空干燥 24h。

4. 如权利要求 1 所述的用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物, 其特征在于, 所述步骤 d 中索氏提取时采用体积比为 9:1 的甲醇和冰醋酸作为提取液。

5. 如权利要求 1 所述的用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物, 其特征在于, 所述步骤 d 中真空干燥的温度为 40-60℃, 时间为 12-24h。

6. 如权利要求 1-5 中任一项所述的伪模板磁性分子印迹聚合物在液体样品残留农药检测中的应用。

用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物及应用

技术领域

[0001] 本发明属于农残检测样品前处理领域,具体涉及一种可用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物粒子 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$,选择性吸附样品中的残留农药,以便于样品中的农残检测。

背景技术

[0002] 农药残留的检测方法主要包括:提取、净化、浓缩、测定四个步骤,其中提取和净化是目前样品前处理的主要技术核心。当前制定的现行国家标准方法、行业标准方法和地方标准方法,其样品前处理操作主要推荐溶剂提取后,固相萃取法(Solid-Phase Extraction, SPE)净化预分离。SPE方法主要存在如下问题:1、复杂耗时,一般需要3.0-3.5小时;2、成本高,净化过程中所使用的固相萃取小柱价格昂贵(100-120元/支),且只能一次性使用;3、预处理过程中有毒有害的有机溶剂消耗较多(80-120毫升),对环境和分析人员造成危害。

[0003] 在国内外的文献报道中,近年来针对农残分析,研究较多的样品前处理方法有:固相微萃取、搅拌棒吸附萃取、QuEChERS方法、液液微萃取等等,但普遍存在着操作繁琐、耗时较长、成本较高、可重复利用度低、环境污染较为突出等诸如此类的问题。

[0004] 磁性分子印迹技术是通过聚合反应,在磁性纳米颗粒表面进行分子印迹聚合,达到分子印迹与磁性颗粒的有机结合,制备的磁性分子印迹聚合物兼具良好的超顺磁性和高度的识别选择性。在实际的农残分析的样品前处理过程中,磁性聚合物粒子易于从样品溶液中快速分离,同时实现目标农药的快速分离。

[0005] Fe_3O_4 纳米粒子由于具备毒性小、稳定性好、成本低、容易制备等优点,常被作为MIPs的磁性载体。然而, Fe_3O_4 纳米粒子具有高比表面能,碱性条件下制备的 Fe_3O_4 的表面含有较多的活性基团(-OH),加之粒子间偶极矩作用易团聚,分散性差,共沉淀法所获得的黑色 Fe_3O_4 沉淀极易结块,难以呈分散的颗粒状,在实际应用中难以作为“内核”进行分子印迹聚合反应。

[0006] 此外,分子印迹技术普遍存在着“模板泄漏”的技术瓶颈,在仪器检测中可能造成农残测定结果偏高,甚至是假阳性结果。此外,目前较为成熟的分子印迹聚合物多适于在有机溶剂中合成,对水溶液中农药目标物的选择性吸附效果不佳,而实际农残分析的样品以水相体系较为多见,且水作为溶剂较有机溶剂提取更为绿色环保。因此,切实从技术合成的途径,制备一种选择性强、无模板泄漏干扰、适用于水相体系的磁性分子印迹聚合物,应用于液体样品中农药残留的简单、快速的分析十分必要。

发明内容

[0007] 本发明所要解决的技术问题是:针对上述现有技术的不足,提供一种用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$,该聚合物粒子对液体样品中农残具

有选择性识别和吸附作用,并易于从样品中分离,能应用于各类样品中残留农药的分析。

[0008] 为解决上述技术问题,本发明所采用的技术方案是:一种可用于水性样品农残检测的伪模板磁性分子印迹聚合物,该聚合物 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$ 是按如下步骤制备而成,结合参见图 1:

[0009] a. 制备 0.02-0.03g/mL 质量体积浓度的聚乙烯基吡咯烷酮水溶液;

[0010] b. 将油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子、伪模板分子和功能单体 MAA 按摩尔比为 1:1:4-2:1:4 加入到致孔剂中,在 4℃ 下自组装 1 小时;该致孔剂为甲苯或乙腈,伪模板分子根据目标物农药的结构选择与该农药结构相似的化合物;

[0011] 上述油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子是采用共沉淀法,将反应物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 与 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 按摩尔比 2:3 溶解在脱气超纯水中,再按每 0.02 摩尔反应物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 加 2mL 油酸的比例加入油酸,超声水浴 20min,再在 600r/min 下氮吹搅拌,当温度升至 60℃ 时滴加 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 的加入量为每 0.02 摩尔反应物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 加 15mL $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$,反应 30min 后,一边搅拌一边滴加油酸,油酸的加入量为每 0.02 摩尔反应物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 加 2mL 油酸,80℃ 下反应 1h,在外加磁场作用下分离出沉淀,沉淀依次用蒸馏水和乙醇洗涤,最后于 50℃ 真空干燥 24h。

[0012] 上述目标物农药为三氯杀螨醇、氯氰菊酯、o, p' -滴滴滴、六六六,对应地,伪模板分子为 p, p' -DDT、氟氯氰菊酯、o, p' -DDT、六氯苯。

[0013] c. 按摩尔比 100:3 将交联剂 EGDMA 和引发剂 AIBN 加入到步骤 b 的溶液中,超声至完全溶解,然后将混合溶液滴加到步骤 a 的溶液中,40-80℃ 下进行聚合反应 36-18h;其中,将交联剂和引发剂加入到步骤 b 的溶液中时,加入的交联剂与步骤 b 中反应物伪模板分子的摩尔比为 20:1-30:1;

[0014] d. 上述反应结束后,利用外加磁场分离得到含有伪模板分子的磁性分子印迹聚合物粒子,该聚合物粒子先采用索氏提取洗脱除去伪模板分子,再依次以去离子水、甲醇超声洗涤,至溶液呈中性,最后真空干燥。

[0015] 上述索氏提取时采用体积比为 9:1 的甲醇和冰醋酸作为提取液。

[0016] 上述真空干燥的温度为 40-60℃,时间为 12-24h。

[0017] 本发明同时提供上述磁性分子印迹聚合物 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$ 在液体样品尤其是水性样品残留农药检测中的应用。

[0018] 本发明的磁性分子印迹聚合物 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$ 采用油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子作为聚合物粒子制备的磁性内核,有效避免 Fe_3O_4 在制备过程中的团聚和结块现象;且利用 MIPs 的磁性易于从茶汤中快速分离,同时分离目标农药;并以与目标物农药结构类似的化合物作为伪模板分子,进行聚合反应,制备成的聚合物粒子,吸附对应的农药,有效避免分子印迹过程中的模板泄漏问题;同时,由于一般有机溶剂中合成的 MIPs 在水溶液中选择性吸附效果不佳,本聚合反应过程首先在有机溶剂中进行自组装,在水溶液中完成最终的交联聚合,从而在水相体系中具有有良好的选择性吸附特性。

[0019] 本发明方法中采用合成的磁性分子印迹聚合物粒子 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$,能形成与目标物质分子的空间结构相似的印迹空穴,特异性识别目标物质分子,选择性强,对水性样品中的农残具有选择性识别和吸附作用,干扰少,能有效排除水性样品复杂基质的干扰;操作简单,吸附农残后的磁性分子印迹聚合物粒子,在外加磁场下能直接从水性溶液中分离,然后

通过洗涤（除去表面的杂质）、洗脱（分离通过印迹作用吸附的农残），即可利用仪器检测进行定性与定量分析；且本分子印迹聚合物粒子可循环使用，洗脱后可重复吸附农残，有利于降低成本，提高工作效率。本分子印迹聚合物粒子不仅适用于水性样品，同时也适用于溶剂溶解或提取制成的液体样品。

附图说明

[0020] 图 1 是本发明的磁性分子印迹聚合物粒子 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$ 的制备过程图。

具体实施方式

[0021] 实施例 1 三氯杀螨醇农药伪模板磁性分子印迹聚合物粒子 ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$) 的制备

[0022] 油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子的制备：将 0.02mol 的 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 与 0.03mol 的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶解在 100mL 脱气超纯水中，加入 2mL 油酸，超声水浴 20min，再在 600r/min 下氮吹搅拌，当温度上升至 60℃ 时逐滴加入 15mL 的 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ，反应 30min 后，一边搅拌一边逐滴加入 2mL 油酸，80℃ 下反应 1h，用磁铁分离出沉淀，沉淀依次用蒸馏水和乙醇洗涤，最后于 50℃ 真空干燥 24h。

[0023] 粒子的制备：取 3.0g 聚乙烯基吡咯烷酮 (PVP) 加入到 120mL 水中，在 600r/min 下搅拌至使聚乙烯基吡咯烷酮完全溶解，得聚乙烯基吡咯烷酮水溶液；取 1mmol 油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子 ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@OA}$)、1.0mmol 的伪模板分子 p, p'-DDT 和 4.0mmol 的功能单体甲基丙烯酸 (MAA) 悬浮在 20mL 的致孔剂甲苯中，在 4℃ 下自组装 1h，再加入 20mmol 的交联剂二甲基丙烯酸乙二醇酯 (EGDMA) 和 0.6mmol 的偶氮二异丁腈 (AIBN)，超声使 EGDMA 和 AIBN 完全溶解，然后将混合溶液逐滴加入到聚乙烯基吡咯烷酮水溶液中，60℃ 下聚合反应 24h；反应完成后，利用外加磁体将得到的聚合物产物分离，弃去溶液，然后将产物用 200mL 甲醇：冰醋酸 (9:1, v:v) 的混合液索氏提取 6h，洗脱聚合物产物中的伪模板分子，重复索氏提取的洗脱操作，直至仪器检测中 p, p'-DDT 分子不出峰，即洗脱液中无伪模板分子，再依次以去离子水、甲醇超声洗涤产物，至溶液呈中性，除去残留的乙酸，最后 50℃ 下真空干燥 24h。

[0024] 实施例 2 氯氰菊酯农药伪模板磁性分子印迹聚合物粒子 ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@MIPs}$) 的制备

[0025] 油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子的制备：将 0.02mol 的 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 与 0.03mol 的 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 溶解在 100mL 脱气超纯水中，加入 2mL 油酸，超声水浴 20min，再在 600r/min 下氮吹搅拌，当温度上升至 60℃ 时逐滴加入 15mL 的 $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ，反应 30min 后，一边搅拌一边逐滴加入 2mL 油酸，80℃ 下反应 1h，用磁铁分离出沉淀，沉淀依次用蒸馏水和乙醇洗涤，最后于 50℃ 真空干燥 24h。

[0026] 粒子的制备：取 3.0g 聚乙烯基吡咯烷酮 (PVP) 加入到 120mL 水中，在 600r/min 下搅拌至完全溶解，得聚乙烯基吡咯烷酮水溶液；取 2mmol 油酸包覆的 Fe_3O_4 纳米粒子 ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{@OA}$)、1.0mmol 的伪模板分子氟氯氰菊酯和 4.0mmol 的功能单体甲基丙烯酸 (MAA) 悬浮在 20mL 的致孔剂甲苯中，在 4℃ 下自组装 1h，再加入 20mmol 的二甲基丙烯酸乙二醇酯 (EGDMA) 和 0.6mmol 的偶氮二异丁腈 (AIBN)，超声使 EGDMA 和 AIBN 完全溶解，然后将混合溶液逐滴加入到聚乙烯基吡咯烷酮水溶液中，60℃ 下聚合反应 24h；反应完成后，利用外加磁体将得到的聚合物产物分离，倾倒弃去溶液，然后将产物用 200mL 甲醇：冰醋酸 (9:1, v:v) 的混合液索氏提取 6h，洗脱聚合物产物中的伪模板分子，重复索氏提取的洗脱操作，直至仪

器检测中氟氯氰菊酯分子不出峰,即洗脱液中无伪模板分子,再依次以去离子水、甲醇超声洗涤产物,至溶液呈中性,除去残留的乙酸,最后 50℃ 下真空干燥 24h。

[0027] 应用实施例绿茶茶汤中三氯杀螨醇的加标回收率试验

[0028] 本实施例中,以含有残留农药水性样品体系(茶汤)为例。

[0029] 称取 3.0g 绿茶,用 120mL 开水冲泡保持沸腾 5min,然后过 0.45 μm 水膜,冷却至室温。取 30mL 绿茶汤溶液,等分为三份,每份中分别加标三氯杀螨醇 0.01、0.05、0.10mg/L 后与 40mg 的 Fe₃O₄@MIPs 在 20mL 具塞试管中混合,搅拌使 Fe₃O₄@MIPs 与绿茶汤溶液充分接触,5min 后在试管外部放一块磁铁吸附 Fe₃O₄@MIPs 粒子,将试管中的溶液倒出,剩下的颗粒物用 2mL 的水冲洗除杂,最后用 4mL 的乙腈振荡洗脱 120min,洗脱液氮吹浓缩干燥,残留物以正己烷溶解后定容 1mL,用 GC-MS 检测,结果如下表 1。

[0030] 表 1 绿茶茶汤中三氯杀螨醇的加标回收率检测结果

[0031]

加标量	回收率 R (%)			平均值 (%)	SD	RSD (%)
0.01mg/L	73.25	79.17	82.28	78.23	4.59	5.86
0.05mg/L	82.65	94.89	85.56	87.70	6.40	7.29
0.10mg/L	98.94	95.27	103.9	99.37	4.34	4.36

[0032] 回收率试验结果表明,采用本方法测定绿茶茶汤中的三氯杀螨醇农残,在 0.01-0.10mg/L 的高、中、低三种加标量下,其回收率结果的平均值在 78.23% -99.37% 之间,加标回收率较高,该方法能够充分吸附并准确测定绿茶茶汤中的残留三氯杀螨醇农药。此外,本方法相同加标级别的回收率结果之间的平行性良好,相对标准偏差(RSD)在 7.29% 以内;不同加标级别的回收率结果之间的 RSD 为 11.97%,该方法重复性好。

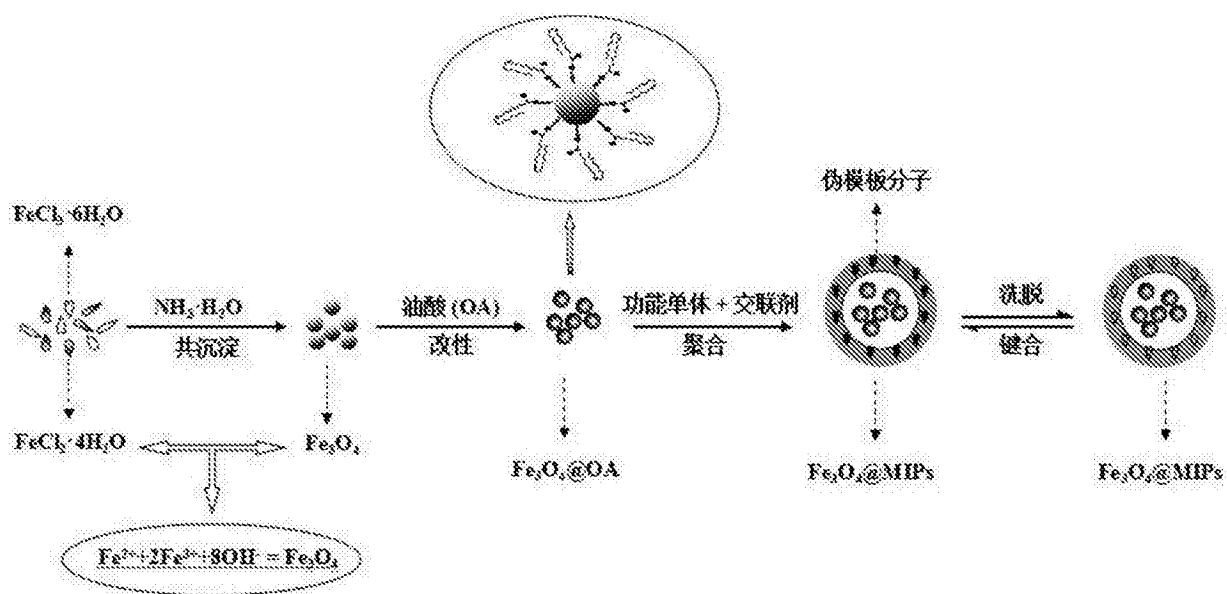


图 1