

周睿璐, 付大友, 袁东. 分子印迹技术在氨基甲酸酯农药检测领域中的应用[J]. 农药, 2016, 55(9): 638-640.

## 分子印迹技术在氨基甲酸酯农药检测领域中的应用

周睿璐, 付大友, 袁东

(四川理工学院 化学工程学院, 四川 自贡 643000)

**摘要:** 分子印迹技术是基于抗体-抗原相互作用发展起来的一种新兴技术, 其分子印迹聚合物具有高选择性识别位点, 已经成为近年来氨基甲酸酯类农药检测领域的研究热点之一。综述了分子印迹聚合物的制备原理、聚合方法及其在氨基甲酸酯类农药检测领域中的应用现状, 并对未来发展趋势进行了展望。

**关键词:** 分子印迹技术; 氨基甲酸酯类农药; 应用

中图分类号: TQ 450.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-0413(2016)09-0638-03

## Application of Molecular Imprinting Technique in the Detection of Carbamate Pesticides

ZHOU Rui-lu, FU Da-you, YUAN Dong

(College of Chemical Engineering, Sichuan University of Science and Engineering, Zigong 643000, Sichuan, China)

**Abstract:** Molecular imprinting technique is a new technology based on antibody - antigen interactions and molecular imprinted polymers with high selective recognition sites, which has become one of hotspots in the field of carbamate pesticide detection in recent years. The preparation principle and polymerization methods of molecular imprinted polymers as well as its applications in carbamate pesticide detection were reviewed, and its developing tendency in the future was prospected.

**Key words:** molecular imprinting technique; carbamate pesticide; application

DOI:10.16820/j.cnki.1006-0413.2016.09.003

我国作为农业大国, 其农药的使用十分广泛, 虽然农药有助于控制昆虫、真菌和杂草, 能够提高农业生产率, 但是这些毒性物质却对人类的身心健康构成了致命的威胁。农药一般分为拟除虫菊酯、有机氯、有机磷和氨基甲酸酯4类, 其中氨基甲酸酯类农药因具有选择性高、高效、残留期短等优良特点<sup>[1]</sup>而被广泛应用, 这类农药能够抑制人体的胆碱酯酶活性, 使乙酰胆碱在神经系统突触中积累而导致中毒。因此, 制定一些高灵敏度的分析方法对氨基甲酸酯类农药残留进行检测与监控就显得尤为必要。我国目前用于检测农药的方法分为化学和生物两大类, 化学类方法包括荧光光谱法、分光光度法、液相色谱法、气相色谱法和色谱-质谱联用法等, 生物类方法包括酶抑制法、生物传感器法和免疫法等。然而, 这些传统的方法所用成本昂贵, 分析时间长, 携带不便, 操作繁琐。将具有特异选择性的分子印迹技术应用于氨基甲酸酯类农药残留的富集和检测中, 能够有效弥补传统检测方法的缺点, 获得更多的目标分析物, 便于进一步分析检测。

### 1 分子印迹技术

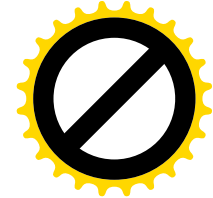
分子印迹技术(Molecular Imprinting Technique, 简称MIT)又名分子模板技术。最早在1940年Pauling<sup>[2]</sup>提出了抗体-抗原学说, 这为分子印迹的发展奠定了理论基础。到20世纪70至80年代, Fernandez等<sup>[3]</sup>研究了非共价型茶碱分子印迹聚合物。Wulff等<sup>[4]</sup>对共价型分子印迹技术进行了探讨, 使得现代分子印迹技术取得突破性的进展。分子印迹聚合物(Molecular Imprinting Polymers, 简称MIPs)的制备原理是: 模板分子(即目标分子)与结构互补的功能单体通过共价或非共价键结合, 加入交联剂、引发剂使之聚合, 再用物理或化学方法把模板分子洗脱出来, 获得三维网状聚合物。这种聚合物与模板分子的大小和形状刚好互补, 因此具有高特异选择识别性。MIPs的合成方法很多, 包括本体聚合法、沉淀聚合法、溶胶-凝胶法、悬浮聚合法、原位聚合法、种子溶胀法以及电聚合法等<sup>[5]</sup>。近年来随着科学技术的飞速发展, 诸如表面分子印迹技术、基于新型材料的分子印迹技术以及离子印迹技术<sup>[6-9]</sup>的研究也逐渐增多。由于MIPs具有识别性、预定性

收稿日期: 2016-05-12, 修返日期: 2016-06-17

基金项目: 四川省教育厅重点项目(13ZA0123); 酿酒生物技术及应用四川省重点实验室(NJ2014-15)

作者简介: 周睿璐(1991—), 女, 四川自贡人, 硕士研究生, 研究方向为工业分析。E-mail: zrl1991808@163.com。

通讯作者: 付大友(1964—), 男, 教授, 硕士, 主要从事色谱分析技术研究。E-mail: fdy888@263.net。



和实用性等优良特性,其在分离领域(包括固相萃取、膜分离、色谱分离和药物分析等)<sup>[9-10]</sup>、抗体-受体模拟、模拟酶催化、仿生传感器等<sup>[11-13]</sup>领域有着广阔的应用前景,近年来在氨基甲酸酯类农药检测领域也倍受青睐。

## 2 分子印迹技术在氨基甲酸酯类农药领域中的应用

### 2.1 分离领域

为了消除干扰基质和富集目标分析物,样品前处理技术在整个分析过程中是最关键的一步。固相萃取技术是用途最为广泛的样品前处理技术,即采用不同的吸附剂对目标分析物进行萃取、净化和富集。近年来,一些新型吸附剂开始替代传统吸附剂,其中较为典型的是基于分子印迹技术的固相萃取吸附剂。Mena等<sup>[14]</sup>用MIPs作为选择性固相萃取吸附剂,对水样中氨基甲酸酯类杀虫剂抗蚜威(*pirimicarb*)进行富集,利用微分脉冲伏安法进行检测。实验以抗蚜威为模板,甲基丙烯酸为功能单体,氯仿为致孔剂,乙二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂,通过聚合制得抗蚜威MIPs。结果表明抗蚜威的检测限是4.1 μg/L。流动注射系统与MIP萃取柱的结合为环境中农药如抗蚜威的分析提供了一种简单、方便、快捷的方法。姜兆林等<sup>[15]</sup>以克百威(*carbofuran*)作为模板分子,制备出克百威分子印迹整体柱,将其作为液相色谱柱,设定流动相为乙腈-水(体积比2:1),流速为1.0 mL/min。结果表明克百威分子印迹整体柱对克百威、甲萘威(*carbaryl*)、异丙威(*isoprocarb*)、速灭威(*tsumicide*)都表现出良好的选择特异性吸附能力。分子印迹整体柱可作为优异的分选材料并为农药的分选与检测提供帮助。

### 2.2 仿生传感器

#### 2.2.1 光学传感器

化学发光法具有仪器装置简单、灵敏度高、不受背景散射光干扰等优点,适用于各种形态的测定,但选择性较差。将分子印迹技术的独特选择性和化学发光法的高灵敏度结合起来制备出分子印迹光学传感器,便能弥补缺陷,对目标分子进行特异性检测。Alvarez-Diaz等<sup>[16]</sup>合成了一种具有高选择性的MIPs,可用于水中农药甲萘威的检测。采用本体聚合法,以双酚A衍生物和4,4'-二苯基甲烷二异氰酸酯为双功能单体,间苯三酚为辅助交联剂,四氢呋喃为溶剂,甲萘威为模板分子,制备出MIPs传感材料,并用室温磷光法进行测量。在最佳实验条件下,甲萘威的检测限为4 μg/L,线性范围扩大到1 mg/L。虞杨等<sup>[17]</sup>利用自制的荧光功能单体2-氨基吡啶丙烯酸酰胺合成了一种对氨基甲酸酯类农药速灭威具有高选择

性的荧光MIPs,以此为识别元件应用于分子印迹荧光传感器。该方法不但试样用量少,而且选择性好、灵敏度高,为农药的痕量检测开辟了新途径。

#### 2.2.2 电化学传感器

将MIPs与电化学检测方法相结合制成的传感器称为分子印迹电化学传感器,其工作机理是:作为敏感膜的MIPs与目标分子结合产生电信号,再转换成可输出的信号,通过检测输出信号的强弱而实现对目标分子的定量检测。胡琪等<sup>[18]</sup>构建了用于检测几种氨基甲酸酯类农药的分子印迹电化学传感器,并对蔬菜样品中农药残留的含量进行了测定。用自制的马来松香丙烯酸乙二醇酯作为交联剂,在修饰过石墨烯/金纳米粒子的玻碳电极表面合成了分子印迹膜,以此为敏感膜构建灭除威(*metolachlor*)分子印迹电化学传感器。实验结果表明:灭除威浓度在 $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.0 \times 10^{-4}$  mol/L范围内时呈现良好的线性关系,检出限为 $2.9 \times 10^{-8}$  mol/L。采用相同的方法分别制备出的速灭威、克百威和甲萘威分子印迹电化学传感器也具有很好的吸附效果。纳米材料与分子印迹技术相结合的电化学传感器为氨基甲酸酯类农药的检测提供了新方法。

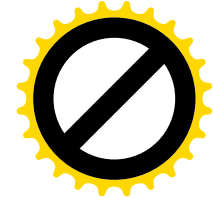
#### 2.2.3 质量敏感传感器

石英晶体微量天平(Quartz Crystal Micro Balance,简称QCMB)是一种精密度可达纳克级的谐振式测量仪器。姚伟<sup>[19]</sup>将石英晶体微天平与MIPs结合,构建了石英晶体压电传感器,取得了较好的效果。采用热引发沉淀聚合法制备出的甲萘威MIPs均匀涂布于压电石英晶体金电极表面,以此作为识别元件进行定量分析。结果表明,甲萘威检测范围是10~1000 μg/L,最低检测限为12.5 μg/L。

### 2.3 表面分子印迹技术

将分子印迹识别位点分布在分子印迹聚合物或固相基质表面的技术称作表面分子印迹技术。这种技术制备出的聚合物不仅选择性高、物质迁移快,而且结合动力学更快。Gao等<sup>[20]</sup>利用表面分子印迹技术中的“接枝于”法,将甲基丙烯酸(MAA)接枝聚合在硅胶微粒表面制得PMMA/SiO<sub>2</sub>微粒,再以抗蚜威为模板分子,乙二醇二缩水甘油醚为交联剂,通过聚合制得抗蚜威MIP-PMMA/SiO<sub>2</sub>。实验结果表明,在pH=8、溶剂比乙醇-水(体积比1:1)时所制备出的抗蚜威MIP-PMMA/SiO<sub>2</sub>表现出最强的选择结合能力。刘海<sup>[21]</sup>以抗蚜威为模板分子,阴离子单体SSS为功能单体,N,N'-亚甲基双丙烯酰胺为交联剂,氯甲基化聚砜为基膜,在表面引发体系-NH<sub>2</sub>/S<sub>2</sub>O<sub>8</sub><sup>2-</sup>的作用下,制得接枝型农药抗蚜威分子印迹膜,并以此构建电位型传感器。结果显示,在pH=4的水介质中,抗蚜威浓度范围在 $1 \times 10^{-6} \sim 1 \times 10^{-3}$  mol/L,传感器的检出限为 $2.5 \times 10^{-8}$  mol/L,膜电极电位响应时间小于10 s。





## 2.4 基于磁性材料的分子印迹技术

随着 MIPs 的快速发展, 基于磁性分子印迹聚合物的技术也开始成为研究热点, 这种技术不仅稳定性好、吸附量大、操作简单, 而且可以直接通过外加磁场进行分离。Gao 等<sup>[22]</sup>制备出一种基于碳纳米管负载  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性纳米粒子的残杀威 (phoxu) 分子印迹聚合物, 此聚合物表现出良好的分散性和超顺磁性, 可用于吸附水果样品中的残杀威。结果显示, 样品的加标回收率为 90.5% ~ 98.6%, 检测限范围为 9.7 ~ 12  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。该法选择性高、方便快捷, 为食品安全提供了技术支撑。赵琪<sup>[23]</sup>将自制的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性分子印迹聚合物作为固相萃取吸附剂, 吸附环境水样中的 6 种氨基甲酸酯类农药。在最优条件下, 6 种氨基甲酸酯类农药的检出限为 2.7 ~ 11.7  $\mu\text{g}/\text{L}$ , 加标回收率达到 59% ~ 91%。

## 3 结论

随着现代科学技术的飞速发展, 分子印迹技术的应用为农药残留的检测开辟了新的道路。虽然基于分子印迹技术的农药残留检测已取得一定的进展, 但是仍存在一些亟待解决的问题, 其中包括: 1) 分子识别机理的研究不足, 还有待进一步分析; 2) 使用的功能单体、交联剂和致孔剂种类有限, 聚合方法有限, 模板分子去除率低, 结合位点分布不均; 3) 分子印迹聚合物的制备需要在有机溶剂中进行, 在水相体系中的应用受到限制; 4) 实际应用领域有限, 目前分子印迹技术的研究大多停留在实验室阶段, 已经成型的检测手段较少, 还不能完全实现农药残留的实时、在线和快速监测。为实现目标分析物的高效分离和准确检测, 获得更快速的定性定量检测方法, 目前已有很多研究者在尝试着开发基于表面分子、离子和新材料的印迹技术, 分子印迹技术有望在氨基甲酸酯类农药分析检测中获得更广泛的应用和关注。

## 参考文献:

- [1] 林诗云, 吴晓波, 陈海云, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定水中 6 种氨基甲酸酯类农药残留量 [J]. 农药, 2010, 49(12): 909-910.
- [2] PAULING L. A Theory of the Structure and Process of Formation of Antibodies[J]. J Am Chem Soc, 1940, 62: 2643-2657.
- [3] FERNANDEZ M, PICO Y, MANES J. Determination of Carbamate Residues in Fruits and Vegetables by Matrix Solid-phase Dispersion and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2000, 871(1/2): 43-56.
- [4] WULFF G, BOHNKE H. Rapid Proton Transfer as Cause of an Unusually Large Neighboring Group Effect [J]. Angew Chem Int Edit, 1984, 23: 741-742.
- [5] 韩霜. 分子印迹技术及其研究进展(硕士论文)[D]. 大庆: 东北石油大学, 2014.
- [6] LIU Yan, LIU Zhan-chao, GAO Jie, *et al.* Selective Adsorption

Behavior of Pb (II) by Mesoporous Silica SBA-15-supported Pb(II)-imprinted Polymer Based on Surface Molecularly Imprinting Technique[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186: 197-205.

- [7] LIN Zheng-zhong, ZHANG Hong-yuan, LI Lu, *et al.* Application of Magnetic Molecularly Imprinted Polymers in the Detection of Malachite Green in Fish Samples[J]. Reactive and Functional Polymers, 2016, 98: 24-30.
- [8] 吴海峰, 裘俊红. 离子印迹技术研究进展[J]. 浙江水利科技, 2013, 40(4): 7-10.
- [9] HU Xiao-lei, WU Xiao, YANG Fan-fan, *et al.* Novel Surface Dummy Molecularly Imprinted Silica as Sorbent for Solid-phase Extraction of Bisphenol A from Water Samples [J]. Talanta, 2016, 148: 29-36.
- [10] 阚文涛, 李欣, 塞源, 等. 分子印迹技术在药物缓释领域的研究进展[J]. 材料导报, 2014, 28(7): 42-45.
- [11] ZHANG Ting, MA Chao, WU Mei, *et al.* Selective Microextraction of Carbaryl and Naproxen Using Organic-inorganic Monolithic Columns Containing a Double Molecular Imprint [J]. Microchimica Acta, 2013, 180(7): 695-702.
- [12] ZHOU Shu, CHEN Huai-xia, WU Bo, *et al.* Sensitive Determination of Carbamates in Fruit and Vegetables by a Combination of Solid-phase Extraction and Dispersive Liquid-liquid Microextraction Prior to HPLC[J]. Microchim Acta, 2011, 176(3/4): 419-427.
- [13] MA Xiao-xing, WANG Jun-tao, WU Qiu-hua, *et al.* Extraction of Carbamate Pesticides in Fruit Samples by Graphene Reinforced Hollow Fibre Liquid Microextraction Followed by High Performance Liquid Chromatographic Detection[J]. Food Chem, 2014, 57: 119-124.
- [14] MENA M L, MARTINEZ-RUIZ P, REVIEJO A J, *et al.* Molecularly Imprinted Polymers for On-line Preconcentration by Solid Phase Extraction of Pirimicarb in Water Samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 451: 297-304.
- [15] 姜兆林, 段梦圆, 金倩辉, 等. 四种氨基甲酸酯类杀虫剂分子印迹聚合物的合成及识别性能研究[J]. 中国刑警学院学报, 2012: 57-60.
- [16] ALVAREZ-DIAZ A, COSTA J M, PEREIRO R, *et al.* Halogenated Molecularly Imprinted Polymers for Selective Determination of Carbaryl by Phosphorescence Measurements[J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 394: 1569-1576.
- [17] 虞杨, 刘冬蕊, 汪羽, 等. 速灭威荧光分子印迹聚合物研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(6): 105-108.
- [18] 胡琪. 石墨烯掺杂金属纳米粒子增敏分子印迹电化学传感器测定氨基甲酸酯类农药(硕士论文)[D]. 南宁: 广西民族大学, 2015.
- [19] 姚伟. 部分农药及肠毒素分子印迹聚合物制备及应用 (博士论文)[D]. 北京: 中国人民解放军军事医学科学院, 2008.
- [20] GAO Bao-jiao, WANG Jian, YANG Ying. Studies of Imprinting Conditions and Application Performance of Pirimicarb Molecule-Imprinted Material Prepared Using a Novel Surface-imprinting Technique[J]. Chromatographia, 2009, 69: 1353-1361.
- [21] 刘海. 接枝型分子印迹膜的制备及其农药电位型传感器的构建(硕士论文)[D]. 太原: 中北大学, 2015.
- [22] GAO Lei, CHEN Li-gang, LI Xiao-wan. Magnetic Molecularly Imprinted Polymers Based on Carbon Nanotubes for Extraction of Carbamates[J]. Microchim Acta, 2015, 182: 781-787.
- [23] 赵琪. 分子印迹复合材料的制备及用于食品和环境样品中污染物快速检测的研究(博士论文)[D]. 长春: 吉林大学, 2015.

责任编辑: 李新