

# 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯磁性分子印迹聚合物的制备及吸附特性研究

徐小艳<sup>1</sup>, 徐莉<sup>2</sup>, 黄孟菱<sup>1</sup>, 林咏诗<sup>1</sup>, 雷千蕴<sup>1</sup>

(1. 华南农业大学食品质量与安全研究所, 广东省食品质量安全重点实验室, 广东广州 510642)

(2. 华南农业大学理学院, 广东广州 510642)

**摘要:** 本文报道了以 3-(异丁烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷(MPS)修饰的  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$  纳米颗粒为磁性载体, 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)为模板分子, 甲基丙烯酸(MAA)为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂, 制备了对 DEHP 有特异识别性的新型磁性分子印迹聚合物(M-MIPs)。透射电镜(TEM)图表明该聚合物具有核壳结构, 磁强计(VSM)测量表明该聚合物具有超顺磁性, 这些特征使之在外磁场下可实现快速分离。静态平衡吸附实验和 Scatchard 分析结果表明, 该聚合物存在两类不同的结合位点, 平衡解离常数分别为 0.26 mmol/L 和 0.071 mmol/L, 最大表观结合量分别为 28.23 mg/g 和 13.09 mg/g。选择性结合实验表明, 与结构类似物相比, M-MIPs 对模板分子具有优越的识别能力和选择性。该方法制备的聚合物可进一步用于食品中 DEHP 的分离和富集。

**关键词:** 磁性分子印迹聚合物; 邻苯二甲酸酯; 吸附; 分离富集

文章编号: 1673-9078(2015)3-133-137

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.3.023

## Preparation and Adsorption Characteristic of Magnetic Molecular

## Imprinted Polymers for Di(2-ethylhexyl) Phthalate

XU Xiao-yan<sup>1</sup>, XU Li<sup>2</sup>, HUANG Meng-ling<sup>1</sup>, LIN Yong-shi<sup>1</sup>, LEI Qian-yun<sup>1</sup>

(1. Institute of Food Quality and Safety, South China Agricultural University, Key Laboratory of Food Quality and Safety of Guangdong Province, Guangzhou 510642, China) (2. College of Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Novel magnetic molecularly imprinted polymers (M-MIPs) with specific recognition were prepared using  $\text{Fe}_3\text{O}_4@SiO_2$  modified by 3-(trimethoxysilyl)propylmethacrylate (MPS) as magnetic carrier, di(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP) template molecule, methacrylic acid (MAA) as functional monomer, and ethylene glycol dimethyl acrylate (EGDMA) as cross-linker. TEM graph reveals the M-MIPs owned a core-shell structure. VSM measurement manifests the M-MIPs were superparamagnetic, this feature provided the M-MIPs with easy separation in an external magnetic field. The static equilibrium adsorption experiment and the Scatchard analysis showed that there were two kinds of binding sites between the imprinted polymers and template molecule. The dissociation constants were 0.26 mmol/L and 0.071 mmol/L, and the corresponding apparent maximum number were 28.23 mg/g and 13.09 mg/g. selective experiment showed the M-MIPs exhibited excellent recognition and selection properties toward template molecule, compared with its analogues. The as-prepared M-MIPs could be further employed for the separation and enrichment of DEHP from food.

**Key words:** magnetic molecularly imprinted polymers; phthalates; adsorption; separation and enrichment

分子印迹是一种制备具有特定选择性和亲和能力的分子识别材料的新兴技术<sup>[1]</sup>, 所制备的分子印迹聚合物(Molecular imprinted polymers, MIPs)具有构效

收稿日期: 2014-07-27

基金项目: 广东省教育厅科技创新项目(2013KJCX0033); 广东省大学生创新创业训练项目(1056413087)

作者简介: 徐小艳(1977-), 女, 博士, 高级实验师, 研究方向: 食品质量安全检测

预定性、特异识别性、长期稳定性和实施简便性的特点, 在分离科学、环境监测、传感器技术等领域有广阔的应用前景<sup>[2~8]</sup>。但是分子印迹聚合物自身的不足也在一定程度限制了其实际应用<sup>[9]</sup>, 在识别吸附过程完成后, 分离传统 MIPs 和基质溶液需要离心或过滤等繁琐的步骤。磁性纳米粒子具有独特的磁性能和高的比表面积, 将磁性分离技术与分子印迹技术相结合制备磁性分子印迹聚合物, 兼备二者的共同优点, 便可

在外加磁场作用下,直接选择性分离富集分析物,无需额外的离心和过滤。磁纳米技术与分子印迹技术的结合,使MIPs的应用领域得到进一步拓展,是未来分子印迹聚合物发展的重要方向。

邻苯二甲酸酯(Phthalic acid esters, PAEs)因能增大产品的可塑性和柔韧性,作为增塑剂广泛地应用于食品包装材料、玩具及各种日用品中。PAEs能通过多种途径迁移至食品中,进而危害人体健康,主要表现在致癌、致畸性以及免疫抑制性,尤以人体生殖功能异常最为引人注目<sup>[10]</sup>。美国、日本以及欧洲许多国家都将PAEs列为优先控制的有毒污染物<sup>[11]</sup>。尽管PAEs广泛存在,但由于基体复杂,其含量通常较低,因此,检测时样品的分离技术非常关键。我国使用最广,产量最多的邻苯二甲酸酯增塑剂为邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)。本论文以DEHP为模板分子,3-(异丁烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷修饰的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 为磁性载体制备磁性分子印迹聚合物,在外磁场下可快速分离富集模板分子。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 柠檬酸, 油酸(分析纯), 均购于天津市大茂化学试剂厂; PEG200(分析纯, 广东省化学试剂工程技术研究中心); 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)、邻苯二甲酸二乙酯(DOP)和邻苯二甲酸二异壬酯(DINP); 甲基丙烯酸(MAA)(分析纯, 上海晶纯试剂有限公司); 乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)(上海阿拉丁试剂有限公司); 偶氮二异丁腈(AIBN)(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂); 正硅酸乙酯(TEOS)(西陇化工股份有限公司); 3-(异丁烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷(MPS)(上海晶纯试剂有限公司); 其余试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

U-3010型紫外可见分光光度计, 日本日立公司; HGC-36A型氮吹仪, 天津恒奥技术发展有限公司; DF-101S型集热式恒温加热磁力搅拌器, 郑州长城科工贸有限公司; DZF-6050型真空干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; SB-4200DTD型超声波清洗机, 宁波新芝生物科技股份有限公司; HG-45恒温摇床, 中国科学院武汉仪器厂; Tecnai G20型透射电子显微镜, 美国FEI公司; VSM HH-15型振动样品磁强计, 南京大学仪器厂。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 的制备及表面修饰

$\text{Fe}_3\text{O}_4$ 磁纳米粒子的制备采用共沉淀法并稍作修改<sup>[12]</sup>,即在反应中添加2 mL PEG200作为分散剂,以获得单分散、稳定的磁纳米粒子。 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 的制备参照文献报道的方法并稍作修改<sup>[13]</sup>。即称取0.3 g  $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 分散于40 mL乙醇和4 mL超纯水中,超声15 min。再加入5 mL氨水和2 mL TEOS,置于恒温磁力搅拌器中。在室温、密封条件下搅拌反应12 h。反应结束后,用磁铁分离去除上清液。超纯水洗涤,60 °C烘箱干燥,得 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 粉末。

称取0.3 g  $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 粉末分散于50 mL无水乙醇中,超声15 min。加入0.5 mL MPS并置于恒温磁力搅拌器中。在75 °C、密封条件下搅拌反应3 h。反应结束后,用磁铁分离去除上清液,用无水乙醇洗涤3次,于60 °C真空干燥,得到MPS修饰的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 粉末。

#### 1.3.2 磁性分子印迹聚合物(M-MIPs)的制备

取1 mmol(0.225 mL)邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)溶于50 mL乙腈中,加入0.34 mL(4 mmol)MAA,超声30 min。再分别依次加入1.89 mL(10 mmol)EGDMA,1 g修饰后的 $\text{Fe}_3\text{O}_4@/\text{SiO}_2$ 粉末和0.1 g AIBN至体系,通入氮气30 min以除去氧气,于65 °C恒温震荡聚合反应24 h。

聚合反应结束后冷却至室温,用磁铁分离去除上清液。加入20 mL 9/1(V/V)的甲醇-乙酸溶液洗脱模板,重复洗脱2次,60 °C真空干燥,得到M-MIPs。除不加入模板分子DEHP外,其余条件保持一致进行操作,制备磁性非印迹聚合物(M-NIPs)。

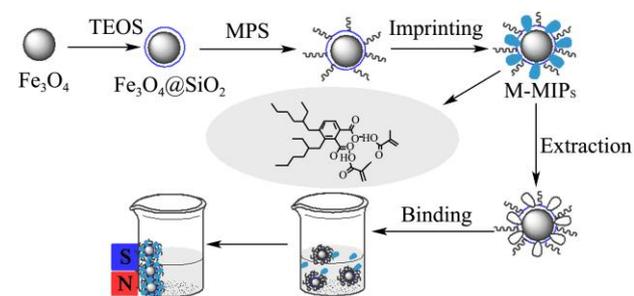


图1 DEHP磁性分子印迹聚合物的制备及应用

Fig.1 Synthesis route and application of DEHP M-MIPs

#### 1.3.3 静态吸附性能

称取10份M-MIPs和M-NIPs各0.2 g加入10 mL锥形瓶中,分别加入2 mL浓度为0.3~3.0 mmol/L的DEHP-乙腈标准溶液。在恒温震荡仪中室温震荡12 h

后,用磁铁分离,取用上清液稀释 10 倍,用紫外可见分光光度计测定其吸光度。M-NIPs 使用同样的方法测定。

用紫外分光光度法测定平衡时 DEHP 的浓度,根据吸附前后的浓度变化,计算 M-MIPs 对不同浓度 DEHP 溶液的吸附量  $Q$ 。

$$Q = (C_0 - C_e)V/m \quad (1)$$

其中  $Q$  为静态平衡时的吸附量 ( $\mu\text{mol/L}$ ),  $C_0$  为底物的初始浓度 ( $\text{mmol/L}$ ),  $C_e$  为吸附平衡时清液的浓度 ( $\text{mmol/L}$ ),  $V$  为底物溶液体积 ( $\text{L}$ ),  $m$  为磁性印迹材料的加入量 ( $\text{g}$ )。

M-NIPs 使用上述方法测定结合量并与 M-MIPs 相比较。

### 1.3.4 选择性吸附实验

称取 0.2 g M-MIPs 和 M-NIPs 各 3 份,分别加入 2 mL 浓度为 3.0 mmol/L 的 DEHP、DEP 和 DINP 乙腈标准溶液,室温震荡 12 h。震荡结束后,用磁铁分离,取上清液稀释 10 倍,用紫外可见分光光度计测定其吸光度。根据吸附前后溶液中底物浓度的变化,由公式 (1) 计算 M-MIPs 和 M-NIPs 对不同底物的吸附量 ( $Q$ )。

### 1.3.5 数据分析

采用 Origin8.0 软件进行数据统计及分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 分散剂的选择

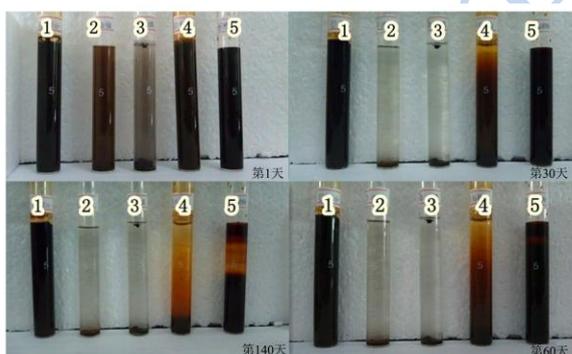


图 2 分散剂的选择

Fig.2 Selection of dispersant

注: 1 号: PEG200; 2 号: 油酸; 3 号: 月桂酸; 4 号: 白蛋白; 5 号: 柠檬酸。

单纯的磁性纳米粒子容易团聚,因而在制备过程中添加分散剂以增加其稳定性。分别选取适量的 PEG200、油酸、月桂酸、白蛋白和柠檬酸作为分散剂添加于体系中,于常温下静置 1 天,30 天,60 天,140 天后,观察体系的稳定性。如图 3 所示,经过 1 天后,月桂酸组出现溶液分层现象;30 天后,油酸组和白蛋

白组出现溶液分层现象;60 天后,柠檬酸组也出现溶液分层现象;直至第 140 天,PEG200 组均表现出良好的稳定性,始终未出现溶液分层现象。因此,PEG200 较适合作为本体系的分散剂。

### 2.2 M-MIPs 的形貌结构分析

采用透射电镜观察制备的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁纳米粒子和磁性分子印迹聚合物的形貌和大小。由图 3 可以看出,采用共沉淀法制备的  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁性颗粒呈现球形结构,且粒径较为均匀,大小约为 10~20 nm。而经过改性和聚合作用后,  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球表面出现一层薄膜状,直径变大且变得粘连,呈现核壳型结构,说明磁性载体表面成功地包覆了分子印迹聚合物薄层。

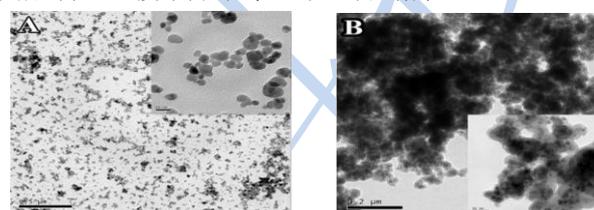


图 3  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球 (A) 和 M-MIPs (B) 的 TEM 图

Fig.3 TEM images of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (A) and M-MIPs (B)

### 2.3 M-MIPs 的磁性评价

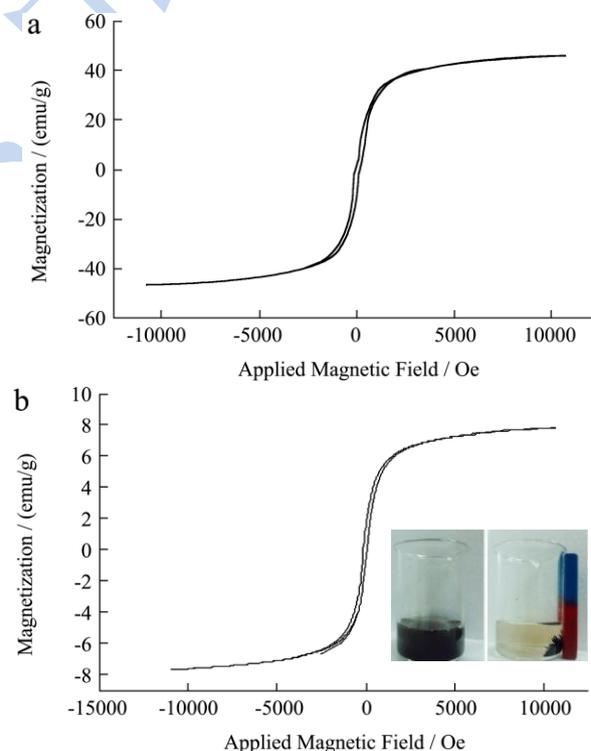


图 4  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  微球 (a) 和 M-MIPs (b) 的磁滞回曲线

Fig.4 The hysteresis loop of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (a) and M-MIPs (b)

采用振动样品磁强计研究  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  磁纳米粒子和磁性分子印迹聚合物在常温下的磁滞回线。从图 4 可以看出,二者的磁滞回线具有相似的形状,其矫顽力和

剩余磁化强度均趋近于零,表明二者均具有超顺磁性。 $Fe_3O_4$  和 M-MIPs 的饱和磁化强度 ( $M_s$ ) 分别为 46.11 emu/g 和 7.72 emu/g,可能是由于  $Fe_3O_4$  外层包覆二氧化硅和分子印迹聚合物所致。图 4b 中的插图表明,不存在外界磁场时, M-MIPs 颗粒均匀地存在于分散液中;在外磁场的作用下,分散液立刻澄清。说明 M-MIPs 可以通过外加磁场在短时间内快速地分离悬浮液。

### 2.4 吸附等温线

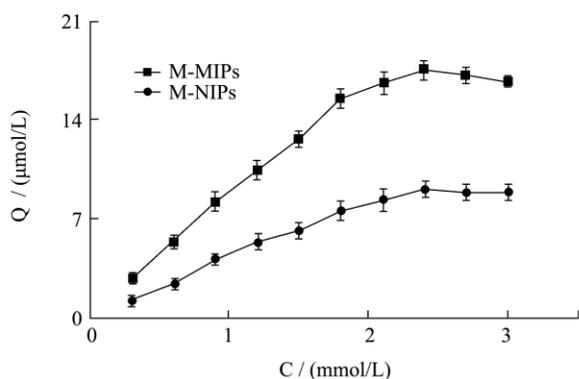


图 5 M-MIPs 和 M-NIPs 对 DEHP 的吸附等温线

Fig.5 Absorption isotherms of the binding of DEHP onto M-MIPs and M-NIPs

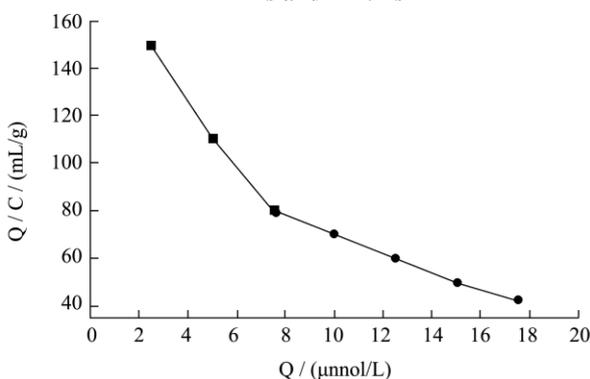


图 6 M-MIPs 的 Scatchard 曲线

Fig.6 Scatchard plot of M-MIPs

采用静态平衡法,测定 M-MIPs 和 M-NIPs 对不同浓度 DEHP 标准溶液的吸附量,绘制吸附等温线。如图 5 所示,在 0.3~3.0 mmol/L 浓度范围内,随着 DEHP 的浓度增加, M-MIPs 和 M-NIPs 的吸附量都逐渐增加。然而,在相同浓度下, M-MIPs 对 DEHP 的吸附量远远高于 M-NIPs 对 DEHP 的吸附量。说明印迹过程中,在 M-MIPs 内形成了对模板分子具有特异性识别性能的印迹位点,而 M-NIP 只是基于简单的非特异性吸附。

采用 Scatchard 模型评价 M-MIPs 的结合特性, Scatchard 方程为  $Q/C=(Q_{max}-Q)/K_d$ , 其中 Q 为平衡吸附量, C 为平衡浓度,  $Q_{max}$  为最大表观结合量,  $K_d$

为印迹聚合物结合位点的平衡解离常数。以 Q/C 对 Q 作图得到 Scatchard 曲线(图 6)。由图可知,在 DEHP 浓度范围 0.3~3.0 mmol/L 内, Q/C 对 Q 呈非线性关系,说明印迹聚合物对模板分子的吸附是各向异性的。对图中两段呈现线性关系的部分进行拟合,直线方程分别为  $Q/C=183.33-14Q$  ( $R^2=0.986$ ),  $Q/C=108.40-3.84Q$  ( $R^2=0.998$ )。表明印迹聚合物对模板分子的吸附存在两类不同的结合位点,高结合位点的解离常数  $K_{d1}=0.26$  mmol/L,  $Q_{max1}=28.23$  mg/g; 低结合位点的解离常数  $K_{d2}=0.071$  mmol/L,  $Q_{max2}=13.09$  mg/g。

### 2.5 选择性吸附

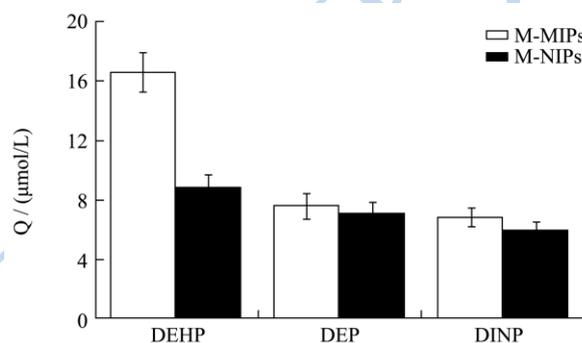


图 7 M-MIPs 对 DEHP 的选择性吸附

Fig.7 The selective absorption chart of the M-MIPs for DEHP

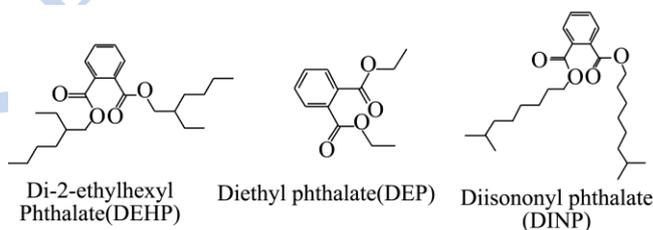


图 8 DEHP、DEP 和 DINP 的分子结构式

Fig.8 Molecular structures of DEHP, DEP and DINP

采用 DEHP 的结构类似物 DEP 和 DINP 作为竞争底物(结构式见图 8)评价 M-MIPs 的吸附选择性。由图 7 可以看出, M-MIPs 对 DEHP 的吸附能力明显高于其竞争底物,而 M-NIPs 对 DEHP 和其竞争底物的吸附量均较低且相差不大。说明 M-MIPs 对 DEHP 产生高度的选择性和识别能力,这是因为在 M-MIPs 中既存在与模板分子结合的功能基团,又存在与 DEHP 的立体结构相吻合的印迹空穴。而在 M-NIPs 中未形成选择性的识别位点,只能依靠非特异性的结合作用吸附底物分子,所以对不同底物的吸附能力几乎没有区别。DEP 和 DINP 与 DEHP 相比,虽然功能基团相同,但分子空间大小不一致,因而 M-MIPs 对 DEP 和 DINP 的选择性很低。这些结果证明,只有当底物分子的体积和功能基团的位置完全与 M-MIPs 中固定排

列的功能基团的立体空穴互补时, M-MIPs 才对底物表现出高度的选择性<sup>[14]</sup>。

### 3 结论

3.1 本试验以 3-(异丁烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷(MPS)修饰的  $\text{Fe}_3\text{O}_4@ \text{SiO}_2$  为磁性载体, 邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)为模板分子, 甲基丙烯酸(MAA)为功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)为交联剂, 制备具有核壳结构的超顺磁性分子印迹聚合物。

3.2 对磁性分子印迹聚合物进行平衡吸附和选择性实验, 发现聚合物对模板分子 DEHP 具有较高的吸附量和选择性, 说明了聚合物中特异性识别位点的存在, 对模板分子具有选择的专一性。

3.3 期望通过该方法制备的磁性分子印迹聚合物应用于固相萃取, 最终用于食品中含 DEHP 样品的分离、富集分析。本文构建的磁性分子印迹聚合物的制备方法还可为食品中其它邻苯二甲酸酯及有机污染物的分离富集提供参考。

### 参考文献

- [1] 袁士芳, 王硕, 邓启良, 等. 牛血清蛋白分子印迹聚合物的制备及分子识别性能[J]. 现代食品科技, 2013, 29(1): 134-137  
YUAN Shi-fang, WANG Shuo, DENG Qi-liang, et al. Fabrication of bovine serum albumin in imprinted polymer on silica surface and its molecular recognition function [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(1): 134-137
- [2] Yang J, Hu Y, Cai J B, et al. A new molecularly imprinted polymer for selective extraction of cotinine from urine samples by solid-phase extraction [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 384(3): 761-768
- [3] Ulbricht M. Membrane separations using molecularly imprinted polymers [J]. Journal of Chromatography B, 2004, 804(1): 113-125
- [4] Subramanian V, Chinnakkaruppanan R, Susana R, et al. Molecular imprinted nanoelectrodes for ultra sensitive detection of ovarian cancer marker [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2012, 33: 179-183
- [5] Wua Y T, Zhang Y H, Zhang M, et al. Selective and simultaneous determinatin of trace bisphenol A and tebuconazole in vegetable and juice samples by membrane-based molecularly imprinted solid-phase extraction and HPLC [J]. Food Chemistry, 2014, 164: 527-535
- [6] Akimitsu K, Toshifumi T. Surface plasmon resonance sensor using molecularly imprinted polymer for detection of sialic acid [J]. Biosensors & Bioelectronics, 2001, 16: 1059-1062
- [7] Taher A. Comparison of different methodologies for integration of molecularly imprinted polymer and electrochemical transducer in order to develop a paraoxon voltammetric sensor [J]. Thin Solid Films, 2010, 518, 6099-6106
- [8] Xu X Y, Tian X G, Cai L G, et al. Molecularly imprinted polymers based surface plasmon resonance sensor for Sudan dyes detection [J]. Analytical methods, 2014, 6: 3751-3757
- [9] Changa L, Chena S, Li X. Synthesis and properties of core-shell magnetic molecular imprinted polymers [J]. Applied Surface Science, 2012, 258: 6660-6664
- [10] Naarala J, Korpi A. Cell death and production of reactive oxygen species by murine macrophages after short term exposure to phthalates [J]. Toxicology Letters, 2009, 188(1): 157-160
- [11] 刘洋, 马保华, 王兆梅, 等. 食品塑料包装中邻苯二甲酸酯类增塑剂的调查分析[J]. 现代食品科技, 2013, 29(1): 181-184  
LIU Yang, MAO Bao-hua, WANG Zhao-mei, et al. Investigation of phthalates contamination in the market-sold plastic food packages [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(1): 181-184
- [12] Deng Y H, Wang C C, Hu J H, et al. Investigation of formation of silica-coated magnetite nanoparticles via sol-gel approach [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2005, 262 (1-3): 87-93
- [13] Deng Y H, Yang W L, Wang C C, et al. A novel approach for preparation of thermoresponsive polymer magnetic microspheres with core-shell structure [J]. Advanced Materials, 2003, 15(20): 1729-1732
- [14] Kang Y F, Duan W P, Li Y, et al. Molecularly imprinted polymers of allyl-cyclodextrin and methacrylic acid for the solid-phase extraction of phthalate [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88: 64, 459-464