

牺牲硅胶法合成 Asp - MIPs 及其性能研究

刘运美^{1,2}, 何 军³, 吕昌银², 高治平¹, 郭 玉¹

(1. 南华大学 药学与生命科学院, 湖南 衡阳 421001; 2. 南华大学 公共卫生学院, 湖南 衡阳 421001;
3. 南华大学 化学化工学院, 湖南 衡阳 421001)

摘 要: 采用分子印迹技术合成以 AM、4 - VP 为功能单体的系列 Asp - MIPs, 并利用 SEM、IR 等技术对 MIP 进行分析和表征。等温吸附、Scatchard 分析对 MIP 的静态吸附性能及吸附特异性的研究所得平衡解离常数 K_d 和表观最大吸附常数 Q_{max} 数据表明: 各 MIPs 在对底物进行吸附时, 均会产生两种不同类的亲和位点。以 AM 为功能单体可获得吸附性能较好的 MIP。

关键词: 分子印迹技术; 牺牲硅胶法; 分子印迹聚合物; 乙酰水杨酸

中图分类号: O652.6 **文献标识码:** A

Synthesis and Evaluation of Asp - MIPs with Silica - gel as Sacrificial Materials

LIU Yun-mei^{1,2}, HE Jun³, Lü Chang-yin², GAO Zhi-ping¹, GUO Yu¹

(1. School of Pharmacy and Life Science, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China;
2. School of Public Health, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 3. School of chemistry and Chemical Engineering, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

Abstract: A series of Asp - MIPs taking AM and 4 - VP as functional monomer were synthesized with silica - gel as sacrificial materials. The physical and chemical properties of the polymers were analyzed by scanning electron microscope (SEM), IR and Ultraviolet (UV) technology. Adsorption isotherms, static adsorption ability of Asp - MIPs were measured by UV. Equation disassociation constant K_d and apparent max adsorb constant Q_{max} were determined. There were two different binding sites in MIPs in the process of the adsorption substrate. Asp - MIPs synthesized with silica - gel as sacrificial materials had stronger and better binding ability.

Key words: molecular imprinting technique, silica - gel as sacrificial materials, molecularly imprinted polymer, acetylsalicylic acid.

收稿日期: 2009 - 04 - 08

基金项目: 湖南省教育厅科学研究基金项目资助(07C622)

作者简介: 刘运美(1971 -), 女, 湖南常德人, 南华大学药学与生命科学院讲师, 硕士。主要研究方向: 天然药物的分离、结构修饰及合成研究。

分子印迹技术是近年来迅速发展的一项技术,已广泛应用于分析化学的多个领域^[1-4]. 它的关键在于制备对目标分子具有特异性选择且高度稳定的聚合物-分子印迹聚合物(MIPs),制备MIPs的方法日益受到关注. 牺牲硅胶法是在本体聚合过程中,硅胶与功能单体形成聚合物的骨架,用HF将硅胶溶解除去,此工艺较好地解决了本体聚合物的不足.

本文以乙酰水杨酸(Asp)为模板分子,氯仿为溶剂,丙烯酰胺(AM)或4-乙烯基吡啶(4-VP)为功能单体,1,4-二乙烯基苯(DVB)为交联剂,采用牺牲硅胶法合成对Asp具有选择性吸附的分子印迹聚合物(Asp-MIPs). 结果表明,与同时合成的非模板聚合物(NIP)相比,Asp-MIPs对药物乙酰水杨酸具有更好的吸附性能,更高的选择性.

1 材料与方 法

1.1 材 料

UV8500型紫外/可见分光光度计(上海天美公司),IR Prestige-21型傅里叶变换红外光谱仪(岛津,日本),KYKY-2800电子扫描显微镜(北京中科科仪)等.

乙酰水杨酸(Asp, Alfa Aesar company),1,4-二乙烯基苯(DVB, Sigma Aldrich company),4-乙烯基吡啶(4-VP, Alfa Aesar company),丙烯酰胺(AM, 上海山浦化工有限公司,化学纯),偶氮二异丁腈(AIBN, 天津市福晨化学试剂厂,分析纯),硅胶,其它试剂均为分析纯.

1.2 方 法

1.2.1 预聚合体系

取模板分子(0.01 mol),溶于CHCl₃中,加入适量功能单体(AM或4-VP)充分混匀,加入DVB(0.2 mol),用CHCl₃稀释至50 mL,超声15 min,通氮除氧15 min,密封后于恒温磁力搅拌器上搅拌30 min,40℃振荡24 h,制得预聚合物溶液.

取0.98 g引发剂AIBN,溶于10 mL CHCl₃,同上处理,制得引发剂溶液备用.

1.2.2 合成 MIP

取预聚合物溶液5 mL,加入5.3 g硅胶,充分混合至无粘连,加入0.3 mL引发剂溶液,于水浴60℃恒温引发聚合24 h,倾入聚四氟乙烯塑料烧杯中,加入40% HF溶液40 mL,搅拌12 h以上,过滤,用10%乙酸-甲醇液洗脱,乙腈洗涤除去

残留的乙酸和甲醇,干燥至恒重,得到 Asp-MIPs.

除不加 Asp 外,其余操作步骤相同,制得非印迹聚合物(NIP).

1.2.3 IR、SEM 法表征 MIPs

用扫描电镜(SEM)对洗脱前后进行显微观察.将干燥的分子印迹聚合物混合KBr压片制样.测定其中红外区4000-400 cm⁻¹的吸收谱带^[5].

1.2.4 MIPs 选择性吸附实验

准确称取MIP及NIP系列样品20 mg,加入2.0 mL浓度为5 mmol/L的Asp-CHCl₃溶液,CHCl₃定容至10 mL,振荡24 h后,离心,根据上层清液中Asp浓度计算K_D.

1.2.5 MIPs、NIPs 的 Scatchard 分析曲线

称量样品10份,每份20 mg,置于10 mL比色管中,加入5.0 mL Asp-CHCl₃标液(浓度系列为0.1~4.5 mmol/L),振荡24 h,过滤,取上层清液,稀释,测紫外吸收.计算聚合物对Asp的结合量,平行测定3次,取平均值.由Scatchard分析吸附类型及吸附性能.

2 结 果

2.1 MIPs 的 SEM 图

牺牲硅胶法合成的MIP洗脱前后的SEM如图1,图2所示.从图中可看出,牺牲硅胶法合成的MIP颗粒均匀,且形状相对规则.



图1 洗脱前PG-2的SEM图

Fig.1 SEM image of PG-2 before washing

2.2 分子印迹聚合物功能基团的IR研究

对以AM为功能单体制备的MIP扫IR谱图(图3).

图中 3500 - 3100 cm^{-1} 附近的吸收峰出现双峰, 酰胺的 -NH 被游离出来, 即存在与模板分子进行特异性识别的功能基团.

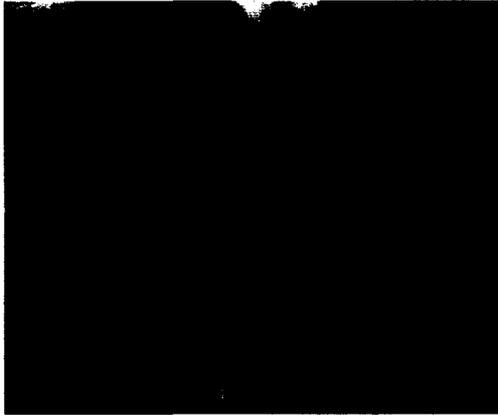


图 2 洗脱后的 PG - 2 的 SEM 图
Fig. 2 SEM image of PG - 2 after washing

选择性^[6], 其静态分配系数 K_D 的定义为

$$K_D = c_p / c_s$$

式中, c_p - 底物在聚合物上的浓度, $\mu\text{mol/g}$; c_s - 底物在溶液中的浓度, $\mu\text{mol/mL}$.

表 1 结果表明, MIP 对于底物吸附选择性明显强于同法合成的 NIP.

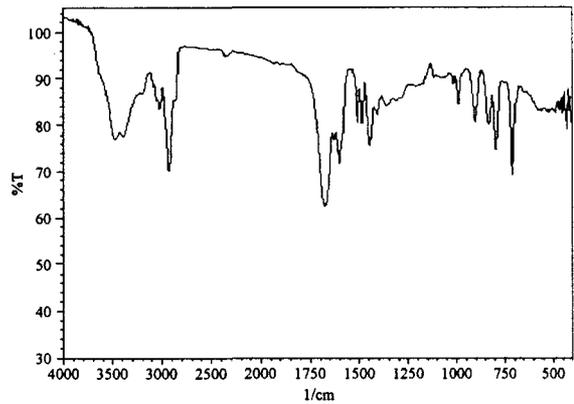


图 3 MIPs 的 IR 图

Fig. 3 IR absorption spectra of MIPs

2.3 MIPs 识别特性评价

静态分配系数 K_D 常被用于评价 MIP 的分子

表 1 系列 MIP 对底物的吸附结果

Table 1 Absorption results of MIPs

聚合物	模板分子	功能单体	底物	吸附前后 Δc $/(\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$	c_p $/(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	c_s $/(\mu\text{mol} \cdot \text{mL}^{-1})$	K_D
PG - 1	无	AM	Asp	0.128 9	64.45	0.871 1	73.99
PG - 2	Asp	AM	Asp	0.841 3	420.64	0.158 7	2 650.20
PG - 3	无	4 - VP	Asp	0.131 2	65.60	0.868 8	75.51
PG - 4	Asp	4 - VP	Asp	0.831 7	415.84	0.168 3	2 470.83

2.4 Scatchard 分析

采用 Scatchard 模型来评价 MIP 的结合特性^[7], MIP 对模板分子的吸附符合 Scatchard 方程:

$$\frac{Q}{c_{[\text{Asp}]}} = \frac{Q_{\max} - Q}{K_d}$$

作 $\frac{Q}{c_{[\text{Asp}]}} - Q$ 图. 对 PG - 2、PG - 4 的 Scatchard

分析图中两部分进行线性回归, 根据其截距和斜率求出的两大类结合位点的平衡解离常数 K_d 和表现最大吸附常数 Q_{\max} (表 2). 可见, 在高亲和位点 PG - 2 较 PG - 4 具有更强的亲和力, 但后者在低亲和位点的亲和力较前者强. 由于 4 - VP 较 AM 具有强的毒性, 且刺激性气味较浓, 试剂价格较贵, 综合诸多因素, AM 较 4 - VP 为更优的功能单体.

表 2 PG - 2, PG - 4 结合位点的 K_d 和 Q_{\max} 值

Table 2 K_d and Q_{\max} of binding sites for PG - 2, PG - 4

结合位点	高亲和位点			低亲和位点		
	$K_{d,1}$ $/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$Q_{\max,1}$ $/(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	R_1^2	$K_{d,2}$ $/(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	$Q_{\max,2}$ $/(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	R_2^2
PG - 2	7.406×10^{-5}	287.609	0.983 6	1.0163×10^{-2}	3 557.622	0.996 8
PG - 4	$1.201 5 \times 10^{-4}$	366.951	0.980	4.4091×10^{-3}	1 724.339	0.947 6

- [38] 郭永龙,王焰新,蔡鹤生,等. 垃圾填埋场渗滤液对地下水环境影响评价[J]. 地质科技情报,2002,21(1):87-90.
- [39] Christensen J B, Jensen D L, Christensen T H. Effect of dissolved organic carbon on the mobility of Cadmium, Nickel and Zinc in leachate polluted groundwater[J]. Wat. Res., 1996,30(12):3037-3049.
- [40] Christensen T H, Kjeldsen P, Bjerg P L, et al. Biogeochemistry of landfill leachate plumes[J]. Appl. Geochem., 2001,16:659-718.
- [41] 肖正,何晶晶,邵立明,等. 填埋场内重金属总量及其形态分布对迁移性的影响[J]. 环境化学, 2005,24(3):265-269.
- [42] 夏立江,温小乐. 生活垃圾堆填区周边土壤的性状变化及其污染状况[J]. 土壤与环境,2001,10(1):17-19.
- [43] Bozkurt S, Moreno L, Neretsson I. Long-term fate of organics in waste deposits and its effect on metal release[J]. Sci. Total Environ., 1999,228:135-152.
- [44] 付美云,周立祥. 垃圾渗滤液有机物以土壤 Pb 溶出的影响[J]. 环境科学 (Environmental Science), 2007,28(2):243-248.
- [45] Calace N, Massimiani A, Petronio, et al. Municipal landfill leachate - soil interactions: a kinetic approach [J]. Chemosphere, 2001,44:1025-1031.
- [46] 付美云,周立祥. 垃圾渗滤液水溶性有机物对土壤吸附重金属 Ca^{2+} 、 Pb^{2+} 的影响[J]. 环境科学学报 (Acta, Scientiae Circumstantiae), 2006,26(5):828-834.
- [47] Christensen T H. Cadmium soil sorption at low concentrations VII: effect of stable solid waste leachate complexes[J]. Wat., Air Soil Pollut., 1989,44:43-56.
- [48] Harmsen J. Indentification of organic compounds in leachate from a waste tip[J]. Wat. Res., 1992,17(6):699-705.
- [49] 付美云,周立祥. 渗滤液溶解性有机物对土壤 Ca、Pb 有效性的影响[J]. 应用生态学报, 2006,17(7):1295-1300.
- [50] 罗宇,杨宏毅. MBR 工艺应用于垃圾渗滤液处理的研究[J]. 环境工程, 2004,22(2):69-71.
- [51] 杨志,汪蕪,张月琴,等. GC-MS 法对垃圾渗滤液生物处理前后微量有机物的研究[J]. 环境污染与防治, 2005,27(3):218-221.

(上接第89页)

3 结论

文章以胶硅为牺牲材料,分别合成以 AM、4-VP 为功能单体的 Asp-MIPs. 采用 IR、SEM 等技术从反应基团的角度对 MIP 的特异性吸附性能进行佐证. 分别对合成的 MIP、NIP 进行 Scatchard 分析,发现两种不同功能单体合成的 MIP 在对底物进行吸附时,均会产生两种不同类型的亲和位点,而同时合成的 NIP 则不符合 Scatchard 吸附模型,说明 MIP 对模板分子具有专一性吸附作用,而 NIP 则是以非特异性物理吸附作用为主.

参考文献:

- [1] Haginaka J. Selectivity of affinity media in solid-phase extraction of analytes [J]. Trends Anal Chem., 2005,24:407-415.
- [2] Cameron A, Louise D, Wayne H. Imprinted polymers: artificial molecular recognition materials with application in synthesis and catalysis [J]. Tetrahedron, 2003,59:2025-2057.
- [3] 赖家平,何锡文,郭洪声. 分子印迹的回顾、现状与展望[J]. Chinese J. Anal. Chem (分析化学), 2001,29(7):836-844.
- [4] 刘运美,吕昌银,范翔,等. 乙酰水杨酸分子印迹聚合物的合成及性能研究[J]. J. Journal of Instrumental Analysis. (分析测试学报), 2007,26(2):165-169.
- [5] 小宫山真(日). 分子印迹学-从基础到应用[M]. 吴世康,汪鹏飞,译. 北京:科学出版社,2006.
- [6] 张立永,成国祥,陆书来,等. 悬浮聚合法制备西咪替丁印迹聚合物微球的分子选择性能[J]. 分析化学 2003,31(6):655-658.
- [7] Matsui J, Miyoshi Y, Doblhoff-Dier O, et al. A molecularly imprinted synthetic polymers receptor selective for atrazine [J]. Anal. Chem., 1995,67(23):4404-4408.