

硅胶表面茶碱分子印迹聚合物的制备和性能研究^{*}

罗 勇, 刘 岚, 李丽虹, 邓芹英
(中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 以茶碱作为模板分子, 通过对硅胶表面进行修饰后进行接枝共聚, 制备了基于硅胶表面修饰的分子印迹聚合物。借助红外, 元素分析, 电镜等表征方法对聚合物的制备进行了评价和探讨。用紫外分光光度法考察了分子印迹聚合物对茶碱的吸附特性。实验表明这种分子印迹聚合物对茶碱表现了特异性吸附, 而对相似化合物咖啡因则无吸附, 并用薄层色谱对聚合物的分离性能进行了研究。

关键词: 分子印迹; 茶碱; 硅胶接枝; 吸附

中图分类号: O657.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579(2005)06-0049-05

分子印迹聚合物(molecularly imprinting polymer, MIP)是以目标分子为模板, 通过模板分子和功能单体的结合, 并加入交联剂进行聚合反应形成对模板分子具有特殊吸附选择性的聚合物。近10年来, 分子印迹技术得到飞速发展, 目前已在化学、医学、生物、环境等领域显示了广阔的应用前景^[1]。

MIP一般采用本体聚合方法制备, 虽然方法简单, 但存在模板分子包埋过深难以洗脱, 聚合物形状不规则, 机械性能低, 色谱性能差等缺点。为了寻找更耐用, 色谱性能更好的分子印迹聚合物, 近年来, 很多学者致力于研究新的MIP合成方法和工艺。基于硅胶表面修饰的分子印迹技术就是一个重要领域^[2,3], 如Sulitzky等^[4]报道了一种新的硅胶表面修饰的MIP制备方法, 在硅胶表面修饰上能产生活泼自由基的基团进行表面接枝聚合, 制备了形状规则, 厚度均一的1-苯基丙胺酰替苯胺的MIP。此外还有以形状规则的有机聚合物作为基质的表面分子印迹聚合物^[5-7]。硅胶表面分子印迹聚合物相比传统的本体分子印迹聚合物具有许多优点。利用硅胶作为基质可以通过硅胶控制MIP的形状和大小, 硅胶还可以提高MIP的机械强度和耐用性, 能更好地应用于色谱分析和分离。此外, 由于印迹只发生在硅胶表面, 减少了模板分子的“包埋”现象, 利于模板分子的洗脱和识别, 提高了模板分子的利用率, 这对某些稀少贵重的模板尤其重要。本文以茶碱作为模板分子, 先用3-甲基丙烯酸丙氧基三甲基硅烷对硅胶表面进行接枝, 利用

硅胶表面修饰的官能团接枝包覆聚合物。对硅胶聚合前后性质进行了研究, 并考察了这种表面印迹聚合物对模板分子的作用和分离性能。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV 2000型紫外-可见分光光度计(上海尤尼柯有限公司), 恒温振荡器, 3-甲基丙烯酸丙氧基三甲基硅烷(3-methacryloxypropyltrimethoxysilane, 上海三浦化工有限公司), 乙二醇二甲基丙烯酸酯(EDMA, 江苏安利化工厂, 减压蒸馏后使用), 甲基丙烯酸(MAA, 广州化学试剂厂, 减压蒸馏后使用), 偶氮二异丁腈(AIBN, 上海三浦化工有限公司), 硅胶(Whatman Partisil 5)。

1.2 硅胶的活化和硅烷化

硅胶先用 $\varphi=10\%$ 的盐酸回流12 h, 以除去硅胶中的少量的无机杂质并增加硅胶表面的羟基数目。用蒸馏水洗至pH为中性后真空干燥备用。

取10 g活化硅胶和100 mL甲苯放入250 mL圆底烧瓶中, 加入3 g 3-甲基丙烯酸丙氧基三甲基硅烷, 1 mL吡啶, 加热回流24 h, 将反应后的硅胶过滤, 经甲醇, 氯仿洗净后在50℃真空干燥。

1.3 硅胶表面印迹聚合物的制备

将1.25 mmol功能单体(MAA), 5 mmol交联剂(EDMA), 0.25 mmol模板分子(茶碱)溶解在15 mL氯仿中, 加入1 g硅烷化硅胶后混合均匀, 加入引发剂偶氮二异丁腈(AIBN) 0.03 g, N₂保护下在密闭瓶中60℃引发反应。空白聚合物

^{*} 收稿日期: 2005-04-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20202015); 教育部博士点基金资助项目(20020558026)

作者简介: 罗勇(1981年生), 男, 博士研究生; 通讯联系人: 刘岚; E-mail: cesllan@zsu.edu.cn

(nonimprinting polymer, NMIP) 的制备除不加模板外其它相同。

反应产物先后用甲醇, 氯仿洗涤。再用索氏提取器抽提 (抽提液为甲醇/乙酸, 体积比为 10:1) 48 h 后用丙酮漂洗, 除去少量细小的本体聚合产生的碎片。50 °C 真空干燥 24 h 后备用。硅胶表面分子印迹聚合物的制备过程如图 1 所示。

1.4 吸附量的测定

准确称取 0.03 g 样品于 10 mL 的具塞试管中,

准确移取 5.00 mL 已知浓度 (c) 的茶碱溶液, 放入振荡器中室温振荡 12 h, 溶液经 0.45 μm 的一次性过滤头过滤后用紫外分光光度计在 276 nm 处测定滤液的吸光度, 根据吸附前后溶液浓度的变化, 计算吸附容量。吸附容量 Q (mg/g) 按下式计算:

$$Q = \frac{(c_0 - c_b)V}{m} \tag{1}$$

式中, c_0 为原溶液浓度, c_b 为吸附后溶液浓度, V 为溶液体积, m 为样品用量。

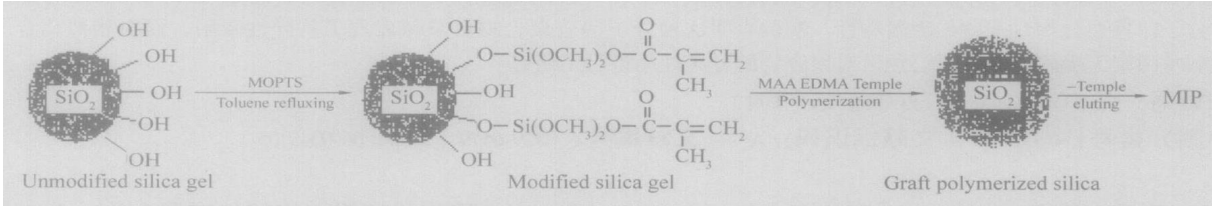


图 1 硅胶接枝分子印迹聚合物的制备
Fig 1 Synthesize process of MIP

2 结果与讨论

2.1 烙印聚合物的后处理

由于接枝聚合过程中, 功能单体不可能全部接枝聚合到硅胶表面, 不可避免的在溶剂中产生少量功能单体和交联剂的溶液聚合共聚物, 这些聚合物粒径小于硅胶接枝聚合物, 其分离识别性能及机械性能应与硅胶接枝聚合物不同, 为探讨硅胶聚合物的分子识别性能, 必须将此部分聚合物除去。并且在聚合过程中, 可能一些硅胶粒子相互间可能发生轻微黏结, 因此聚合完成后必须分级处理。如图 2 所示, (a) 线 1 为未经处理的硅胶表面 MIP 的粒度分布图。粒子的平均粒径为 11.7 μm , 最大粒径达 34 μm 。而硅胶 (图 2(b) 线 2) 的平均粒径只有 5.6 μm , 最大粒径为 13 μm 。原因可能是聚合过程中有些硅胶被聚合物相互黏在一起, 使 MIP 的粒径比原来大大增加。此外, 在 0.5~2.5 μm 出现一个小峰, 为硅胶表面聚合反应过程中溶液中形成少量溶液聚合小碎片。将样品超声震荡后用丙酮漂洗 3 次, 由于硅胶接枝聚合物的密度比本体聚合物的密度大得多, 倒去上层悬浮聚合物。处理后样品 (图 2(a) 线 1) 的平均粒径为 7.7 μm , 最大粒径为 22 μm 。图 B 表明硅胶间的黏结明显减少, 而 0.5~2.5 μm 处粒子分布峰也大大减小。由图 2(b) 可知硅胶表面形成的聚合物平均厚度为 1.1 μm 。

2.2 红外结果解析

图 3 显示了硅胶, 衍生化硅胶以及印迹聚合物的 IR 红外光谱。对于衍生化硅胶, 谱峰中出现了 2 962 和 2 899 cm^{-1} 的饱和碳氢伸缩振动吸收, 而

1 721 cm^{-1} 处出现了酯羰基的碳氧伸缩振动, 表明硅胶上已经成功衍生化甲基丙烯酸酯, 并且硅羟基的吸收明显降低, 表明硅胶表面的羟基数量明显减少。以 471 cm^{-1} 的谱峰为内标峰, 对计算接枝前后羟基峰面积积分, 与内标峰对比, 得衍生化后羟基峰强度为衍生化前的 65.5%, 表明参与衍生化反应的硅羟基约为总量的 34.5%。接枝表面聚合印迹聚合物的红外谱图中, 羰基和饱和碳氢吸收大大加强, 表明接枝聚合成功。硅胶表面的羟基未能完全衍生化, 原因是双键衍生化基团为一长链基团, 当基团引入硅胶表面后, 将对周围的羟基起到空间屏蔽作用, 因而硅胶表面的硅羟基不可能反应完全。

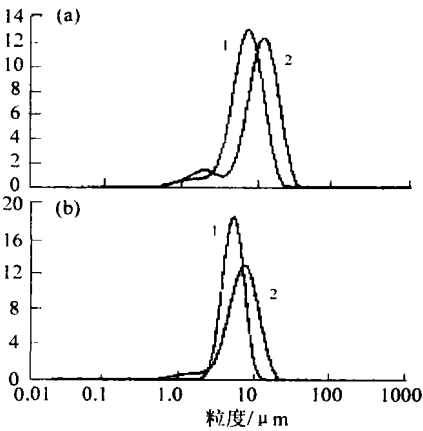


图 2 粒度分析图
Fig 2 Granularity analysis of A-MIP(a) and B-silica and imprinted silica(b)
(a) 样品处理前后对比; (b) 硅胶和硅胶表面 MIP 对比

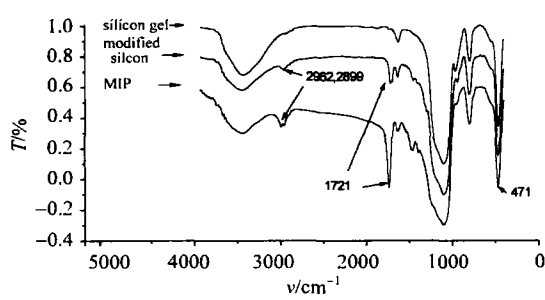


图 3 红外光谱图

Fig 3 IR spectra of silica, modified silica and MIP

2.3 元素分析结果分析

元素分析结果表面硅烷化硅胶碳氢质量百分数 (w) 分别为 8.666% 和 1.546%。而接枝聚合后的硅胶碳氢质量百分数 (w) 分别为 23.87% 和 3.391%。研究表明活化后硅胶表面的羟基浓度约为 $8\ \mu\text{mol}/\text{m}^2$ 。而所使用硅胶的比表面积为 $350\ \text{m}^2/\text{g}$ ，即每克硅胶表面的羟基量约为 2.8 mmol。根据元素分析的结果和公式 (1) 可以计算出硅胶表面所接基团的质量百分数：

$$w(\text{硅烷基团}) = \frac{w_C \times Mr_{\text{C}_9\text{H}_{16}\text{SiO}_4}}{M_{\text{C}_9}} = 17.4 \quad (1)$$

$Mr_{\text{C}_9\text{H}_{16}\text{SiO}_4}$ 为一次反应所接枝上的基团的相对原子质量。 M_{C_9} 为所接基团中碳的相对原子质量。

由下式可计算出每克硅胶所反应的羟基摩尔量：

$$M_{\text{已反应羟基}} = 1 \times \left[\frac{W_{\text{硅烷基团}}}{1 - W_{\text{硅烷基团}}} \right] \times Mr_{\text{C}_9\text{H}_{16}\text{SiO}_4} = 0.97\ \text{mol} \quad (2)$$

由此可知硅胶表面羟基的反应率约为 $(0.97/2.8) \times 100\% = 34.2\%$ 。与红外分析结果吻合。

2.4 MIP 对茶碱的吸附作用及选择性研究

硅胶、衍生化硅胶、空白聚合物和印迹聚合物对茶碱、咖啡因的吸附表现出了明显的差异 (如图 4 所示)。硅胶由于表面大量羟基的作用对茶碱和咖啡因均有很强吸附，但表面衍生化后对两者的吸附作用均很弱。虽然硅胶经修饰后表面仍有约 65% 的羟基未反应，但由于所引入的衍生化基团体积很大，阻碍了羟基同其它分子的作用，因而对茶碱和咖啡因的吸附接近于零。MIP 和 NMIP 对茶碱和咖啡因均有吸附，而 MIP 的吸附量远远大于 NMIP，如图 4 (b) 所示。

如 SEM (图 5 (b)) 所示，硅胶表面在衍生化前后发生了很大变化。而接枝印迹聚合物后则形成多孔状结构。根据分子印迹的作用原理^[9,10]，分子印迹聚合物对模板分子的识别主要有两个方面：

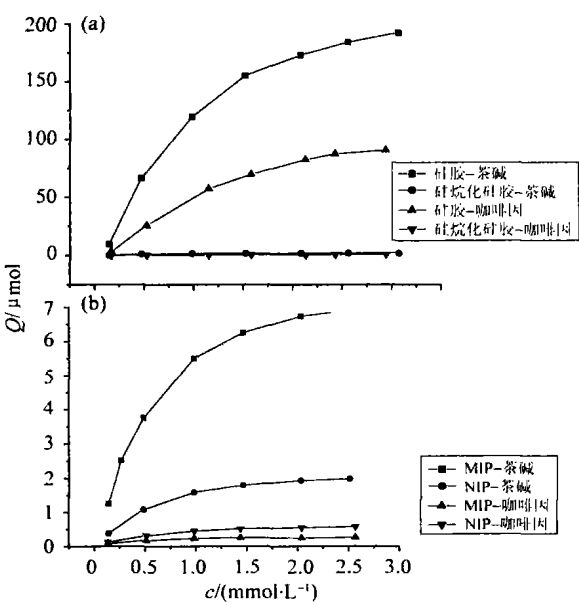


图 4 吸附等温线 (室温 20 °C)

Fig 4 Binding isotherm of silica and modified silica (a); NMIP and MIP (b)

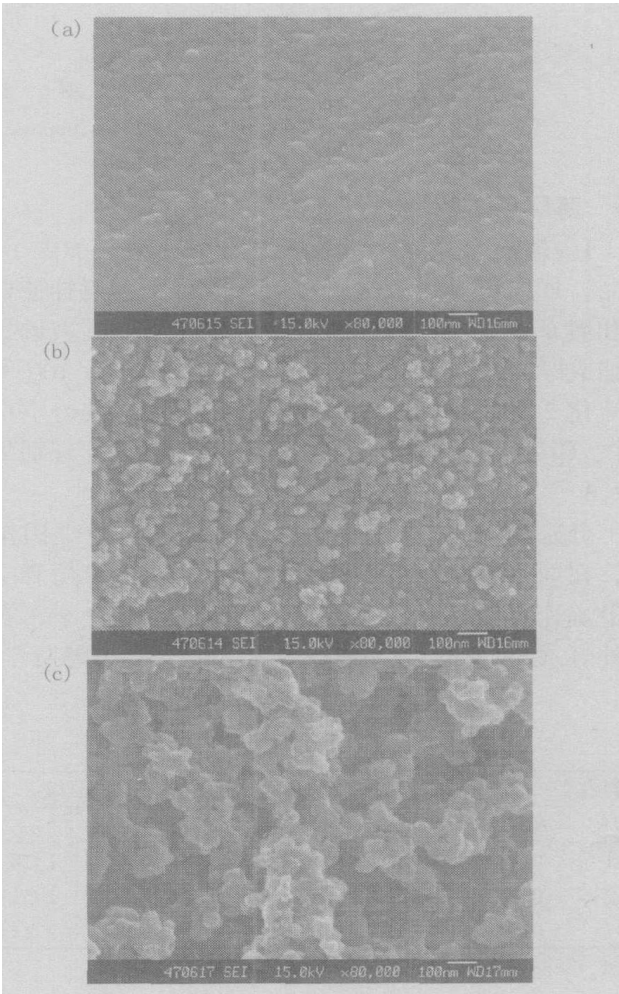


图 5 样品 SEM 图

Fig 5 SEM images of samples

(a) 硅胶; (b) 衍生化硅胶; (c) 表面接枝聚合物

①分子印迹聚合物空穴的空间结构与模板分子结构相互匹配。②分子印迹聚合物空穴中的功能基和模板分子的作用，作用位点越多，选择性越好。尽管茶碱和咖啡因的结构很相似，但两者在咪唑环上取代基的不同对分子印迹识别过程起关键影响。如图 6 所示，茶碱咪唑基上的胺基不仅可以提供氢原子和甲基丙烯酸上的羰基形成氢键，而且氮原子还可和羧基形成氢键或离子键作用。咪唑环上的叔氮原子也可形成氢键作用，但由于共轭作用，其碱性比咪唑环上的仲氮原子弱很多，氢键作用也弱得多。此外咪唑环邻近羰基对茶碱的识别也有一定的协同作用。当咪唑环上的氢原子被甲基取代后，咪唑环上没有氢原子可供形成氢键，而且甲基的位阻也影

响了氮原子及邻近羰基和功能基的作用。另一方面，由于甲基的空间位阻作用使咖啡因和 MIP 空穴的匹配性减弱。MIP 与空白聚合物（NMIP）对茶碱的吸附作用有明显差异，空白聚合物的制备与 MIP 完全相同，差别仅在于 MIP 制备过程中加入了模板分子，聚合前模板分子与功能单体进行自组装，经交联聚合后，模板分子的结构的信息被保留，MIP 中功能基团与模板分子空间结构相符合，从而形成了对特定结构的分子具有特异性吸附，而空白聚合物中功能基团的排列是无规则的，其吸附作用为非特异性吸附，因此 MIP 的吸附量大大高于 NMIP（图 6）。

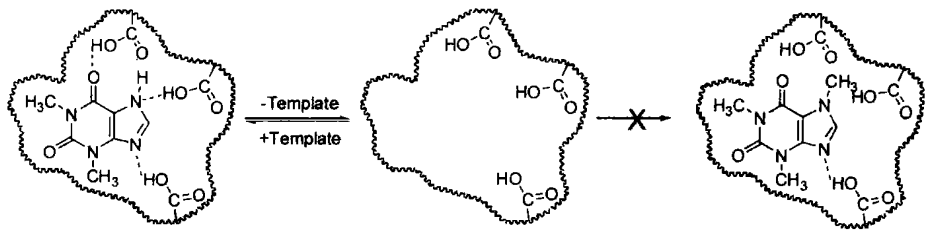


图 6 茶碱印迹示意图
Fig. 6 Imprinting process of theophylline

2.5 薄层色谱板的制备及应用

1 g 煅石膏和 0.02 g 荧光红充分研磨，加入 1 g 样品，加入适量蒸馏水，在超声波作用下搅拌使样品和煅石膏混合均匀，制得的浆液在干净的玻璃板上铺成厚度约 0.5 mm 的均匀薄层，晾干后 100℃ 下活化 2 h 后备用。分别制备以衍生化硅胶、空白 MIP、印迹 MIP 为样品的薄层色谱板，编号分别为 1, 2, 3。

分别配制浓度约 1 mg/mL 的茶碱和咖啡因溶液，在同一块玻璃板上依次点样。分别以氯仿和二氯甲烷作展开剂，展开至约 4 cm，取出晾干，在紫外灯（254 nm）下观察。薄层分离结果如表 1。

表 1 薄层分离结果
Tab 1 Results of TLC

薄层板号	展开剂: 氯仿			展开剂: 二氯甲烷		
	R_f 茶碱	R_f 咖啡因	α	R_f 茶碱	R_f 咖啡因	α
1	0.74	0.83	1.12	0.63	0.80	1.28
2	0.77	0.86	1.20	0.51	0.77	1.51
3	0.53	0.921	1.75	0.12	0.84	7.11

由于茶碱、咖啡因结构上的差异，3 种薄层板在弱极性展开剂中均表现出一定的分离效果，结果表明 3 种薄层的拆分能力依次为 3>2>1。衍生化硅胶由于表面残余羟基的作用，对两种化合物也有

一定作用，但印迹聚合物的分离效果明显好于衍生化硅胶和空白聚合物。实验表明硅胶表面印迹聚合物体现了分子印迹所具有的高度识别性的优点，具有广阔的应用前景^[11, 12]。

参考文献:

[1] PILETSKY S A, ALCOCK S. Molecular imprinting: at the edge of the third millennium[J] . Trends in Biotechnology, 2001, 19 (1).

[2] YE L, PETER A G C, MOSBACH K. Molecular imprinting on microgel spheres[J] . Analytica Chimica Acta, 2001, 435: 187—196.

[3] HWANG K O, YAKURA Y G, FUMIO S. Template-assisted assembly of metal binding sites on a silica surface[J] . Materials Science and Engineering, 1995, C3: 137—141.

[4] SULITZKY C, HALL A G, LANZA F. Grafting of molecularly imprinted polymer films on silica supports containing surface-bound free radical initiators[J] . Macromolecules, 2002, 35: 79—91.

[5] GLAD M, REINHOKDSSON P, MOSBACH K. Molecularly imprinted composite Polymers based on trimethylolpropane trimethacrylated (TRIM) particles for efficient enantiomeric separations[J] . Reactive Polymers, 1995, 25: 47—54.

[6] JOSHI V P, KARODE S K, KULKARNI M G, et al. Novel separation strategies based on molecularly imprinted

adsorbents[J] . Chemical Engineering Science, 1998, 13: 2271—2284.

[7] PILETSKY S A, MATUSCHEMSKI H, SCHEDLER U. Surface functionalization of porous polypropylene membranes with molecularly imprinted polymers by photograft copolymerization in water[J] . Macromolecules, 2000, 33: 3092—3098.

[8] 刘国诠, 余兆楼. 色谱柱技术[M] . 北京: 化学工业出版社, 2001: 135.

[9] STRIEGLER S. Designing selective sites in templated polymers utilizing coordinative bonds[J] . J Chromatography B, 2004, 804: 183—195.

[10] SPIVAK D A, SIMON P, CAMPBELL J. Evidence for shape selectivity in non-covalently imprinted polymers [J] . Analytica Chimica Acta, 2004, 504: 23—30.

[11] ALVAREZ-LORENZO G, CONCEIÇÃO A. Molecularly imprinted polymers for drug delivery[J] . J Chromatography B, 2004, 804: 231—245.

[12] MIRUNA P, PETER N. Propofol imprinted membranes with potential applications in biosensors[J] . Analytica Chimica Acta, 2004, 504: 73—79.

Preparation of Imprinted Polymer with Theophylline on Silica Surface and Its Characteristics

LUO Yong, LIU Lan, LI Li hong, DENG Qin ying

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Silica particles were modified with polymerizable double bonds on the surface. Then the molecular imprinting polymer imprinted with theophylline was grafted to the surface of modified silica. The molecularly imprinted polymer (MIP) based on the surface of silica was characterized by IR, element analysis (EA), and scanning electron microscopy (SEM). The adsorption of theophylline by MIP was measured. The separation property of MIP toward theophylline and caffeine was investigated by thin layer chromatography (TLC).

Key words: molecular imprinting; theophylline; silica grafting; absorption