

罗丹明B分子印迹聚合物的合成及吸附性研究

纪淑娟, 刘秀英, 于颖超, 张旋, 周倩
(沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘要: 以罗丹明B为模板分子, 采用本体聚合法, 以三羟甲基丙烷三甲基丙烯酸酯为交联剂, 乙腈为致孔剂, 制备具有印迹位点的聚合物。通过振荡吸附实验确定了适宜的单体种类, 并对致孔剂的用量进行优化。采用扫描电镜和红外分析仪对其微观形貌进行表征, 并对聚合物进行平衡吸附和选择性研究。结果表明, 印迹聚合物对目标分子具有较高的选择性和亲和性, 在质量浓度为15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 达到平衡, 饱和吸附量为370.49 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。吸附动力学研究表明, 时间为150 min时吸附达到平衡。

关键词: 分子印迹聚合物; 罗丹明B; 吸附等温线

Preparation and Adsorption Properties of Rhodamine B Molecularly Imprinted Polymers

Ji Shu-juan, Liu Xiu-ying, Yu Ying-chao, Zhang Xuan, Zhou Qian
(College of Food, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract: Molecularly imprinted polymers (MIP) were prepared by bulk polymerization using rhodamine B (RhB) as the template, methacrylic acid (MAA) as the functional monomer, trimethylolpropane trimethacrylate (TRIM) as the crosslinker and acetonitrile as the porogen. Adsorption experiments were carried out on the MIP to select the optimum monomer and porogen amount. Scanning electron microscopy and infrared spectrometry were employed to observe the morphology of the polymers. Equilibrium adsorption and selectivity experiments were performed. The results revealed that the imprinted polymers showed better adsorption properties and selective recognition capacity. The maximum adsorption capacity was 370.49 $\mu\text{g}/\text{g}$ at a concentration of 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The equilibrium was reached in 150 minutes.

Key words: molecularly imprinted polymers; rhodamine B; adsorption isotherm

中图分类号: TQ317.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 06-0012-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201406003

罗丹明B (Rhodamine B, RhB) 又称玫瑰红B, 或碱性玫瑰精, 俗称花粉红, 具有脂溶性, 是一种具有鲜桃红色的人工合成染料, 常被用作调味品染色剂, 使用了被其污染的调味品制作食品时会造成残留。研究表明, 罗丹明B对人和动物具有一定的毒性, 它能够刺激皮肤, 眼睛及呼吸道^[1]。1993年在欧美等国家和地区就已明令禁止用于食品加工中。中国卫生部将其列于《食品中可能违法添加的非食用物质和易滥用的食品添加剂品种名单 (第一批)》中, 禁止在食品中使用。目前, 国内外对罗丹明B的检测方法主要有高效液相色谱法、液相色谱-串联质谱法、分光光度法等^[2-8]。我国现有SN/T 2430—2010《进出口中罗丹明B的检测方法》行业标准方法是采用液相色谱-串联质谱法对进出口食品中罗丹明B进行定量或定性。然而, 这些方法都需要进行复杂的预处理, 而使用了被污染的调味料制作的食品中

罗丹明B的残留量往往较低, 因此常规的样品前处理方法对复杂的样品中痕量的罗丹明B的净化、富集效果并不理想。

分子印迹技术属于超分子化学研究范畴, 是指以某一特定的目标分子为模板, 制备对该分子有特异选择性识别的聚合物的过程。所制备的聚合物对目标分子具有高度的亲和性, 良好的化学和机械稳定性, 对目标分子具有识别专一性等优点^[9-10]。由于分子印迹聚合物的优点, 该技术已被广泛应用于表面印迹^[11-12]、天然产物提取^[13-14]、固相萃取^[15-17]、传感器^[18-19]、药物手性拆分^[20-22]、印迹膜分离技术等领域^[23-25]。本研究选取甲基丙烯酸为最佳功能单体, 采用本体热引发聚合的方法制备罗丹明B分子印迹聚合物, 并采用扫描电子显微技术对其微观结构进行表征, 对其吸附性进行了研究, 为将其应用于食品分析中痕量检测及样品中罗丹明B的分离、富集提供重要的参考。

收稿日期: 2013-04-26

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目 (2012BAD38B07)

作者简介: 纪淑娟 (1960—), 女, 教授, 博士, 研究方向为食品质量控制。E-mail: jsjsyau@sina.com

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

罗丹明B(色谱纯)、丁基罗丹明B(分析纯)、丽丝胺罗丹明B(分析纯)、罗丹明6G(分析纯) 阿拉丁试剂(上海)有限公司; 甲基丙烯酸(methacrylic acid, MAA)、偶氮二异丁腈(2,2'-azobis(2-methylpropionitrile), AIBN)、甲基丙烯酸甲酯(methyl methacrylate, MMA)、乙腈(色谱纯) 国药集团化学试剂有限公司; 丙烯酰胺(acrylamide, AM) 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司; 2-乙烯基吡啶(2-vinylpyridine, 2-Vp) 上海晶纯试剂有限公司; 三羟甲基丙烷三甲基丙烯酸酯(trimethylolpropane triacrylate, TRIM) 美国Sigma公司; 除特殊标记以外其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

TU-1801型紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; TM-1000台式扫描电镜 日本日立公司; FT-IR 2000傅里叶红外扫描仪 美国Thermo公司; DK-S26电热恒温水浴锅、DZF-6050型真空干燥箱 上海精宏实验设备有限公司; KQ100DB型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; H1605型台式高速离心机 长沙湘仪离心机仪器有限公司; 分析天平 赛多利斯科学仪器有限公司; 磁力搅拌器、混合器 德国IKA公司; HY-2调速多用振荡器 国华电器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 罗丹明B分子印迹聚合物和非印迹聚合物的制备

RhB分子印迹聚合物(molecularly imprinting polymer, MIP)的制备采用本体聚合法,以热引发的方式聚合。将1 mmol模板分子RhB和10 mmol 功能单体溶于乙腈中,置于混合器上混合均匀后于超声波中超声1 h,使其充分作用。再加入10 mmol TRIM和65 mg AIBN,用超声波脱气混合15 min,并通高纯氮气5 min后抽真空密封,放入恒温水浴中60 °C条件下聚合反应24 h。将所得聚合物研磨过200目筛,用甲醇洗脱至洗脱液无色,置于索氏提取器中,以10%的乙酸-甲醇溶液洗脱至洗脱液中无模板分子检出,再用甲醇洗至中性,真空干燥后备用。

非印迹聚合物(non-imprinting polymer, NIP)的制备除不加模板分子外,其他同印迹聚合物。

1.3.2 分子印迹聚合物的表征

利用扫描电子显微镜表征MIP和NIP的微观形貌,并对其进行比较分析。利用红外光谱仪测定MIP和NIP的红外谱图,并进行分析。

1.3.3 吸附平衡结合性研究

准确称取聚合物50 mg于7 mL的具塞离心管中,分

别加入4 mL不同质量浓度的RhB-乙腈溶液,放入振荡器20 °C条件下振荡6 h,9 000 r/min离心3 min,准确移取上清液,过微孔滤膜后于紫外-可见分光光度计,在波长552 nm处测定。根据吸光度计算吸附前后上清液中RhB的溶液质量浓度变化以及吸附量。

$$Q = \frac{(c_0 - c) \times V}{m} \quad (1)$$

式中: Q 为吸附量($\mu\text{g/g}$); c_0 为吸附前溶液质量浓度($\mu\text{g/mL}$); c 为吸附后溶液质量浓度($\mu\text{g/mL}$); V 为吸附液体积/mL; m 为聚合物的质量/g。

1.3.4 吸附动力学研究

准确称取聚合物50 mg于7 mL的具塞离心管中,分别加入4 mL一定质量浓度的RhB-乙腈溶液,放入振荡器20 °C条件下振荡,分别在不同平衡时间取样,9 000 r/min离心3 min,准确移取上清液,过微孔滤膜后于紫外-可见分光光度计,在波长552 nm处测定。根据吸光度计算吸附前后上清液中RhB的溶液质量浓度变化及吸附量,研究吸附量随时间变化关系。

1.3.5 吸附选择性研究

准确称取聚合物50 mg于7 mL的具塞离心管中,分别加入4 mL一定质量浓度的RhB、丁基RhB、丽丝胺RhB、罗丹明6 G的乙腈溶液,放入振荡器20 °C条件下振荡6 h,9 000 r/min离心3 min,准确移取上清液,过微孔滤膜后于紫外-可见分光光度计测定。根据吸光度计算吸附前后上清液中目标物的溶液质量浓度变化以及吸附量。

1.3.6 脱附再生性研究

准确称取聚合物50 mg于7 mL的具塞离心管中,分别加入4 mL质量浓度为9 $\mu\text{g/mL}$ RhB-乙腈溶液,放入振荡器20 °C条件下振荡3 h,9 000 r/min离心3 min,准确移取上清液,过微孔滤膜后于紫外-可见分光光度计,在波长552 nm处测定,按式(1)计算吸附量。测定后,将使用后的聚合物进行充分洗脱再生处理后,重复上述步骤。

2 结果与分析

2.1 分子印迹聚合物的制备

2.1.1 功能单体的选择

聚合物制备过程中,模板分子和功能单体之间相互作用的强弱直接影响着分子印迹聚合物的专一性和结合性。如果模板分子和功能单体之间相互作用强,那么功能基团规律分布,这就使得聚合物合成过程中产生大量高选择性的识别位点,大大提高印迹聚合物的结合选择性;如果在功能单体和模板分子之间缺乏很好相互作用力,就会造成聚合物合成过程中产生大量非选择性或非选择性的结合位点,从而降低聚合物的结合性。因此,功能单体的选择对印迹材料的性能影响较大。按照1.3.1

节方法, 分别以MAA、MMA、2-Vp、AM为功能单体, 合成了一系列RhB分子印迹聚合物(RhB-MIP)。研究表明, 如图1所示, 以2-Vp为功能单体的混合溶液体系中, 经聚合处理后, 并不能得到很好地聚合并使反应体系变色, 这可能是因为2-VP不适用于以RhB为模板分子的印迹体系。而以MAA、MMA、AM为功能单体的体系均能很好聚合, 得到聚合物即MAA-MIP、MMA-MIP、AM-MIP。根据吸附量对比分析, 采用本体聚合法进行聚合时, MAA-MIP的选择结合性能明显好于MMA-MIP和AM-MIP。因此, 确定MAA为适宜的功能单体。

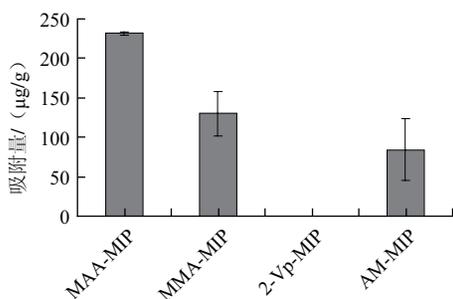


图1 MAA-MIP、MMA-MIP、2-Vp-MIP、AM-MIP的吸附量

Fig.1 Adsorption capacities of MAA-MIP, MMA-MIP, 2-Vp-MIP and AM-MIP

2.1.2 致孔剂用量的选择

聚合物制备过程中, 致孔剂的用量对印迹材料的得率、均匀度和吸附结合性能均有较大影响。按照1.3.1节的实验方法, 改变致孔剂的用量分别为5、15、25、35 mL, 合成了一系列印迹材料, 结果如表1所示。5 mL体系的聚合物得率虽然较高, 但所得聚合物的选择结合性能相对较低, 这可能是由于聚合物聚合度过高导致大量特异识别位点被包埋, 使得目标分子不能接近。35 mL的体系中聚合物得率最低, 且得到的聚合物松散, 均匀度较差, MIP与NIP表现形态差异较大, 这可能是由于致孔剂用量过高, 使得体系浓度降低, 聚合度过低所致。15 mL和25 mL体系中, 聚合物得率相近, 经对比分析, 15 mL体系中, 聚合物的选择结合性能相对较高。因此, 确定15 mL为致孔剂的最佳用量。

表1 致孔剂用量对聚合物性能的影响

Table 1 Effect of porogen amount on the adsorption properties of MIP

致孔剂用量/mL	吸附量/($\mu\text{g/g}$)	聚合物产率/(g/mL)
5	178.47 ± 1.67	0.86
15	232.24 ± 1.91	0.30
25	221.46 ± 0.83	0.23
35	210.54 ± 2.08	0.11

注: 吸附量数据为平均值 \pm 标准差。

2.1.3 聚合物的合成过程

以RhB为模板分子, MAA为功能单体, TRIM为交联剂, 采用本体聚合法, 以热引发方式制备了对RhB具有

特定识别能力的印迹聚合物。RhB与MAA之间存在着氢键作用, 经过预聚合作用后, RhB与MAA之间凭借这种价键力形成不稳定的共聚物, 在反应体系中加入一定量的交联剂与引发剂后, 引发聚合反应, 生成聚合度较高的高聚物, 从而对RhB与MAA之间不稳定的价键作用起到固定作用。通过进一步的洗脱处理, 打破RhB与MAA之间的价键作用, 使得模板分子RhB从聚合物中被洗脱掉。洗脱处理后的聚合物形成了对模板分子RhB具有专一吸附性的立体空穴, 对RhB分子产生强吸附作用, 从而可以将其应用于对模板分子的再次吸附。印迹聚合物的合成过程见图2。

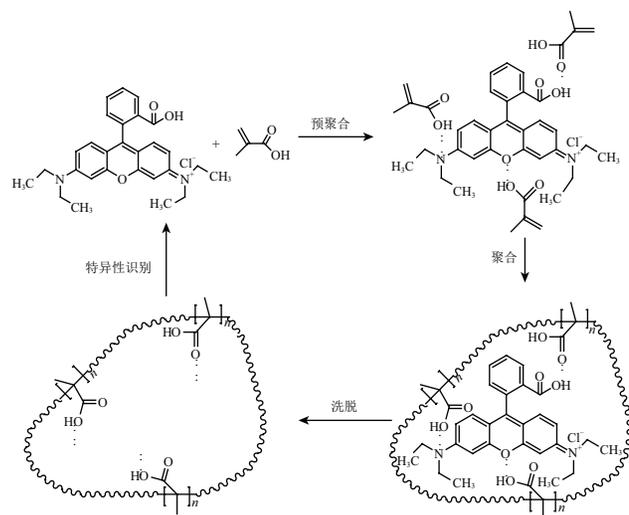


图2 罗丹明B分子印迹聚合物合成过程示意图

Fig.2 Schematic representation of the preparation of RhB-MIP

2.2 分子印迹聚合物的表征分析

2.2.1 电子显微镜微观结构

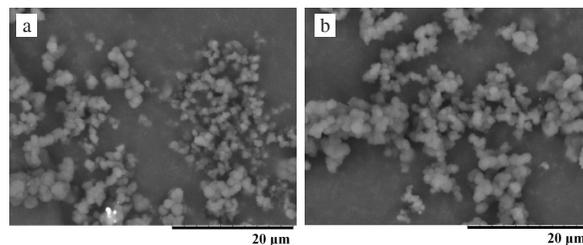


图3 MIP (a) 和NIP (b) 的扫描电镜图 ($\times 4000$)

Fig.3 Scan electron micrography of MIP (a) and NIP (b) ($\times 4000$)

用扫描电镜对聚合物的表现形态和微观结构进行4000倍率的显微观察, 由图3可以看出, 经研磨后的MIP与NIP, 颗粒较小, 且粒径比较均匀。这可能是由于聚合物在合成过程中, 聚合体系内存在相互作用, 使得该体系中各组分分布更加有序, 从而使获得的聚合物更加均匀。也证明了聚合物经研磨过筛后, 能够得到粒径均匀的聚合物, 满足进一步应用的需求。聚合物对模板

分子吸附速度的大小主要受聚合物颗粒粒径和均匀度的影响,这将有助于印迹聚合物对模板的吸附,降低聚合物深层空穴对目标分子的位阻。

2.2.2 红外光谱分析

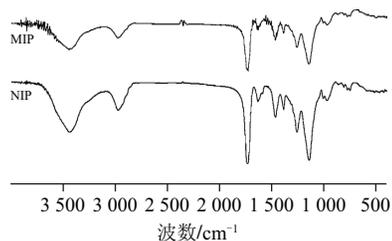


图4 MIP和NIP的红外谱图
Fig.4 IR spectra of MIP and NIP

由图4可见, MIP和NIP的峰形基本一致。在MIP和NIP的红外光谱中, 3435 cm^{-1} 为O—H的伸缩振动峰; 2973 cm^{-1} 处存在—CH₂或—CH₃的伸缩振动吸收峰; 1736 cm^{-1} 处有羰基的伸缩振动峰; 1683 cm^{-1} 处存在C=C振动吸收峰; 以及1147 cm^{-1} 处有C—O—C的对称伸缩振动吸收峰。

2.3 聚合物的识别结合特性

2.3.1 吸附等温结合曲线

为了进一步研究分子印迹聚合物对RhB的结合性,测定了MIP和NIP的吸附量对不同质量浓度RhB-乙腈溶液的吸附等温线,结果如图5所示。当RhB-乙腈溶液的质量浓度在6~10 $\mu\text{g/mL}$ 范围内变化时, MIP的吸附量增加幅度较大,而当质量浓度在大于10 $\mu\text{g/mL}$ 时,吸附量增加幅度较小,趋于饱和。而NIP随着RhB-乙腈溶液的质量浓度逐渐增加,吸附量几乎没有变化并远低于MIP。MIP的饱和吸附量为370.49 $\mu\text{g/g}$ 。

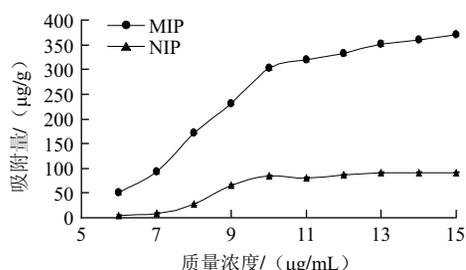
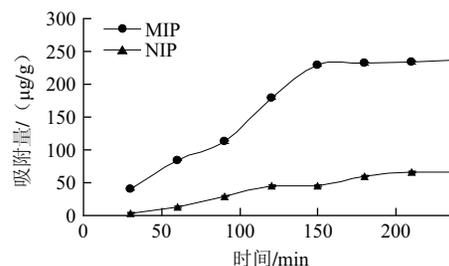


图5 MIP和NIP的吸附等温线
Fig.5 Adsorption isotherm curves of MIP and NIP

2.3.2 吸附动态结合曲线

由图6可以看到, MIP的吸附量随着吸附时间的延长迅速增加,在大于150 min时,吸附曲线趋于平缓,达到吸附平衡。而NIP在吸附过程中,随着吸附时间的延长,吸附量较低且几乎保持不变。吸附动力学研究表明,分子印迹聚合物对目标分子的捕捉过程可以在150 min内完成,平衡吸附时间较短,这可能是由于该

条件下制备的聚合物聚合度适当,且过筛后能够得到粒径均匀的聚合物,从而缩短了吸附平衡时间,这为将其应用于食品中RhB检测以及其他领域的分离和富集提供科学依据和参考。



$m_{\text{MIP}}=m_{\text{NIP}}=50 \text{ mg}$, $V=4 \text{ mL}$, $c=9 \mu\text{g/mL}$, $T=20 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

图6 MIP和NIP的吸附动态结合曲线

Fig.6 Dynamic adsorption curves of MIP and NIP

2.3.3 吸附选择性

选取与RhB结构类似的化合物作为底物进行吸附选择性研究,结果见图7。同其他结构类似物相比, RhB分子印迹聚合物对RhB表现出了很高的选择性。

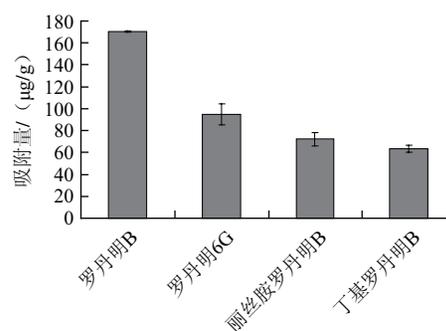


图7 MIP的吸附选择性

Fig.7 Adsorption selectivity of MIP

2.4 脱附再生性研究

按照1.3.6节方法,经过5次循环实验, MIP对模板分子的吸附量分别为(231.69 ± 2.28)、(233.21 ± 2.63)、(232.52 ± 2.13)、(230.45 ± 2.28)、(230.59 ± 2.87) $\mu\text{g/g}$,吸附量没有明显下降,说明该方法制备的聚合物具有良好地脱附再生性能。这为RhB在实际样品中的残留处理提供了很大的可能性。

3 结论

以罗丹明B为模板分子,采用本体聚合的方式制备了具有印迹效应的聚合物,所得聚合物具有良好的稳定性。关于罗丹明B分子印迹聚合物虽已有报道^[26],但本实验通过对单体和致孔剂用量的优化,使获得的聚合物在相对较低质量浓度罗丹明B溶液中,仍能具有

较好的吸附性,并对聚合物的再生性进行了初步的研究,这为将该聚合物应用于痕量分析提供了一定的参考依据。选取MAA、MMA、2-Vp、AM为不同功能单体制备了一系列聚合物,确定MAA为最佳功能单体。利用扫描电镜和红外分析仪进行表征分析,表明印迹聚合物和非印迹聚合物的微观结构。等温吸附结合实验和选择性实验表明,印迹聚合物具有较好的吸附结合性和特异选择识别性。在质量浓度为15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,达到平衡,饱和吸附量370.49 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。吸附动力学实验表明,吸附时间在大于150 min时,吸附达到平衡。脱附再生性实验表明该聚合物具有一定的再生性,这对分子印迹聚合物的进一步的应用具有重要的参考意义。

参考文献:

- [1] SOYLAK M, UNSAL Y E, YILMAZ E, et al. Determination of rhodamine B in soft drink, waste water and lipstick samples after solid phase extraction[J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49(8): 1796-1799.
- [2] POURREZA N, RASTEGARZAEDH S, LARKI A. Micelle-mediated cloud point extraction and spectrophotometric determination of rhodamine B using Triton X-100[J]. Talanta, 2008, 77(1/2): 733-736.
- [3] 胡侠,肖光,潘炜,等.高效液相色谱-串联质谱法同时测定辣椒粉及辣椒油中的7种罗丹明染料[J]. 色谱, 2010, 28(6): 590-595.
- [4] 程慧,李兵,占春瑞. 腊肠中罗丹明B的高效液相色谱串联质谱检测方法[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 223-225.
- [5] 王勇,武娜. 高效液相色谱-紫外光检测法测定食品中罗丹明B的含量[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(15): 8723-8725.
- [6] 汤建春,龙朝阳,许秀敏,等. 高效液相色谱荧光检测法测定辣椒油、辣椒粉、火锅底料中的罗丹明B染料[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(12): 2843-2844.
- [7] 尹峰,丁召伟,杨志坚. 固相萃取-高效液相色谱-串联质谱法检测香料中罗丹明B[J]. 色谱, 2012, 30(7): 672-676.
- [8] 李小燕,李梅,陈其峰,等. 固相萃取-高效液相色谱检测葡萄酒中罗丹明B[J]. 食品科学, 2011, 32(8): 238-243.
- [9] 刘耀池,项伟中,徐伟箭. 分子印迹技术在固相萃取中的应用与展望[J]. 化工学报, 2004, 55(10): 1602-1607.
- [10] 王车礼,赵兴丽,方磊,等. 对羟基苯甲酸分子印迹聚合物合成功能单体选择与分子识别性能[J]. 化工学报, 2011, 62(7): 1938-1943.
- [11] LUO Xubiao, ZHAN Youcai, HUANG Yining, et al. Removal of water-soluble acid dyes from water environment using a novel magnetic molecularly imprinted polymer[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 187(1/3): 274-282.
- [12] 张朝晖,张华斌,罗丽娟,等. 多壁碳纳米管表面过氧化苯甲酰印迹复合材料的制备及固相萃取应用[J]. 化学学报, 2009, 67(24): 2833-2839.
- [13] 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.
- [14] 段玉清,王艳红,张海晖,等. 白藜芦醇纳米二氧化硅表面分子印迹聚合物的制备及吸附特性[J]. 食品科学, 2012, 33(9): 6-10.
- [15] 尹晓斐. 分子印迹聚合物的制备及固相萃取性能研究[D]. 青岛: 国家海洋局第一海洋研究所, 2008.
- [16] 李文超,王永花,孙成,等. 分子印迹技术与固相微萃取技术联用的研究进展[J]. 环境化学, 2011, 30(9): 1663-1670.
- [17] GUO Zhiyong, GAI Panan, HAO Tingting, et al. Determination of malachite green residues in fish using a highly sensitive electrochemiluminescence method combined with molecularly imprinted solid phase extraction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59(10): 5257-5262.
- [18] 刘婷婷. 分子印迹聚合物电化学传感器的制备及其在药物分析中的应用[D]. 合肥: 安徽师范大学, 2011.
- [19] 程红波. 基于分子印迹-碳纳米管的双酚A电化学传感器的制备[D]. 大连: 大连理工大学, 2010.
- [20] 黄晓冬,邹汉法,毛希琴,等. 分子印迹手性整体柱的制备及对非对映异构体的分离[J]. 色谱, 2002, 20(5): 436-438.
- [21] 郭建峰,高保娇,张正国. 新型表面印迹材料MIP-P4VP/SiO₂对谷氨酸对映体的手性拆分[J]. 化工学报, 2011, 62(11): 3207-3214.
- [22] 董襄朝,孙慧,吕宪禹,等. 邻羟基苯甲酸分子印迹聚合物对于异构体的识别及色谱行为研究[J]. 化学学报, 2002, 60(11): 2035-2042.
- [23] 张挪威,丁明星,刘国艳,等. 琥珀酸氯霉素分子印迹聚合膜的制备及其吸附特性研究[J]. 化学学报, 2008, 66(17): 1961-1966.
- [24] 邱增英,钟世安. 烟酸分子印迹复合膜的制备及其分离性能研究[J]. 化学学报, 2010, 68(3): 246-250.
- [25] 董佳,高晓磊,李亮晨,等. 对氯苯酚分子印迹复合膜的制备及其表征[J]. 上海师范大学学报, 2011, 40(6): 615-618.
- [26] 王邃,王永珍,龚国权,等. 罗丹明B分子印迹聚合物的分子识别与结合特性的研究[J]. 兰州大学学报, 2003, 39(2): 57-60.