

·研究简报·

## 磁性分子印迹聚合物微球的制备及吸附特性研究\*

黄 镭<sup>1</sup> 熊舟翼<sup>2</sup> 和平生<sup>1</sup> 熊汉国<sup>1\*\*</sup>

(<sup>1</sup> 华中农业大学食品科技学院 武汉 430070) (<sup>2</sup> 华中农业大学楚天学院 武汉 430205)

**摘 要** 通过分子印迹技术,以磺胺(SNM)为模板分子,甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,利用 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性纳米微球制备具有特异性识别磺胺的磁性分子印迹聚合物.通过紫外分光光度法对磁性印迹聚合物的吸附性能进行研究,并对吸附特性进行了探讨.利用等温吸附数据进行Scatchard分析,从而推断出印迹聚合物的最大吸附量 $Q_{\max}$ 为 $280.99 \mu\text{mol/g}$ ,平衡离解常数 $K_D$ 为 $1.58 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ ,分析印迹聚合物的结合机理和动态吸附特征.结果表明制备的磺胺磁性分子印迹微球对模板分子存在较高的吸附特异性.

**关键词**  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性纳米微球, 分子印迹聚合物, 吸附特性

分子印迹聚合物(molecular imprinting polymers, MIPs)是一种对目标分子具有特异选择性和识别能力的高分子功能材料<sup>[1,2]</sup>,相对于生物抗体,MIPs对印迹分子及其结构类似的客体分子具有特异结合和识别性,且具有较好的物理和化学稳定性,成本低,易制备,在色谱分离、仿生传感器、固相萃取等许多领域都具有良好的应用前景<sup>[3~8]</sup>;而 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁性纳米粒子的特殊磁导向性、超顺磁性<sup>[9]</sup>及表面可连接生化活性功能基团等特性,使其在核酸分析、临床诊断、靶向药物、酶和细胞固定化等领域的应用得到了广泛的发展<sup>[10,11]</sup>.因此,在磁性粒子表面进行分子印迹,合成磁性分子印迹聚合物核壳微球,使其兼具良好的超顺磁性和高选择吸附性两大优点,将进一步拓展分子印迹与磁性微球的应用,对农残的检测起到一定的推动作用.

磺胺由于其抗菌谱广,疗效好等优点被广泛用于兽药临床,但由于滥用和误用现象十分严重,其残留问题引起了全世界的广泛关注<sup>[12]</sup>.国内对磺胺印迹聚合物的合成条件以及选择性等已做了一定量研究.姜吉刚等<sup>[13]</sup>以甲基丙烯酸为功能单体以磺胺嘧啶为模板分子制备了微球型分子印迹聚合物,其最大表观结合量达到 $185.7 \mu\text{mol/g}$ .本实验室前期也利用计算机分子动力学模拟技术对磺胺聚合物印迹过程中功能单体以及溶剂的选择

进行了相关模拟,利用密度泛函理论计算了磺胺以及衍生物分子的静电势、前沿分子轨道等,考察模板分子-功能单体之间的非共价相互作用<sup>[14]</sup>.本文以磺胺为模板分子,利用悬浮聚合法制备磁性分子印迹聚合物,对其识别机理和结合特性进行研究,期望得到良好的印迹效果,从而提高其分离分析的速度和准确性.

### 1 试剂与仪器

$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、PEG 6000,国药集团化学试剂有限公司;磺胺(SNM),分析纯,国药集团试剂有限公司分装;甲基丙烯酸(MAA)、1,4-二乙烯基苯(DVB),分析纯,天津市光复精细化工研究所;2,2'-偶氮二异丁腈(AIBN),分析纯,上海市四赫维化工有限公司;乙腈,分析纯,天津市永大化学试剂开发中心.

集热式恒温加热磁力搅拌器(DF-101S),郑州长城科贸有限公司;数控超声波清洗仪(KQ2200DB),昆山市超声仪器有限公司;高速冷冻离心机J-E, BECKMAN(美国);Tecna G2透射电镜(荷兰).

### 2 磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 微球的制备及改性

将 $7.95 \text{ g FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 $16.21 \text{ g FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 置于 $250 \text{ mL}$ 的三口烧瓶,加入 $100 \text{ mL}$ 去离子水(经加热除氧)得到透明黄色溶液,恒温并磁力搅拌氮气除氧,PEG 6000进行改性<sup>[15]</sup>,加入氨

\* 2010-04-02 收稿,2010-06-24 修稿;国家自然科学基金(基金号 20976066)资助项目;\*\* 通讯联系人,E-mail:

xionghanguo@mail.hzau.edu.cn

doi:10.3724/SP.J.1105.2011.10085

水(25%)反应体系颜色立即变为黑色,调节 pH 值并保持 30 min,再继续通氮气保温反应 1 h 熟化<sup>[6,17]</sup>.将得到的黑色悬浮液在磁场作用下收集、去离子水及无水乙醇洗涤数次,测试上清液为中性后并搜集,将黑色磁颗粒瞬间转入乙腈相中,得到黑色有金属光泽的乙腈基磁流体.

### 3 磺胺磁性印迹聚合物复合微球的制备

100 mL 的圆底烧瓶中加入 SNM 1 mmol、MAA 0.34 mL、30 mL 乙腈,于室温下超声振荡后静置过夜.三口烧瓶加入 10 mL 乙腈溶液,PEG 作为分散剂,60℃ 恒温待其溶解,再加入 DVB 20 mmol 和 AIBN 40 mg,磁流体 10 mL,转入混合液,磁力搅拌通 N<sub>2</sub> 5 min 以除去溶解的氧气,密封后 60℃ 进行聚合 12 h,高速离心分离沉淀,取出冷却至室温<sup>[3]</sup>.聚合完成后,需要将印迹孔穴中的模板分子从聚合物中洗脱出来,采用 10% 冰醋酸(双蒸水与冰醋酸体积比为 9:1)洗脱液反复洗涤聚合物至上清液中检测不到磺胺分子,然后高速离心分离,后置于烘箱中 60℃ 干燥备用.按同样方法制备空白印迹聚合物只是不添加模板分子.

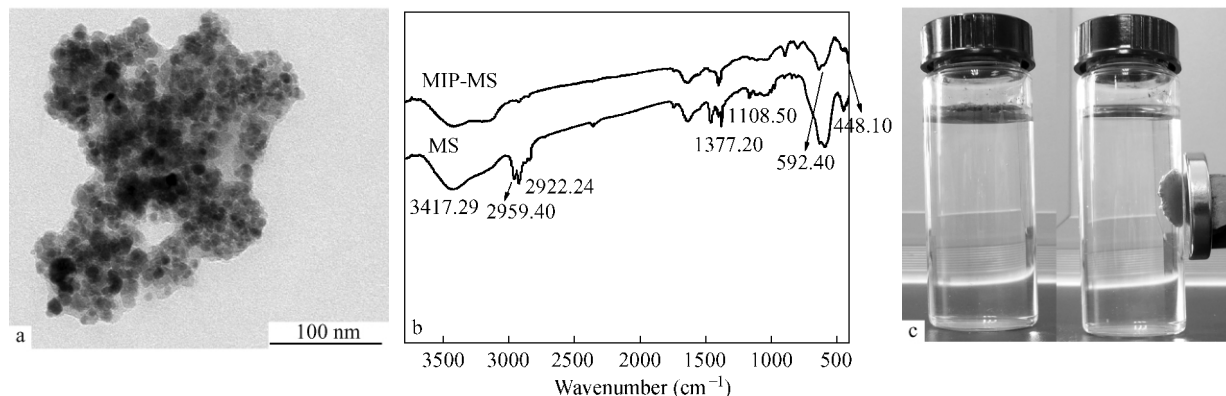


Fig. 1 (a) TEM picture of MIP-MS; (b) FT-IR spectra of MIP-MS and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles; (c) MIP-MS magnetic sensitivity analysis

### 5 磺胺磁性印迹聚合物微球的光谱学分析

利用紫外分光光度法研究磁性印迹聚合物中主客体在乙腈中的相互作用.在乙腈中固定 SNM 的浓度为 0.2 mmol/L,渐增 MAA 的浓度,使模板分子与功能单体的摩尔比为 1:0,1:0.5,1:1,1:2,1:3,1:4,1:5,1:6,1:7 和 1:8,在紫外分光光度计上测得上述 10 种混合溶液的吸收曲线(图 2a),从而绘制出紫外吸收差光谱(图 2b).从图中可以看出,随着功能单体 MAA 量的增加,吸光度也增加,吸收光谱中最大吸收波长发生红移<sup>[9]</sup>.

理论上,模板分子与功能单体形成复合物,可

### 4 磺胺磁性印迹聚合物的形态、粒径及组成

图 1(a)是以 PEG 6000 修饰的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁流体为磁核,制备的磺胺磁性印迹聚合物微球的 TEM 照片.从照片中可以看到微球基本呈球形且大小均匀,经测量其平均粒径大约在 10 nm 左右,整个微球中未出现明显的分相,说明印迹聚合物微球有较高的 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 含量.红外图谱中 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的吸收峰大概在 580 和 400 cm<sup>-1</sup> 处,但由于纳米粒子的尺寸效应,基团频率发生位移<sup>[8]</sup>.图 1(b) 中的 592.4 和 448.10 cm<sup>-1</sup> 应是 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 中的 Fe—O 的伸缩及弯曲振动而引起的特征峰.从图中可知磺胺磁性印迹聚合物具有 Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 的特征吸收峰,存在磁性微粒;3417.29 cm<sup>-1</sup> 附近对应的宽吸收带是氢键的吸收峰,2959.40 和 2922.24 cm<sup>-1</sup> 对应为 PEG 6000 分子中 CH<sub>2</sub>—的伸缩振动吸收峰,1377.20 cm<sup>-1</sup> 附近为 OH—弯曲振动吸收峰,1108.5 cm<sup>-1</sup> 对应为 C—O 醇羟基的伸缩吸收峰<sup>[8]</sup>.图 1(c) 可以直观的看到在外磁场的作用下磺胺磁性印迹聚合物迅速吸附沉降,具有很好的磁敏感性.

以用下式来表示:

$$\frac{\Delta A}{b_0^n} = K\Delta A + K\Delta\xi_c a_0 l \quad (1)$$

式中  $K$  是结合常数, $\xi_c$  为模板分子与功能单体复合物的吸光度系数, $\Delta A$  表示功能单体与模板分子在乙腈溶液中作用前后吸光度差.

以  $\frac{\Delta A}{b_0^n}$  对  $\Delta A$  作图可以推导出  $n$  值,从而得知

在乙腈溶液中模板分子与功能单体的作用模式,也就是说在一个模板分子的周围有几个功能单体与其作用,从而揭示分子印迹作用机理.

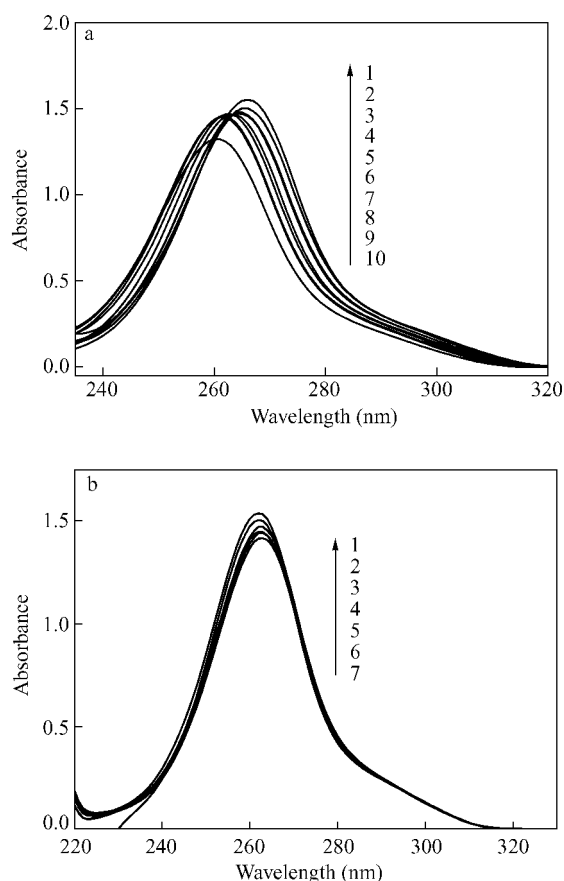


Fig. 2 UV-absorption spectra of SNM and MAA system in methanol solution, the molar ratio of SNM to MAA is (1) 1:0, (2) 1:0.5, (3) 1:1, (4) 1:2, (5) 1:3, (6) 1:4, (7) 1:5, (8) 1:6, (9) 1:7, (10) 1:8

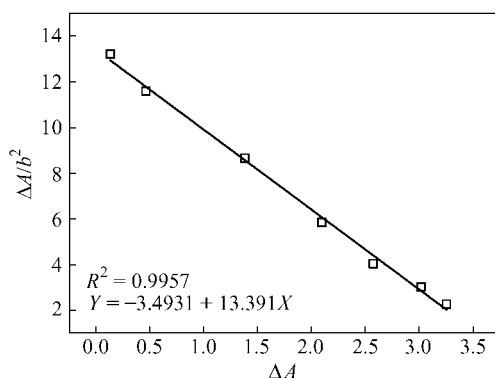


Fig. 3 Plots of  $\Delta A/b^2$  versus  $\Delta A$  at 270nm of difference absorbance of SNM in the presence of MAA in acetonitrile at room temperature

从图 3 中可以看出当  $n = 2$  时,  $\Delta A/b^2$  对  $\Delta A$  作图是一条直线, 这表明在浓度范围内模板分子与功能单体主要存在形式为 1 个 SNM 与 2 个

MAA 相互作用形成主客体复合物。

## 6 磺胺磁性印迹聚合物微球的吸附等温性

准确称取 5 份磺胺磁性印迹聚合物微球和空白聚合物各 25 mg, 分别置于 25 mL 锥形瓶中, 加入 10 mL 浓度依次为 0.05, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.8 mmol/L 磺胺分子乙腈溶液, 恒温震荡培养箱中保持 28℃ 振荡 12 h 后, 12000 r/min 离心 5 min, 取离心液 0.6 mL, 乙腈稀释定容至合适的浓度, 于紫外分光光度计  $\lambda = 270$  nm 处测定吸光度, 根据结合前后溶液中底物的浓度变化计算制备的磁性印迹聚合物对底物的吸附量  $Q$ , 绘制等温吸附曲线<sup>[20]</sup>. 计算公式如下:

$$Q = (c_0 - c) \times V/m \quad (2)$$

式中  $Q$  为吸附量, mmol/g;  $c_0$  为吸附前溶液中底物的浓度, mmol/L;  $c$  为吸附后溶液中吸附物质的浓度, mmol/L;  $V$  吸附液的体积;  $m$  为吸附剂的质量。

再将获得的 SNM 磁性印迹聚合物微球的等温吸附数据进行 Scatchard 分析, 该分析常用来评价印迹聚合物的吸附特性. Scatchard 模型方程为:

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

式中  $Q_{\max}$  为最大表现结合位点数;  $K_D$  为结合位点的平衡离解常数;  $c$  为溶液中底物的初始浓度;  $Q$  为印迹聚合物微球对底物分子的平衡吸附量. 以  $Q/c$  对  $Q$  作图。

从图 4(a) 中可以看出, 随着溶液中底物分子浓度的增加, 制备的磁性印迹聚合物微球对底物的吸附量也随之增加, 在较高的初始浓度处, 吸附量逐渐趋于饱和, 并且印迹聚合物对底物的吸附量要远大于空白印迹聚合物. 图 4(b) 所反映的是磺胺磁性印迹聚合物微球的 Scatchard 曲线, 可以发现  $Q/c$  对  $Q$  均不呈现良好的线性关系, 说明了制备的磁性印迹聚合物对模板分子的结合位点的亲和力不是等价的, 并且从 Scatchard 曲线上数据点的分布来看, 这表明印迹聚合物与底物分子之间的识别和吸附主要由一种相互作用方式引起的. 通过对 SNM 磁性印迹聚合物微球 Scatchard 曲线中近似直线的点进行线性拟合, 计算拟合曲线的斜率和截距, 可以得出最大表现结合位点数  $Q_{\max}$  为 280.99  $\mu\text{mol/g}$  与平衡离解常数  $K_D$  等于  $1.58 \times 10^{-3}$  mol/L.

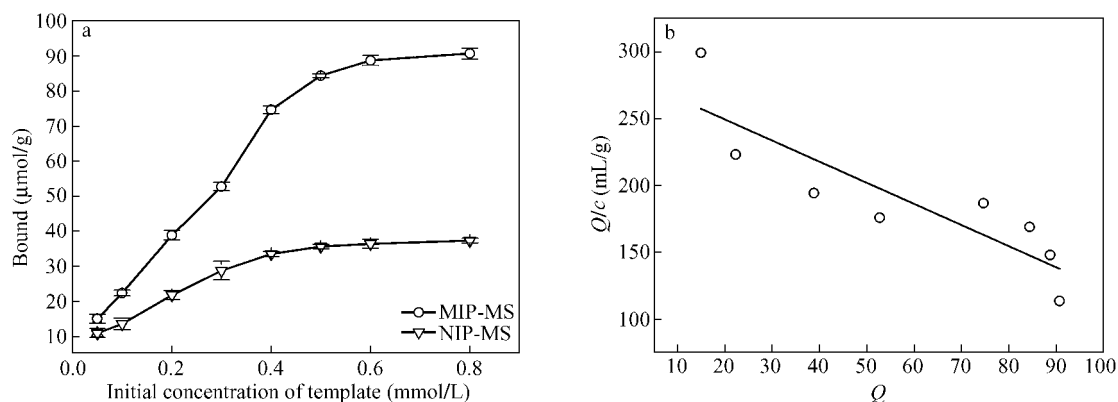


Fig. 4 (a) Isotherm of SNM adsorption on MIP-MS and NIP-MS ( $T=28^{\circ}\text{C}$ , adsorbing time: 12 h); (b) Scatchard curve of SNM-MIP-MS

## 7 结论

利用悬浮聚合法制备磺胺磁性分子印迹聚合物微球,功能单体采用 MAA,通过紫外光谱分析发现在研究的浓度范围内主客体主要存在形式为 1 个 SNM 与 2 个 MAA 相互作用;探究了印迹聚合物的吸附等温性,并将获得的等温吸附数据进

行 Scatchard 分析,得出最大表观结合位点数  $Q_{\max}$  为  $280.99 \mu\text{mol/g}$  与平衡离解常数  $K_D$   $1.58 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ ,表明分子印迹聚合物对模板分子具有较高的吸附特性.通过该方法制备的磁性印记聚合物微球进一步进行磁学特性分析,期望应用于固相萃取柱,最终用于鸡蛋中磺胺类样品的分离、富集分析.

## REFERENCES

- Liang Jinhu (梁金虎), Luo Lin (罗林), Tang Ying (唐英). Journal of Chongqing University of Arts and Sciences (重庆文理学院学报), 2009, (5): 38 ~ 43
- Wang X, Wang L, He X, Zhang Y, Chen L. Talanta, 2009, 78: 327 ~ 332
- Sun Ruifeng (孙瑞丰), Yu Huimin (于慧敏), Luo Hui (罗晖), Shen Zhongyao (沈忠耀). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2005, (2): 248 ~ 253
- Ma Tingjun (马挺军), Jia Changxi (贾昌喜). Nongchanpin Jilagong. Xuekan (农产品加工学刊), 2009, (9): 29 ~ 32
- Guo Xiangying (郭向莹). Science and Technology Information (科技信息), 2009, (25): 84 ~ 85
- Wang Hong (王虹), Huang Liang (黄亮), Sun Yan (孙彦). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2004, (4): 610 ~ 614
- Du Ziwei (杜自卫), Liu Xueyong (刘学涌), Zhao Xiaodong (赵小东). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2010, (3): 360 ~ 367
- Zhang Shengzu (张圣祖), Fu Xinjian (付新建), Wang Hong (王宏), Yang Yajiang (杨亚江). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2009, (3): 244 ~ 248
- Hayashi K, Sakamoto W, Yogo T. J Magn Mater, 2009, (321): 450 ~ 457
- Jiang Wen (江雯), Wen Xiantao (温贤涛), Wang Wei (王伟), Wu Rao (吴尧), Gu Zhongwei (顾忠伟). Journal of Inorganic Materials (无机材料学报), 2009, (24): 727 ~ 731
- He Ping (贺枰), Cui Longlan (崔陇兰), Qiang Weili (强伟丽), Xu Hong (徐宏), Gu Hongchen (古宏晨). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2007, (8): 731 ~ 736
- otou A, Vasiliadou C. Chromatographia, 2006, (64): 307 ~ 311
- iang Jigang (姜吉刚), Wang Lei (王雷), Wei Guangcheng (魏光成). Journal of Hebei Normal University (河北师范大学学报), 2008, (3): 354 ~ 357
- Huang Lei (黄镭), Ji Dasheng (嵇大圣), Xiong Hanguo (熊汉国). Meat Research (肉类研究), 2009, (7): 43 ~ 46
- Hao Y, Jian C Z, Chen X Y, Zhen W S, Ben W Y, Yue S. Int J Miner Metall Mater, 2009, (16): 226 ~ 229
- Chen J, Wang F, Huang K, Liu Y, Liu S. J Alloys Compounds, 2009, (475): 898 ~ 902
- Zhou Chunhua (周春华), Liu Wei (刘威), Zhang Shuxiang (张书香), Li Hui (李辉), Zhu Guohong (褚国红). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2005, (4): 606 ~ 610
- Peng J, Zou F, Liu L, Tang L, Yu L, Chen W, Liu H, Tang J B, Wu L X. Trans Nonferrous Met Soc China, 2008, (18): 393 ~ 398
- Yan Shoulei (严守雷), Gao Zhixian (高志贤), Fang Yanjun (房彦军). Acta Polymerica Sinica (高分子学报), 2006, (1): 160 ~ 163

20 Li Ping(李萍), Rong Fei(戎非), Zhu Xinle(朱馨乐), Yuan Chunwei(袁春伟). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2003, (5): 724 ~ 727

## PREPARATION AND ADSORPTION CHARACTERISTICS OF MAGNETIC MOLECULARLY IMPRINTED POLYMER MICROSPHERES

HUANG Lei<sup>1</sup>, XIONG Zhouyi<sup>2</sup>, HE Pingsheng<sup>1</sup>, XIONG Hanguo<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> College of Food Science and Technology, HuaZhong Agriculture University, Wuhan 430070)

(<sup>2</sup> Chutian College HuaZhong Agriculture University, Wuhan 430205)

**Abstract** Sulfanilamide magnetic molecularly imprinted polymer was prepared by using sulfanilamide as template molecule, methacrylic acid (MAA) as functional monomer and Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic fluid. The Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic fluid was successfully prepared by chemical co-precipitation method. The recognition mechanism of polymer was studied by UV spectrophotometry. The adsorption properties and selectivity ability were analyzed by Scatchard analysis and the equilibrium rebinding experiments. The results clearly exhibit that the synthesized magnetic molecularly-imprinted polymers have high sulfanilamide binding ability. Scatchard linear regression analysis indicated that the apparent maximum binding capacity ( $Q_{\max}$ ) was 280.99  $\mu\text{mol/g}$  and the dissociation contents ( $K_D$ ) of Sulfanilamide magnetic microsphere was  $1.58 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ .

**Keywords** Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> magnetic nanoparticles, Molecular imprinting polymers, Adsorption characteristic