

单分散双酚 A 分子印迹微球的制备及其色谱性能

江明² 晋园² 彭彦² 张艳波² 张江华¹ 梅素容¹ 吕斌^{*1}

¹(华中科技大学同济医学院公共卫生学院环境与健康教育重点实验室, 武汉 430030)

²(华中科技大学同济医学院药学院, 武汉 430030)

摘 要 通过改变块状聚合的合成条件, 使用液体石蜡和甲苯的混合溶剂为致孔剂, 发展了一种制备双酚 A (BPA) 分子印迹微球的简单方法。微球的粒径、分散度可通过液体石蜡和甲苯的比例调节。当液体石蜡和甲苯的体积为 5 mL、体积比为 2:3, EGDMA 的量为 24 mmol 时, 可得到直径约为 3 μm 、单分散 BPA 分子印迹微球。液相色谱评价显示, 相比于传统的块状聚合方法, 本微球具有良好的印迹效应。本法有望成为制备适合于 HPLC 填充使用单分散分子印迹微球的一种有效方法。

关键词 分子印迹聚合物, 微球, 制备, 色谱

1 引言

分子印迹聚合物 (molecular imprinted polymers, MIPs) 是人工合成的具有三维空间结构的聚合物, 对印迹分子即模板选择性好, 在色谱分离与检测方面具有广阔的应用前景^[1-3]。

目前制备 MIPs 的方法主要是块状聚合法 (bulk polymerization)。该法原理简单, 所需的溶剂和印迹分子量较少, 但所合成的块状聚合物要经过研磨、筛分等耗时费力工序才能得到适合色谱及固相萃取使用的微小颗粒, 并且由于该颗粒外形不规则、大小不均一, 作为分离载体存在填装质量低、易形成通道和理论塔板数低等诸多缺点。为了克服块状聚合的缺点, 近年来出现了悬浮聚合^[4]、分散聚合^[5]、多步膨胀聚合^[6]和沉淀聚合^[7]等方法。这些方法虽然可以制备形状规则、粒径均一的单分散 MIPs 微球, 但也存在各自的缺陷。悬浮聚合与分散聚合需要加入的表面活性剂或稳定剂会通过物理或化学作用吸附在 MIPs 微球表面, 不利于 MIPs 的使用。且这两种方法都是在水溶液中进行反应, 不利于功能单体与印迹分子间氢键的形成。多步膨胀聚合在水溶液中进行, 过程复杂, 只适用于能与硅形成共价键的印迹分子, 应用面较窄。沉淀聚合在乙腈等非质子性的有机溶液中进行, 过程简单, 无需表面活性剂或稳定剂。但该方法需要大量的有机溶剂作为分散介质, 且颗粒的形状易受到溶剂极性和印迹分子的影响而不规则化。此外用该法合成大于 1 μm 适合色谱和固相萃取使用的微球存在较大的困难。

本实验改变块状聚合的合成条件, 以液体石蜡和甲苯的混合液为致孔剂, 发展了一种制备单分散分子印迹微球的方法 (称为改进的块状聚合法)。本方法无需表面活性剂或稳定剂, 无需搅拌, 所需溶剂量少, 过程简单, 微球的粒径较大 (约为 3 μm), 可以方便地应用于液相色谱填料。

2 实验部分

2.1 试剂及仪器

FEI Sirion 200 (荷兰 FEI 公司) 高分辨场发射扫描电镜; ProStar-230 型 HPLC 系统 (美国 VARIAN 公司), 含 VARIAN-230 泵、VARIAN-310 型紫外检测器、HS-色谱数据工作站; FEI Sirion 200 高分辨场发射扫描电镜。

BPA、双酚 C (BPC)、己烯雌酚、己烷雌酚、4-乙烯吡啶 (4-VP)、二甲基丙烯酸乙二醇酯 (EGDMA)、三羟甲基丙烷三甲丙烯酸酯 (TRIM) 均购自 Sigma 公司 (USA); 苯酚、偶氮二异丁腈 (AIBN)、甲苯 (分

2007-10-02 收稿; 2008-03-10 接受

本文系国家自然科学基金 (No. 20477013) 资助项目

* E-mail: lubin@mail.edu.cn

析纯)、甲醇(色谱纯)、液体石蜡(分析纯)、氯仿(分析纯)均购自上海试剂公司。功能单体 4-VP 中的阻聚剂通过减压蒸馏除去,交联剂 EGDMA 和 TRIM 中的阻聚剂用活性炭吸附去除。

2.2 分子印迹聚合物的制备

改进的块状聚合法:称取适量的模板 BPA,置于安瓿中,加入 5 mL 甲苯与液体石蜡混合溶剂、适量的功能单体 4-VP、适量的交联剂 EGDMA 或 TRIM 和 20 mg 引发剂 AIBN,超声脱气 5 min,通 N₂ 除氧 10 min,真空封管后,于 4 °C 紫外光照下进行自由基聚合 24 h,得到白色粉末状聚合物。所得粉末用氯仿洗去黏附的液体石蜡后,用体积比为 9:1 的甲醇和乙酸混合液索式提取至洗脱液用 UV 分光光度计测不出 BPA 峰后(约 48 h),用乙腈洗去残留乙酸,真空干燥至恒重。空白聚合物 nMIP1 如上法所制备,只是不加入模板分子。

块状聚合法:参照 MIP3 合成条件,只是不加液体石蜡进行反应,得块状产物,经碾碎过筛,收集 30~60 颗粒得 MIP15。空白聚合物 nMIP2 如上法所制备,只是不加入模板分子。MIP15 及 nMIP2 制备后的处理除不用氯仿洗涤外,其它与 MIP3 同。聚合物的合成条件见表 1。

表1 聚合物的制备条件

Table 1 Composition of polymers

聚合物编号 Polymer No.	BPA (mmol)	4-VP (mmol)	E or T (mmol)	T/L (V/V)	AIBN (mg)	聚合物编号 Polymer No.	BPA (mmol)	4-VP (mmol)	E or T (mmol)	T/L (V/V)	AIBN (mg)
MIP1	1	6	24(E)	1/4		MIP10	2	6	24(E)	3/2	20
MIP2	1	6	24(E)	2/3	20	MIP11	1	6	12(T)	1/4	20
MIP3	1	6	24(E)	3/2	20	MIP12	1	6	12(T)	2/3	20
MIP4	1	6	24(E)	4/1	20	MIP13	1	6	12(T)	3/2	20
MIP5	1	6	12(E)	3/2	20	MIP14	1	6	12(T)	4/1	20
MIP6	1	6	36(E)	3/2	20	nMIP1	0	6	24(E)	3/2	20
MIP7	1	3	24(E)	3/2	20	MIP15	1	6	24(E)	5/0	20
MIP8	1	9	24(E)	3/2		nMIP2	0	6	24(E)	5/0	20
MIP9	0.5	6	24(E)	3/2	20						

E or T: 二甲基丙烯酸乙二醇酯或三羟甲基丙烷三甲基丙烯酸酯 (ethyleneglycol-dimethacrylate or trimethylolpropane trimethacrylate); T/L: 甲苯(toluene)/液体石蜡(liquid paraffin)。BPA: 双酚 A(bisphenol A); 4-VP: 4-烯吡啶(4-vinylpyridine); AIBN: 偶氮二异丁腈(azobisisobutyronitrile)。

2.3 色谱评价及实验方法

将 MIP3、MIP15、nMIP1 和 nMIP2 悬浮在甲醇液中,分别装入 50 mm × 4.6 mm 的不锈钢管柱中,以甲醇为流动相,测定浓度为 0.2 mmol/L BPA 或与 BPA 结构类似物(苯酚、己烷雌酚、己烯雌酚、BPC)的色谱图。色谱条件:流速 1.0 mL/min;进样体积 10 μL;检测波长 270 nm;柱温 25 °C。每个样品分析重复 3 次。容量因子(k')由 $k' = (t_R - t_0)/t_0$ 计算,式中 t_R 和 t_0 分别为 BPA 的保留时间和系统的死时间。 t_0 由注入的丙酮峰测定。印迹因子定义为 $I = k'_{\text{mip}}/k'_{\text{nmip}}$ ^[8]。式中 k'_{mip} 和 k'_{nmip} 分别为 BPA 在 BPA 印迹聚合物和空白聚合物的容量因子。

3 结果与讨论

3.1 分子印迹微球的制备

传统的块状聚合所使用的致孔剂一般为乙腈、氯仿、甲苯和二甲基甲酰胺等常见的非质子溶剂,少量文献也有使用甲醇、乙醇等常见的质子性溶剂。在使用这些常见的致孔剂条件下,所得到的产物为块状的聚合物。1994 年, Sellergren 等^[9]使用环己醇和异丙醇为致孔剂而得到了粉末状聚合物,但粉末的形状不规则且分散度大,作为分离介质其性能并不令人满意。

本实验以液体石蜡和甲苯的混合液为致孔剂,得到了粉末状的聚合物。当以 EGDMA 为交联剂、以不同比例的液体石蜡和甲苯为致孔剂时,得到的颗粒基本上为球形,且液体石蜡和甲苯的比例对颗粒外形与分散度起着至关重要的作用。随着液体石蜡和甲苯混合液中甲苯含量的增加,颗粒的粒径增大(MIP1、MIP2、MIP3 和 MIP4 的直径分别为 0.6、1.1、3 和 5 μm)。当液体石蜡和甲苯的体积比为 2:3 时,可得到单分散的分子印迹微球(图 1)。

探讨 4-VP、BPA 和 EGMDMA 使用量对合成的影响。结果表明,当液体石蜡和甲苯的比例为 2:3 时,4-VP 和 BPA 的用量对合成没有明显的影响;而 EGMDMA 的用量虽对颗粒的粒径和分散度没有影响,但会影响颗粒的表面结构,而其影响没有明显的规律性(见图 2)。

当以 TRIM 为交联剂、以不同比例的液体石蜡和甲苯为致孔剂(MIP11-MIP14)进行聚合,仍得到粉末状的产物,但产物的形状不规则,粒径的分散度较大,表明 TRIM 不适合于本方法。

3.2 BPA 分子印迹微球印迹性能的液相色谱评价

MIP3 是多孔性的单分散 BPA 分子印迹微球,其直径约为 3 μm ,可满足色谱柱填充材料的要求。本实验将 MIP3 和

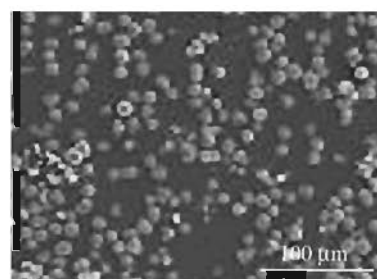


图 1 MIP3 的场扫描电镜图
Fig. 1 Field emission scanning electron microscope (FSEM) photograph of MIP3

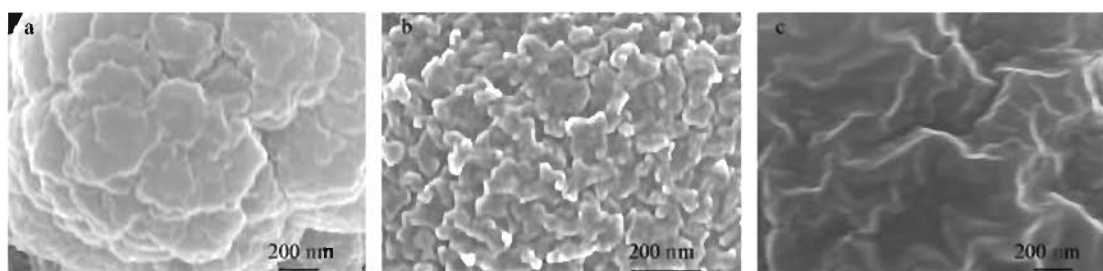


图 2 聚合物表面的场扫描电镜图
Fig. 2 FSEM photographs of particle's surface
a. MIP5; b. MIP3; c. MIP6.

nMIP1 分别填入色谱柱,并评价 MIP3 的印迹性能。由 BPA 在 MIP3 和 nMIP1 柱上的洗脱图(图 3)可计算得 BPA 在 MIP3 和 nMIP1 柱上的容量因子分别为 6.90 和 0.81, MIP3 印迹因子为 8.51。由 BPA 与其结构类似物在 MIP3 上的分离图(图 4)可知使用简单的流动相甲醇可分离 BPA 及其的结构类似物。液相色谱评价显示 MIP3 具有明显的印迹能力。

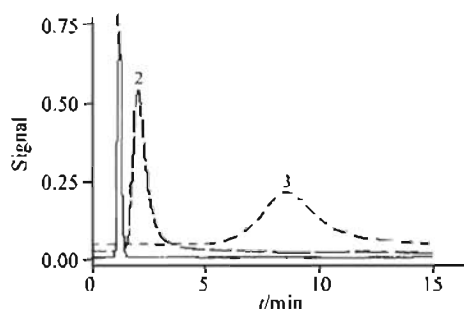


图 3 丙酮和 BPA 在 MIP3 和 nMIP1 填充柱上的色谱图
Fig. 3 Chromatogram of acetone and BPA in MIP3 and nMIP1 columns
1. acetone on MIP3; 2. BPA on MIP1; 3. BPA on MIP3.

本法是块状聚合法的改进方法,为比较本法与传统的块状聚合法,参照了 MIP3 合成条件,用块状聚合法合成 MIP15 及其空白聚合物 nMIP2,并用与 MIP3 相同的液相色谱方法评价其印迹性能。由图 5 计算得 BPA 在 MIP15 和 nMIP2 柱上容量因子分别为 1.4 和 0.4, MIP15 印迹因子为 3.5。以甲醇为流动相, MIP15 柱不能分离 BPA 及其结构类似物。液相色谱评价结果显示本实验的方法所制备的 MIP 具有更好的印迹性能。

3.3 结论

本实验改变块状聚合法的合成条件,使用液体石蜡和甲苯的混合剂为致孔剂,发展了一种制备分子

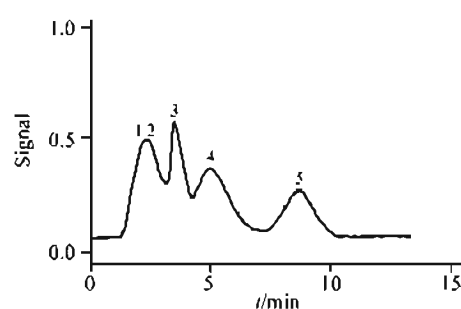


图 4 BPA 及其结构类似物在 MIP3 填充柱上的色谱图
Fig. 4 Chromatogram of BPA and its analogs in MIP3 column
1. 己烯雌酚 (diethylstilbestrol); 2. 己烷雌酚 (hexoestrol);
3. 苯酚 (phenol); 4. 双酚 C (bisphenol C); 5. 双酚 A (bisphenol A, BPA)。

印迹微球的简单方法。当液体石蜡和甲苯的体积为 5 mL、体积比为 2:3, EGDMA 的量为 24 mmol 时, 可得到直径约为 3 μm 、单分散 BPA 分子印迹微球。液相色谱评价显示该微球具有良好的印迹效应。

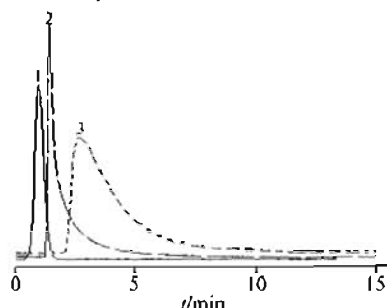


图 5 丙酮和 BPA 在 MIP15 和 nMIP2 填充柱上的色谱图

Fig. 5 Chromatogram of acetone and BPA in MIP15 and nMIP2 columns

1. acetone on MIP15 column; 2. BPA on nMIP2 column; 3. BPA on MIP15 column.

References

- Lai Jia-Ping(赖家平), He Xi-Wen(何锡文), Guo Hong-Sheng(郭洪声). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2001, 29(7): 836 ~ 844
- Ma Jin-Yu(马金余), Chen Bo(陈波), Yao Shou-Zhuo(姚守拙). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2005, 33(10): 1413 ~ 1416
- Hu Xiao-Gang(胡小刚), Li Gong-Ke(李攻科). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2006, 34(7): 1035 ~ 1041
- Flores A, Cunliffe D, Whitcombe M J, Vulfson E N. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2000, 77: 1841 ~ 1850
- Say R, Birlik E, Ersöz A, Yilmaz F, Gedikbey T, Denizli A. *Anal. Chim. Acta*, 2003, 480: 251 ~ 258
- Haginaka J, Takehira H, Hosoya K, Tanaka N. *J. Chromatogr. A*, 1999, 849: 331 ~ 339
- Jiang Ming(江明), Lin Yi(林怡), Zhang Jiang-Hua(张江华). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2006, 34(10): 1419 ~ 1422
- Cheong S H, Mc Niven S, Rachkov A, Levi R, Yano K, Karube I. *Macromolecules*, 1997, 30: 1317 ~ 1322
- Sellergren B. *J. Chromatogr. A*, 1994, 673: 133 ~ 141

Preparation of Mono-disperse Bisphenol A Imprinted Polymer Microspheres and Their Chromatographic Properties

JIANG Ming², JIN Yuan², PENG Yan², ZHANG Yan-Bo², ZHANG Jiang-Hua¹, MEI Su-Rong¹, LÜ Bin^{*1}

¹(Ministry of Education Key Laboratory of Environment & Health, Institute of Environmental Medicine, School of Public Health, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030)

²(School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030)

Abstract A facile method was presented for the synthesis of mono-disperse bisphenol A (BPA) imprinted polymer (MIP) microspheres. The polymerization procedure was similar to that of the conventional bulk polymerization except that a mixture of liquid paraffin and toluene was used as porogen. Results showed that the morphology, diameter, and the disperse degree of the particles were controlled by the ratio of toluene to liquid paraffin. When the ratio of toluene to liquid paraffin was 3 to 2 (V/V), the porogen was 5 mL, and ethylene glycol dimethacrylate (EGDMA) was about 24 mmol, monodisperse microspheres with diameters about 3 μm could be synthesized. Chromatographic evaluation showed that the microspheres synthesized by this method had better imprinted properties compared to those of polymers synthesized by traditional bulk imprinted method. The method established may be an effective one for the preparation of MIP chromatographic stationary phases.

Keywords Molecularly imprinted polymers, microspheres, preparation, chromatography

(Received 2 October 2007; accepted 10 March 2008)