

辐射引发悬浮聚合制备香草醛分子印迹聚合物

丁俊红 张艳 龚树文

(聊城大学化学化工学院 聊城 252059)

摘要 为提高香草醛的提取和使用价值,以香草醛为模板分子,甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,二甲基丙烯酸乙二醇酯(EDMA)为交联剂,采用紫外辐照引发悬浮聚合制备了香草醛分子印迹聚合物(Molecularly imprinted polymer, MIP)微球。利用扫描电镜、等温吸附实验、特异性吸附实验等考察了聚合物的形貌及粒径大小、吸附分离等性能。结果表明,辐照引发悬浮聚合制备的印迹聚合物具有较均匀的粒径分布和良好的等温吸附性能,并且表现出良好的特异吸附性能,MIP对于香草醛及邻香草醛的分离因子为2。

关键词 分子印迹聚合物,香草醛,辐射,悬浮聚合

中图分类号 O632.16, TQ317.4

分子印迹聚合物(Molecularly imprinted polymer, MIP)是近年来发展起的对某一特定分子具有识别吸附性能的新型高分子材料,且具有制备过程简单、吸附分离性好、稳定性高等优点,一直备受研究者们关注^[1-5]。MIP对模板分子的再结合吸附性能,使其在固相萃取分离^[6]、毛细管电色谱分离^[7]、膜分离^[8]、化学传感器^[9]等领域具有广阔的应用前景。

自由基聚合是制备聚合物的主要方法,其聚合条件易控制、易引发且可聚合的单体种类多,一直是制备MIP的主要方法。自由基聚合一般以偶氮二异丁腈(AIBN)作引发剂,通常的引发方式有辐射引发和热引发。相对于热引发,辐射引发具有反应条件易于控制,可在常温及低温下反应等优点,一直备受研究者青睐^[10-13]。悬浮聚合法是制备MIP常用的聚合方法,其制备过程通常是在分散剂、模板分子和功能单体的水溶液中,加入引发剂和交联剂,在一定条件下聚合得到球形MIP^[14-16]。

香草醛(3-甲氧基-4-羟基苯甲醛, Vanillin)又称香草素、香兰醛或香茅醛,是香子兰花萼中的典型香味物质,广泛应用于食品、饮料、香料和医药等领域,如香草醛可用于做化妆品的香精和定香剂,也可用作食品香料和调味剂,亦为抗癫痫药。通常香草醛样品在进行色谱分析之前均需经过复杂的前处理过程^[17-18],为提高其提取和使用效率,有必要研制对香草醛具有专一性吸附的固相萃取材料。到目前为止,辐射引发悬浮聚合制备香草醛分子印迹

聚合物尚未见报道。

本实验以香草醛为模板分子,甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯(EDMA)为交联剂,偶氮二异丁腈(AIBN)为引发剂,采用紫外辐射引发悬浮聚合制备了香草醛分子印迹聚合物(制备过程示意图如图1),研究了印迹聚合物的微观形貌及吸附分离等性能。

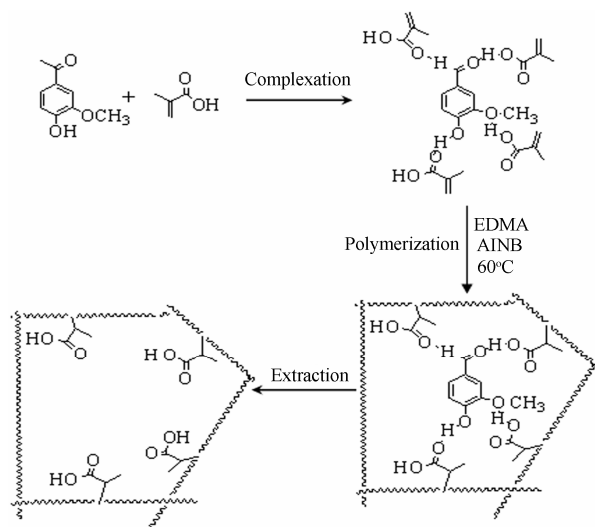


Fig.1 Schematic representation of synthesis of molecularly imprinted polymer (MIP)

1 实验材料与方法

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂 香草醛: 分析纯, 天津市光复精细化

山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(BS2010CL011)资助

第一作者: 丁俊红, 女, 1987年7月出生, 2009年毕业于泰山学院, 现为聊城大学硕士研究生, 研究方向功能高分子

通讯作者: 张艳, Email: zy@lccu.edu.cn

收稿日期: 初稿 2011-10-24, 修回 2011-11-24

工研究所;邻香草醛:分析纯,阿拉丁试剂(上海)有限公司;MAA:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;AIBN:化学纯,国药集团化学试剂有限公司;EDMA:分析纯,阿尔法埃莎试剂公司;聚乙烯醇(PVA):分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司;二次蒸馏水,其它试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器 紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限公司 TU-1810 型;气浴恒温振荡器:江苏国瑞实验仪器厂 THZ-82B 型;扫描电镜:日本 JEOL 公司 JST2300 型;真空干燥箱:上海一恒科技有限公司 DZF-6020 型;集热式搅拌器:金坛市新航仪器厂 DF-101S 型;紫外灯:天津英泽科技有限公司 1000 W;气浴恒温振荡器:江苏国瑞实验仪器厂 THZ-82B 型。

1.2 实验方法

1.2.1 香草醛分子印迹聚合物的制备 称取 20 g PVA (分散剂),溶于 50 mL 90℃–95℃ 去离子水,通 N₂ 10 min。将 0.0456 g 香草醛和 0.1 mL MAA 超声溶于 5 mL 乙腈,与 0.13 mL EDMA 和 12 mg AIBN 共同加入上述 PVA 溶液中,继续通 N₂ 10 min,密封。置于室温水浴集热式搅拌器中,控制转速 400r/m,紫外灯距反应体系 30 cm,以 1000 W 紫外灯照射 20 min,抽滤得到白色粉末状聚合物。以乙酸/甲醇(V/V, 1/9)溶液为溶剂在索氏提取器中将产品抽提 24 h,再用甲醇为溶剂抽提 24 h,洗掉模板分子及未聚合的单体,直至用紫外分光光度计检测不到模板分子及杂质,最后在真空烘箱中干燥 24h,得分子印迹聚合物。空白分子印迹聚合物(Non-imprinted polymer, NMIP),除不加香草醛外,聚合方法同上。

1.2.2 聚合物微观形貌观察 将 MIP 和 NMIP 颗粒分别固定于铜片上,喷金后,用 JST2300 型扫描电镜观测所得聚合物粒子的形貌、表面结构及其粒径

大小。

1.2.3 等温吸附性能测定 分别称取 40 mg MIP、NMIP 各置于 10 mL 1 mmol/L 的香草醛乙醇/水(V/V, 1/4)溶液和水溶液中,气浴恒温振荡器中振荡 24 h,离心(20×100 r/m) 10 min,取上层清液分别稀释至 0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08 和 0.1 mmol/L,在 TU-1810 型紫外可见分光光度计 310 nm 波长下测定各溶液中香草醛的吸光度,根据标准曲线计算出各溶液中香草醛的浓度,并根据下式计算印迹聚合物的吸附量^[19]:

$$Q = \frac{(C_0 - C_1)V}{W} \quad (1)$$

式中, Q (mg/g) 为印迹聚合物的吸附量; C_0 、 C_1 (mg/mL) 分别为吸附前和吸附平衡后溶液中香草醛的浓度; V (mL) 为香草醛溶液的体积; W (g) 为印迹聚合物的质量。

1.2.4 特异性吸附实验 分别称取 40 mg MIP、NMIP 各置于 10 mL 1 mmol/L 的香草醛和邻香草醛乙醇/水(V/V, 1/4)溶液中,气浴恒温振荡器中振荡 24 h,离心(20×100 r/m) 10 min。取 0.8 mL 上层清液,稀释至 0.08 mmol/L,在 TU-1810 型紫外可见分光光度计 310 nm 和 223 nm 波长下分别测定香草醛和邻香草醛的吸光度,根据标准曲线计算出吸附平衡后溶液中香草醛和邻香草醛的浓度,印迹聚合物吸附量计算方法同 1.2.3 小节。

2 结果与讨论

2.1 聚合物的微观形态

图 2 为辐射引发悬浮聚合制备的印迹聚合物放大 500 倍的扫描电镜图,从图(2a)(2b)中可以看出,在相同条件下制备的 MIP 与 NMIP 颗粒均呈球形,颗粒大小分布均匀,平均粒径约为 50 μm。MIP

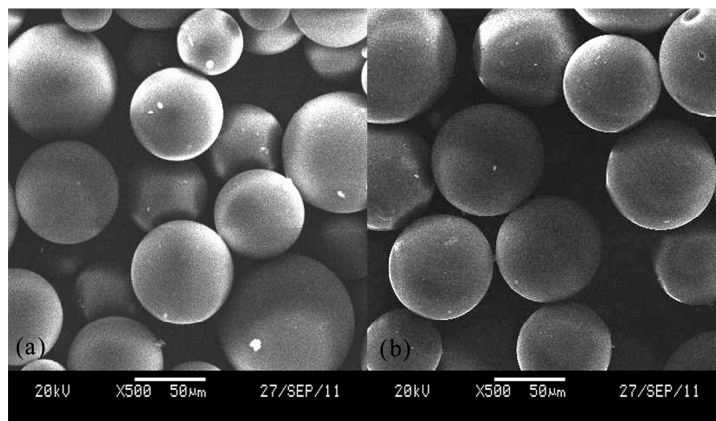


Fig.2 SEM images of the MIPs (×500) (a) NMIP, (b)MIP

的粒径稍大于 NMIP 的粒径, 可能是由于印迹分子的存在占有一定的空间体积, 洗脱后便留下大量的“空穴”, 在 MIP 与 NMIP 微球数量基本相同的情况下, 表现为 MIP 粒径较大^[20]。

2.2 等温吸附曲线

图3为辐射引发悬浮聚合制备的 MIP 和 NMIP 在不同浓度香草醛乙醇/水 (V/V, 1/4) 溶液中的等温吸附曲线。从图中可以看出, 随香草醛溶液浓度的增大, MIP 及 NMIP 对香草醛的吸附量都随之增大, 但 MIP 的吸附量均高于 NMIP; 且随香草醛浓度的增大, NMIP 吸附量的增加趋缓, MIP 与 NMIP 吸附量的差异增大, 说明 MIP 对香草醛分子具有良好的吸附效果, 这是因为 MIP 内部含有序香草醛分子再结合位点, 能在合适条件下与香草醛分子再结合, 实现其分子识别性能; 而 NMIP 对香草醛也有一定吸附性, 这是由于聚合物表面的非特异性物理吸附引起的。在制备 NMIP 时没加香草醛模板分子, 导致功能单体 MAA 不能以有序的排布固定在聚合物内, 因此 NMIP 就不具有良好的香草醛分子识别性能。图4为 MIP 和 NMIP 在香草醛水溶液中的

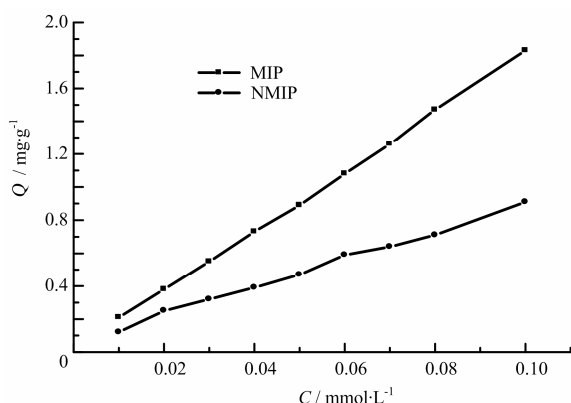


Fig.3 Adsorption isotherms of vanillin onto MIP and NMIP in the mixed solvent of ethanol/water

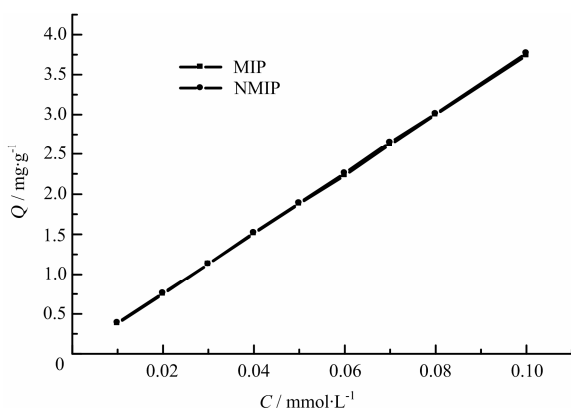


Fig.4 Adsorption isotherms of vanillin onto MIP and NMIP in water

的等温吸附曲线。从图4可以看出, MIP 和 NMIP 的吸附差异不明显, 吸附趋势及吸附量基本相同, 甚至 NMIP 的吸附量略高于 MIP。

从图3和图4综合分析, 当水的含量从80%增加到100%时, MIP 和 NMIP 的吸附量均有增加, 且只有当溶液中混有20%乙醇时, MIP 才表现出特异性吸附。这种现象是由香草醛分子中的疏水基导致, 随着香草醛溶液中水含量的增加, 疏水基与 MIP、NMIP 间的疏水作用被加强, 这就使得 MIP 本身的分子识别位点与香草醛的再结合受到限制, 这时 MIP 在水溶液中表现为非特异性吸附。在乙醇/水 (V/V, 1/4) 溶液中, 香草醛分子的疏水基作用受到限制, 这时 MIP 表现出特异性吸附^[21]。

2.3 Scatchard 分析

分子印迹聚合物的结合稳定性常用 Scatchard 模型来评价^[22], Scatchard 方程式为:

$$Q/[vanillin] = (Q_{\max} - Q)/K_d \quad (2)$$

式中, Q (mg/g) 为聚合物对香草醛的吸附量; $[vanillin]$ (mg/mL) 为聚合物吸附达到平衡时, 溶液中香草醛的浓度; $Q_{\max}$ (mg/g) 为结合位点的最大表观结合量; K_d (mg/mL) 为结合位点的平衡解离常数。

对 MIP 及 NMIP 分别以 $Q/[vanillin]$ 对 Q 作图, 如图(5a)及(5b)。由图(5a)可知, Scatchard 分析曲线由两条线性良好的直线组成, 表明 MIP 对香草醛的结合位点是非均一的; 由图(5b)可看出 Scatchard 分析曲线只有一条线性关系良好的直线, 表明 NMIP 对香草醛只有一种识别。这就符合印迹聚合物和非印迹聚合物结合位点的特点, 即印迹聚合物的结合位点具有更大的非均一性^[23]。分别对其结果进行拟合, 根据斜率和截距可以求得聚合物的亲和位点解离常数和最大表观结合量。经计算, MIP 的高亲和位点解离常数为 4.6×10^{-3} mg/mL, 最大表观结合量为 1.59 mg/g, 低亲和位点解离常数为 5.5×10^{-2} mg/mL, 最大表观结合量为 13.56 mg/g; NMIP 的亲和位点解离常数为 1.35×10^{-2} mg/mL, 最大表观结合量为 1.7 mg/g。

从聚合物的亲和位点解离常数和最大表观结合量可知: MIP 对香草醛具有良好的再结合能力, MIP 的高亲和位点为特异性吸附, 这是由于 MIP 内部具有香草醛分子的识别位点, 低亲和位点是由 MIP 表面的部分非特异性吸附引起的; NMIP 的亲和位点为非特异性吸附, 这是由于 NMIP 内部无有序的结合位点排布, 因此 NMIP 只是表面的非特异性物理吸附。

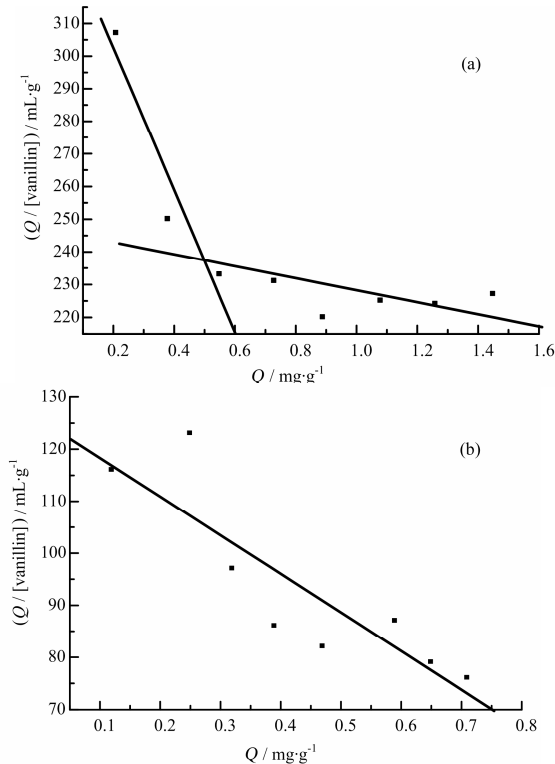


Fig.5 Scatchard plots of the binding of vanillin to the MIPs (a)and the NMIP (b)

2.4 特异吸附性能分析

特异吸附性能实验选择香草醛同系物邻香草醛为竞争底物，两者结构相似，如图 6 所示。表 1 为

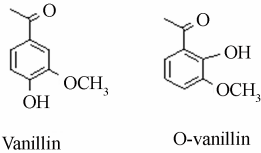


Fig.6 Schematic representation of vanillin and o-vanillin structure

Table 1 MIP and NMIP specific adsorption results and the selectivity coefficient analysis table

Polymers	$Q / \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$		$K_D / \text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$		α	β
	Vanillin	O-vanillin	Vanillin	O-vanillin		
MIP	1.72	0.86	141.2	70.7	2	2.1
NMIP	0.29	0.3	23.8	24.6	0.97	

Note: $Q (\text{mg} / \text{g})$ for the adsorption quantity calculation method with the 1.2.3; the static distribution coefficient $K_d = C_p / C_s$, where C_p is the number of molecules bound per gram of MIP (mg/g) and C_s is the concentration of vanillin in solution (mg/mL); the separation factor $\alpha = K_i / K_j$, where K_i and K_j are the K values for vanillin and o-vanillin, respectively; the ratio of the separation factor $\beta = \alpha_M / \alpha_c$, where α_M is the separation factor of the MIP and α_c is the separation factor of the NMIP

3 结论

通过辐照引发悬浮聚合制备了以香草醛为模板分子的微米级印迹聚合物微球。辐照引发悬浮聚合制备的印迹聚合物具有较均匀的粒径分布，并在合适条件下表现出良好的等温吸附性能和特异吸附性能。本研究也证明了辐照引发聚合具有条件易控、方便快捷且产物分离性能好等优点。

参考文献

1 Wulff G. Molecular imprinting in cross-linked materials

印迹聚合产物 MIP 和 NMIP 分子特异性吸附的结果和选择性系数分析列表。由表可知，在 0.08 mmol/L 的香草醛和邻香草醛溶液中，MIP 对香草醛的吸附量为 1.72 mg/g，而对邻香草醛的吸附量只有 0.86mg/g。MIP 对香草醛的吸附量明显大于对邻香草醛的吸附量，表明 MIP 对香草醛的吸附具有很好的选择性；NMIP 对香草醛的吸附量为 0.29 mg/g，对邻香草醛的吸附量为 0.3 mg/g，表明 NMIP 对香草醛和邻香草醛的吸附没有明显差异。

印迹聚合物的选择性分析系数如表 1 所示，MIP 的分离因子为 2，NMIP 的分离因子为 0.97，分离因子比 β 为 2.1。表中数据显示，MIP 对香草醛的吸附远大于 NMIP，MIP 对香草醛表现为特异性吸附，而 NMIP 对香草醛无分子识别，即 MIP 内部有良好的香草醛再结合分子识别位点，可以有效的分离香草醛和邻香草醛。这也说明辐照引发悬浮聚合法可以制备出分离选择性好的 MIP。

with the aid of molecular templates—a way towards artificial antibodies[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 1995, 31(47): 1812-1832

2 Christopher B, Jacobs M, Jennifer Peairs B, *et al.* Review: Carbon nanotube based electrochemical sensors for biomolecules[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 662(2): 105-127

3 Turiel E, Martín-Esteban A. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review[J]. Analytica Chimica Acta, 2010, 668(2): 87-99

4 Shiho Tokonami, Hiroshi Shiigi, Tsutomu Nagaoka. Review: Micro- and nanosized molecularly imprinted poly-

- mers for high-throughput analytical applications[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, **641**(1-2): 7-13
- 5 刘俊秋, 罗贵民, 沈家骢. 分子印迹聚合物及其应用[J]. *功能高分子学报*, 1998, **11**(4): 561-565
LIU Junqiu, LUO Guimin, SHEN Jiacong. Molecular Imprinting Polymer and its Application[J]. *Journal of Functional Polymers*, 1998, **11**(4): 561-565
- 6 Beltran A, Marcé R M, Cormack P A G, *et al.* Synthetic approaches to parabens molecularly imprinted polymers and their applications to the solid-phase extraction of river water samples[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, **677**(1): 72-78
- 7 LI Min, LIN Xucong, XIE Zenghong. Investigation of enantiomer recognition of molecularly imprinted polymeric monoliths in pressurized capillary electrochromatography screening the amino acids and their derivatives[J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, **1216**(27): 5320-5326
- 8 Sergeyeva T A, Brovko O O, Piletska E V, *et al.* Porous molecularly imprinted polymer membranes and polymeric particles[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, **582**(2): 311-319
- 9 Bhim Bali Prasad, Piyush Sindhu Sharma, Dhana Lakshmi. Molecularly imprinted polymer-based solid-phase extraction combined with molecularly imprinted polymer-based sensor for detection of uric acid[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, **1173**(1-2): 18-26
- 10 赖家平, 卢春阳, 何锡文. 水溶液微悬浮聚合法制备酸性药物吡啶美辛分子印迹微球及其色谱表征[J]. *高等学校化学学报*, 2003, **24**(7): 1175-1179
LAI Jiaping, LU Chunyang, HE Xiwen. Preparation of molecularly imprinted microspheres against acidic idometacin and its chromatographic characterization by aqueous micro-suspension polymerization[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2003, **24**(7): 1175-1179
- 11 韩永萍, 林强, 王昶. 悬浮法制备豆甾醇分子印迹聚合物微球[J]. *应用化学*, 2008, **25**(5): 556-559
HAN Yongping, LIN Qiang, WANG Xu. Preparation of stigmasterol molecular imprinting polymeric microspheres by suspension polymerization[J]. *Chinese Journal of Applied Chemistry*, 2008, **25**(5): 556-559
- 12 Oxelbark J, Legido-Quigley C, Carla S A, *et al.* Chromatographic comparison of bupivacaine imprinted polymers prepared in crushed monolith, microsphere, silica-based composite and capillary monolith formats[J]. *Journal of Chromatography A*, 2007, **1160**(1-2): 215-226
- 13 戎非, 冯小刚, 李萍, 等. 引发转移终止剂修饰载体表面光接枝共聚制备分子印迹聚合物微球[J]. *科学通报*, 2006, **51**(13): 1504-1508
RONG Fei, FENG Xiaogang, LI Ping, *et al.* Iniferter modified carrier surface radiant solicitation copolymerization preparation of molecularly imprinted polymer microspheres[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, **51**(13): 1504-1508
- 14 ZHANG Liyong, CHENG Guoxiang, FU Cong. Synthesis and characteristics of tyrosine imprinted beads via suspension polymerization[J]. *Reactive & Functional Polymers*, 2003, **56**(3): 167-173
- 15 Gudrun Bunte, Jürgen Hürtten, Heike Pontius, *et al.* Gas phase detection of explosives such as 2,4,6-trinitrotoluene by molecularly imprinted polymers[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2007, **591**(1): 49-56
- 16 王江干, 徐伟箭. S-(-)- α -苯乙胺分子印迹聚合物的制备及性能[J]. *功能高分子学报*, 2007, **19-20**(4): 393-398
WANG Jianggan, XU Weijian. Properties and characterization of S-(-)- α -Phenylethylamine molecularly imprinted polymers[J]. *Journal of Functional Polymers*, 2007, **19-20**(4): 393-398
- 17 冯明, 汤晓玉, 石尔, 等. 萃取式膜生物反应器用于制备生物香草醛[J]. *精细化工*, 2007, **24**(4): 363-366
FENG Ming, TANG Xiaoyu, SHI Er, *et al.* Preparation of biovanillin with a perstractive membrane bioreactor[J]. *Fine Chemicals*. 2007, **24**(4): 363-366
- 18 张荣, 卢春阳, 何锡文, 等. 香草醛系列化合物分子印迹聚合物膜的渗透特性[J]. *高等化学学报*, 2007, **28**(3): 421-426.
ZHANG Mo, LU Chunyang, HE Xiwen, *et al.* Permeation characteristics of molecularly imprinted polymer membranes synthesized by compounds of vanillin series[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2007, **28**(3): 421-426
- 19 LI Ying, LI Xin, DONG Cunku, *et al.* Selective recognition and removal of chlorophenols from aqueous solution using molecularly imprinted polymer prepared by reversible addition-fragmentation chain transfer polymerization[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2009, **25**(2): 306-312
- 20 杨卫海, 严守雷, 卫晨, 等. 沉淀聚合法制备三聚氰胺分子印迹聚合物微球[J]. *高分子学报*, 2010, **10**: 1163-1169
YANG Weihai, YAN Shoulei, WEI Chen, *et al.* Preparation of melamine molecularly imprinted polymer micros-

- peres by precipitation polymerization[J]. *Acta Polymerica Sinica*, 2010, **10**: 1163-1169
- 21 曾楚莹, 汤又文. 安定分子印迹聚合物微球的制备及其在固相萃取中的应用[J]. 华南师范大学硕士学位论文. 2008: 42-43
- ZENG Chuying, TANG Youwen. Stability and preparation of molecular imprinting polymer microspheres and its application to solid-phase extraction[J]. Master Dissertation of South China Normal University. 2008: 42-43
- 22 Sun H, Mo Z H, Choy J T S, *et al.* Piezoelectric quartz crystal sensor for sensing taste-causing compounds in food[J]. *Sensors and Actuators B*, 2008, **131**(1): 148-158
- 23 李保利, 张敏, 姜萍, 等. 表面接枝分子印迹聚合物微球的合成及评价[J]. *化学学报*, 2007, **65**(10): 955-961
- LI Baoli, ZHANG Min, JIANG Ping, *et al.* Preparation and property evaluation of molecularly imprinted polymer grafted micro-spherical resin[J]. *Acta Chimica Sinica*, 2007, **65**(10): 955-961

Preparation of molecularly imprinted polymer for vanillin via irradiating suspension polymerization

DING Junhong ZHANG Yan GONG Shuwen

(School of Chemical and Chemical Engineering, Liaocheng University, Liaocheng 252059, China)

ABSTRACT In order to improve the extraction and application of vanillin, molecularly imprinted polymer (MIP) was synthesized by irradiating suspension polymerization using vanillin as template molecular, ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) as cross-linker and methacrylic acid (MAA) as functional monomer, respectively. The analysis results of scanning electron microscopy, equilibrium binding experiments and selective binding experiments indicate that the imprinted polymer shows more symmetrical particle size, favorable molecular adsorption and considerable binding specificity compared with vanillin. The separation coefficient α of MIP to vanillin and o-vanillin is 2.

KEYWORDS Molecularly imprinted polymer, Vanillin, Radiation, Suspension polymerization

CLC O632.16, TQ317.4