

分子印迹技术在分析检测领域的应用

陈孝建¹, 王 静³, 余永新^{3*}, 叶 青², 曹维强^{2*}

(1. 广东工业大学轻工化工学院, 广州 510006; 2. 惠州出入境检验检疫局, 惠州 516006;
3. 中国农业科学院农产品质量与食品安全重点实验室, 北京 100081)

摘 要: 分子印迹, 属于超分子化学研究的范畴, 是指以目标分子为模板, 制备对该分子有特异选择性识别的聚合物的过程。分子印迹聚合物以其结构预定性、特异识别性和实用性的特点, 引起了全世界范围的关注。因其具有与天然抗体同样的识别性能和与高分子同样的抗腐蚀性能的双重优点, 因而广泛应用于生物工程、临床医学、环境监测、食品工业等众多领域。本文综述了分子印迹技术的发展历程, 分子印迹聚合物的制备原理及方法以及在固相萃取、色谱分离、膜分离以及传感器领域的应用。色谱分离领域中对分子印迹在高效液相色谱、薄层色谱和毛细管电泳, 以及传感器领域中分别对分子印迹光学传感器和电化学传感器的应用现状进行了阐述, 最后对该技术进行了展望。

关键词: 分子印迹; 固相萃取; 色谱固定相; 膜分离; 传感器

The application of molecular imprinting technique in analysis and test

CHEN Xiao-Jian¹, WANG Jing³, SHE Yong-Xin^{3*}, YE Qing², CAO Wei-Qiang^{2*}

(1. Guangdong University of Technology, Faculty of Chemical Engineering and Light Industry, Guangzhou 510006, China;
2. Huizhou Entry-Exit Inspection and Quarantine, Huizhou 516006, China; 3. Key Laboratory of Agro-product Quality and Safety of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

ABSTRACT: Molecular imprinting, which belonged to the category of supra molecular chemistry, was the process of preparation of polymer molecule with high specific and selective recognition, which based target molecule as template. Because of the structural predetermination, specific recognition and practical features, molecularly imprinted polymers attracted worldwide attention. Molecular imprinted polymers exhibited both advantages of highly stereo- and enantio-selective recognition and strong resistance against corrosion. Therefore, MIPs were used extensively in biotechnology, clinical medicine, environmental monitoring, food industries and so on. The development course of molecular imprinting technique, preparation principles and methods and application in the field of solid-phase extraction, chromatographic separation, membrane separation and sensor were reviewed in this paper. And the application of molecular imprinting in high liquid chromatography, thin layer chromatography, capillary electrophoresis and sensor were also discussed. Finally, this technology in analysis and test was prospected.

基金项目: 广东出入境检验检疫局科技计划项目(2012GDK41)

Fund: Supported by Science Projects of Guangdong Entry-Exit Inspection and Quarantine (2012GDK41)

*通讯作者: 曹维强, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: caowq@hz.gdciq.gov.cn

余永新, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 0891syx@163.com

*Corresponding author: CAO Wei-Qiang, Senior Engineer, Huizhou Entry-Exit Inspection and Quarantine, No.277, Zhongkai Road, Huizhou 516006, China. E-mail: caowq@hz.gdciq.gov.cn

SHE Yong-Xin, Researcher, Key Laboratory of Agro-product Quality and Safety of Chinese Academy of Agricultural Sciences, No.12, Zhongguancun Nan Street, Haidian District, Beijing 100081, China. E-mail: 0891syx@163.com

KEY WORDS: molecular imprinting; solid-phase extraction; chromatographic stationary phases; membrane separation; sensor

1 引言

分子印迹技术(molecular imprinting technique, MIT)也叫分子模板技术,属于超分子化学的范畴,在以一特定目标分子(印迹分子、烙印分子)为模板和交联剂条件下,对功能单体进行聚合,制备对模板分子具有特异选择性聚合物的过程,通常被喻为制备和识别“分子钥匙”的人工“锁”技术。分子印迹技术起源于免疫学,20世纪40年代,著名的诺贝尔获得者 Pauling 提出的抗体形成学说,尽管被后来的“克隆选择”理论推翻,但其为分子印迹理论的诞生奠定了理论基础^[1]。1949年, Dickey 首次提出了“专一性吸附”的概念^[2],被后人视作为“分子印迹”的萌芽,但在很长的一段时间里没能够引起广大学者的重视。直到后来1972年, Wulff 研究小组首次报道了人工合成分子印迹聚合物(molecular imprinting polymers, MIPs)之后,这方面的研究有了突破性的进展^[3]。尤其是1993年 Mosbach 等发表了关于茶碱分子印迹聚合物的研究报告后,分子印迹聚合物凭借其通用性和立体专一识别性,越来越受到广大研究者的青睐^[4],关于分子印迹聚合物合成及应用的研究得到了飞速的发展。

2 分子印迹技术的基本原理

MIT 是指在空间结构和结合位点上与模板分子

完全匹配的聚合物的合成实验制备技术,是仿照抗体的形成机制,在模板分子周围形成一个高度交联的刚性高分子,去除模板分子后在聚合物的网络结构中留下了与模板分子在空间结构、尺寸大小、结合位点互补的立体孔穴,从而对模板分子表现出高度的选择识别性能。

3 分子印迹聚合物的制备方法及其过程

截至目前,制备分子印迹聚合物的常用方法有六种:本体聚合法、原位聚合法、悬浮聚合法、分散聚合法、表面印迹法。此外,还可将制备 MIPs 的方法主要分为三类:共价法、非共价法、共价与非共价杂化法。分子印迹聚合物通常由以下如图 1 所示步骤制备完成:

Wulff 等研究人员认为理想的 MIPs 应具有以下特征^[6]:

(1) MIPs 应具有一定的刚性,以保证聚合物在脱去模板分子后,空穴仍能保持原来的形状和大小。

(2) MIPs 空间构型应具有一定的柔性,便于使底物与空穴的结合能迅速达到平衡。

(3) MIPs 具有一定的机械强度和热稳定性,使其能够达到高效液相色谱中固定相的机械强度以及能够在较高温度下使用。

(4) MIPs 上应具有可接近性的印迹位点。

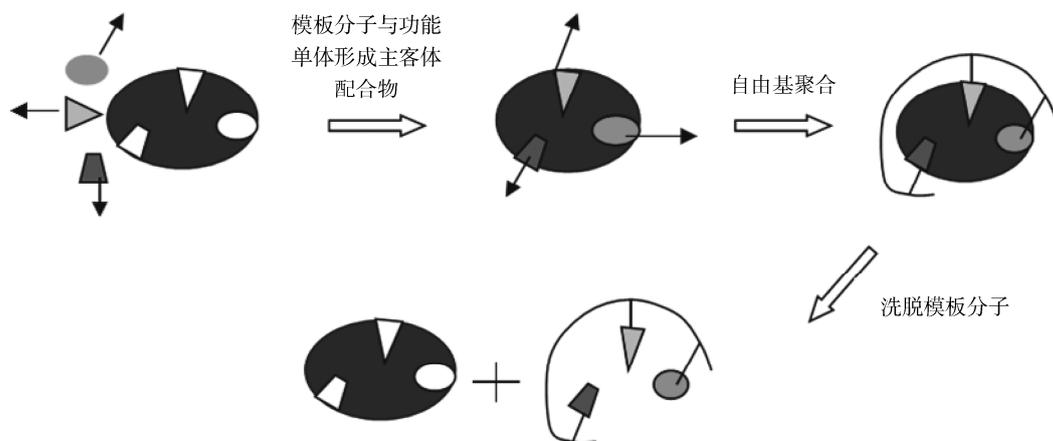


图 1 分子印迹聚合物制备示意图^[5]

Fig. 1 Synthesis pathway of molecularly imprinted polymers

4 分子印迹技术在分析检测领域的应用

分子印迹聚合物与其他生物大分子(如: 酶与底物、抗原与抗体、受体与激素)相比, 其优势在于: (1) MIPs 的印迹位点是人工合成的, 对环境变化具有很强的物理和化学抗性; (2) MIPs 的功能基团很容易被修饰从而提高它的亲和性和催化能力; (3) MIPs 可以多次使用, 且不用担心亲和力丧失的问题; (4) MIPs 对恶劣环境(如溶剂、离子、热、酸碱的破坏)具有很强的抵抗力; (5) 制备 MIPs 不需要免疫动物, 然而得到的产物具有均一的性质和亲和力, 整个制备过程耗时很短。根据不同模板分子制备出不同的分子印迹聚合物, 可满足在日常的分离分析(如食品安全、药物分离等)中的不同需要^[7-10]。

4.1 分子印迹在固相萃取中的应用

固相萃取(solid phase extraction, SPE)是目前常用的样品前处理技术。将样品上载到萃取柱中, 分析底物和杂质被保留在柱上, 然后分别用选择性溶剂去除杂质, 洗脱出底物, 从而达到分离的目的。该方法优点是萃取过程高效、快速, 无需大量的试剂, 成本费用较低^[11]。分子印迹固相萃取(molecularly imprinted solid phase extraction, MISPE)技术是将 MIPs 作为固相萃取中的固体吸附剂, 由于 MIPs 是一种对特定化合物具有特异选择性的聚合物, 它可以特异的和目标分析物结合, 高效的分离纯化目标物。相比传统的固相萃取柱, 分子印迹固相萃取柱不但具有耐酸碱、离子强度等恶劣环境的优点, 还可以重复循环使用, 大大节省了样品前处理的成本费用, 具有更广阔的应用前景。MISPE 在生物及食物样品中有害物质如农药、兽药、食品添加剂和违禁药物等萃取分离应用已有较多的报道^[12]。

Sellergren 在 1994 年首次报道了以戊脒为模板制备的印迹聚合物, 用于试样的预处理^[13,14], 并将该聚合物作为吸附剂, 对生物液体试样中的戊脒进行了提取、纯化和浓缩。从此, MIPs 用于固相萃取有了迅速的发展, 目前被应用在固相萃取填料上的化合物主要有各类抗菌药, 三嗪类除草剂和壳聚糖药物等^[15-20]。

董建伟等^[21]报道了用分子印迹固相萃取-分光光度法检测水样中孔雀石绿(malachite, MG)的方法, 以 MG 为模板分子, 甲基丙烯酸(methacrylate, MAA)为

功能单体, 乙二醇二甲基丙烯酸酯(ethylene glycol dimethacrylate, EGDMA)为交联剂, 采用本体聚合法, 制备了 MIPs, 用作自制固相萃取柱的填料; 并用于对自来水和河水水样加标, 在 8~128 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内得到的回收率分别为 86.3%~92.1% 和 83.5%~90.3%, 说明该法适用于环境水样中 MG 的痕量检测。夏环等^[22]报道了以诺氟沙星为模板分子, 采用沉淀聚合法, 合成了对氟喹诺酮类抗生素特异性识别的 MIPs, 用其作为固相萃取柱填料, 建立了分子印迹固相萃取-高效液相色谱检测蜂蜜中三种氟喹诺酮类抗生素残留的方法, 此方法的检测限为 9~12 $\mu\text{g/kg}$, 加标回收率为 96.5%~104.1%。

Rezaei 等^[23]以氢氯噻嗪(hydrochlorothiazide, HCT)作为模板分子, MAA 为功能单体, EGDMA 为交联剂单体和溶剂二甲基甲酰胺(dimethylformamide, DMF), 制备了 MIPs, 并将其作为固相吸附剂, 用于人体血清样品中 HCT 药物选择性萃取, 检出限($S/N=3$)为 0.073 ng/L, 回收率达到 96%, 符合了应用标准。Tian 等^[24]分别以丹参酮、丹参酮 I、丹参酮 IIA 为模板分子, 制备了具有有序多孔结构功能基团的分子印迹聚合物, 将聚合物作为固相萃取的吸附剂从甲醇提取物中分离目标化合物, 用 HPLC 定量分析, 定量限为丹参酮: 0.35 mg/g, 丹参酮 I: 0.33 mg/g 和丹参酮 IIA: 0.27 mg/g。Mehran 等^[25]以曲多马(tramadol, TRD)为模板分子, 制得了在线固相萃取分子印迹整体柱的 MIPs, 用于检测人体血浆和尿液中的 TRD 含量, 尿液样品和血浆样品中 TRD 的检出限($S/N=3$)和定量限($S/N=10$)分别为 0.03 ng/mL、0.10 ng/mL 和 0.3 ng/mL、1.0 ng/mL, TRD 的回收率分别为 90.5%~93.1%和 93.3%~96.0%。Susan 等^[26]以氟苯尼考模板分子和 4-乙烯基吡啶为功能单体制备了具有选择性的 MIPs, 并用红外光谱, 扫描电子显微镜, 热重分析和差热分析对其进行了表征, 用分光光度法比较了得出 MIPs 固相萃取氟苯尼考比非印迹聚合物的吸附能力更强, 两者的最大静态吸附量分别为 4.32 mg/g 和 2.88 mg/g; 在鱼肉、鸡肉和蜂蜜样品中的检测精度较高。Mocina 等^[27]报道了以右美沙芬作为模板分子, MAA 作为功能单体, EGDMA 作为交联剂, 氯仿为致孔剂制备水溶性分子印迹聚合物, 并用它作为固相萃取吸附剂从人血浆样品的提取右美沙芬, 其检出限为 0.12 ng/mL, 耦合到高性能液相色谱系统,

HPLC 分析结果表明, 人类血浆样品右美沙芬含量于 1~50 ng/mL 的范围内的回收率均高于 87%。Esther 等^[28]也对分子印迹技术在样品前处理过程中的应用进行了综述。

大量的文献实验表明, 分子印迹聚合物应用在固相萃取上比传统的方法有很大的优越性, 经过印迹固相萃取, 检出限更低, 大大提高了检测分析目标物的准确度和精密度。分子印迹固相萃取满足了人们对分析精度越来越苛刻的要求, 适应了当前分析分离技术的发展要求。

4.2 分子印迹在色谱分离技术中的应用

4.2.1 高效液相色谱

由于高效液相色谱 (high performance liquid chromatography, HPLC) 提供了一种定性评价 MIPs 性能的简便方法, 以 MIPs 为固定相可获得对模板分子有一定专一识别性的分离效果, HPLC 固定相是目前 MIPs 应用最广泛的领域之一^[29]。

Bittman 等^[30]制备了以胆固醇和雌酮为模板的 MIPs, 作为色谱固定相。Sudrez 等^[31]制备了在流通体系中区分不同羟基官能团的类黄酮物质, 且无需与分离即可进液相色谱分析。Li 等^[32]用绿原酸作为模板, 四氢呋喃和异辛烷的混合物作为溶剂, 以及 MAA 为单体和 EGDMA 为交联剂制备功能性 MIPs, 用其作为色谱固定相分离纯化绿原酸混合物中的绿原酸, 观察到绿原酸在 MIPs 固定相中有较强的滞留, 说明此法可用于叶子中绿原酸的分离纯化。Silva 等^[33]以 L-色氨酸为模板分子首次在超临界二氧化碳条件下合成了聚(乙二醇二甲基丙烯酸酯)和聚(N-异丙基丙烯酰胺-共-乙二醇二甲基丙烯酸酯)的分子印迹聚合物, 超临界流体技术提供了一种制备清洁和一步法合成路线的具有特定的分子检测能力的亲和性聚合物材料。该聚合材料作为高效液相色谱固定相分离 L-色氨酸和 D-色氨酸对映体进行了测试, HPLC 结果表明, 所合成的 MIPs 能够很好分离色氨酸对映体。

谭天伟等^[34]以血红蛋白为模板分子, 利用壳聚糖为功能单体, 在交联剂环氧丙烷存在下, 制备了血红蛋白分子印迹介质; 并将制得的 MIPs 装入色谱柱, 洗脱掉血红蛋白, 进行分析。考察了该印记聚合物的识别性能, 在印迹分子血红蛋白存在下制得的聚合物对血红蛋白有明显的吸附, 而对牛血清蛋白不吸附, 说明该聚合物对血红蛋白具有特异识别性能。苏

立强等^[35]报道了以乙胺嘧啶为模板分子, MAA 为功能单体, EGDMA 为交联剂, 偶氮二异丁腈为引发剂, 在苯甲醇和乙腈混合溶液中制备了乙胺嘧啶分子的 MIPs 用于液相色谱固定相, 可将乙胺嘧啶和敌菌净 (结构类似物) 基线分离; 吸附实验表明, 印迹聚合物远大于非印迹聚合物的吸附量, 说明印迹聚合物对乙胺嘧啶有特异性的吸附。

诸多学者研究显示, 以 MIPs 作为 HPLC 的固定相, 印迹聚合物和模板分子在空间形状上互补且分子间存在较强的作用力, 与普通的固定相相比, 印迹聚合物对模板分子的保留时间较长。且 MIPs 对模板分子的专一性吸附, 使得 MIPs 作为固定相较之于非印迹聚合物, 具有吸附量更大、强特异性吸附和高效的分离能力, 以及操作上更加简便。将 MIT 与 HPLC 联用起来, 可进一步提高 HPLC 性能。

4.2.2 薄层色谱

MIPs 不仅可用于传统的色谱分离固定相外, 而且可作为薄层色谱的固定相。薄层色谱法是 20 世纪五十年代后, 在柱色谱及纸色谱的基础上发展起来的一种色谱分析方法, 它具有快速、高效、廉价及试样测定范围广等优点, 与分子印迹技术联合起来, 兼有了两者的优势。

Songkram 等^[36]研究了以伪黄麻碱和去甲黄麻碱为模板分子, 制备了 MIPs, 作为手性固定相应用于薄层色谱中, 直接分离拟肾上腺素。研究结果表明, 该分子印迹聚合物对拟肾上腺素有很高的选择性和亲和性, 是一种快速有效、切实可行的手性化合物分析方法。

戎非等^[37]分别研究了以右旋扁桃酸、右旋邻氯扁桃酸和右旋对氯扁桃酸为模板, 制备了分子印迹聚合物, 用作薄层色谱手性固定相。研究了模板分子消旋体在手性固定相上的分离情况。在乙腈-5%乙酸展开体系中扁桃酸、邻氯扁桃酸和对氯扁桃酸消旋体得到较好的分离, 分离因子分别为 1.45, 1.62 和 1.56。该手性固定相对模板分子的结构类似物也具有一定的手性交叉分离能力, 该方法为快速、灵敏地对手性物质分析、定性提供了一条简便的途径。

目前, 将 MIT 应用到薄层色谱固定相的报道较少, 还有待更多的研究工作投入到这方面。MIPs 用于薄层色谱固定相具有快速、高效、廉价及测定范围广的优点, 尤其是对手性物质的分析定性具有快速灵敏特点, 是一条分离对映体的简便途径, 应用前景

将不可小觑。

4.2.3 毛细管电泳

高效毛细管电泳分辨率高、分离时间短、进样量少、成本低, 是一门新型分离技术, 目前已成为分析化学领域重要的分离工具, 把分子印迹聚合物和高效毛细管电泳相结合, 可以克服高效液相色谱柱效率过低的缺点, 是现代分析化学研究的前沿领域之一。

Carmen 等^[38]报道了以噻苯咪唑作为模板分子, MAA 作为功能单体, EGDMA 作为交联剂, 偶氮二异丁腈作为引发剂, 制备了噻苯咪唑的 MIPs; 将该聚合物作为毛细管电色谱的固定相, 通过非水相的毛细管电泳测定柑橘样品中的噻苯咪唑。结果表明, 分子印迹毛细管电泳对噻苯咪唑有较高的选择性, 此法可直接用于测定柑橘样品中的噻苯咪唑含量, 样品不需要预处理, 检出限为 0.5 g/mL, 证明该方法的适用性, 并且可用于控制杀菌剂的滥用。

Deng 等^[39]报道了一种新型测定麻黄素 (ephedrine, E) 和伪麻黄碱 (pseudoephedrine, PE) 的方法: 在毛细管电泳 (capillary electrophoresis, CE) 方法加上基于固相微萃取 (solid phase micro extraction, SPME) 的选择性和灵敏性的单片 MIPs 纤维。在一个石英毛细管模具和 E 为模板下原位聚合, MIPs 纤维可以批量生产, 以及每根纤维在萃取能力无显著下降的情况下可重复使用 50 次。MIPs 纤维在优化的萃取条件下, E 和 PE 的 CE 检出限大大降低, 从 0.20 $\mu\text{g/mL}$ 降至 0.00096 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.12 $\mu\text{g/mL}$ 降至 0.0011 $\mu\text{g/mL}$ 。作者还进行尿液和血清标本由 MIP-SPME-CE 法分析, 其结果表明 E 和 PE 可以被选择性地提取。回收率和相对标准偏差 (RSDs) 为样本分析分别为 91%~104% 和 3.8%~9.1%。

对于分子印迹技术在这方面的研究报道很少, 可能是由于毛细管电泳是一门前沿性学科领域, 还处于研发开发阶段, 对其的热力学和机械性能还不了解, 且仪器设备相对高昂, 因此将 MIPs 作为毛细管电泳的固定相的应用尝试还较少。

4.3 分子印迹在膜分离技术中的应用

分子印迹膜 (molecular imprinting membrane, MIM) 是一种具有膜分离技术和分子印迹技术双重有点的新型技术。近年来成为了分子印迹技术领域的热点之一。

Pliletsky 等^[40]在 1990 年采用原位聚合法, 以腺苷酸为模板分子、丙烯酸酯为功能单体, 首次制备出了 MIM。Yuuki 等^[41]用醋酸纤维素和一模板分子, 光学纯的谷氨酸衍生物, 如 N- α -苄氧羰基-D-谷氨酸、N- α -苄氧羰基-L-谷氨酸, 制备了分子印迹纳米纤维膜, 和一般的分子印迹膜的吸附选择性, 亲和常数, 选择渗透性和通量方面进行了比较。该研究结果表明, 印迹纳米纤维膜的通量值比通常的分子印迹膜高大约 100 倍, 选择渗透性和通量可同时增强, 使得分子印迹纳米纤维膜具有潜在的应用价值。Che 等^[42]采用反相共价印迹技术制备了分子印迹膜, 选择性吸附 α -生育酚。Scatchard 方程分析表明: 分子印迹膜对 α -生育酚具有良好亲和力好和高选择性, 在分离系数为 15.5 时, 经简单的高通量渗透过滤过程, 可以实现 α -生育酚的最佳分离。Zhang 等^[43]对黄酮类化合物的分子印迹膜分离进行了研究, 木犀草素为模板分子、氨基丙基三乙氧基硅烷作为功能单体制备分子印迹材料, 分散到聚砜中, 以形成 MIM。对 MIM 的分离性能和通量进行了测试, 并且采用 Scatchard 方程分析了 MIM 的化学键的特性。在不同温度下进行实验, 并使用范特霍夫方程分析, 获得 MIM 分离过程中相应的热力学参数; 使用 Scatchard 方程得到的结果表明, MIM 腔体里面有许多化学结合位点的官能团。

MIM 对目标分子具有很高的吸附性和容量, 有效解决了商售膜如微滤、超滤和反渗透膜等无法实现的单个物质的选择性分离; 较之于传统粒子型 MIPs, MIM 不需要研磨等繁琐的制备过程, 扩散阻力小, 易于应用; 具有良好的操作稳定性及识别性质, 抗酸、碱、热、有机溶剂恶劣环境能力强等优点。

4.4 分子印迹技术在仿生传感器领域的应用

近几十年来, 生物传感器以其突出的特异性和灵敏度一起了全世界范围的极大关注, 已在医药、生化、环保等方面广泛使用, 生物传感器技术的研究雨后春笋般发展起来。由于其有很大的缺陷: 感应物质不稳定 (如对温度、化学试剂敏感), 在某些苛刻的条件下缺乏适当的感应物质, 从而限制了生物传感器的进一步推广^[44]。由于 MIPs 得天独厚的优势, 将 MIT 应用到传感器上, 可很好地解决其感应物质不稳定, 对苛刻条件的不适应的问题, 克服了传统传感器的缺点, 具有很好的发展前景。下面将从分

子印迹技术在光学传感器和电化学传感器两个方面进行综述。

4.4.1 光学传感器

Barrios 等^[45]基于 SiO₂/Si 模具的微转移模塑制成了对恩诺沙星抗生素具有识别作用的微影分子印迹二维衍射光栅抗生素生物传感器,该传感器在有较高的选择性,用含 0.5% 三氟乙酸的甲醇溶液浸洗后分子印迹光栅可多次重复使用,并不降低其选择识别特性。Gupta 等^[46]研究了利用表面等离子体共振和分子印迹的光纤传感器检测四环素,该传感器制作首先是在暴露的银金属光纤部分涂敷一层薄膜,然后制备的目标分子印迹聚合物涂敷在金属层区域。是该光纤传感器对四环素和土霉素之间的交叉的选择进行测试,具有很好的测试效果。Stephen 等^[47]研究了采用 MIPs 的方法制备基于检测可卡因的新型光纤传感器,利用 MIPs 含有荧光基团作为信号基团。荧光聚合物连接到特意选择性选的光学纤维的远端创建了光纤探头传感器。这些传感器可接收到可卡因的荧光信号强度的变化,从而检测出可卡因的含量。

分子印迹传感器对目标分子的识别主要是通过光学方法或电化学转换技术,在大多数情况下,这些方法需要对分析物进行标记,可这个过程复杂耗时;换言之,无标识光学传感器技术的应用大大简化了实验过程,并且缩短了分子间相互作用的时间,对目标的分子选择性高,检测灵敏度高,故分子印迹光学传感器用于国土安全领域及商业应用具有巨大的潜力。

4.4.2 电化学传感器

Deng 等^[48]开发出了基于灵敏性和选择性检测双酚 A (bisphenol A, BPA) 的分子印迹壳聚糖-石墨烯复合薄膜的乙炔黑电极的新型电化学传感器,来测定塑料瓶装饮用水和罐装饮料中 BPA 含量。印迹传感器提供了一个快速的响应和敏感的 BPA 定量。在最佳条件下,观察到 BPA 含量在线性范围为 8.0~1.0 μM 和 1.0~20 μM 的检测限(S/N=3)为 6.0 nM。Zhu 等^[49]也报道了用于测定 BPA 含量基于磁性分子印迹纳米粒子在表面活性剂修饰电极电化学传感器。Li 等^[50]提出了一种提高基于催化铜沉积的分子印迹电化学传感器的灵敏度的策略,以土霉素(Oxytetracycline, OTC)模板分子,用金纳米粒子标记 OTC 分子的氨基基团通过静电吸附和非共价相互作用。铜离子是由金纳米粒子催化还原,和铜沉积到电极。铜沉积的电化

学溶解,可间接测定 OTC 药物浓度范围在 3×10^{-10} ~ 1.5×10^{-7} mol/L, 其检测限 6.8×10^{-11} mol/L。Leite 等^[51]报道了基于分子印迹聚硅氧烷电化学传感器来选择性测定咖啡酸酒,在咖啡酸酒的浓度于 0.500 ~ 60.0 μmol/L 线性范围时,检测限为 0.15 μmol/L。

以上诸位研究者均采用了离子选择膜电极结合分子印迹技术制得了电化学传感器,由于该类型的传感器具有较高选择性、低制作成本、简单快速的测试方法以及稳定性好,检测限也较低,符合目前国内痕量检测的要求,从而广泛应用于工业临床和环境检测中,并有望将其应用进一步扩展到食品安全方面的检测。

5 结 语

分子印迹聚合物以其亲和性和选择性高、抗恶劣环境能力强、稳定性好、使用寿命长、应用范围广等优势,在众多领域(如色谱分离、固相萃取、仿生传感、临床药物分析和膜分离等)均显示出良好的应用前景;在生物工程、天然药物、食品工业、环境监测等行业的应用有产业化规模的趋势。但目前对分子印迹技术的研究也存在一些问题:

(1)目前,诸多研究者制备的分子印迹聚合物多为仅对某一物质起选择性吸附作用,而对于其同类物质(同系物,衍生物等)均有选择性吸附作用的印迹聚合物研究较少,这使得在某类物质的分离分析上,应用分子印迹技术显得过于繁琐且缺乏效率,一定程度的制约了其发展和推广;

(2)在分子印迹聚合物的制备过程中,模板分子参与到聚合物的合成且用量相对较大,即使被大量的洗脱剂洗脱后,仍可能存在部分模板分子包覆在聚合物中洗脱不到的位点,经过多次使用后,这些位点有可能暴露,模板分子释放出来,对微量分析尤其痕量分析的影响是巨大的;

(3)MIPs 的印迹容量较低,功能单体匮乏,制备环境过于局限和对无功能基团分子的分离困难等。

此外,目前对 MIPs 热力学、动力学和结合位点作用机制的研究还不够深入,这制约着高效能、高选择性分子印迹柱、印迹膜等的发展。还需研究者的不懈努力,进行深入的研究;完善分子印迹机理,更多实用的功能单体被发现,制备环境局限以及印迹容量低的问题得到解决。MIPs 在膜分离领域、仿生传感器和样品前处理方面的应用研究的相对较多,而

在色谱固定相上的研究应用还是相对较少, 开发更多的分子印迹色谱固定相将有助于部分解决目前色谱仪器费用高昂的问题, 将 HPLC 等的应用普遍化, 提高国内分析精度有着不可估量的价值。在未来的分离分析领域, 分子印迹技术的研究将会全方位的开展起来, 如由现阶段的对小分子的研究居多转到对大分子(蛋白质、核苷酸等)的研究上, 手性药物分离、分子印迹固相萃取、膜分离等进入商业化阶段。相信 MIPs 在分离分析技术领域的应用将日臻完善, 其应用范围也将越来越广。

参考文献

- [1] Pauling L. A theory of the structure and process of formation of antibodies [J]. *J Am Chem Soc*, 1940, 62(3): 2643–2657.
- [2] Dickey FH. The preparation of specific adsorbents [J]. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1949, 35(5): 227–229.
- [3] Wulff G, Sarhan A, Zabrocki K. Enzyme-analogue built polymers and their use for the resolution of racemates [J]. *Tetrahedron Lett*, 1973, 14(44): 4329–4332.
- [4] Vlatakis G, Andersson LI, Muller R, *et al.* Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting [J]. *Nature*, 1993, 361(6413): 645–647.
- [5] 易娜, 张教强, 史长明, 等. 分子印迹传感器的研究进展 [J]. *材料开发与应用*, 2013, 28(1): 117–124.
Yi N, Zhang JQ, Shi CM, *et al.* Research progress of sensor based molecularly imprinted polymers [J]. *Dev App Mater*, 2013, 28(1): 117–124.
- [6] Wulff G. Molecular imprinting in cross-linked materials with the aid of molecular templates—A way towards artificial antibodies [J]. *Angew Chem Int Ed Eng*, 1995, 34: 1812–1832.
- [7] 宋素泉. 重要违禁兽药红霉素和氟丙嗪的分子印迹聚合物的制备、表征及在食品安全检测中的应用[D]. 上海: 上海交通大学, 2008
Song SQ. Preparation, characterization and application of molecularly imprinted polymers toward key veterinary drugs of erythromycin and chlorpromazine in food safety detection [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2008.
- [8] Kriz D, Ramsrom O, Svensson A, *et al.* Introducing biometric sensors based on molecularly imprinted Polymer as recognition elements [J]. *Anal Chem*, 1995(67): 2142–2144.
- [9] Fischer L, Muller R, Ekberg B, *et al.* Direct enantioseparation of β -adrenergic blockers using a chiral stationary phase prepared by molecular imprinting [J]. *J American chem Soc*, 1991, (113): 9358–9360.
- [10] Mulchandani A, Kaneval, Chen W. Biosensor for direct determination of organophosphate nerve agents using recombinant *Escherichia coli* with surface-expressed organophosphorus hydrolase. 2. Fiber-optic microbial biosensor[J]. *Anal Chem*, 1998, (70): 5042–5046.
- [11] Kim J B, Terabe S. Online sample preconcentration techniques in micellar electrokinetic chromatography [J]. *Pharm Biomed Anal*, 2003, (30): 1625–1643.
- [12] 闫宏远, 杨更亮. 分子印迹固相萃取技术在动物源食品中药物残留检测中的应用进展[J]. *色谱*, 2011, 29(7): 572–579.
Yan HY, Yang GL. Application of molecularly imprinted solid-phase extraction on drug residues in animal source foods[J]. *China J Chromatogr*, 2011, 29(7): 572–579.
- [13] 张亮, 潘建明, 徐龙城, 等. 分子印迹技术最新研究进展 [J]. *化学试剂*, 2013, 35(8): 673–678.
Zhang L, Pan JM, Xu LC, *et al.* Progress of molecular imprinting technology [J]. 2013, 35(8): 673–678.
- [14] Homayn AP, Ali M, Zohrehsadat H, *et al.* Synthesis and characterization of new molecular imprinting poly[1-(N,N-bis-carboxymethyl)amino-3-allylglycerol-co-dimethylacrylamide] for selective sorption and determination of cefuroxime sodium in biological and pharmaceutical samples [J]. *Reactive Functional Polymers*, 2013, 73(1): 132–140.
- [15] Tamayo FG, Casillas JI, Martin-Esteban A. Highly selective fenuron imprinted polymer with a homogeneous binding site distribution prepared by precipitation polymerization its application to the clean-up of fenuron in plant samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2003, 48(2): 165–173.
- [16] Davood D, Mohammad HK, Mitra AR, *et al.* Preparation, evaluation and application of diazinon imprinted polymers as the sorbent in molecularly imprinted solid-phase extraction and liquid chromatography analysis in cucumber and aqueous samples [J]. *Food Chem*, 2014, 158: 421–428.
- [17] Timea P, Horvath V, Tolokan A. Effect of solvents on the selectivity of terbutylazine imprinted polymer sorbents in solid-phase extraction[J]. *Chromatogr A*, 2002(1–2): 1–12.
- [18] Chapuis F, Pichon V, Lanza F. Optimization of the chass-selective extraction of triazines from aqueous samples using a molecularly imprinted polymer by a comprehensive approach of the retention mechanism[J]. *Chromatogr A*, 2003, 999(1–2): 23–33.
- [19] Jun Y, Yan H, Cai JB, *et al.* A new molecularly imprinted polymer for selective extraction of cotinine from urine samples by solid-phase extraction[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2006, 384(3): 761–768.
- [20] Wang Y, Wang E, Wu ZM, *et al.* Synthesis of chitosan molecularly imprinted polymers for solid-phase extraction of methan-

- drostenolone [J]. *Carbohydrate polymers*, 2014, 101: 517–523.
- [21] 董建伟, 杨军亭, 侯清娥, 等. 分子印迹固相萃取-分光光度法检测环境水样中的孔雀石绿 [J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, 4(4): 1200–1206.
- Dong JW, Yang JT, Hou QE, *et al.* Determination of malachite green in environmental water samples by spectrophotometry with molecularly imprinted solid phase extraction [J]. 2013, 4(4): 1200–1206.
- [22] 夏环, 王妍, 荆涛, 等. 分子印迹固相萃取-高效液相色谱法测定蜂蜜中三种氟喹诺酮类抗生素残留 [J]. *分析科学学报*, 2012, 28(3): 297–302.
- Xia H, Wang Y, Jing T, *et al.* Determination of three fluoroquinolones antibiotics residue in honey using molecularly imprinted solid-phase extraction coupled with high performance liquid chromatography [J]. *J Anal Sci*, 2012, 28(3): 297–302.
- [23] Rezaei B, Mallakpour S, Rahmadian O. Application of molecularly imprinted polymer for solid phase extraction and preconcentration of hydrochlorothiazide in pharmaceutical and serum sample analysis [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 7(4): 1004–1011.
- [24] Tian ML, Bi WT, Kyung HR. Molecular imprinting in ionic liquid-modified porous polymer for recognitive separation of three tanshinones from *salvia miltiorrhiza bunge* [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 399: 2495–2502.
- [25] Mehran J, Mohammad MM, Behrouz A. On-line clean-up and determination of tramadol in human plasma and urine samples using molecularly imprinted monolithic column coupling with HPLC [J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2012, 911: 49–54.
- [26] Susan S, Moslem J. Selective solid-phase extraction using molecular imprinted polymer sorbent for the analysis of florfenicol in food samples [J]. *Food Chem*, 2013, 141: 1242–1251.
- [27] Mohammad MM, Mehran J, Behrouz A. Molecularly imprinted polymer cartridges coupled on-line with high performance liquid chromatography for simple and rapid analysis of dextromethorphan in human plasma samples [J]. *J Chromatogr B*, 2011, 879: 777–782.
- [28] Esther T, Antonio ME. Molecularly imprinted polymers for sample preparation: A review [J]. *Anal Chem Acta*, 2010, 688: 87–99.
- [29] 谭天伟. 分子印迹技术及应用-分子印迹高效色谱分离[M]. 化学工业出版社, 2010.
- Tan TW. *Molecular imprinting technology and application-high performance chromatographic separation of molecular imprinting* [M]. Chemistry Industry Press, 2010.
- [30] Ning Z, Hoesup B, Bittman R. Hydrophilic cholesterol-binding molecular imprinted polymers [J]. *Tetrahedron Lett*, 2001, 42: 1839–1841.
- [31] Sudrez R, Guez JL, Daz-Garcia ME. Flavonol fluorescent flow-through sensing based on a molecular imprinted polymer [J]. *Anal Chim Acta*, 2000, 405: 67–76.
- [32] Hui L, Liu YJ, Zhang ZH, *et al.* Separation and purification of chlorogenic acid by molecularly imprinted polymer monolithic stationary phase[J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1098: 66–74.
- [33] Mara SS, Eva RV, Márcio T, *et al.* Clean synthesis of molecular recognition polymeric materials with chiral sensing capability using supercritical fluid technology-Application as HPLC stationary phases[J]. *Biosensors Bioelectron*, 2010, 25: 1742–1747.
- [34] 雷建都, 谭天伟. 分子印迹分离技术 [D]. 北京化工大学, 2002.
- Lei JD, Tan TW. *Separation of molecular imprinting technique*[D]. Beijing University of Chem Technology, 2002.
- [35] 刘发强, 迟大民, 苏立强, 等. 乙胺嘧啶分子印迹聚合物的制备及其性能研究 [J]. *化学工程师*, 2010, 1: 7–9.
- Liu FQ, Chi DM, Su LQ, *et al.* Preparation and performance research on pyrimethamine molecular blotting polymer [J]. *Chem Eng*, 2010, 1: 7–9.
- [36] Songkram C, Petmoreekul A, Sangkunakup S, *et al.* Direct enantioseparation of adrenergic drugs via thin-layer chromatography using molecularly imprinted polymer [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 1999, 19(28): 519–527.
- [37] 戎非, 李萍, 冯小刚. 分子印迹薄层色谱手性固定相的制备及其色谱性能[J]. *色谱*, 2006, 24(3): 305–308.
- Rong F, Li P, Feng XG. Preparation and evaluation of molecularly imprinted stationary phase used for thin-layer chromatography [J]. *China J Chromatogr*, 2006, 24(3): 305–308.
- [38] Carmen C, Leif S, Esther T, *et al.* Molecularly imprinted capillary electrochromatography for selective determination of thiazobenzazole in citrus samples [J]. *J Chromatogr A*, 2008, 1179: 216–223.
- [39] Deng DL, Zhang JY, Chen C, *et al.* Monolithic molecular imprinted polymer fiber for recognition and solid phase microextraction of ephedrine and pseudoephedrine in biological samples prior to capillary electrophoresis analysis[J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1219: 195–200.
- [40] Piletsky SA, Panasyuk TL, Piletskaya EV, *et al.* Receptor and transport properties of imprinted polymer membranes-a review [J]. *J Membrane Sci*, 1990, 157(2): 263–278.
- [41] Yuuki S, Chiho F, Masakazu Y. Molecularly imprinted nanofiber membranes from cellulose acetate aimed for chiral separation [J]. *J Membrane Sci*, 2010, 357: 90–97.
- [42] Cheku MF, Yusuke H, Takaomi K, *et al.* Scaffold membranes for selective adsorption of α -tocopherol by phase inversion cova-

- lently imprinting technique [J]. *J Membrane Sci*, 2008, 322(2): 503–511.
- [43] Zhang YQ, Shan X, Gao XQ. Development of a molecularly imprinted membrane for selective separation of flavonoids [J]. *Sep Purif Technol*, 2011, 76: 337–344.
- [44] 何星月, 刘之景. 生物传感器的研究现状及应用 [J]. *技术综述*, 2002, 10: 1–6.
He XY, Liu ZJ. The recent research and application of biosensor [J]. *Technol Review*, 2002, 10: 1–6.
- [45] Barrios CA, Zhenhe C, Navarro-Villoslada F, *et al*. Molecularly imprinted polymer diffraction gratin gas label-free optical bio(mimetic) sensor [J]. *Biosens Bioelectr*, 2011, 26(5): 2801–2804.
- [46] Roli V, Gupta BD. Optical fiber sensor for the detection of tetracycline using surface plasmon resonance and molecular imprinting [J]. *Analyst*, 2013, 138: 7254–7263.
- [47] Stephen PW, Nguyena TH, Paul G, *et al*. Preparation of novel optical fibre-based Cocaine sensors using a molecular imprinted polymer approach [J]. *Sensors Actuators B*, 2014, 193: 35–41.
- [48] Deng PH, Xu ZF, Kuang YF. Electrochemical determination of bisphenol A in plastic bottled drinking water and canned beverages using a molecularly imprinted chitosan-graphene composite film modified electrode [J]. *Food Chem*, 2014, 157: 490–497.
- [49] Zhu LL, Cao YH, Cao GQ. Electrochemical sensor based on magnetic molecularly imprinted nanoparticles at surfactant modified magnetic electrode for determination of bisphenol A [J]. *Biosens Bioelectr*, 2014, 54: 258–261.
- [50] Li JP, Shao YJ, Yin WL, *et al*. A strategy for improving the sensitivity of molecularly imprinted electrochemical sensors based on catalytic copper deposition [J]. *Anal Chim Acta*, 2014, 817: 17–22.
- [51] Leite FRF, Santos WJR, Kubota LT. Selective determination of caffeic acid in wines with electrochemical sensor based on molecularly imprinted siloxanes [J]. *Sensors Actuators B*, 2014, 193: 238–246.

(责任编辑: 邓伟)

作者简介



陈孝建, 硕士研究生, 主要研究方向为食品分析与检测。
E-mail: 1269605958@qq.com



曹维强, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: caowq@hz.gdcic.gov.cn



余永新, 研究员, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: 0891syx@163.com