

文章编号: 1000-5013(2009)03-0284-05

# 敌百虫分子印迹聚合物的合成及其性能

杨 芸, 连惠婷, 刘 斌, 孙向英

(华侨大学 材料科学与工程学院, 福建 泉州 362021)

**摘要:** 采用分子印迹技术, 以壳聚糖为聚合物基体, 敌百虫为模板分子, 制备在空间结构和结合位点上与敌百虫匹配的分印迹聚合物. 研究该聚合物的合成条件, 包括壳聚糖与敌百虫的作用力, 以及交联、洗脱条件. 测定分子印迹聚合物对敌百虫的吸附和选择识别能力, 并对其结构进行表征. 结果表明, 所合成的分子印迹聚合物对敌百虫具有良好的吸附和选择识别能力, 其中对结构类似的氧化乐果的分离系数达到 3.57.

**关键词:** 壳聚糖; 敌百虫; 分子印迹; 选择性识别

**中图分类号:** O 657.1

**文献标识码:** A

敌百虫(Trichlorfon)是一种有机磷广谱杀虫剂, 可有效地防治茶树、水稻、蔬菜等作物上的害虫<sup>[1]</sup>. 分离检测敌百虫的方法主要是色谱法<sup>[2-3]</sup>, 但色谱法的仪器比较昂贵, 且操作较复杂. 因此, 探索一种富集系数高、干扰少、操作简单的富集分离敌百虫的新方法具有很高的应用价值<sup>[4]</sup>. 分子印迹技术<sup>[5]</sup>是近年来发展比较快的一种分离技术. 与传统的分离技术相比, 它的突出优点是对被分离物具有高度的选择性, 同时还具有良好的机械性能和较长的使用寿命. 壳聚糖(CTS)是一种生物相容性好、原料丰富的天然多糖, 含有丰富的功能基团-NH<sub>2</sub>和-OH, 可作为功能基体在水相中合成并制备分子印迹聚合物(TrMIPs). 以壳聚糖为基体制备分子印迹聚合物可在水相中合成, 已用于有机金属离子<sup>[6]</sup>、生物大分子(如蛋白质)的分子印迹<sup>[7]</sup>, 但以壳聚糖为基体制备农药分子印迹聚合物尚未见报道. 本文采用分子印迹技术, 制得对敌百虫具有“记忆”特性的分子印迹聚合物, 研究其合成条件、吸附和识别性.

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

F-4500型荧光仪(日本Hitachi公司); S-3500N型扫描电子显微镜(日本Hitachi公司); 磁力搅拌器(深圳天南地北有限公司); 敌百虫固体(美国WEST CHESTER公司, 99%), 壳聚糖(浙江环玉县化工厂, 平均相对分子质量为12万, 脱乙酰度 $\geq 90\%$ ); 实验所用试剂(除戊二醛外)均为分析纯; 实验用水为Milli-Q型纯化水系统(美国Millipore公司)提供的二次蒸馏水.

### 1.2 敌百虫分子印迹聚合物的制备

取一定量的壳聚糖, 加二次蒸馏水超声振荡溶胀2 h, 抽滤后取2 g壳聚糖加至pH=4的HCl溶液中质子化8 h, 抽滤, 置于已在饱和KCl溶液中阴离子化16 h的20 mL质量浓度为100 mg·L<sup>-1</sup>的敌百虫中. 振荡作用6 h后抽滤, 水洗, 制得白色的壳聚糖-敌百虫复合物(CTS-Tr). 在此复合物中加入6 mL体积分数为25%的戊二醛, 于室温下搅拌交联18 h, 过滤, 制得黄色颗粒状的壳聚糖-敌百虫交联聚合物; 然后用pH=10的碱性无水乙醇溶液振荡洗脱8 h, 抽滤. 重复洗脱直至洗脱液中不含有敌百虫, 即制得黄色颗粒状壳聚糖-敌百虫分子印迹聚合物(TrMIPs), 真空干燥后备用.

非分子印迹聚合物(NMIPs)的合成除不含模板分子外, 其他过程与印迹过程相同.

收稿日期: 2008-10-14

通信作者: 刘斌(1963-), 男, 教授, 主要从事荧光分析和电化学分析的研究. E-mail: liumy@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20575023); 福建省国际合作重点项目(200610021); 福建省自然科学基金计划资助项目(D0710017, D0810016); 国务院侨办科研基金资助项目(06QZR10)

### 1.3 敌百虫质量比和吸附量的测定<sup>[8]</sup>

(1) 取含敌百虫的滤液,加入 4 mL 体积分数为 10% 的乙醇吸收液,0.96 mL 质量分数为 0.5% 的氢氧化钠溶液,再用二次水定容至 10 mL,于沸水浴中加热 2 min. 取出后用自来水冷却至室温,以 492 nm 为激发波长,在荧光波长为 529 nm 处测定荧光强度,同时做试剂空白对照.

(2) 称取 1.0 g 干燥过的 Tri MIPs,置于 pH=4 的 HCl 溶液中,电磁搅拌 8 h 后抽滤. 然后,置于阴离子化 16 h,质量浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的敌百虫溶液中,在搅拌条件下进行吸附. 6 h 后抽滤,测定滤液中敌百虫的质量浓度,计算吸附容量<sup>[9]</sup>.

## 2 结果与讨论

### 2.1 敌百虫与壳聚糖的相互作用

分子印迹技术主要有共价键法(预组装)和非共价键法(自组织法)两种. 其中,非共价键包括氢键、静电引力、金属螯合作用、电荷转移、疏水作用及范德华力等,最常用的是氢键. 但是,如果功能基体和模板分子只有氢键作用时,则对被分离物质的选择效果欠佳;若在印迹过程中既有氢键,又有其他非共价键作用时,则可以提高对被分离物质的识别能力.

取 2 份溶胀后的壳聚糖,分别置于 pH=4 的 HCl 溶液中(质子化)和 pH=7 的中性溶液中(非质子化) 8 h<sup>[10]</sup>. 然后,分别与饱和 KCl 溶液中的敌百虫(阴离子化 8 h)和敌百虫水溶液(非阴离子化)作用 6 h 后,以无水乙醇洗脱,测定洗脱液中敌百虫的质量浓度.

由实验结果可知,壳聚糖质子化与敌百虫阴离子化后的洗脱量为  $0.756 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,大于无质子化和无阴离子化作用的洗脱量  $0.146 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ . 由此可以推测,壳聚糖与敌百虫之间的作用力除了范德华力,以及壳聚糖上的 N-H 键和敌百虫分子的 P=O 形成较强的氢键作用外,还主要通过质子化后带正电的壳聚糖,与阴离子化后带负电的敌百虫之间形成静电作用力来提高它们之间的结合量<sup>[6]</sup>. 即



### 2.2 合成条件对敌百虫分子印迹聚合物的影响

2.2.1 阴离子化程度 将敌百虫分别置于  $3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl 溶液和饱和 KCl 溶液中阴离子化 8 h 后,分别加入已质子化后的壳聚糖中,洗脱合成 CTS-Tri 复合物,测定洗脱液中敌百虫的质量比,洗脱量分别为  $0.219$ ,  $0.756 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ . 由此可知,KCl 的浓度越高,敌百虫的洗脱量也越大,说明敌百虫与 KCl 发生了作用,并且这种作用有利于壳聚糖对敌百虫的吸附. 因此,选择饱和 KCl 作为阴离子化试剂.

改变敌百虫在饱和 KCl 溶液中阴离子化时间,实验结果发现,随着阴离子化时间的增加,洗脱液中敌百虫的质量比逐渐增加. 阴离子化 16 h 后,洗脱量达到最大值  $1.890 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,而后趋于稳定,这是因为敌百虫已完全阴离子化. 因此,选择阴离子化时间为 16 h.

2.2.2 壳聚糖交联时间 改变壳聚糖与戊二醛的交联时间,考察交联时间对洗脱量的影响. 实验结果表明,敌百虫的洗脱量先增加,后减小. 当交联时间为 18 h 时,敌百虫的洗脱量达到最大,之后洗脱量又有所降低. 这可能是因为交联时间过长,从而导致交联剂戊二醛与 CTS 上未与敌百虫作用的  $-\text{NH}_2$  和  $-\text{OH}$  基团充分发生交联反应,交联聚合物结构过于紧密,通道减少,敌百虫难于被洗脱下来;而交联时间过短,交联不完全,也会导致洗脱量的降低.

2.2.3 洗脱剂 分别以相同体积的二次水、乙醇、甲醇等溶剂洗脱交联聚合物中的敌百虫,结果表明,以乙醇为洗脱剂所得的洗脱量较高,因此,选乙醇作为洗脱剂. 以固体 NaOH 调配不同 pH 值的乙醇溶液,洗脱交联聚合物中的敌百虫,测定洗脱量. 随着乙醇 pH 值的增大,洗脱量先增加. 即当 pH=10 时,洗脱量达到最大;然后,洗脱量降低. 这可能是因为敌百虫和壳聚糖主要是通过静电作用结合的,洗脱时,适度的碱性条件可以使 CTS 上的  $-\text{NH}_3^+$  去质子化成  $-\text{NH}_2$ ,破坏静电作用力,从而将敌百虫洗脱下来,但 pH 过高,会破坏壳聚糖的结构,影响吸附效果. 因此,选择 pH=10 的乙醇作为洗脱剂.

2.2.4 洗脱时间 以 pH=10 的无水乙醇作为洗脱剂,改变洗脱时间,考察洗脱时间与洗脱量的关系. 研究结果表明,随着洗脱时间的增加,洗脱量增加,8 h 后达到最大值. 因此,洗脱时间选择为 8 h.

### 2.3 Tri MIPs 的吸附和识别性能

2.3.1 吸附动力学 其他条件相同时,改变 Tri MIPs 对敌百虫的吸附时间  $t$ ,测定其吸附量  $Q$ ,如图 1.

所示. 由图 1 可见, 随着吸附时间的增加,  $T_{rr}$  MIPs 对敌百虫的吸附量逐渐增大, 且开始阶段吸附量增加很快, 而后趋缓, 并在 12 h 时逐渐达到吸附平衡. 此后, 吸附量随时间增加变化不大. 因此, 实验中选用的吸附时间为 12 h.

2.3.2 吸附等温线  $T_{rr}$  MIPs 和 N-MIPs 对敌百虫的吸附量与初始浓度的关系曲线, 如图 2 所示. 由图 2 可见,  $T_{rr}$  MIPs 和 N-MIPs 对敌百虫的平衡吸附量随着敌百虫质量浓度的增加而增加, 最后趋于平缓. 当  $T_{rr}$  MIPs 中所有的孔穴与敌百虫作用达到平衡后, 即达到了最大吸附量.

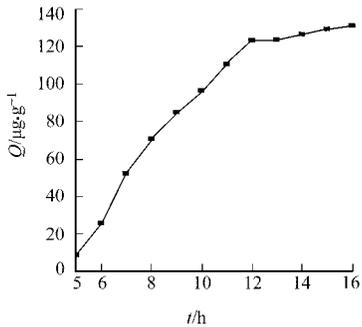


图 1  $T_{rr}$  MIPs 的吸附动力学曲线  
Fig. 1 The curve of adsorption kinetics

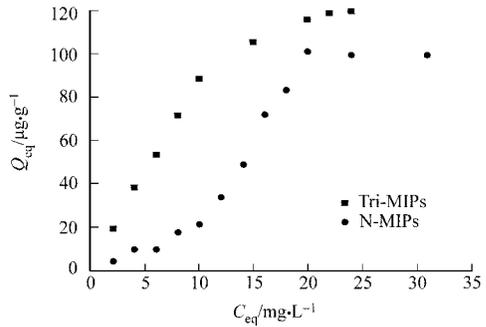


图 2  $C_{eq}$  和  $Q_{eq}$  的关系曲线  
Fig. 2 Curve of  $C_{eq}$  versus  $Q_{eq}$

在整个过程中,  $T_{rr}$  MIPs 对敌百虫的吸附量都要比 N-MIPs 的大. 这是由于加入印迹分子后, 壳聚糖保留有能对模板分子敌百虫识别的三维印迹孔穴, 除了物理吸附外, 壳聚糖上剩余的 N-H 键可与敌百虫分子中的 P=O 形成较强的氢键作用和静电作用, 可以形成大量的印迹位点. 同时, 由于敌百虫具有大的疏水结构单元磷脂片段, 在水相溶液中大大增加了印迹效应<sup>[11]</sup>, 导致  $T_{rr}$  MIPs 对敌百虫有更多的吸附, 提高了吸附效果. 图 3 是  $T_{rr}$  MIPs 对敌百虫的 Scatchard 分析图. 由图 3 可知,  $Q_{eq}/C_{eq}$  和  $Q_{eq}$  成很好的线性关系. 由此可见, MIPs 对敌百虫的吸附量在一定范围内符合 Scatchard 方程<sup>[12]</sup>, 即

$$Q_{eq}/C_{eq} = Q_{max}/K - Q_{eq}/K.$$

上式中,  $C_{eq}$  为平衡浓度,  $Q_{eq}$  为平衡吸附量,  $Q_{max}$  为饱和吸附量,  $K$  为结合位点的平衡解离常数. 由图 3 可得  $Q_{eq}/C_{eq} = -0.1159 Q_{eq} + 19.242$  即可求出饱和吸附量  $Q_{max} = 166.0 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $K = 8.63 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

2.3.3 温度对  $T_{rr}$  MIPs 吸附量的影响 图 4 是吸附温度对  $T_{rr}$  MIPs 吸附敌百虫的影响. 由图 4 可知, 随着吸附温度的升高, 吸附量逐渐增大. 结果表明, 提高温度有利于吸附, 吸附过程为吸热过程.

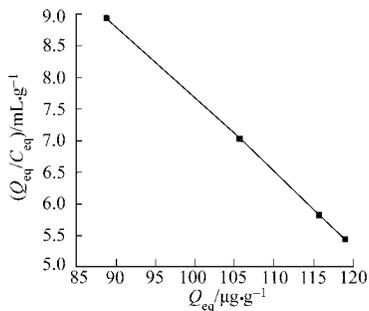


图 3  $T_{rr}$  MIPs 对敌百虫的 Scatchard 分析图

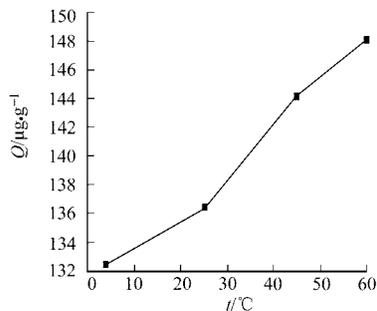


图 4 温度对吸附量的影响

Fig. 3 Scatchard plots of  $T_{rr}$  MIPs to Trichlorfon Fig. 4 Effect of temperature on the capacity of adsorption

2.3.4  $T_{rr}$  MIPs 的选择识别能力 (1)  $T_{rr}$  MIPs 对结构类似物的选择性. 特异选择性是印迹聚合物最显著的特征之一. 分子印迹聚合物对不同底物的选择性识别能力, 可以用静态吸附分配系数  $K_D$  及分离因子  $\alpha$  表征<sup>[13]</sup>, 即  $K_D = C_P/C_S$ . 其中,  $C_P$  为底物在聚合物上的质量比 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ),  $C_S$  为底物在溶液中的质量浓度 ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ).  $\alpha = K_{D,i}/K_{D,j}$ ,  $i$  和  $j$  分别表示印迹分子和底物分子. 当  $K_{D,i} = K_{D,j}$  时,  $\alpha = 1$ . 为证明  $T_{rr}$  MIPs 的识别位点对模板分子具有特异选择性, 采用结构类似的有机磷农药氧化乐果进行验证, 实验结果如表 1 所示.

由于氧化乐果和敌百虫分子的部分结构片段相似, 都具有  $(\text{CH}_3\text{O})_2\text{-P=O}$  结构. 因此, 可能会与壳聚糖上剩余的 N-H 键发生作用, 占据少量位点. 由表 1 可知,  $T_{rr}$  MIPs 对敌百虫的选择性明显大于

氧化乐果. 这说明,  $\text{Tri-MIPs}$  可在混合农药体系中选择性吸附敌百虫, 以达到选择性分离检测的目的; 而  $\text{N-MIPs}$  对两种农药的吸附量比较接近, 达不到分离的效果.

(2)  $\text{Tri-MIPs}$  对不同有机磷农药的选择性. 为进一步证明  $\text{Tri-MIPs}$  的识别位点对敌百虫具有特异选择性, 分别测定了  $\text{Tri-MIPs}$ ,  $\text{N-MIPs}$  和  $\text{CTS}$  对敌百虫, 甲胺磷, 对硫磷和久效磷的分配系数  $K_D(\text{mL} \cdot \text{g}^{-1})$  和分离因子  $\alpha$ , 结果如表 2 所示.

相对于  $\text{N-MIPs}$  和  $\text{CTS}$ ,  $\text{Tri-MIPs}$  对敌百虫的静态吸附分配系数最大. 这是因为  $\text{Tri-MIPs}$  除具有非选择性结合位点外, 还有大量的与敌百虫匹配的结合位点. 由表 2 的  $\alpha$  值可以知道, 相对于对硫磷和久效磷,  $\text{Tri-MIPs}$  对敌百虫具有较好的识别能力. 甲胺磷则可能由于其分子较小, 容易进入立体孔穴而导致静态吸附分配系数较大. 这一结果也同样在  $\text{N-MIPs}$  和  $\text{CTS}$  中体现.

## 2.4 结构表征

对  $\text{Tri-MIPs}$  的表观形态和表面结构进行显微观察,  $\text{CTS-Tri}$  复合物和交联聚合物、 $\text{N-MIPs}$  和  $\text{Tri-MIPs}$  的电镜(SEM)图, 分别如图 5~ 8 所示. 从图 5, 6 可看出,  $\text{CTS-Tri}$  复合物表面疏松, 有很多孔隙, 敌百虫被吸附在孔隙的表面上; 而交联之后聚合物表面变得致密, 立体感降低.

从图 7, 8 可看出,  $\text{N-MIPs}$  由于没有敌百虫作为模板, 交联洗脱后聚合物表面依然紧密, 立体感相对较低.  $\text{Tri-MIPs}$  是一种多孔的交联物, 聚合物表面疏松, 洗脱后显现较强的层次感. 这是因为利用分子印迹技术得到的  $\text{Tri-MIPs}$ , 由于有敌百虫作为模板分子占据一定的位置形成孔穴而成为具有一定孔径分布的多孔结构, 有利于敌百虫的吸附和分离, 也为敌百虫的扩散或洗脱提供良好的通道.

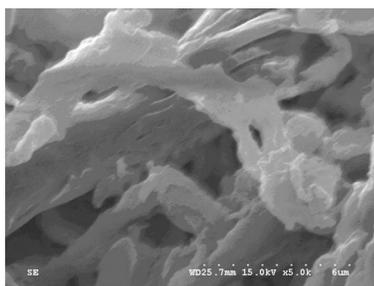


图 5  $\text{CTS-Tri}$  复合物的电镜图  
Fig.5 SEM of  $\text{CTS-Tri}$  composite

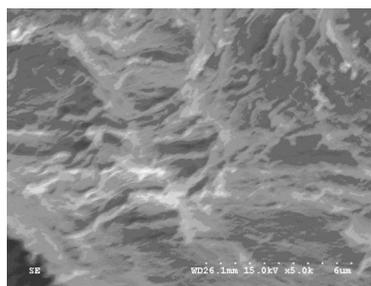


图 6  $\text{CTS-Tri}$  交联聚合物的电镜图  
Fig.6 SEM of crosslinking  $\text{CTS-Tri}$

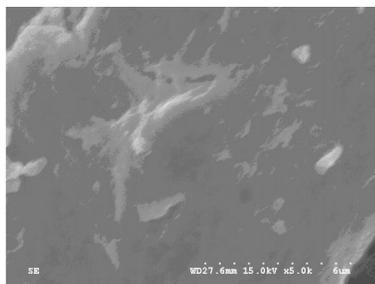


图 7  $\text{N-MIPs}$  的电镜图  
Fig. 7 SEM of  $\text{N-MIPs}$

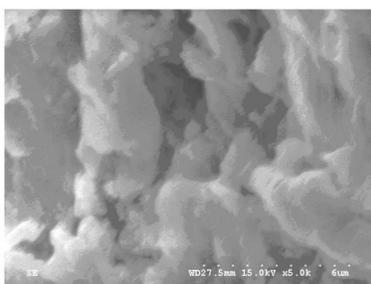


图 8  $\text{Tri-MIPs}$  的电镜图  
Fig. 8 SEM of  $\text{Tri-MIPs}$

表 1  $\text{Tri-MIPs}$  对结构类似物的选择性

底物	$\text{Tri-MIPs}$		$\text{N-MIPs}$	
	$K_D$	$\alpha$	$K_D$	$\alpha$
敌百虫	2.10	1.00	1.84	1.00
氧化乐果	0.588	3.57	1.05	1.75

表 2  $\text{Tri-MIPs}$  对不同有机磷农药的选择性

底物	$\text{Tri-MIPs}$		$\text{N-MIPs}$		$\text{CTS}$	
	$K_D$	$\alpha$	$K_D$	$\alpha$	$K_D$	$\alpha$
敌百虫	2.21	1.00	0.63	1.00	0.66	1.00
甲胺磷	3.88	0.56	1.77	0.36	2.82	0.23
对硫磷	1.02	2.16	0.69	0.91	1.37	0.48
久效磷	1.13	1.95	3.98	0.24	0.69	0.95

## 3 结束语

利用分子印迹技术制备了对敌百虫有特殊选择能力的  $\text{Tri-MIPs}$ , 所制备的分子印迹聚合物对敌百

虫具有良好的识别性能,克服了环境样品体系复杂,预处理过程繁杂等不利因素.相对于N-MIPs,它对敌百虫的吸附能力和选择识别能力更大,对结构类似的氧化乐果的分离系数达到了3.57,可用于茶叶等实际样品中对敌百虫的分离检测.

#### 参考文献:

- [1] 祝海珍,杨明敏,郑修文. 敌百虫催化联苯胺-过硼酸钠体系的极谱行为及其应用[J]. 分析化学, 2004, 32(12): 1649-1652.
- [2] BRITO N M, NARICKIENE S, POLESE L. Determination of pesticide residues in coconut water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron capture plus thermionic specific detection and solid phase extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet detection[J]. J Chromator (A), 2002, 957(2): 201-209.
- [3] BLASCO C, FRONT G, PICO Y. Comparison of microextraction procedures to determine pesticides in oranges by liquid chromatography-mass spectrometry[J]. J Chromator (A), 2002, 970(1/2): 201-212.
- [4] GUIMARES A T B, SILVA de ASSIS H C, BOEGER W. The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2006, 10(1016): 1-6.
- [5] WULFF G, SARHAN A. The use of polymers with enzyme-analogous structures for the resolution of racemates[J]. Angew Chem, 1972, 11: 341-348.
- [6] 孙向英,周政,刘斌. 二丁基锡分子印迹聚合物的合成与性能研究[J]. 高等学校化学学报, 2006, 27(8): 1443-1447.
- [7] 雷建都,谭天伟. 壳聚糖血红蛋白分子印迹介质的制备及优化[J]. 化学通报, 2002(4): 265-268.
- [8] 谭培功,于彦彬. 间苯二酚荧光光度法测定空气中的敌百虫[J]. 分析实验室, 1996, 15(5): 57-59.
- [9] 贺小进,谭天伟,李伟. 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(1): 47-53.
- [10] 周政,孙向英,刘斌. 一丁基锡印迹聚合物的制备及识别性能[J]. 华侨大学学报:自然科学版, 2007, 28(1): 38-41.
- [11] 徐洁,叶芝祥,张丽,等. 基于分子印迹技术的敌百虫农药传感器的研制[J]. 化学研究与应用, 2007, 19(9): 1021-1024.
- [12] 刘秋叶,李文友,何锡文,等. 硅胶修饰表面分子印迹牛血红蛋白及其识别性能的研究[J]. 化学学报, 2008, 66(1): 56-62.
- [13] QIAN Ting-bao, LIU Wei-lin, LI Jir-he. Adsorption resins and their application[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1990: 195-196.

## Preparation and Properties of Trichlorfon Molecularly Imprinted Polymers

YANG Yun, LIAN Hurting, LIU Bin, SUN Xiang-ying

(College of Material Science and Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

**Abstract:** Using chitosan as a polymer matrix, trichlorfon as a template molecule, we prepared trichlorfon molecularly imprinted polymers (Tri-MIPs) that match up with template molecules in space structure and the binding sites by molecularly imprinting technique. The synthesis of the Tri-MIPs, including the forces between chitosan and trichlorfon, as well as crosslinking and elution conditions was investigated. In addition the absorption and selective recognition ability of Tri-MIPs to trichlorfon was studied and its structure was characterized. The result shows that the Tri-MIPs have good capacities of both absorption and selection. The separation factor to omethoate which has a similar structure with trichlorfon reached 3.57.

**Keywords:** chitosan; trichlorfon; molecularly imprinted polymers; selective recognition

(责任编辑: 黄仲一 英文审校: 陈国华)