小分子甲苯印迹聚合物的制备及其吸附性能研究

陈璐思[1,2]，梁荣宁[2]，秦伟[2]，刘永明[1*]
(1. 烟台大学 化学化工学院，山东 烟台 264005；
2. 中国科学院烟台海岸带研究所 中国科学院及山东省海岸带环境过程重点实验室，山东 烟台 264003)

[摘　要]利用甲苯的致孔效应，以甲苯作为模板分子，以甲基丙烯酸和二乙烯基苯分别作为功能单体和交联剂，采用沉淀聚合法合成了甲苯分子印迹聚合物。静态平衡吸附实验结果表明，所得到的印迹聚合物对甲苯具有较强的选择性吸附能力，最大吸附容量为 21.6 mg/g。将所制备的印迹材料作为固相萃取填料，对自来水样品中的甲苯进行选择性分离富集，加标回收率在 92% ~ 103%之间。

[关键词]甲苯；分子印迹聚合物；致孔效应；沉淀聚合
[中图分类号]O65　　[文献标识码]A　　[文章编号]1007-1865(2013)01-0021-03

Preparation and Characterization of Toluene Molecularly Imprinted Polymer

Chen Lusi[1,2], Liang Rongning[2], Qin Wei[2], Liu Yongming[1*]
(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Yantai University, Yantai 264005；2. Key Laboratory of Coastal Zone Environmental Processes, Yantai Institute of Coastal Zone Research (YIC), Chinese Academy of Sciences (CAS), Shandong Provincial Key Laboratory of Coastal Zone Environmental Processes, YICCAS, Yantai 264003, China)

Abstract: A molecularly imprinted polymer (MIP) for toluene was synthesized by precipitation polymerization using toluene as porogenic template, methacrylic acid as functional monomer and divinylbenzene as crosslinker. The recognition abilities of the obtained MIP and control polymer were investigated by the classical steady-state binding method. Experiments showed that the imprinted polymer exhibited a much higher capacity than that of the control polymer for binding to toluene. The maximum amount bound by the MIP was 21.6 mg/g. The proposed MIP was successfully applied to the enrichment of toluene in tap water samples with recoveries ranging from 92 % to 103 %.

Keywords: toluene；molecularly imprinted polymer；porogen imprinting effect；precipitation polymerization

分子印迹技术(Molecular imprinting technology)基于将印迹分子、功能单体与交联剂在一定的致孔溶剂中进行聚合，然后通过物理或化学方法除去聚合物中的印迹分子，得到在空间和结合位点上与印迹分子相匹配的聚合物[1]。由于分子印迹聚合物(Molecular imprinting polymers，MIPs)具有构效预定性、特异识别性和普遍适用性等特点，已在分析化学领域得到广泛的应用[2-3]。与抗体、酶等生物分子识别材料相比，分子印迹聚合物具有价格低廉、制备简单和稳定性高等优点[4]。传统的分子印迹技术对于含有较多功能基团的化合物(如蛋白质[5]、氨基酸P[6]、胆固醇[7]等)容易实现有效印迹，而对于缺乏键合位点的化合物则难以实现印迹，目前仅有少数文献报道了对于缺乏键合位点的小分子化合物印迹方法。以小分子甲苯MIP合成为例，甲苯分子虽然可以与含有芳香环的功能单体形成一定的π-π作用，然而由于此类π-π作用较弱而难以实现有效印迹。为了实现小分子甲苯的有效印迹，Fu等采用“虚拟”模板法，即利用目标化合物的结构类似物作为模板分子，合成了对小分子甲苯具有特异性吸附能力的印迹聚合物[8]；Matsuguchi等利用小分子甲苯的致孔效应，即以甲苯同时作为模板分子和致孔剂，采用本体聚合方式合成了甲苯分子印迹聚合物[9]。然而上述方法所得到的印迹聚合物吸附能力较低，难以在实际分析工作中得到应用。

我们前期的研究发现，沉淀聚合较本体聚合得到的印迹聚合物具有更多的结合位点[10]，这是因为采用沉淀聚合得到的分子印迹聚合物具有更大的比表面积，从而可以提供更多的印迹空穴。本文以小分子甲苯作为模板分子和致孔剂，以甲基丙烯酸作为功能单体，采用沉淀聚合法合成了甲苯分子印迹聚合物。该印迹聚合物对甲苯具有良好的吸附性能，对萘、对二甲苯等化合物具有优越的选择性。本法为合成缺乏键合位点的小分子化合物MIP材料提供了新思路。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

E2695-2998 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司)；SHZ 型水浴恒温振荡器(龙口市先科仪器有限公司)；DF-101S 集热式磁力搅拌器(金坛市科析仪器有限公司)；DZF-6050 型真空干燥箱(上海博讯实业有限公司)；KQ5200E 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

α-甲基丙烯酸(MAA)、4-乙烯基吡啶(4-VP)、甲基丙烯酸甲酯(MMA)、二乙烯基苯(DVB, 使用前以 5 % NaOH 溶液除去阻聚剂)购自美国 Sigma 公司；偶氮二异丁腈(AIBN，化学纯，上海试四赫维化工有限公司)；甲醇，乙腈(色谱纯，瑞典 Oceanpak 公司)；其他试剂均为分析纯，实验用水均为二次去离子水(Pall Cascada, 18.2 MΩ·cm)。

1.2 分子印迹聚合物的合成

1.2.1 采用不同模板分子沉淀聚合合成甲苯分子印迹聚合物

分别取 1 mmol甲苯(模板分子)、4 mmol MAA、10 mmol DVB 以及 30 mg AIBN溶于 30 mL乙腈中，超声震荡 5 min，通入NR_2R脱氧 15 min，在NR_2R保护下密封。置于 60 ℃油浴内引发聚合，反应 12 h。制得的聚合物用甲醇-乙酸(V/V=9/1)溶液充分洗脱以除去甲苯模板分子。甲醇反复洗涤聚合物除去残留乙酸，70 ℃下干燥 24 h得到甲苯MIP。对于非分子印迹聚合物(NIP)的制备，除不加甲苯模板分子外，其余步骤相同。

以苯酚或苯甲酸为“虚拟”模板的印迹聚合物的制备方法，除模板分子为苯酚或苯甲酸之外，其余步骤与上述方法相同。

1.2.2 利用致孔效应-沉淀聚合法(PIE-PP)合成甲苯分子印迹聚合物

分别取 4 mmol MAA/4-VP/MMA、10 mmol DVB和 30 mg AIBN溶于 30 mL甲苯，超声震荡 5 min，通入NR_2R脱氧 15 min，在NR_2R保护下密封。置于 60 ℃油浴内引发聚合，反应 12 h。制得的聚合物于 70 ℃真空干燥, 用甲醇-乙酸(V/V = 9/1)溶液充分洗脱以除去模板分子。甲醇反复洗涤聚合物除去残留乙酸，70 ℃下干燥 24 h得到甲苯MIP。

甲苯非分子印迹聚合物(NIP)的制备，除不加模板分子外，以乙腈作致孔剂，其余步骤相同。

1.2.3 利用致孔效应-本体聚合法合成甲苯分子印迹聚合物

除甲苯为 5 mL 外，其余合成条件均与 PIE-PP 法相同，所得印迹聚合物研磨过筛后备用。

1.3 静态吸附实验

分别称取 50 mg 甲苯 MIP 和 NIP 置于 5 mL 离心管中，加入 3 mL 一系列不同浓度(20.05~10 mmol/L)的甲苯的甲醇溶液, 25 ℃恒温振荡 24 h。混合物离心(4000 r/min，15 min)后上清液以 0.22 μm 滤膜过滤，用高效液相色谱(HPLC)测定甲苯剩余浓度。MIP 和 NIP 吸附的甲苯的量由最初甲苯浓度减去上清液中剩余甲苯浓度计算得到。

1.4 印迹聚合物的选择性识别性能

称取 50 mg 利用 PIE-PP 法合成的甲苯 MIP 和 NIP 于 5 mL 离心管中，分别加入 3 mL 浓度为 1 mmol/L 甲苯、对二甲苯和萘的甲醇溶液, 25℃恒温振荡 24 h。混合物离心(4000 rpm/min, 15 min)后上清液以 0.22 μm 滤膜过滤，分别用高效液相色谱(HPLC)测定剩余甲苯、对二甲苯和萘的浓度。

1.5 样品分析

[收稿日期]　2012-11-25
[作者简介]　陈璐思，男，山东肥城人，在读硕士研究生，主要研究方向为分子印迹聚合物的合成及应用。*为通讯作者。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

称取 50 mg 利用 PIE-PP 法合成的 MIP(或 NIP)装入 6 mL 固相萃取柱中，两端用玻璃棉封堵。填充柱分别采用 5 mL 甲醇、5 mL 超纯水活化。分别将 5 mL 加标后的自来水样品以 1 mL/min 的流速过 SPE 柱。上样完毕，以 5 mL 超纯水淋洗萃取柱，弃去水样以及淋洗液；萃取柱以 5 mL 甲醇洗脱 3 次，收集洗脱液，用甲醇定容至 15 mL，过 0.22 μm 微孔滤膜后用高效液相色谱(HPLC)分析。

甲苯的回收率 = 3×洗脱液中甲苯浓度/加标浓度×100 %

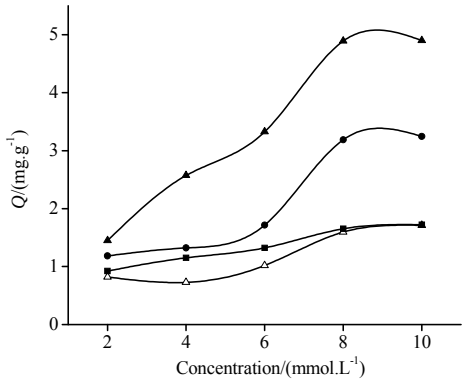
1.6 色谱条件

Waters symmetry C18 色谱柱(250 mm × 4.6 mm，5 μm)；流动相：甲醇：水 = 80：20(V/V)；柱温：30 ℃；流速：1.0 mL/min；紫外检测波长为 260.6 nm；进样体积：20 μL。

2 结果与讨论

2.1 模板分子的选择

考查了不同模板分子采用沉淀聚合法合成的甲苯 MIP 和 NIP 对甲苯的静态吸附性能，结果见图 1。由平衡键合等温线可知，以甲苯作为模板分子制备的 MIP 的吸附能力最大；以苯甲酸和苯酚作为模板分子虽然可以提供较多的键合位点，但合成的聚合物对甲苯吸附能力较弱。这可能是由于甲苯缺乏能够与上述键合位点相互作用的官能团，其识别主要依靠分子印迹空穴的形状和大小。因此，本研究采用甲苯作为模板分子合成 MIP。

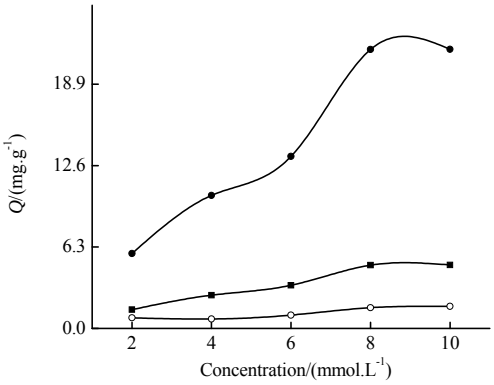


(▲)Toluene, MIP；(●)Phenol, MIP；(■)Benzoic acid, MIP；(△)NIP

图 1 不同模板分子对聚合物键合能力的影响

Fig.1 Effect of template on the binding capacity of the obtained polymer

2.2 致孔效应-沉淀聚合法 (PIE-PP)合成的印迹聚合物键合能力研究



(■) template；(●) porogenic template

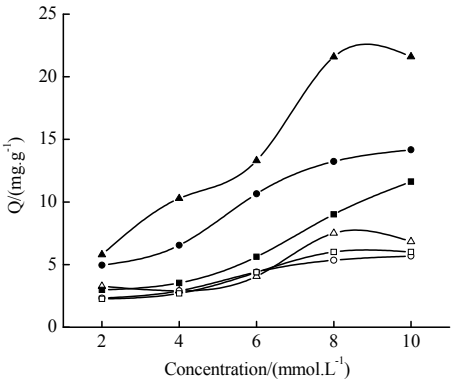
图 2 采用致孔效应与非致孔效应合成的 MIP 与 NIP 对甲苯的平衡键合等温线

Fig.2 Equilibrium binding isotherm for the uptake of toluene by MIP (filled symbols) and NIP (open symbols)

在 25 ℃下，测定了采用 PIE-PP 法合成的甲苯 MIP 与 NIP 平衡键合能力。如图 2 所示，采用 PIE-PP 法合成的 MIP 对甲苯的键合能力远远大于单纯以甲苯为模板分子的传统方法合成的印迹聚合物，MIP 对甲苯的最大吸附键合容量为 21.6 mg/g。这可能是由于以甲苯作为致孔剂能够使聚合物形成更多的印迹空穴，且其形状和大小与甲苯接近，因此对甲苯有较强的吸附作用；而采用传统方法合成印迹聚合物时，由于聚合体系中甲苯模板的浓度较低因而聚合形成的与模板分子匹配的印迹空穴较少，因此所得到的印迹聚合物吸附能力较低。另外需要指出的是，采用 PIE-PP 法所得到的印迹聚合物的最大键合容量远大于我们采用致孔效应-本体聚合时所合成的印迹聚合物的最大键合容量(0.66 mg/g)。这进一步证明了沉淀聚合较本体聚合得到的印迹聚合物具有更多的键合位点。

2.3 功能单体的选择

在 25 ℃下，本研究测定了不同功能单体对PIE-PP法合成甲苯MIP的影响。如图 3 所示，以甲基丙烯酸为功能单体制备的甲苯MIP的吸附量明显大于以甲基丙烯酸甲酯和 4-乙烯基吡啶作为功能单体制备的MIP的吸附量。这可能是因为甲苯分子整体上是富电子的，属于Lewis碱；按照Lewis酸碱理论，上述三种单体分子应以甲基丙烯酸与甲苯分子之间的相互作用力最强[11]。因此本研究采用甲基丙烯酸作为PIE-PP法合成甲苯MIP的单体。



(▲)MAA-MIP；(△)MAA-NIP；(●)MMA-MIP；(○)MMA-NIP；(■)4VP-MIP；(□)4VP-NIP

图 3 不同功能单体对聚合物键合能力的影响

Fig.3 Effect of functional monomer on the binding capacity of the obtained polymer

2.4 MIP 与 NIP 形貌表征

采用扫描电镜对 PIE-PP 法得到的 MIP 与 NIP 进行了形貌表征，结果如图 4。对比图 4a、b 可以看出得到的甲苯 MIP 和 NIP 两者形态均一，近似圆球形，粒径接近且分布均匀。另外，与 NIP 相比，MIP 微球表面粗糙、有大量的空穴，大量印迹空穴的存在可能是 MIP 对甲苯具有高键合容量的原因。

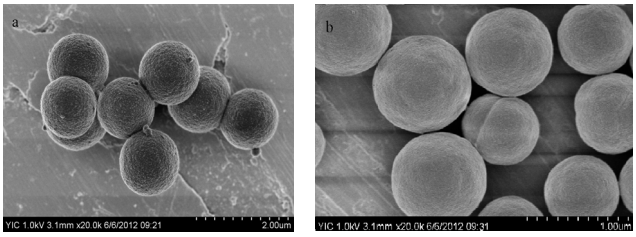


图 4 甲苯 MIP(a)和 NIP(b)的扫描电镜图

Fig.4 SEM images of the obtained (a) toluene-MIP and (b) NIP beads

2.5 分子印迹聚合物的选择性识别性能

在 25 ℃下，分别测定了采用 PIE-PP 法合成的甲苯 MIP 与 NIP 对 1 mmol/L 的甲苯、对二甲苯和萘的吸附能力。如图 5 所示，MIP 对甲苯和萘的吸附量优于 NIP，其中 MIP 对甲苯的吸附量最大，而对对二甲苯的吸附量与 NIP 接近。这说明印迹材料中的空穴在形状和尺寸上与甲苯分子最接近并且与甲苯分子具有最佳的范德华相互作用，这进一步证明了印迹材料的选择性吸附。

2.6 样品分析

采用 PIE-PP 法合成的 MIP 与 NIP 作为固相萃取材料应用于自来水样品中甲苯的分离和富集，采用标准加入法测定了自来水样中甲苯的回收率。如表 1 所示，甲苯 MIP 对甲苯的平均回收率在 92 %~103 %范围内，远大于 NIP 的回收率，这进一步证明了甲苯 MIP 的选择性吸附能力。此外，测定值的相对标准偏差(RSD)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

均小于 5 %，这表明自来水样品中基质的干扰较小，不影响萃取和分离过程。

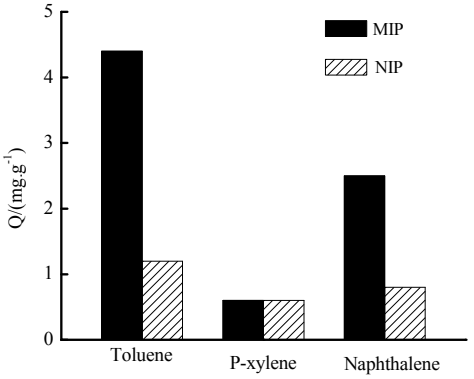


图 5　MIP 与 NIP 对甲苯、对二甲苯和萘溶液的键合能力
Fig. 5　Binding capacities of MIP and NIP for toluene, p-xylene and naphthalene

表 1　自来水样品中甲苯加标回收率测定结果
Tab.1　Recovery test for spiked tap water samples

Polymer	Amount added /(mmol·L^{-1})	Recovery /(%, n = 3)	RSD /(%, n = 3)
MIP	0.2	103	3.3
	0.4	95	1.7
	0.6	92	3.3
	0.8	95	4.6
	1.0	95	1.3
NIP	0.2	37	4.2
	0.4	32	3.0
	0.6	30	2.9
	0.8	34	3.4
	1.0	45	3.1

3 结论

本实验利用甲苯的致孔效应，采用沉淀聚合方法合成了甲苯的分子印迹聚合物，该聚合物不仅对甲苯具有较高的吸附能力，而且对萘、对二甲苯等化合物具有较好的选择性。将该印迹聚合物作为固相萃取填料应用于自来水样品中甲苯的分离与富集时，加标回收率在 92 %~103 %之间，结果令人满意。本法为合成缺乏键合位点的小分子化合物 MIP 材料提供了新的思路。

参考文献

[1]Shi H Q, Tsai W B, Garrison M D, et al. Template-Imprinted nanostructered surfaces for protein recognition[J]. Nature，1999，398：593-597.
[2]Kruppa M，Konig B．Reversible Coordinative Bonds in Molecular Recognition[J]. Chem. Rev.，2006，106(9) ：3520-3560.
[3]冯喜文，杜平，张利．分子印迹技术在天然药物有效成分提取分离中的应用[J]．广东化工，2011，38(2)：71-72.
[4]Turner A P F．Biosensors--sense and sensitivity[J]．Science，2000，290(5495)：1315-1317.
[5]Ellen V，Joris P S，Martin W，et al．Challenges for the effective molecular imprinting of proteins[J]．Biomaterials，2011，32(11)：3008-3020.
[6]Kempe M，Mosbach K．Separation of amino acids, peptides and proteins on molecularly imprinted stationary phases[J]．J．Chromatogr．A，1995，691(1)：317-323.
[7]Whitcombe M J，Rodriguez M E，Villar P，et al．A New Method for the Introduction of Recognition Site Functionality into Polymers Prepared by Molecular Imprinting：Synthesis and Characterization of Polymeric Receptors for Cholesterol[J]．J．Am．Chem．Soc.，1995，117(27)：7105-7111.
[8]Fu Y，Finklea H O．Quartz crystal microbalance sensor for organic vapor detection based on molecularly imprinted polymers[J]．Anal．Chem.，2003，75(20)：5387-5393.
[9]Matsuguchi M，Uno T．Molecular imprinting strategy for solvent molecules and its application for QCM-based VOC vapor sensing[J]．Sens．Actuators B，2006，113(1)：94-99.
[10]Liang R N, Song D A, Zhang R M, et al. Potentiometric Sensing of Neutral Species Based on a Uniform-Sized Molecularly Imprinted Polymer as a Receptor[J]．Angew．Chem．Int．Ed.，2010，49(14)：2556-2559.
[11]王江涛，宋兴良．虚拟模板/硅胶表面分子印迹材料的制备及其在海水溶液中的吸附行为研究[J]．分析化学，2010，38(8)：1121-1126.

(本文文献格式：陈璐思，梁荣宁，秦伟，等．小分子甲苯印迹聚合物的制备及其吸附性能研究[J].广东化工,2013,40(1):21-23)

(上接第53页)

(2)初次升华：石棉网上加热蒸发皿，逐渐升高温度，咖啡因开始升华，其蒸汽通过滤纸小孔上升，遇到漏斗内壁冷却，直接冷凝为固体，附在漏斗内壁或滤纸的上面。当滤纸上出现大量白色针状结晶时，暂停加热，冷至 100 ℃左右，揭开漏斗的滤纸，仔细将沾在滤纸上和漏斗内壁的咖啡因用小刀刮下。

(3)再次升华：将蒸发皿中残渣加以搅拌，重新放好滤纸和漏斗，用较大的火焰加热，再一次升华。这时火焰也不能过大，当出现褐色烟雾时立即停止加热。否则升华产物即受污染，又遭损失[2]。

2 实验结果

为了提高称量结果的准确度，用分析天平称量所得咖啡因。

在分析天平上先称出称量瓶的质量为 19.800 g，然后把两次升华所得咖啡因倒入称量瓶中称得质量为 19.847 g.。即可求得本次实验所的咖啡因为 47 mg。纯咖啡因为白色针状晶体。

3 实验讨论

(1)实验中所用的茶叶要用研钵尽量研细，否则咖啡因可能提取不完全。

(2)用滤纸包茶叶末时要严实，防止茶叶末漏出堵塞虹吸管；滤纸套大小要合适，既能紧贴套管内壁，又能方便取放，且茶叶高度不要超出虹吸管高度，否则被提取物不能被溶剂充分浸泡，影响提取效果。

(3)在残液中拌入生石灰其目的是将茶叶中含有的单宁酸和没食子酸成为钙盐而除去。其次，使生石灰与水作用生成氢氧化钙，以除去微量的水。若留有少量的水分，在下一步的升华过程中会冒雾，影响产物的产量和质量。

(4)再升华操作中，用大头针刺圆形滤纸时应注意，孔即不能太大也不能太小。如果太小，咖啡因在升华的过程中会受到阻碍。如果孔太大，可能把其他一些杂质也带出去，导致产物不纯。

(5)升华操作的好坏是本次实验成败的关键。再升华过程中须用小火间接加热，温度太高会使滤纸碳化变黑，并把一些有色物烘出来，使产品不纯。再第二次升华时，火亦不能太大。否则，被烘物大量冒烟，导致产物损失[3]。

用索氏提取器从茶叶中提取咖啡因为白色针状晶体，该实验只是单一地提取咖啡因，从经济效益及原料的综合利用考虑，若能结合提取茶多酚.氨基酸等茶叶中的有效成分，则将有更令人满意的前景。

参考文献

[1]帕维亚 D L．现代有机化学实验技术导论[M]．科学出版社，1983.
[2]谷亨杰．有机化学实验[M]．高等教育出版社，2002.
[3]刘程．有机化学实验[M]．人民教育出版社，1981.

(本文文献格式：刘艳霞，李文娟．从茶叶中提取咖啡因[J].广东化工，2013，40(1)：53)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net