



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106248756 A

(43)申请公布日 2016.12.21

(21)申请号 201610741792.7

(22)申请日 2016.08.27

(71)申请人 浙江省农业科学院

地址 310021 浙江省杭州市石桥路198号省农科院质标所

(72)发明人 齐沛沛 王新全 王祥云 王娇
汪志威 徐霞红 章虎 徐浩
王强

(74)专利代理机构 杭州赛科专利代理事务所
(普通合伙) 33230

代理人 周文停

(51) Int. Cl.

G01N 27/327(2006.01)

G01N 27/48(2006.01)

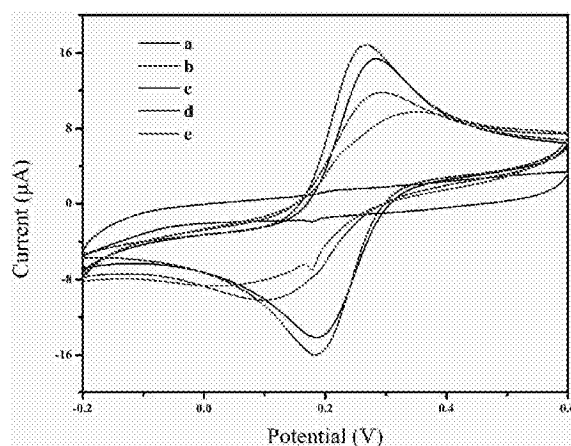
权利要求书2页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极及其电化学传感器的制备、应用和测试方法

(57)摘要

本发明公开了一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极及其电化学传感器的制备、应用和测试方法,先在电极的表面沉积金纳米颗粒作为基底;采用原位电聚合法在电极表面制备膜厚可控的电聚合膜,得到具有识别位点和空穴的戊唑醇分子印迹膜电极,电极为金电极或玻碳电极,方法步骤为(1)电极预处理、(2)沉积金纳米颗粒、(3)分子印迹膜的制备、(4)分子模板移除;电化学传感器应用于选择性测定果蔬样品中的戊唑醇。测试包括步骤如下:(a)萃取目标分子、(b)电化学测试,本发明通过在金电极或者玻碳电极的表面沉积金纳米颗粒作为基底,并形成特异的分子印迹膜,大大提高了测定果蔬样品中的戊唑醇的检测特异性、灵敏度和响应。



1. 基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极,其特征在于:基于纳米金颗粒的增敏效应,先在电极的表面电沉积金纳米颗粒作为基底;然后以戊唑醇为模板分子,以邻氨基苯酚、间苯二酚、对氨基苯甲酸、对氨基苯硼酸中的一种或几种的混合物为聚合功能单体,以磷酸盐缓冲液为支持电解质溶液,获得电聚合预混合液;采用原位电聚合法在电极表面制备膜厚可控的电聚合膜,使用甲醇-乙酸溶液移除模板分子,得到具有识别位点和空穴的戊唑醇分子印迹膜电极。

2. 基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的制备方法,其特征在于:所述电极为金电极或玻碳电极,所述方法按照下述步骤进行:

(1) 电极预处理:使用双氧水和浓硫酸混合液处理10 min后,用 Al_2O_3 打磨抛光,用水将电极冲洗干净后,在水溶液中超声10 min,待氮气吹干后,将电极置于 0.1 mol L^{-1} 的稀硫酸溶液中,在 -0.2 - 1.6 V 电压范围内,采用循环伏安法扫描15圈,结束后用水冲洗电极,并氮气吹干备用;

(2) 沉积金纳米颗粒:将电极置于四氯合金酸溶液中采用恒电位法电沉积金纳米颗粒AuNPs;

(3) 分子印迹膜的制备:将(2)所得电极浸入戊唑醇、邻氨基苯酚、间苯二酚混合液中,采用循环伏安法原位电聚合制备分子印迹膜。

3. 电聚合后的电极用水冲洗后,氮气吹干,放置1 h后进行模板分子移除;

(4) 分子模板移除:以甲醇和乙酸混合液为溶剂,将(3)所得电极固定于磁力搅拌器上处理30 min,取出后水洗得到所述戊唑醇分子印迹膜电极。

4. 如权利要求2所述的基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的制备方法,其特征在于:所述(1)中使用的混合液中双氧水和浓硫酸的体积比为1:3, Al_2O_3 的粒径为 $0.05 \mu\text{m}$ 。

5. 如权利要求2所述的基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的制备方法,其特征在于:所述四氯合金酸溶液的浓度为 2 - 5 mmol L^{-1} ,在恒电位 -0.2 V 沉积 100 - 250 s 。

6. 如权利要求2所述的基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的制备方法,其特征在于:所述(3)中戊唑醇、邻氨基苯酚、间苯二酚混合液的体积比为1:3:3,电聚合反应条件为:电位范围 -0.4 - 1.0 V 、扫速速率为 50 mV/S 、扫描圈数为5圈-15圈。

7. 如权利要求2所述的基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的制备方法,其特征在于:所述(4)中甲醇和乙酸的体积比为9:1,用量为 15 ml 。

8. 基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器,其特征在于:所述电极为柱状电极,以修饰纳米金和分子印迹膜的电极为工作电极,铂电极为对电极,甘汞电极为参比电极组成三电极体系,所述电聚合功能单体为对氨基苯酚和间苯二酚,其中对氨基苯酚、间苯二酚与戊唑醇之间的摩尔比为3:3:1。

9. 基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器的应用,其特征在于:所述电化学传感器应用于选择性测定果蔬样品中的戊唑醇。

10. 基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器的测试方法,其特征在于:所述测试包括步骤如下:

(a) 萃取目标分子:将所述电化学传感器固定于磁力搅拌器上,悬浮于样品溶液中吸附15 min,取出用水冲洗后进行电化学测试;

(b) 电化学测试:采用示差脉冲伏安法,在三电极体系中测定,以纳米金和分子印迹膜

修饰的电极为工作电极,铂电极为对电极,甘汞电极为参比电极组成三电极体系,电解溶液为5 mmol L⁻¹铁氰化钾-亚铁氰化钾的氯化钾溶液,记录示差脉冲伏安扫描曲线及最大响应电流值。

基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极及其电化学传感器的制备、应用和测试方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种分子印迹膜和电化学检测技术领域,具体为基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极及其电化学传感器的制备、应用于选择性测定果蔬样品中的戊唑醇及其测试方法。

背景技术

[0002] 戊唑醇属于三唑类杀菌剂,是硫醇脱甲基抑制剂,可以用于重要经济作物的种子处理或叶面喷洒,能够有效的防治禾谷类作物的多种锈病、白粉病、网斑病、根腐病、赤霉病、黑穗病及种传轮斑病、茶树茶饼病,香蕉叶斑病等。然而,随着戊唑醇的广泛使用,相关农产品中的农药残留问题也引起了广泛的关注,而高效、可靠的农药残留检测技术则为支撑农产品质量安全起到重要的作用。

[0003] 目前,戊唑醇残留的检测方法主要以色谱和色谱-质谱联用法为主,具有高灵敏度、高准确度的优势,尤其是色谱-质谱联用法是实现其定性定量分析的极佳选择。然而这些分析方法局限性在于:所需的分析仪器一般放置在远离现场的标准分析实验室内,且仪器价格昂贵,操作复杂,需要受过培训的操作人员;样品前处理耗时长,难以满足农产品中农药残留现场快速检测的需求。因此,亟需发展便捷、价格低廉和易携带的农药残留快速检测方法。与传统分析方法相比,传感器技术具有样品前处理简便、分析成本低、响应时间短、适合现场检测等优点,为农药残留的快速检测提供了一种新的分析手段,在食品安全领域具有十分广阔的应用前景。

[0004] 传感器的选择性决定了其定性分析的准确度,是影响其实际应用的重要指标。分子印迹技术以高选择性优势于近年备受关注,在电极表面固载分子印迹聚合物形成分子印迹膜电极可以极大的提高传感器的特异性识别能力,而如何将分子印迹膜材料引入电极表面是影响传感器灵敏度、稳定性和重现性的关键。目前常用的方法有涂敷法、自组合法和原位电聚合法,各有优势。原位电聚合法采用电化学方法将预聚合溶液中的功能单体和模板分子原位聚合在预处理的电极表面,主要通过控制电聚合溶液中各单体浓度和电化学方法参数来调节分子印迹膜的性能,具有膜厚可控,结果重现性好的优势,因而,本研究主要利用原位电聚合法来制备分子印迹膜电化学传感器。此外,灵敏度也是评估传感器的另一重要指标。为了提高传感器的灵敏度,将具有增敏效应的纳米材料用于传感器的设计也为研究者认可。因而,本研究选用直接在电极表面预沉积金纳米颗粒的方法来提高分子印迹聚合物对戊唑醇的响应灵敏度。而已有研究尚未有报道基于电聚合法及金纳米颗粒的增敏效应来研制戊唑醇分子印迹传感器。因此,本研究工作以选择性识别戊唑醇为目的,采用电聚合法在电极表面制备分子印迹膜,并选用电沉积纳米金颗粒来提升传感器的灵敏度,并对影响电极性能的各因素进行了系统的优化工作,获得对戊唑醇具有特异识别能力的电极及其快速检测方法,为戊唑醇的快速检测提供新的产品与方法。

发明内容

[0005] 针对现有技术存在的问题,本发明提供一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极及其电化学传感器的制备、应用和测试方法。进一步提高电化学传感器测定果蔬样品中的戊唑醇的检测特异性、灵敏度和响应。

[0006] 本发明的第一目的在于提供一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极,基于纳米金颗粒的增敏效应,先在电极的表面沉积金纳米颗粒作为基底;后以戊唑醇为模板分子,以邻氨基苯酚、间苯二酚、对氨基苯甲酸、对氨基苯硼酸中的一种或几种的混合物为聚合功能单体,以磷酸盐缓冲液为支持电解质溶液,获得电聚合预混合液;采用原位电聚合在电极表面制备膜厚可控的电聚合膜,使用甲醇-乙酸溶液移除模板分子,得到具有识别位点和空穴的戊唑醇分子印迹膜电极。

[0007] 本发明的第二目的在于提供一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的制备方法,上述电极为金电极或玻碳电极,上述方法按照下述步骤进行:

(1)电极预处理:使用双氧水和浓硫酸混合液处理10 min后,用 Al_2O_3 打磨抛光,用水将电极冲洗干净后,在水溶液中超声10 min,待氮气吹干后,将电极置于 0.1 mol L^{-1} 的稀硫酸溶液中,在 $-0.2\sim 1.6\text{ V}$ 电压范围内,采用循环伏安法扫描15圈,结束后用水冲洗电极,并氮气吹干备用;

(2)沉积金纳米颗粒:将电极置于四氯合金酸溶液中采用恒电位法电沉积金纳米颗粒AuNPs;

(3)分子印迹膜的制备:将(2)所得电极浸入戊唑醇、邻氨基苯酚、间苯二酚混合液中,采用循环伏安法原位电聚合制备分子印迹膜。电聚合后的电极用水冲洗后,氮气吹干,放置1 h后进行模板分子移除;

(4)分子模板移除:以甲醇和乙酸混合液为溶剂,将(3)所得电极固定于磁力搅拌器上处理30 min,取出后水洗得到上述戊唑醇分子印迹膜电极。

[0008] 本发明方法进一步设置为,上述(1)中使用的双氧水和浓硫酸混合液中两者体积比为1:3, Al_2O_3 的粒径为 $0.05\text{ }\mu\text{m}$ 。

[0009] 本发明方法进一步设置为,上述(2)中四氯合金酸溶液的浓度为 3 mmol L^{-1} ,在恒电位 -0.2 V 沉积200 s。

[0010] 本发明方法进一步设置为,上述(3)中戊唑醇、邻氨基苯酚、间苯二酚混合液的体积比为1:3:3,电聚合反应条件为:电位范围 $-0.4\sim 1.0\text{ V}$ 、扫速速率为 50 mV/S 、扫描圈数为10圈。

[0011] 本发明方法进一步设置为,上述(4)中甲醇:乙酸的体积比为9:1,用量为15ml。

[0012] 本发明的第三目的在于提供一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器,上述电极为柱状电极,以修饰纳米金和分子印迹膜的电极为工作电极,铂电极为对电极,甘汞电极为参比电极组成三电极体系,上述电聚合功能单体为邻氨基苯酚和间苯二酚,对氨基苯酚、间苯二酚与戊唑醇之间的摩尔比为3:3:1。

[0013] 本发明的第四目的在于提供一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器的应用,上述电化学传感器应用于选择性测定果蔬样品中的戊唑醇,检测限可以达到 $0.02\text{ }\mu\text{mol/L}$ 。

[0014] 本发明的第五目的在于提供一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器的测试方法,上述测试包括步骤如下:

(a)萃取目标分子:将上述电化学传感器固定于磁力搅拌器上,悬浮于样品溶液中吸附 15 min,取出用水冲洗后进行电化学测试;

(b)电化学测试:采用示差脉冲伏安法,在三电极体系中测定,以纳米金和分子印迹膜修饰的电极作为工作电极,铂电极为对电极,甘汞电极为参比电极组成三电极体系,电解溶液为 5 mM 铁氰化钾-亚铁氰化钾的氯化钾溶液,记录示差脉冲伏安扫描曲线及最大响应电流值。

[0015] 本发明具有下述有益效果:

本发明利用金纳米颗粒的增敏效应,通过在电极表面沉积金纳米颗粒以提高传感器对戊唑醇的灵敏度。本发明制备的电化学传感器对戊唑醇的检出限为 0.02 $\mu\text{mol/L}$,远低于目前文献报道的水平,同时与不加金纳米颗粒的戊唑醇分子印迹膜电极相比,灵敏度提高 10 倍以上。

[0016] 本发明的另一有益效果在于,选用分子印迹技术构建的膜电极传感器对戊唑醇显示出特异选择性。与其他同类农药相比,该传感器的应用测试结果显示,它对戊唑醇的电流响应最高,印迹因子最大,对其他结果类似农药仅显示出较低的电流响应值。

[0017] 同时,本发明将所制备的电极传感器应用于实际蔬果样品检测,戊唑醇的回收率介于 75.8-128% 之间,完全满足实际农药残留检测的要求。

附图说明

[0018] 图1 电极修饰过程中的循环伏安表征图。

[0019] 图中:(a)裸电极,(b)修饰金纳米颗粒,(c)金纳米/分子印迹膜电极未去除模板分子,(d)金纳米/分子印迹膜电极去除模板分子后,(e)金纳米/分子印迹膜电极结合 0.1 mmol L^{-1} 戊唑醇后。

[0020] 图2结合不同浓度戊唑醇的修饰电极的DPV 曲线。

[0021] 图中:戊唑醇的浓度分别为:0, 0.00005, 0.0001, 0.0002, 0.0005, 0.001, 0.003, 0.006, 0.01, 0.03, 0.1, 0.2 and 0.3 mmol L^{-1} 。

[0022] 图3纳米金/分子印迹膜电极传感器,纳米金/非印迹膜电极传感器,和纳米金膜电极传感器对不同浓度戊唑醇响应的线性拟合曲线。

[0023] 图4纳米金/分子印迹膜电极传感器和纳米金/非印迹膜电极传感器对戊唑醇及其结构类似物的选择性评价。

具体实施方式

[0024] 实施例1

一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极,基于纳米金颗粒的增敏效应,先在电极的表面沉积金纳米颗粒作为基底;后以戊唑醇为模板分子,以邻氨基苯酚、间苯二酚、对氨基苯甲酸、对氨基苯硼酸中的一种或几种的混合物为聚合功能单体,以磷酸盐缓冲液为支持电解质溶液,获得电聚合预混合液;采用原位电聚合法在电极表面制备膜厚可控的电聚合膜,使用甲醇-乙酸溶液移除模板分子,得到具有识别位点和空穴的戊唑醇分子印迹膜

电极。

[0025] 一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的制备方法,所述电极为金电极或玻碳电极,所述方法按照下述步骤进行:

(1)电极预处理:使用双氧水和浓硫酸混合液处理10 min后,用 Al_2O_3 打磨抛光,用水将电极冲洗干净后,在水溶液中超声10 min,待氮气吹干后,将电极置于 0.1 mol L^{-1} 的稀硫酸溶液中,在 -0.2 - 1.6 V 电压范围内,采用循环伏安法扫描15圈,结束后用水冲洗电极,并氮气吹干备用;

(2)沉积金纳米颗粒:将电极置于四氯合金酸溶液中采用恒电位法电沉积金纳米颗粒AuNPs;

(3)分子印迹膜的制备:将(2)所得电极浸入戊唑醇、邻氨基苯酚、间苯二酚混合液中,采用循环伏安法原位电聚合制备分子印迹膜。电聚合后的电极用水冲洗后,氮气吹干,放置1 h后进行模板分子移除;

(4)分子模板移除:以甲醇和乙酸混合液为溶剂,将(3)所得电极固定于磁力搅拌器上处理30 min,取出后水洗得到所述戊唑醇分子印迹膜电极。

[0026] 所述(1)中使用的双氧水和浓硫酸混合液中两者体积比为1:3, Al_2O_3 的粒径为 $0.05 \mu\text{m}$ 。优选的,所述(2)中四氯合金酸溶液的浓度为 3 mmol L^{-1} ,在恒电位 -0.2 V 沉积200 s。

[0027] 所述(3)中戊唑醇、邻氨基苯酚、间苯二酚混合液的体积比为1:3:3,电聚合反应条件为:电位范围 -0.4 - 1.0 V 、扫速速率为 50 mV/S 、扫描圈数为10圈。

[0028] 所述(4)中甲醇:乙酸的体积比为9:1,用量为15ml。

[0029] 实施例2

一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器,所述电极为柱状电极,以修饰纳米金和分子印迹膜的电极为工作电极,铂电极为对电极,甘汞电极为参比电极组成三电极体系,所述电聚合功能单体中邻氨基苯酚和间苯二酚与戊唑醇之间的摩尔比为3:3:1。

[0030] 实施例3

一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器的应用,所述电化学传感器应用于选择性测定果蔬样品中的戊唑醇。也可以测定其他品种样品中戊唑醇。

[0031] 实施例4

一种基于纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极的电化学传感器的测试方法,所述测试包括步骤如下:

(a)萃取目标分子:将所述电化学传感器固定于磁力搅拌器上,悬浮于样品溶液中吸附15 min,取出用水冲洗后进行电化学测试;

(b)电化学测试:采用示差脉冲伏安法,在三电极体系中测定,以纳米金和分子印迹膜的电极为工作电极,铂电极为对电极,甘汞电极为参比电极组成三电极体系,电解溶液为5 mM铁氰化钾-亚铁氰化钾的氯化钾溶液,记录示差脉冲伏安扫描曲线及最大响应电流值。

[0032] 图1展示了电极在经过不同处理过程后的循环伏安图,由图可知,修饰了金纳米颗粒后电极的电流响应增强,说明其确实具有增敏作用(曲线b);然而经电聚合分子印迹聚合物后,循环伏安电流大幅降低,闭合程度加大,说明在金电极表面的分子印迹聚合膜结构紧密,铁氰根离子无法达到电极表面进行电子传递,因而无氧化还原峰(曲线c)。经甲醇-乙酸

溶液处理后,模板分子戊唑醇被去除,在电极表面留下印记孔穴和可供识别的位点,铁氰根离子得以进入印迹孔穴而产生氧化还原峰(曲线d),然而,其电流的值仍然小于聚合前(曲线b)。当获得的分子印迹电极应用于测定 0.1 mmol L^{-1} 戊唑醇后,由于部分印迹位点被戊唑醇所占据,所以可供铁氰根离子识别的位点相对较少,氧化还原峰电流再次降低(曲线e)。

[0033] 图2和图3显示了纳米金增敏的戊唑醇分子印迹膜电极对戊唑醇测试的线性结果,在 $0.00005\text{--}0.3 \text{ mmol L}^{-1}$ 范围内电极对其电流响应变化值(ΔI)呈线性,且纳米金/分子印迹膜电极传感器的灵敏度远高于纳米金/非印迹膜电极传感器和纳米金膜电极传感器。

[0034] 图4是纳米金/分子印迹膜电极传感器的选择性评价结果,结果显示纳米金/分子印迹膜电极传感器对戊唑醇的响应更高,而对其他结构类似物的响应则极低,证明该电极对戊唑醇具有更大的选择性。

[0035] 表1是利用纳米金/分子印迹膜电极传感器测定黄瓜和青菜样品中戊唑醇,在不同添加浓度水平下,戊唑醇的回收率处于70%–130%的范围,说明本传感器及其测试方法可以满足农药残留测定的需求。

[0036] 表1黄瓜和青菜样品中戊唑醇的添加回收率实验结果($n=3$)

样品	添加浓度 ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	测定浓度 ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	回收率 (%)	RSD (%, $n=3$)
黄瓜	1.00	0.90	85.7	4.1
	10.0	8.00	80.0	3.2
	40.0	51.3	128	2.9
	80.0	87.0	109	3.3
青菜	1.00	0.90	90.0	3.3
	10.0	9.10	90.5	2.8
	40.0	30.3	75.8	4.4
	80.0	72.7	90.9	4.2

以上仅是本发明的优选实施方式,本发明的保护范围并不仅限于实施例,凡属于本发明思路下的技术方案均属于本发明的保护范围。应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理前提下的若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

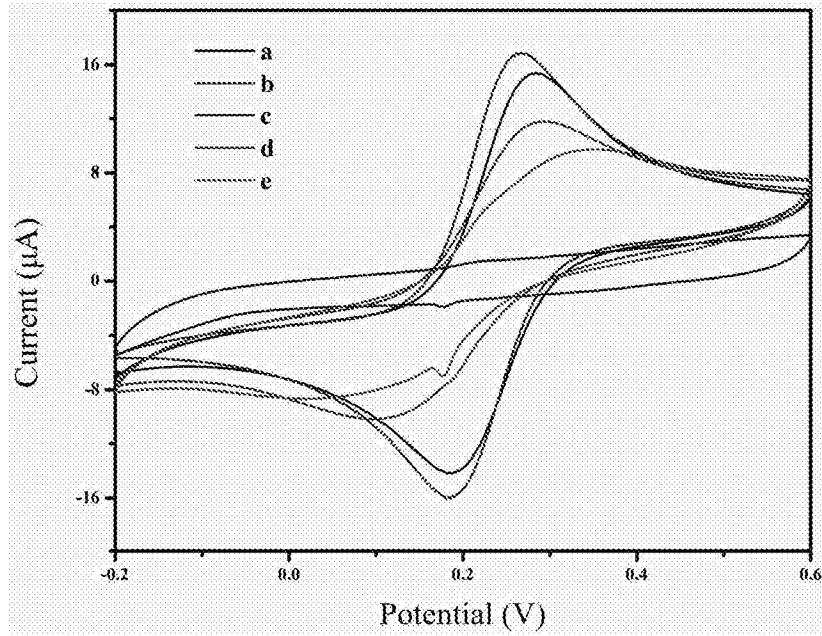


图1

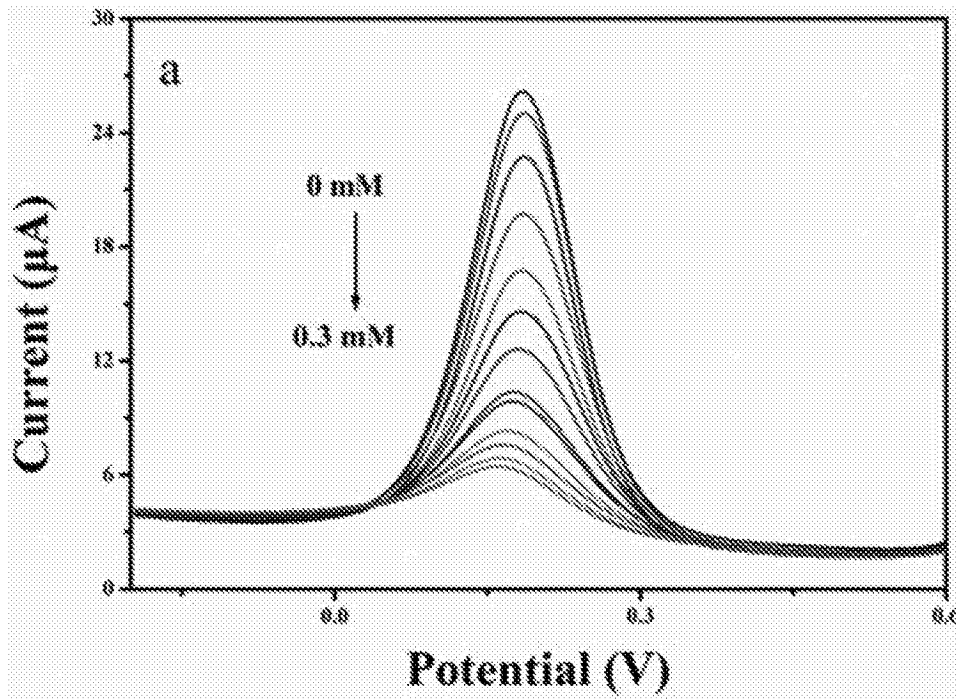


图2

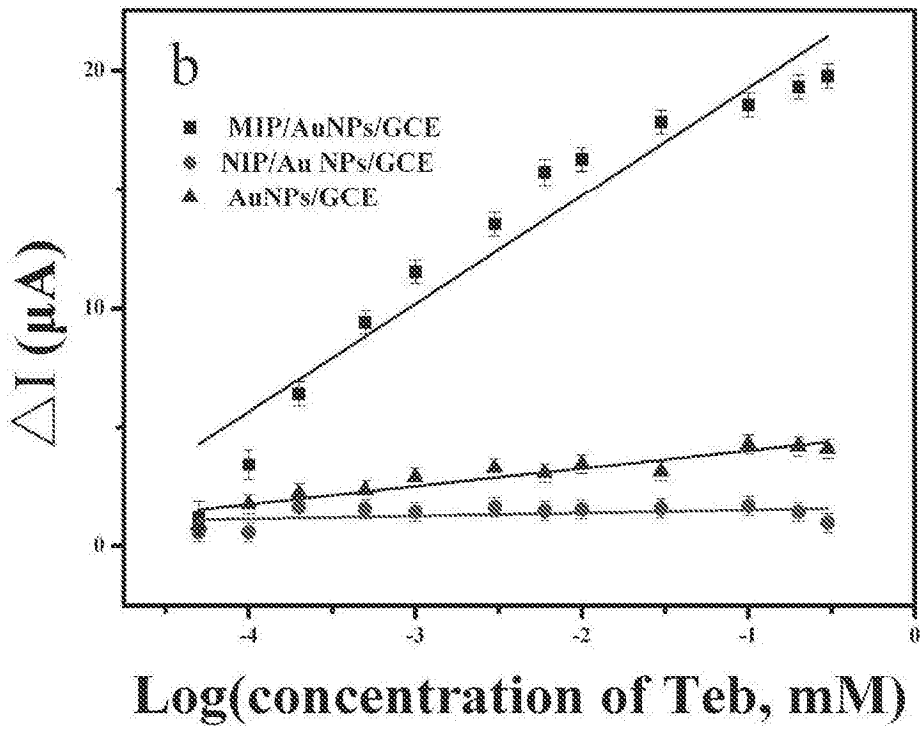


图3

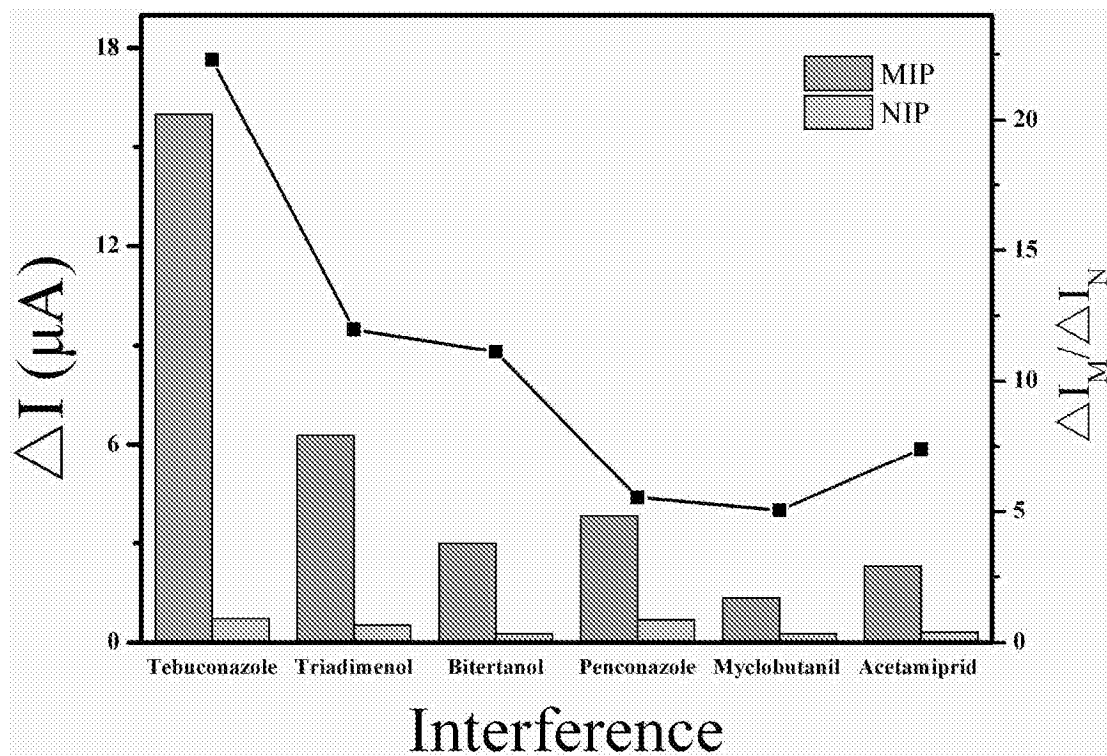


图4