

基于丙烯酰胺的黄曲霉毒素分子印迹聚合物的制备及性能研究

吴丽华¹, 钱淳豪², 刘 星², 盛建国^{2*}

(1. 江苏大学附属医院, 镇江 212001; 2. 江苏科技大学粮食学院, 镇江 212004)

摘 要: **目的** 制备基于丙烯酰胺的黄曲霉毒素分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIPs)并研究其吸附性能。**方法** 以黄曲霉毒素的结构类似物 5,7-二甲氧基香豆素(5,7-dimethoxy coumarin, DMC)为假模板分子, 以丙烯酸酯(acrylate, AAM)为功能单体, 采用溶胶凝胶表面印迹技术制备了新型核壳型黄曲霉毒素 SiO₂ 包裹 Fe₃O₄ 分子印迹聚合物(Fe₃O₄@SiO₂ MIPs), 并对其进行了透射电镜、傅里叶变换红外、X 射线衍射、振动磁强表征以及吸附动力学实验和吸附结合实验, 研究 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 的吸附性能。**结果** 所制备的 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 具有优良的选择性、高的吸附容量、快速的吸附动力学, 在 60 min 达到最大吸附容量 4.289 mg/g, 印迹因子为 1.7。吸附结合方程拟合和动力学参数的计算表明, Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 对 DMC 的吸附过程符合 Langmuir 方程和拟二级动力学模型, R^2 分别为 0.8660 和 0.9593, Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 对于 DMC 的吸附过程属于化学吸附。**结论** Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 是一种较好的黄曲霉毒素富集材料, 可用于黄曲霉毒素检测前处理。

关键词: 磁性印迹材料; 黄曲霉毒素; 表面分子印迹聚合物

Study of preparation and properties of aflatoxin molecularly imprinted polymer based on acrylamide

WU Li-Hua¹, QIAN Chun-Hao², LIU Xing², SHENG Jian-Guo^{2*}

(1. Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China; 2. College of Grain, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212004, China)

ABSTRACT: Objective To prepare the aflatoxin molecularly imprinted polymer (MIPs) based on acrylamide, and study its adsorption properties. **Methods** Aflatoxins structural analog 5,7-dimethoxy coumarin (DMC) was used as a pseudo-template molecule, and acrylate (AAM) was used as a functional monomer, a novel core-shell aflatoxins silicon dioxide ferrosferric oxide molecularly imprinted polymer (Fe₃O₄@SiO₂ MIPs) was prepared by sol-gel surface imprinting technique, and subjected to transmission electron microscopy, Fourier transform infrared, X-ray diffraction, vibrational magnetic intensity characterization as well as adsorption kinetics experiments and adsorption binding experiments to investigate the adsorption properties of Fe₃O₄@SiO₂ MIPs. **Results** The prepared Fe₃O₄@SiO₂ MIPs had excellent selectivity, high adsorption capacity, and fast adsorption kinetics, reaching a maximum adsorption capacity of 4.289 mg/g at 60 min with an imprinting factor of 1.7. Fitting of the adsorption

基金项目: 国家自然科学基金项目(32001804)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (32001804)

*通信作者: 盛建国, 教授, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: ssjgh@just.edu.cn

*Corresponding author: SHENG Jian-Guo, Professor, College of Grain, Jiangsu University of Science and Technology, No.666, Changhui Road, Zhenjiang 212004, China. E-mail: ssjgh@just.edu.cn

binding equation and calculation of kinetic parameters showed that the adsorption process of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs for DMC was in accordance with the Langmuir equation and the proposed secondary kinetic model with R^2 of 0.8660 and 0.9593, respectively, and the adsorption process of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs for DMC belongs to chemisorption.

Conclusion $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs are a better aflatoxin enrichment material for aflatoxin detection pretreatment.

KEY WORDS: magnetic imprinting materials; aflatoxin; surface molecularly imprinted polymer

0 引言

随着人类社会的发展和人民生活水平的不断提高,食品安全的重要性越来越受到重视。黄曲霉毒素作为强致癌物,是食品检测中的重要分析物之一,往往含量微小就能对人体造成严重伤害。除此之外,作为污染花生、玉米、大豆等粮食的真菌毒素之一,黄曲霉毒素每年对我国造成了巨大的经济损失^[1-3]。因此,研究黄曲霉毒素的高灵敏度检测方法具有十分重要的意义。

由于食品成分复杂,黄曲霉毒素作为目标分析物含量微小且由于基质效应往往难以与其他化学物质分离,提取效果不理想,易对后续仪器分析检测结果造成误差,往往需要对样品进行前处理富集提取才能达到检测要求,而现有的前处理方法如气相色谱法、液相色谱法、酶联免疫法等有着成本昂贵、操作复杂、灵敏度低等缺点^[4-8]。因此,在粮食中黄曲霉毒素的检测方面,建立一种灵敏度高、特异性强的样品前处理方法显得十分必要。目前黄曲霉毒素富集的传统方法主要有蒸发浓缩、柱层析富集、印迹化合物吸附富集等,但蒸发浓缩费时长,需要真空辅助,柱层析富集需要装柱、层析、洗脱等,成本高^[9],传统印迹方法存在模板分子去除效率低、吸附容量低、传质速度慢、模板分子结合位点不均匀等问题^[10],而表面分子印迹技术拥有快速传质、吸附容量高和均匀分布的特异性结合位点等优点,其中基于磁性材料的表面分子印迹聚合物在富集真菌毒素方面有着优越的性能和广泛的应用前景^[11-15]。

本研究以黄曲霉毒素的结构类似物 5,7-二甲氧基香豆素(5,7-dimethoxycoumarin, DMC)为假模板分子,以丙烯酸酯(acrylate, AAM)为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯(ethylene glycol dimethacrylate, EGDMA)为交联剂,偶氮二异丁腈(azodiisobutyronitrile, AIBN)为引发剂,甲醇为致孔剂成功合成了新型核壳型磁性分子印迹聚合物(magnetic molecularly imprinted polymer, MMIPs),并对其进行透射电镜(transmission electron microscope, TEM)、傅里叶红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)、X 射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)、振动磁强计(vibrating samples magnetometer, VSM)表征,以及吸附动力学实验和吸附结合实验,研究 MMIPs 的吸附性能^[16-18],以期为黄曲霉毒素的检测前处理制备易分离、吸附能力强的表面分子印迹聚合物。

1 材料与方法

1.1 仪器

FA1004 精密电子天平(精度 100 g/0.0001 g, 上海浦春电子仪器有限公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(上海力辰邦西仪器科技有限公司); HH-601 油浴锅(金坛市亿能实验仪器厂); DZG-6050 真空干燥箱(济南创日新仪器设备有限公司); Tecnai 12 透射电子显微镜(荷兰 Philips 公司); 670-IR+610-IR 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Agilent 公司); 7404 振动样品磁强计(美国 LakeShore 公司); ESCALAB 250Xi X 射线光电子能谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; FD-100 荧光定量免疫分析仪(上海飞测生物科技有限公司); SP-756P 紫外可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)。

1.2 试剂

丙酮酰胺(化学纯, 上海润捷化学试剂有限公司); EGDMA、DMC(分析纯, 上海麦克林生化科技有限公司); 六水合三氯化铁、正硅酸乙酯、四水氯化亚铁(分析纯, 江苏强盛功能化学股份有限公司); 黄曲霉毒素 B_1 (aflatoxin B_1 , AFB₁)标准品(北京百奥莱博科技有限公司); 氨水、甲醇(分析纯, 无锡腾盛化学有限公司); 氯化钠(分析纯, 山东普利士化工有限公司); 甘油(分析纯, 南通仁达化工有限公司); AIBN(分析纯, 济南世纪通达化工有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 的制备

在氮气氛围下将 4.30 g 四水氯化亚铁和 11.68 g 六水合三氯化铁(摩尔比为 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}=2$)溶于 200 mL 的去离子水中, 于 85°C 条件下剧烈搅拌。然后加入 45 mL 25%氨水搅拌 15 min。在冷却至室温后, 用外部磁铁分离, 去除上清液, 将沉淀用 250 mL 去离子水洗涤 3 次, 再用 100 mL 0.02 mol/L 氯化钠溶液洗涤 2 次, 得到含有 Fe_3O_4 的悬浮液。在外部磁铁的作用下将悬浮液沉淀, 去除上清液, 加入 80 mL 10%正硅酸乙酯($V:V$)水溶液, 再加入 60 mL 甘油, 充分混合后在 90°C 氮气氛围下搅拌 2 h, 冷却至室温后用磁分离法分离沉淀, 用 250 mL 去离子水洗涤 3 次、再用 200 mL 甲醇洗涤 2 次, 用 250 mL 去离子水洗涤 1 次, 产物在 45°C 真空烘箱中干燥, 得到 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ ^[19-23]。

1.3.2 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 的制备

将 284 mg 丙烯酰胺和 206 mg DMC 溶解在 150 mL 圆底烧瓶的 20 mL 甲醇中,使混合物在 4°C 条件下储存 12 h 以进行预聚合反应。再向混合物中加入 20 mg AIBN、3.964 g EGDMA 和 147 mg Fe₃O₄@SiO₂,在室温下搅拌 2 h,然后在氮气氛围下搅拌 10 min 以除去氧气,使用油浴锅在 60°C 条件下搅拌聚合 24 h 后,所得本体聚合物用甲醇进行抽滤。随后,在 130°C 下用甲醇+乙酸(9:1, V/V)通过连续的 72 h 索氏抽提,从 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 粉末中移除模板。再使用 100 mL 甲醇洗涤 5 次至中性,产物在 60°C 真空烘箱中干燥 24 h,得到 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs^[24]。

相应的非分子印迹聚合物 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 制备采用相同的程序,但不添加 DMC 模板分子。

1.3.3 Fe₃O₄@SiO₂、Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 的表征

用高分辨率 TEM、FT-IR 对 Fe₃O₄@SiO₂、Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 的形貌和结构进行表征;用 X 射线光电子能谱仪进行 Fe₃O₄@SiO₂、Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 表面元素的定性分析以及化学价键的结构分析。用 VSM 对合成的 Fe₃O₄@SiO₂、Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 的磁性进行了研究^[25]。

1.3.4 分子印迹聚合物吸附容量和印迹因子的计算

(1) DMC 标准曲线的绘制

准确称取 10 mg 的 DMC,用甲醇定容至 100 mL,得到 100 mg/L 的 DMC 标准溶液,再使用 10 mL 的定容管,用甲醇将标准溶液逐级稀释为 2、4、6、8、10 mg/L 的标准溶液。用紫外可见分光光度计($\lambda=327$ nm)分别测定不同浓度标准溶液的吸光度值,最后绘制标准曲线^[26]。

(2) 吸附容量的计算

根据绘制的 DMC 标准曲线和使用紫外可见分光光度计($\lambda=327$ nm)测得的吸附前后的 DMC 质量浓度变化,按照公式(1)求出 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 吸附 t 时间后的吸附容量 Q_t (mg/g):

$$Q_t = (C_0 - C_t) \times V / m \quad (1)$$

式中, C_0 和 C_t 分别为初始 DMC 质量浓度(mg/L)和吸附 t 时间后的 DMC 质量浓度(mg/L), V 为 DMC 溶液的体积(L), m 为 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 的质量(g)^[27]。

(3) 印迹因子的计算

根据公式(2)和(3)计算分子印迹聚合物的印迹因子(imprinting factor, IF),并评价其吸附特异性:

$$K = C_b / C_e \quad (2)$$

式中, C_b 为 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 吸附的 DMC 的质量浓度(mg/L),而 C_e 是吸附平衡时上清液中 DMC 的游离质量浓度(mg/L)。

$$IF = K_{MIP} / K_{NIP} \quad (3)$$

式中, K_{MIP} 和 K_{NIP} 分别是目标分析物对 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 的分配系数,由公式(2)得出^[28]。

1.3.5 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 的吸附性能研究

为了分析 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 对 DMC 的吸附速率,将 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 对 DMC 的吸附动力学进行了模型拟合研究。拟合所使用的准一级动力学模型和准二级动力学模型分别为公式(4)和公式(5):

$$\ln(Q_{e1} - Q_t) = \ln Q_{e1} - k_1 t \quad (4)$$

$$\frac{t}{Q_t} = \frac{1}{k_2 Q_{e2}^2} + \frac{t}{Q_{e2}} \quad (5)$$

式中, k_1 为准一级动力学模型的速率常数, k_2 为准二级动力学模型的速率常数, Q_{e1} 为准一级动力学模型的平衡吸附容量(mg/g), Q_{e2} 为准二级动力学模型的平衡吸附容量(mg/g)。

其中,准一级动力学模型主要是物理吸附过程,由扩散步骤控制。准二级动力学模型主要为化学吸附过程,主要为吸附质与吸附剂之间的电子转移。

Langmuir 和 Freundlich 模型可用于描述 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 对 DMC 的吸附行为。

Langmuir 模型假设吸附行为发生在单层膜表面,且所有吸附位点相同。Freundlich 模型是描述非均相体系多层吸附行为的经验方程。这两个模型可以分别表示为公式(6)和公式(7):

$$\frac{Q_m}{Q_e} = \frac{1}{C_e K_L} + 1 \quad (6)$$

$$Q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (7)$$

式中, Q_e 为吸附平衡时的吸附容量(mg/g), Q_m 为理论最大吸附容量(mg/g), K_L 为 Freundlich 结合位点的平衡解离常数, K_F 为 Freundlich 常数,代表吸附容量, n 为 Freundlich 常数,代表吸附强度^[29]。

1.3.6 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 的吸附动力学实验

称取 4 mg Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 1.5 mL 50 mg/L 的 DMC 标准溶液置于 2 mL 离心管中,在室温下分别振荡 10~100 min,用磁分离法分离沉淀,准确移取 400 μ L 上清液,用甲醇稀释至 4 mL,用紫外可见分光光度计($\lambda=327$ nm)测定 DMC 的吸光度值,根据标准曲线计算 DMC 的浓度,最后计算吸附容量和印迹因子。同时平行做 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 对 DMC 的吸附动力学实验,其中 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和 Fe₃O₄@SiO₂ NIPs 同步做空白和 AFB₁ 吸附实验对照^[30]。

1.4 数据处理

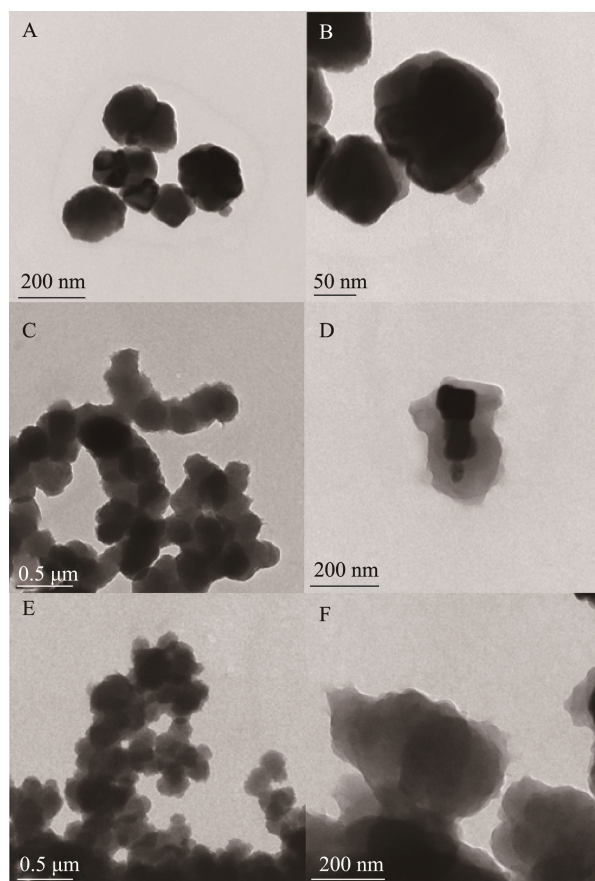
实验重复次数为 3 次,数据取其平均值,数据处理采用 Origin 2017 软件绘图、WPS Office 2018 等相关软件制表。

2 结果与分析

2.1 形貌分析

通过 TEM 测定了 Fe₃O₄@SiO₂、Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 和

$\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 颗粒的直径和形貌。如图 1A、B 所示, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 具有直径约为 100~150 nm 的球形结构, 略有聚集现象, 且能清楚地看到较透明的 SiO_2 壳层被均匀地覆盖在 Fe_3O_4 暗核上, 从而增加了更多的识别位点和更高的吸附容量, 而表面识别位点可以快速提高模板吸附和解吸的传质速率。如图 1C、D 所示, 所制备的具有核壳结构的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 明显地在其粒子表面形成了相对较亮的包裹层, 且直径相较于 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 较大, 约为 200 nm 左右, 表明成功聚合生成 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs。如图 1C、D 所示, 所制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 的粒径与 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 相近, 约为 200 nm 左右, 同时 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 颗粒较为均匀, 而 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 颗粒较不规则, 如图 1E 所示, 得到的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 结构较为致密, 交联度高, 这是由于 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 在制备过程中形成了对模板分子的互补结构, 这些特异性识别空腔可对模板分子进行特异性吸附作用, 而 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 在制备过程没有加入



注: a、b 为不同尺度下的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ TEM 图; c、d 为不同尺度下的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs TEM 图; e、f 为不同尺度下的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs TEM 图。

图1 不同尺度下的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 的 TEM 图

Fig.1 TEM diagram of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs in different scales

模板分子进行印迹, 其表面没有相应的空腔, 从而呈现出较为致密的结构, 表明已成功合成 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs, 且 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 比 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 对 DMC 的吸附能力及特异性更好。

2.2 X 射线光电子能谱分析

通过对关键元素的测量和高分辨 XPS 分析, 进一步评价了 SiO_2 在 Fe_3O_4 颗粒表面的包裹和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 的形成, 由 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 的测量光谱(图 2)可知其主要元素为 Fe、O、Si 和 C, 其中 Si 元素的出现表明 SiO_2 在 Fe_3O_4 颗粒表面成功包裹。此外, $\text{Si}2p$ 谱可拟合于 102.1 eV, 与标准值(103.3 eV)相近。 $\text{Fe}2p$ 谱可拟合于 710.2 eV, $\text{O}1s$ 谱可

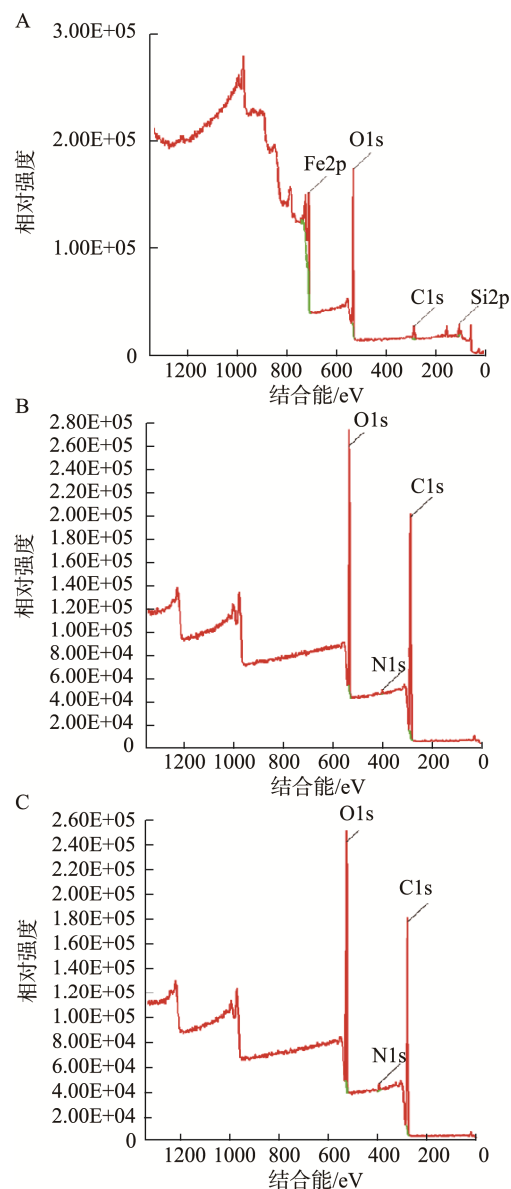


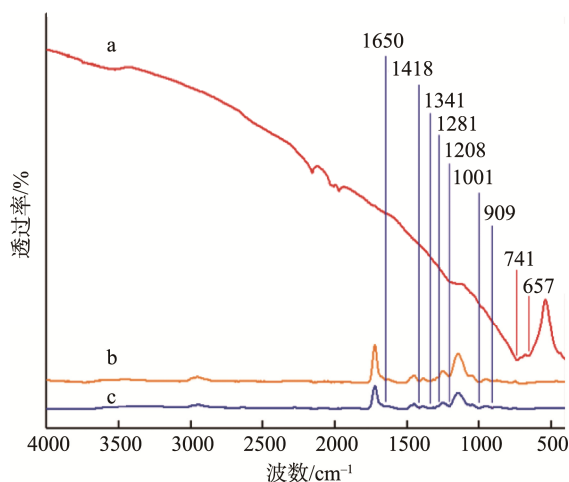
图2 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ (A)、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs (B)、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs (C)的 XPS 图

Fig.2 XPS diagrams of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ (A), $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs (B) and $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs (C)

拟合于 530.2 eV, 与 Fe_3O_4 中的标准值($\text{Fe}2p=710.4$ eV, $\text{O}1s=530$ eV)相近, 说明成功合成 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 。表面分子印迹后, C 和 O 元素的强度增加表明在 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 粒子表面成功地进行聚合反应。Fe 和 Si 的峰在聚合后消失, 说明聚合反应效果良好, 成功将 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 包覆, 形成核壳结构。由图 2 可以看出 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 峰形相近, 再次证明它们具有相似的结构。

2.3 傅里叶变换红外光谱分析

为证明成功地在磁性材料上进一步聚合生成分子印迹聚合物, 用 FT-IR 对 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 进行了表征, 通过各特征吸收峰对键型进行分析并进一步分析其结构。在图 3 中, 741 cm^{-1} 处的特征吸收峰对应于 Si-O 不对称拉伸, 对应于 657 cm^{-1} 处的特征吸收峰则是由 Fe-O 键振动引起的, 表明 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 成功合成。在图 3 中还可看出, 由于 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 的特征吸收峰相同, 表明它们具有相似的结构。其中, 1650 cm^{-1} 处的特征吸收峰是由交联剂 EGDMA 中 C=O 的拉伸振动导致, 1418 、 1341 cm^{-1} 处的特征吸收峰是由 C-H 弯曲振动引起的, 1281 、 1208 cm^{-1} 处的特征吸收峰是由模板分子 AMM 中 C-O 的伸缩振动引起的, 1001 cm^{-1} 处的吸收特征峰则是由引发剂 AIBN 中 C-N 的伸缩振动引起, AIBN 和 AMM 中 N-H 键的面外弯曲振动导致了 909 cm^{-1} 处的特征吸收峰, 以上结果表明成功制备 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs。



注: a 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$; b 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs; c 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs。

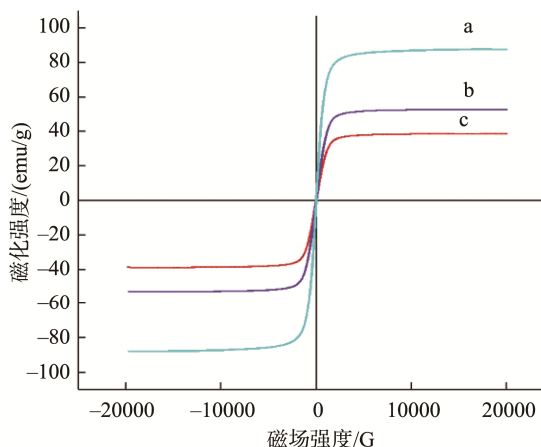
图 3 不同材料的红外光谱图

Fig.3 FT-IR diagram of different materials

2.4 磁性能分析-振动磁强计表征分析

用 VSM 分别测定了 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs、 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 的磁化强度(图 4)。其中, $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 的饱和磁化强度为 87.9 emu/g , $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 的饱和磁化

强度为 53.0 emu/g , $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 的饱和磁化强度为 38.9 emu/g , 磁性材料的饱和磁化强度在经过表面分子印迹后有所下降, 这可能与印迹聚合物层有关, 而 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 相较于 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 具有识别空腔, 对 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 的磁性强度削弱较小, 从而具有较大的饱和磁化强度。所得产物仍具有很强的磁性, 可以在短时间内通过外加磁体分离出来, 去除磁场后, 在轻微震动下迅速分散, 这表明成功合成了具有高磁响应的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs。



注: a 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$; b 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs; c 为 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs。

图 4 不同材料的磁滞曲线

Fig.4 Hysteresis curves of different materials

2.5 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 的吸附动力学分析

按照 1.3.4 介绍的方法利用紫外可见分光光度计($\lambda=327\text{ nm}$)测定不同时间下一定质量的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 对 DMC 吸附容量的变化, 同时开展空白和 AFB₁ 吸附实验比对, 以吸附时间为横坐标(X, min), 以吸附容量 Q_t 为纵坐标($Y, \text{mg/g}$), 得到 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 关于 DMC 的吸附动力学曲线: 从图 5 可以看出, $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 对 DMC 吸附容量随吸附时间的增加而增加, 且 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 对 DMC 的吸附容量始终比 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 大, 在前 10 min 中的初始吸附效率很快, 在 60 min 左右达到吸附平衡, 说明 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 对 DMC 的吸附是一个快速的过程, $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 的多孔结构加快质量传递, 促进了 DMC 向识别位点的扩散, 从而加快了吸附速率。相比之下, 传统的印迹材料需要 12~24 h 才能达到吸附平衡。而表面印迹技术在微粒表面提供了结合位点, 显示出快速传质的优势。

在 60 min 时, $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ MIPs 的平衡吸附容量为 4.289 mg/g , $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ NIPs 的平衡吸附容量为 2.823 mg/g , 带入公式(3)进行计算得到 IF 为 1.7, 大于 1, 表明由于特定

的分子识别过程中定制的认识空腔和结合位点以及在表面随机分布的官能团上的共同吸附(即物理吸附), $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 对 DMC 的吸附能力比 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 强, 进一步说明了 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 具有结合位点多和吸附效率快的特点, 对 AFB₁ 吸附实验比对基本与 DMC 相同。

按照前面介绍的方法将 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 对 DMC 的吸附动力学数据以公式(4)和公式(5)进行了模型拟合研究, 对 DMC 的吸附结合数据以公式(6)和公式(7)进行模型拟合研究, 以确定速率控制和传质机制。拟合得到的准一级动力学模型和准二级动力学模型、Langmuir 和 Freundlich 方程的拟合曲线如图 6~7 所示。

表 1 和表 2 分别列出了通过拟合准一级动力学模型和准二级动力学模型、Langmuir 和 Freundlich 方程得到的相应参数和 R^2 。结果表明, $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 对 DMC 的吸附动力学用准二级动力学模型和 Langmuir 方程的拟合效果更好, R^2 分别达到了 0.9593 和 0.8660, 大于对于准一级动力学和 Freundlich 方程拟合的 R^2 , 确定了反应的速率控制和传质机制。说明 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 对于 DMC 的吸附过程属于化学吸附, 可能涉及到限速步骤的化学相互作用, 主要为吸附质与吸附剂之间的电子转移, 而非准一级动力

学模型所代表的由扩散步骤控制的物理吸附过程, 并且更接近于单层吸附, 识别位点均匀分布在吸附剂表面的单层中, 仅存在一类结合位点^[31]。

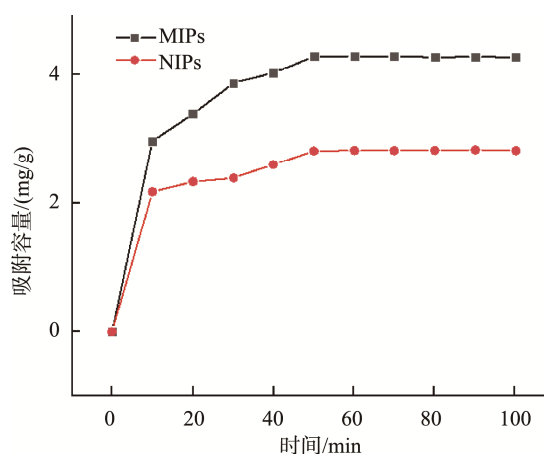


图 5 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs 对 DMC 的吸附动力学曲线

Fig.5 Adsorption kinetic curves of $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ MIPs and $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ NIPs on DMC

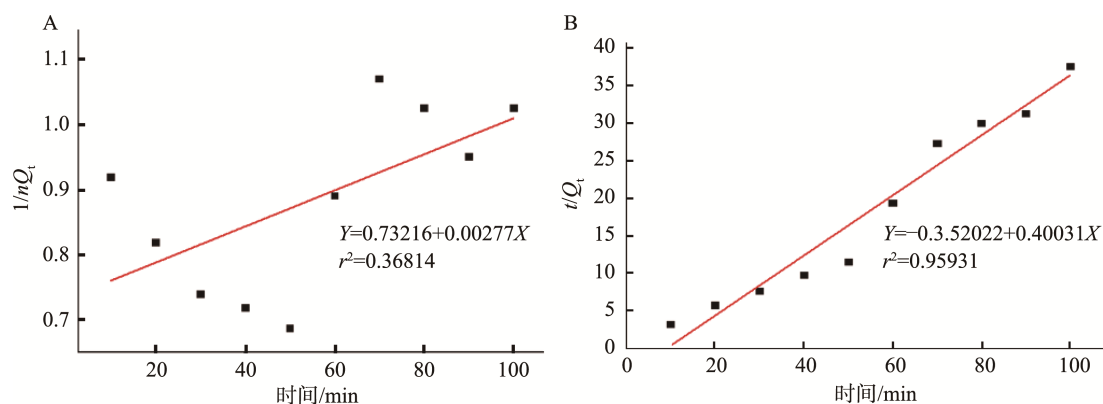


图 6 准一级动力学(A)和准二级动力学(B)模型拟合曲线

Fig.6 Model fitting curves for quasi first order kinetics (A) and quasi second order kinetics (B)

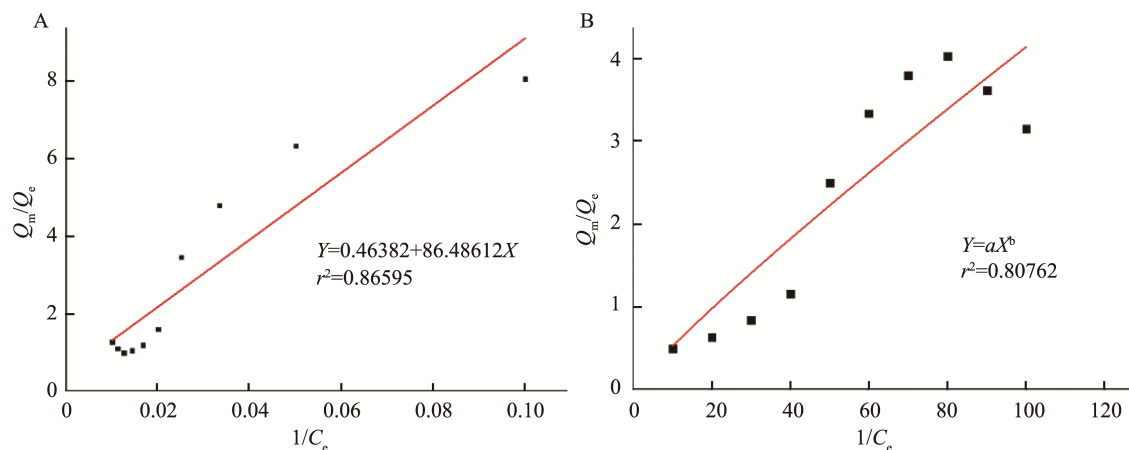


图 7 Langmuir 方程(A)和 Freundlich 方程(B)拟合曲线

Fig.7 Fitting curves of Langmuir (A) and Freundlich (B) equation

表 1 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 对 DMC 吸附过程的动力学参数
Table 1 Kinetic parameters of the adsorption process of DMC by Fe₃O₄@SiO₂ MIPs

分析物	准一级动力学模型		准二级动力学模型	
	K_1	R^2	K_2	R^2
DMC	-0.0040	0.3681	-0.0455	0.9593

表 2 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 对 DMC 吸附过程的 Langmuir 和 Freundlich 方程参数
Table 2 Langmuir and Freundlich equation parameters of the adsorption process of DMC by Fe₃O₄@SiO₂ MIPs

分析物	Langmuir 方程参数		Freundlich 方程参数	
	K_L	R^2	K_F	R^2
DMC	0.0116	0.8660	0.0671	0.8076

3 结 论

将溶胶凝胶表面印迹技术与磁选技术合理结合, 以 DMC 为假模板分子、以 AAM 为功能单体、以 EGDMA 为交联剂、以 AIBN 为引发剂、以甲醇为致孔剂成功制备了具有良好分子识别能力的 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs。将制得的 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 进行吸附动力学实验和吸附结合实验, 结果表明:

(1)本研究制备的 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 分子印迹材料具有较快的动态吸附(约 60 min)、较高的吸附能力(吸附容量 $Q=4.289$ mg/g)和较高的稳定性以及对 DMC 的强特异性, 表明该磁性分子表面印迹聚合物有较强的黄曲霉毒素吸附能力和较高的选择性。

(2)吸附实验数据符合 Langmuir 方程和准二级动力学模型, R^2 分别为 0.8660 和 0.9593。Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 对于 DMC 的吸附过程属于化学吸附, 可能涉及到限速步骤的化学相互作用。同时 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 对于 DMC 的识别位点均匀分布在吸附剂表面的单层中, 表明其吸附过程可能是单层吸附, 比对 AFB₁ 吸附实验基本与 DMC 的吸附参数一致。

本研究结合了 SiO₂ 高比表面积的优点以获得更多的识别位点, 使 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 具有高结合能力, 同时表面印迹使 Fe₃O₄@SiO₂ MIPs 与黄曲霉毒素具有快速结合动力学和优良的选择性, 以及磁性材料 Fe₃O₄ 使得分离更加方便快速, 在黄曲霉毒素检测的前处理领域具有良好的应用前景和实用性。

参考文献

[1] 韦迪哲, 王蒙, 翟文磊. 基于磁性 ZIF-67 纳米材料的 QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱技术同时检测小麦中 17 种真菌毒素[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(23): 7563-7572.
WEI DZ, WANG M, ZHAI WL. Simultaneous determination of 17 mycotoxins in wheat by QuEChERS ultra performance liquid chromatography-

tandem mass spectrometry based on magnetic ZIF-67 nanomaterials [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(23): 7563-7572.
[2] 何建雄, 潘浣钰, 闵曼. 分子印迹聚合物用于检测黄曲霉毒素的研究进展[J]. 山东化工, 2021, 23(2): 68-70.
HE JX, PAN WY, MING M. Progress in the application of molecularly imprinted polymers in the detection of aflatoxins [J]. Shandong Chem Ind, 2021, 23(2): 68-70.
[3] YANG ZT, YANG K, CUI YH, *et al.* Synthesis of surface imprinted polymers based on wrinkled flower-like magnetic graphene microspheres with favorable recognition ability for BSA [J]. J Mater Sci Technol, 2021, 74(15): 203-215.
[4] PECORELLI I, GUARDUCCI N, HOLST CV, *et al.* Critical comparison of analytical performances of two immunoassay methods for rapid detection of aflatoxin M₁ in milk [J]. Toxins, 2020, 12(4): 20-23.
[5] CHAVEZ RA, CHENG X, STASIEWICZ MJ. A review of the methodology of analyzing aflatoxin and fumonisin in single corn kernels and the potential impacts of these methods on food security [J]. Foods, 2020, 9(3): 99-102.
[6] 陈鑫璐, 邱月, 张建友, 等. 国内外谷物中多种真菌毒素限量和同步检测标准及方法研究进展[J]. 中国粮油学报, 2021, 1(19): 29-31.
CHEN XL, QIU Y, ZHANG JY, *et al.* Research progress on limit and simultaneous detection of mycotoxins in cereals at home and abroad [J]. J Chin Cere Oils Ass, 2021, 1(19): 29-31.
[7] ALI N. Aflatoxins in rice: Worldwide occurrence and public health perspectives [J]. Toxicol Rep, 2019, 6: 1188-1197.
[8] KARAASLAN MEHEMT, ARSLANGRAY YUSUF. Aflatoxins B₁, B₂, G₁, and G₂ contamination in ground red peppers commercialized in Sanliurfa, Turkey [J]. Environ Monit Assess, 2015, 187(4): 33-36.
[9] AKBAS MY, OZDEMIR M. Effect of different ozone treatments on aflatoxin degradation and physicochemical properties of pistachios [J]. J Sci Food Agric, 2006, 86 (13): 2099-2104.
[10] ALCAIDEMOLINA M. High through-put aflatoxin determination in plant material by automated solid-phase extraction on-line coupled to laser-induced fluorescence screening and determination by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2009, 1216 (7): 1115-1125.
[11] 余厚美, 王琴飞, 林立铭, 等. 反应条件对黄曲霉毒素 B₁ 抗原-抗体结合的影响分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(19): 6399-6408.
YU HM, WANG QF, LING LM, *et al.* Analysis of the effect of reaction conditions on aflatoxin B₁ antigen-antibody binding [J]. J Food Saf Qual, 2022, 13(19): 6399-6408.
[12] MOLLER H, HESELTINE E, VAINIO H. Working group report on schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori* [J]. Int J Cancer, 1995, 60(5): 75-80.
[13] FANG H, WANG BJ, JIANG KY, *et al.* Effects of *Lactobacillus pentosus* HC⁻² on the growth performance, intestinal morphology, immune-related genes and intestinal microbiota of *Penaeus vannamei* affected by aflatoxin B₁ [J]. Aquaculture, 2020, 525: 69-75.
[14] NONAKA Y, SAITO K, HANIOKA N, *et al.* Determination of aflatoxins in food samples by automated on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatogr

- A, 2009, 1216 (20): 4416–4422.
- [15] DEBASISH KD, SUN CK. Aflatoxin B₁ induces reactive oxygen species-dependent caspase-mediated apoptosis in normal human cells, inhibits *Allium cepa* root cell division, and triggers inflammatory response in zebrafish larvae [J]. *Sci Total Environ*, 2020, 10(737): 139704.
- [16] KRYSHEV AI, SAZYKINA TG, KATKOVA MN, *et al.* Modelling the radioactive contamination of commercial fish species in the Barents Sea following a hypothetical short-term release to the Stepovogo Bay of Novaya Zemlya [J]. *J Environ Radioactiv*, 2022, 244–245: 106825
- [17] JHADILIP KUMAR, DHARANI G, VERMA PANKAJ, *et al.* Evaluation of factors influencing the trace metals in puducherry and Diu coasts of India through multivariate techniques [J]. *Mar Pollut Bull*, 2021, 167(2021): 112342.
- [18] LMGARCÍA GARCÍA, CAMPOS C, KERSHAW S, *et al.* Scenarios of intermittent *E. coli* contamination from sewer overflows to shellfish growing waters: The dart estuary case study [J]. *Mar Pollut Bull*, 2021. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2021.112332
- [19] LI C, TARDAJOSADRIAN PEDRAZO, WANG D, *et al.* A simple method to clean ligand contamination on TEM grids [J]. *Ultramicroscopy*, 2021, 4: 221–232.
- [20] LI SM, JIA MY, LI Z, *et al.* Ecotoxicity of arsenic contamination toward the soil enchytraeid *Enchytraeus crypticus* at different biological levels: Laboratory studies [J]. *Ecotox Environ Saf*, 2021, 5: 207–219.
- [21] GU X, XIN M, WANG J, *et al.* Historical records of trace metals in two sediment cores of Jiaozhou Bay, North China [J]. *Mar Pollut Bull*, 2022, 4: 175–186.
- [22] MISHRAAMRIT KUMAR, FAROOQSYED HILAL. Trace metal accumulation in seagrass and saltmarsh ecosystems of India: Comparative assessment and bioindicator potential [J]. *Mar Pollut Bull*, 2022, 3: 174–186.
- [23] MARTINEZALINE S, UNDERWOOD TONY, CHRISTOFOLETTIRONALDO A, *et al.* Reviewing the effects of contamination on the biota of Brazilian coastal ecosystems: Scientific challenges for a developing country in a changing world [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 3: 803–821.
- [24] DANG P, GU X, LIN CY, *et al.* Distribution, sources, and ecological risks of potentially toxic elements in the Laizhou Bay, Bohai Sea: Under the long-term impact of the Yellow River input [J]. *J Hazard Mater*, 2021, (3): 125429.
- [25] BUCCINO M, DALIRI M, CALABRESE M, *et al.* A numerical study of arsenic contamination at the Bagnoli bay seabed by a semi-anthropogenic source. Analysis of current regime [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 34: 782–796.
- [26] VIEGAS C, PENA P, DIAS M, *et al.* Microbial contamination in waste collection: Unveiling this Portuguese occupational exposure scenario [Z]. 2022.
- [27] SAADATMAND M, DADOLAHISOHRAB ALI, TAVANIMOSTAFA B, *et al.* Monitoring heavy metal contamination on the Iranian coasts of the Persian Gulf using biological indicators: Risk assessment for the consumers [J]. *Environ Monit Assess*, 2022, 194(2): 264–279
- [28] MALIK M, MAHMOOD S, NOREEN S, *et al.* Lead contamination affects the primary productivity traits, biosynthesis of macromolecules and distribution of metal in durum wheat (*Triticum durum* L.) [J]. *Saudi J Biol Sci*, 2021, 28(9): 386–389.
- [29] YUKI O, ATSUSHI S, KYOKO Y, *et al.* Geochemical distribution of heavy metal elements and potential ecological risk assessment of Matsushima Bay sediments during 2012–2016 [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 751: 141825.
- [30] CARLES L, MARTIN-LAURENT F, DEVERS M, *et al.* Potential of preventive bioremediation to reduce environmental contamination by pesticides in an agricultural context: A case study with the herbicide 2,4-D [J]. *J Hazard Mater*, 2021, (9): 125740
- [31] QUENTIN MT, CAROLINE L, CORINNE GR, *et al.* Crohn's disease and environmental contamination: Current challenges and perspectives in exposure evaluation [J]. *Environ Pollut*, 2020, 263(Pt B): 548–564.

(责任编辑: 于梦娇 韩晓红)

作者简介



吴丽华, 主任医师, 主要研究方向为人体中有害物质的快速检测。
E-mail: 1741316045@qq.com



盛建国, 教授, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: ssjgh@just.edu.cn