

酚酞分子印迹聚合物的制备及其特异吸附性能

石慧丽 樊静* 魏娅方

(河南师范大学化学与环境科学学院, 黄淮水环境与污染防治省部共建教育部重点实验室,
河南省环境污染控制重点实验室 新乡 453007)

摘要 以泻药酚酞为模板分子, 4-乙烯基吡啶为功能单体制备了模板分子和功能单体不同比例的一系列酚酞分子印迹聚合物。采用扫描电子显微镜对聚合物进行了表面形态分析, 用静态平衡法研究了聚合物对模板分子及其类似物的吸附行为和选择性识别能力。结果表明, 所制备的分子印迹聚合物吸附3 h后基本达到最大吸附量, 其中 n (模板分子): n (4-乙烯基吡啶): n (交联剂) = 1:6:20 时 MIP 的印迹因子为 2.30, 效果最佳。Scatchard 分析表明, 在所研究的浓度范围内, 吸附过程存在高低亲和力 2 类结合位点, 其离解常数分别为 $K_{d1} = 0.63$ mmol/L 和 $K_{d2} = 3.5$ mmol/L, 最大表观结合量分别为 $Q_{max1} = 25.4$ μ mol/g 和 $Q_{max2} = 61.9$ μ mol/g, 通过与酚酞类似物质在酚酞分子印迹聚合物上吸附行为比较, 表明 MIP 对酚酞具有很好的选择性吸附。

关键词 酚酞, 分子印迹聚合物, 制备, 特异吸附

中图分类号: O631

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2009)08-0971-05

分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymer, MIP)对选定的模板分子有较高的亲和性和选择性, 又具有抗恶劣环境的能力、稳定性高和使用寿命长等优点。因此, 适用于药物以及复杂的生物和环境样品的选择性富集、分离等样品前处理工作^[1-3]。迄今已合成了数十种药物 MIP, 如 Urracad 等^[4]用普鲁卡因青霉素作模板分子合成的 MIP, 成功分离了青霉素和它的衍生物; 曹玺珉等^[5]合成的 MIP 对依诺沙星呈现较高的吸附性能和选择识别特性, 但有关泻药酚酞分子印迹聚合物的合成、特异吸附性能研究目前尚未见文献报道。酚酞(也称酞酞, 非诺夫他林(Phenolphthalein), 其商品名为果导片), 在医学上主要作为刺激性泻药, 用于治疗慢性便秘, 有减肥效果。但过量或长期服用会引起心律失常、神志不清、肌痉挛以及倦怠无力等症。目前, 对酚酞的检测方法主要有间接碘量法^[6]和紫外分光光度法^[7]。这些方法虽然简便, 但是需要对样品进行排除干扰和分离富集等复杂的前处理工作。本文利用分子印迹技术合成了以酚酞为模板分子, 4-乙烯基吡啶为功能单体, 通过对它们合成的比例进行优化, 得到了印迹效果较好的 MIP, 为含有酚酞样品的前处理及选择性分离富集提供了新的固相萃取材料。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

4-乙烯基吡啶(4-VP, 美国 Acros 公司), 95%, 使用前减压蒸馏除去阻聚剂; 乙二醇二甲基丙烯酸(EDMA, 美国 Acros 公司), 98%; 偶氮二异丁腈(AIBN), 化学纯; 酚酞(PP), 双酚 A(BPA), 茜素紫, 葡萄糖, 苏丹 III(生物染色剂), 乙腈, 甲醇, 冰乙酸, 无水乙醇, 以上试剂均为分析纯。实验用水为去离子水。T6 型新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限公司); 电热恒温水浴锅; KQ2200B 型超声波清洗器; JSM-5610LV 型扫描电子显微镜(SEM, 日本); 真空干燥箱。

1.2 酚酞分子印迹聚合物的合成

于 0.318 3 g(1 mmol) 酚酞中加入 12 mL 乙腈, 加热使之溶解。加入 0.43 mL 或 0.64 mL 或 0.85 mL 功能单体 4-VP, 振荡 3 h 使模板分子酚酞和功能单体 4-VP 充分作用, 再依次加入 3.78 mL(20 mmol) EDMA 和 60 mg AIBN, 超声 5 min 混合均匀, 并通 N_2 气 10 min 脱氧后用气球密封, 于 60 $^{\circ}C$ 恒温水浴中反应 24 h, 制得棒状 MIP。将固体在研钵中磨碎后过 0.096 ~ 0.180 mm 的筛, 将筛分得到的固体颗粒放

2008-08-16 收稿, 2008-11-12 修回

河南省基础与前沿技术研究计划项目(082300423202)

通讯联系人: 樊静, 女, 博士, 教授; E-mail: fanjing@henannu.edu.cn; 研究方向: 环境分析

入索氏提取器中,用150 mL $V(\text{甲醇}):V(\text{乙酸})=9:1$ 的溶液连续抽提72 h,洗脱聚合物中酚酞模板分子,直至回流提取液中检测不出酚酞分子,最后用甲醇洗至聚合物呈中性,晾干后60 °C真空干燥24 h,放入干燥器备用。用同样条件制备无模板分子的空白聚合物(NIPs)。

采用上述方法制得 $n(\text{模板分子(PP)}):n(\text{功能单体(4-VP)}):n(\text{交联剂(EDMA)})$ 为1:4:20、1:6:20和1:8:20的3种印迹聚合物及其对应的非印迹聚合物。

1.3 静态平衡结合实验

准确称取MIP和NIP各30.0 mg,加入3 mL不同浓度的酚酞或其结构类似物的乙腈溶液,在室温下静置吸附24 h后,移取适量上层清液,用乙腈稀释至25 mL后,用紫外分光光度计测定平衡吸附液中酚酞的浓度。根据结合前后溶液中酚酞浓度的变化计算聚合物的吸附量,取3次测定的平均值。

2 结果与讨论

2.1 酚酞和功能单体相互作用的紫外光谱分析

固定酚酞乙腈溶液的浓度为 $c_0=0.03$ mmol/L,加入不同浓度的功能单体4-VP,混合均匀放置1 h,用相应浓度的4-VP溶液作为参比,测得其紫外吸收光谱的变化如图1所示。由图1可见,随着4-VP浓度的增加,光谱中2个吸收峰强度均发生了显著的变化,其中酚酞在205 nm处的吸收峰红移,229 nm处的吸收峰蓝移且强度均降低,最终在219 nm处形成最大吸收峰,表明在模板和功能单体之间产生了相互作用并形成了复合物。由于酚酞是弱有机酸,分子结构中含有2个羟基,可与碱性的4-VP产生离子键或氢键作用,使酚酞的紫外光谱发生了变化,4-VP的浓度越大变化越明显。

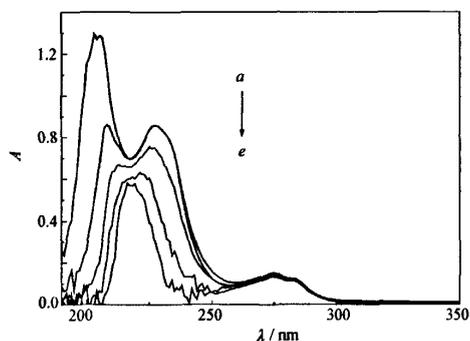


图1 4-VP对PP紫外光谱的影响

Fig. 1 UV absorption spectra of PP in the presence of 4-VP with different concentrations in acetonitrile $c_0(\text{PP})=0.03$ mmol/L; $c(4\text{-VP})/(\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1})$: a. 0.0; b. 0.06; c. 0.12; d. 0.18; e. 0.24

2.2 聚合物表面形态的分析

$n(\text{PP}):n(4\text{-VP}):n(\text{EDMA})=1:6:20$ 的MIP和NIP表面的SEM图见图2。图中可见,NIP表面比较平滑,而MIP表面则粗糙多孔,由于模板分子在聚合物母体中占有一定的空间,模板分子经洗脱后,这种空间便被固定下来,从而形成多孔性表面。

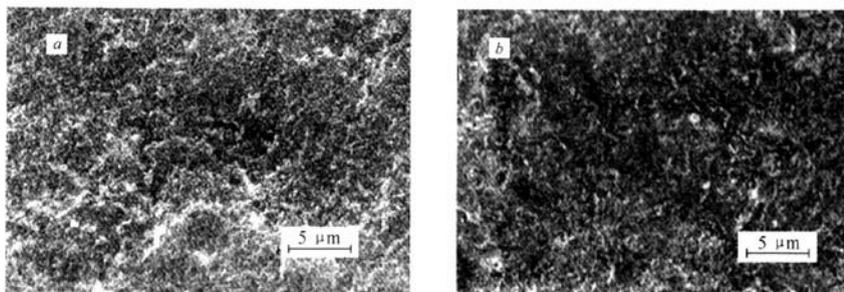


图2 MIP(a)和NIP(b)的扫描电子显微镜图

Fig. 2 SEM micrographs of (a) MIP and (b) NIP particles

2.3 功能单体加入量的优化

采用印迹因子^[8](imprinting factor, β)表征MIPs的特异吸附性的大小:

$$\beta = Q_{\text{MIP}}/Q_{\text{NIP}} \quad (1)$$

式中, Q_{MIP} 和 Q_{NIP} 分别为MIP和NIP对模板分子的饱和吸附量($\mu\text{mol/g}$),由静态平衡结合实验法测得的

各 MIP 及 NIP 对 PP 的吸附量,用公式(1)计算得出的印迹聚合物对酞酐的印迹因子列于表 1。

表 1 不同配比印迹聚合物的印迹因子(β)

Table 1 Imprinting factor of molecularly imprinted polymers with different molar ratios of template to functional monomer ($n=3$, $t_{0.05,2}=4.30$)

$n(\text{PP}):n(4\text{-VP})$	$Q_{\text{MIP}}/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	$Q_{\text{NIP}}/(\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1})$	β
1:4	13.0 ± 0.97	7.5 ± 0.63	1.73
1:6	20.0 ± 1.42	8.7 ± 0.64	2.30
1:8	36.0 ± 1.79	28.5 ± 1.68	1.26

从表 1 可以看出,印迹聚合物对模板分子的吸附能力明显高于非印迹聚合物,在 3 种印迹聚合物中, $n(\text{PP}):n(4\text{-VP})=1:8$ 的 MIP 的吸附量最大,但印迹因子 β 很小,印迹效果不好,这是由于非特异性吸附位点增多,使吸附量增大,从而选择性下降。 $n(\text{PP}):n(4\text{-VP})=1:6$ 的 MIP 的印迹因子最大,印迹效果最好,特异吸附性和识别能力均优于其它 2 种 MIP。故以下讨论的 MIP 均按此比例制得。

2.4 MIP 对酞酐的结合特性

采用静态平衡结合实验,用紫外分光光度法测定在乙腈溶液中 MIP 和所对应的 NIP 对不同浓度酞酐的吸附,按(2)式计算吸附量 Q :

$$Q = (c_1 - c_2) \times V \times 1000 / M_{\text{MIP}} \quad (2)$$

式中, Q 为聚合物的吸附量 ($\mu\text{mol/g}$); c_1 和 c_2 分别为吸附前后模板分子的初始浓度和平衡浓度 ($\mu\text{mol/mL}$); V 为溶液的体积 (mL); M_{MIP} 为分子印迹聚合物的质量 (mg)。其结果如图 3 所示。从图中可以看出,在测定的浓度范围 ($0 \sim 4.5 \text{ mmol/L}$) 内, MIP 的吸附量随着酞酐浓度的增加而增加,其吸附量远大于 NIP,说明组成相同的 MIP 和 NIP 的结构存在明显的差异, MIP 含有与酞酐分子的立体结构相吻合的固定排列的功能基空穴,而 NIP 中则没有, MIP 吸附量的增加主要来源于这种空穴的选择性吸附。采用常用来评价 MIP 结合特性的 Scatchard 模型:

$$Q/c = (Q_{\text{max}} - Q)K_d \quad (3)$$

式中, K_d 为结合位点的平衡解离常数, Q_{max} 为最大表观结合量 ($\mu\text{mol/g}$), c 为模板分子酞酐的平衡浓度 (mmol/L)。以 Q/c 对 Q 作图(图 4)可见, Q/c 对 Q 呈明显的非线性关系,所以聚合物中的结合位点是非均一性的。但图两端均有较好的线性关系,可据此判断在测定的浓度范围内, MIP 对酞酐分子有高、低亲和性 2 类不同性质的结合位点。因为在制备非共价型分子印迹聚合物时,模板分子和功能单体之间可能有多种结合方式形成复合物,于是就形成不同性质的结合位点。由两端直线的斜率和截距可求得高、低亲和力结合位点的解离常数分别为 $K_{d1} = 0.63 \text{ mmol/L}$ 和 $K_{d2} = 3.5 \text{ mmol/L}$,最大表观结合量分别为 $Q_{\text{max}1} = 25.4 \mu\text{mol/g}$ 和 $Q_{\text{max}2} = 61.9 \mu\text{mol/g}$,所观察到的吸附是这两类作用位点共同作用的结果。

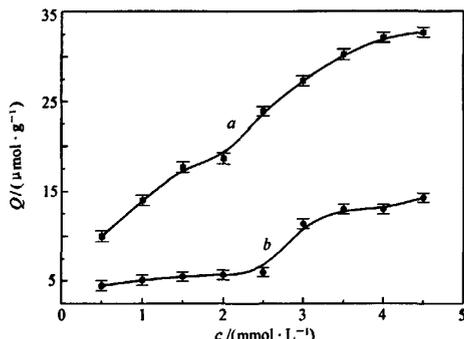


图 3 MIP(a)和 NIP(b)对 PP 的吸附等温线

Fig.3 Adsorption isotherms of (a) MIP and (b) NIP for PP

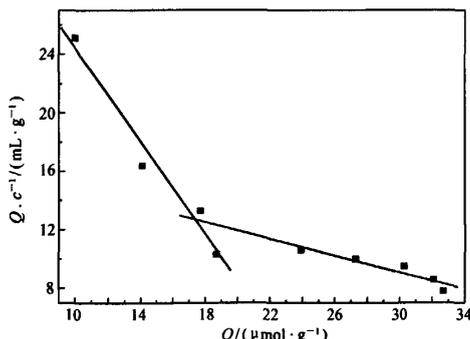


图 4 MIP 的 Scatchard 图

Fig.4 Scatchard graph of MIP for PP

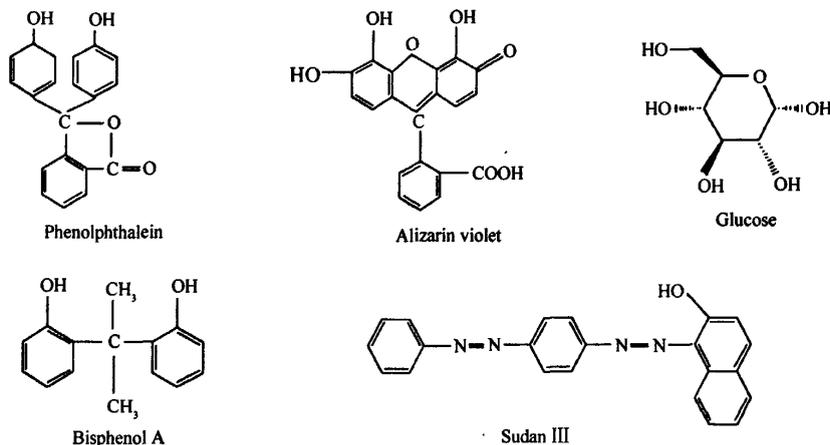
2.5 MIP 对酞酐的吸附动力学

在乙腈溶液中固定酞酐的浓度为 3.0 mmol/L ,不同时间内 MIP 对酞酐的吸附量如图 5 所示。在前

45 min 内吸附量迅速增加,3 h 后基本达到平衡。由于 MIP 是由交联剂和功能单体所构成的立体空穴组成,其分布不可能完全均匀,必然存在着深孔和浅孔,并且合成的块状 MIP 在研磨成粒状后,其表面也会产生深浅不一的空穴。在吸附开始阶段,浅孔对模板分子的结合速率较快,而一旦浅孔被吸附饱和后,模板分子向 MIP 的深孔传质有一定的位阻,导致结合速率下降,但在 3 h 内基本完成对酚酞的选择性吸附。

2.6 MIP 的吸附选择性

选用与酚酞分子结构相似的茜素紫,双酚 A 以及样品中可能有的干扰物质糖类(葡萄糖)或一些色素^[9](苏丹 III)(其结构式见 Scheme 1)为底物,以无水乙醇为溶剂(葡萄糖先用少量水溶解),采用静态平衡结合法测得的 MIP 和 NIP 的吸附量列于表 2。以印迹聚合物对底物的最大吸附量减去非印迹聚合物的最大吸附量作为 MIP 对底物的特异吸附量,并定义 MIP 对酚酞的选择因子 $\alpha = 1$,对其它底物的选择因子 α 为 MIP 对它们的特异性吸附量与对酚酞的特异性吸附量的比值^[10]。 α 越接近 1,说明 MIP 对它的选择性越好。



Scheme 1 Structures of phenolphthalein and its analogues

表 2 不同底物在 MIP 和 NIP 吸附量及选择因子

Table 2 Adsorption amounts of different substrates and selectivity factors on MIP and NIP ($n = 3$, $t_{0.05,2} = 4.30$)

Substrates	$Q_{MIP}/(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	$Q_{NIP}/(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	$\Delta Q/(\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1})$	α
PP	21.1 ± 1.55	6.5 ± 0.78	14.6	1.00
Alizarin Violet	20.7 ± 1.51	18.7 ± 1.16	2.0	0.13
BPA	7.8 ± 0.48	5.4 ± 0.46	2.4	0.16
Glucose	18.5 ± 1.25	18.8 ± 1.46	-	-
Sudan III	19.0 ± 1.42	23.4 ± 1.41	-	-

由表 2 可见, MIP 对酚酞的特异吸附远远大于对其结构类似物和药物添加剂的特异吸附,说明 MIP 对酚酞具有很好的分子识别能力。因为模板分子酚酞通过氢键或离子键在自身周围固定功能单体 4-VP,在交联剂作用下,形成高度交联的网状 MIP,经洗脱后留下功能基和网状结构的形状均能与模板分子相匹配的空穴,因此对酚酞分子具有特异的识别能力。而在 NIP 中,功能单体的功能基是任意排列的,聚合过程中不形成与模板分子相匹配的空穴,因此对模板分子只有较小的特异吸附。MIP 和 NIP 对

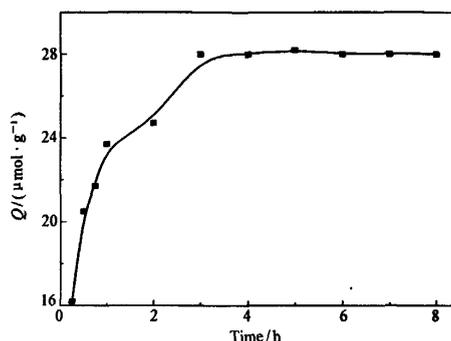


图 5 MIP 的吸附动力学曲线

Fig. 5 Adsorption kinetics curve of MIP

茜素紫吸附量均比较大,可能是因为茜素紫分子中多1个羧基和酚羟基,与MIP和NIP的吡啶基之间均可能形成氢键或离子作用,增加了NIP对茜素紫的非特异性吸附,因此选择因子 α 比较低。虽然双酚A和酚酞均含有2个酚羟基,但选择因子也很低,这是由于其分子较小,且酚羟基的分布与印迹结合位点不匹配。MIP和NIP对样品中可能存在的葡萄糖和苏丹Ⅲ的吸附量比较大,NIP甚至比MIP要大。可能是因为葡萄糖结构中多个羟基和苏丹Ⅲ结构中的1个羟基和多个N原子与聚合物中的吡啶基之间均可能形成氢键作用,NIP虽然有着和MIP相同的化学组成,但它没有形状和化学功能基与模板分子互补的分子识别位点,因此对葡萄糖和苏丹Ⅲ的吸附属于非特异性吸附,只要选择能破坏非特异性作用力而不破坏特异性作用力的淋洗剂即可排除干扰,从而达到选择性分离和富集酚酞的目的。

参 考 文 献

- 1 Farrington K, Magner E, Regan F. *Anal Chim Acta*[J], 2006, 566(1):60
- 2 Beltran A, Caro E, Marce R M, Cormack P A G, Sherrington D C, Borrull F. *Anal Chim Acta*[J], 2007, 597(1):6
- 3 Masqué N, Marcé R M, Borrull F, Cormack P A G, Sherrington D C. *Anal Chem*[J], 2000, 72(17):4 122
- 4 Urraca J L, Moreno-Bondi M C, Hall A J, Sellergren B. *Anal Chem*[J], 2007, 79(2):695
- 5 CAO Xi-Min(曹玺珉), LIAO Ling(廖玲), DU Li-Ming(杜黎明). *Chinese J Appl Chem(应用化学)*[J], 2008, 25(1):43
- 6 China Pharmacopoeia Committee(国家药典委员会). *Chinese Pharmacopoeia(中华人民共和国药典)*[Z], Part II(二部). Beijing(北京):Chemical Industry Press(化学工业出版社), 1990:608
- 7 China Pharmacopoeia Committee(国家药典委员会). *Chinese Pharmacopoeia(中华人民共和国药典)*[Z], Part II(二部). Beijing(北京):Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2005:652
- 8 Takeda K, Kobayashi T. *Sci Technol Adv Mater*[J], 2005, 6(2):165
- 9 YUAN Chun-Hui(袁春晖), FENG Jia-Li(冯家力), PAN Zhen-Qiu(潘振球), LI Bang-Rui(李帮锐). *Chinese J Prey Med(中华预防医学杂志)*[J], 2006, 40(5):362
- 10 Hishiya T, Shibata M, Kakazu M, Asanuma H, Komiyama M. *Macromolecules*[J], 1999, 32(7):2 265

Preparation and Specific Adsorption Performance of Molecularly Imprinting Polymers for Phenolphthalein

SHI Hui-Li, FAN Jing*, WEI Ya-Fang

(School of Chemistry and Environmental Science, Key Laboratory for Yellow and Huai Rivers Water Environment and Pollution Control, Henan Key Laboratory for Environmental Pollution Control, Henan Normal University, Xinxiang 453007)

Abstract A series of molecularly imprinting polymers (MIPs) at different ratios of template to functional monomer were prepared with phenolphthalein as the template and 4-vinylpyridine as the functional monomer. The surface features of the polymers were analyzed by scanning electron microscopy. The static equilibrium binding experiments were performed to investigate the adsorption property and selective recognition of the MIPs for phenolphthalein and its analogues. It showed that the saturated adsorption was achieved in 3 h. The best imprinting effect was observed when the molar ratio of the template molecules, functional monomer and crosslinker was 1:6:20. Scatchard analysis shows that two classes of binding sites were formed in the imprinted polymers in the concentrations range studied. The calculated dissociation constant K_{d1} and the apparent maximum binding capacities Q_{max1} for the high affinity sites are 0.63 mmol/L and 25.4 $\mu\text{mol/g}$, while K_{d2} and Q_{max2} for the low affinity sites are 3.5 mmol/L and 61.9 $\mu\text{mol/g}$, respectively. The molecularly imprinting polymers display a higher selectivity for phenolphthalein compared with the analogues of phenolphthalein.

Keywords phenolphthalein, molecularly imprinting polymers, preparation, specific adsorption