

[研究快报]

微波聚合快速制备分子印迹毛细管电色谱整体柱

张裕平¹, 左国强², 许光日¹, 李全民², 袁倬斌^{1,3}

(1. 河南科技学院应用化学研究所, 新乡 453003; 2. 河南师范大学化学系, 新乡 453007;

3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

关键词 微波; 分子印迹聚合物; 整体柱; 毛细管电色谱

中图分类号 O657

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2007)09-1654-03

毛细管电色谱(CEC)整体柱的研制和分子印迹(MIP)技术近年来一直是国内外分离领域研究的热点^[1],董襄朝等^[2]曾采用溶液聚合方法,以邻羟基苯甲酸为模板分子,制备了用于分离羟基苯甲酸异构体的印迹聚合物.李元宗等^[3,4]以苯甲酸类及其酯的衍生物为模板,采用不同的功能单体和溶剂体系制备了相应的分子印迹聚合物.但Gao等^[5,6]以对羟基苯甲酸为模板分子,采用在线热聚合制备毛细管电色谱整体柱的研究也取得了满意的效果.但有关利用微波原位制备有机聚合物整体柱的研究至今还未见文献报道.本文以甲基丙烯酸为功能单体、己二醇二甲基丙烯酸酯为交联剂、对羟基苯甲酸为模板分子,采用微波辐射聚合的方式快速制备了分子印迹毛细管电色谱整体柱,并取得了较好的印迹效果.分子印迹材料的原位制备5 min即可完成,大大快于国内外传统的方法.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂 Agilent^{3D}CE电泳仪,配有二极管阵列检测器(DAD);Agilent 1100型高效液相色谱仪;微波炉(频率2450 MHz,功率700 W,美的公司);熔融石英毛细管(河北永年光导纤维厂).

对羟基苯甲酸及邻羟基苯甲酸(分析纯,天津市天大化学试剂);甲基丙烯酸(MAA,天津科密欧化学试剂);己二醇二甲基丙烯酸酯(EDMA, New Jersey, USA,使用前用质量分数为5%的氢氧化钠溶液萃取除去阻聚剂); γ -2-甲基丙烯酰氧丙基三甲氧基硅烷(γ -MAPS, New Jersey, USA);偶氮二乙丁腈(AIBN);乙腈(色谱纯,天津科密欧化学试剂);其余试剂均为分析纯.

1.2 原位分子印迹柱的制备 选择一定长度和不同内径的毛细管,毛细管的预处理和烯基化及制备过程参照文献[7~9]方法完成,将17.1 mg对羟基苯甲酸模板分子溶解在由一定体积功能单体MAA,362 μ L交联剂EDMA,156 μ L异辛烷及一定体积的甲苯组成的混合溶液中,超声30 min后,加入一定量的热引发剂AIBN,超声10 min后,通入N₂气5 min,具体配方见表1.空白柱除不加模板外均按上述方法来制备和处理.将以上混合溶液用注射器吸入到长度为35 cm的处理过的毛细管中,两端用橡

Table 1 MIP polymer synthesis under different conditions

MIP	$d/\mu\text{m}$	l/cm	$V(\text{MAA})/\mu\text{L}$	$V(\text{Toluene})/\mu\text{L}$	$m(\text{AIBN})/\text{mg}$	$E(\text{micr.})/\%$	R_s
MIP1	250	15	82	622	4.5	50	—
MIP2	250	15	82	622	4.5	100	0.82
MIP3(Blank)	250	15	82	622	4.5	100	0
MIP4	100	15	41	622	4.5	100	—
MIP5	100	15	41	622	10.0	100	—
MIP6	100	15	41	722	10.0	100	3.18
MIP7	100	6.5	41	722	10.0	100	0.99

收稿日期: 2007-04-09.

基金项目: 中韩国际合作项目(批准号: 20611140646)、河南省高校新世纪优秀人才基金(批准号: 2006HNCET-01)及高等学校骨干教师基金资助.

联系人简介: 张裕平,男,博士,教授,主要从事色谱方法学应用研究. E-mail: beijing2008zyp@163.com

胶塞密封后于微波炉中分别加热 5 min, 聚合完成后用甲醇冲洗除去模板分子、致孔剂和未反应的单体, 未经过充分冲洗的分子印迹整体柱和空白柱不会有任何印迹效果. 然后在聚合床层后空管某处, 烧去毛细管外表面的聚酰亚胺涂层, 制得约 2 mm 的检测窗口. 将此毛细管小心地装入毛细管电泳仪卡盒上, 先用乙腈和醋酸-醋酸铵缓冲液冲洗 3 min, 再不断增加电压平衡后测定.

1.3 电色谱实验 所有电色谱实验均在毛细管电泳仪上进行. 毛细管总长为 33 cm, 数据采集和处理在 HPChemStation 工作站完成, 流动相为含不同体积分数乙腈的醋酸铵缓冲溶液, 所有的缓冲液都用二次水配制, 并用 0.2 μm 滤膜过滤. 羟基苯甲酸异构体的分离电压为 -20 kV. 除了考察温度的影响外, 其它实验均在 20 $^{\circ}\text{C}$ 下进行, 羟基苯甲酸异构体的分离度 $R_s = (t_2 - t_1) / [0.5(w_1 + w_2)]$, 其中 t_1 和 t_2 分别是 2-HBA 和 4-HBA 的保留时间, w_1 和 w_2 分别是二者的峰宽.

2 结果与讨论

2.1 分子印迹柱的印迹效果 为了检测分子印迹整体柱的印迹效果, 分别在分子印迹整体柱和空白柱上对 4-HBA 和 2-HBA 的混合液进行分离评价, 结果如图 1 所示. 可见, 由于空白柱(MIP3)在合成时不加模板, 因此对 4-HBA 没有任何印迹效果, 4-HBA 和 2-HBA 不能够实现分离. 而在分子印迹整体柱上, 100 和 250 μm 内径的毛细管柱都能实现对羟基苯甲酸和邻羟基苯甲酸的分离, 且模板分子(对羟基苯甲酸)出峰慢于其异构体邻羟基苯甲酸. 由于所制备的电色谱柱电渗流较小, 而 4-HBA 和 2-HBA 均带负电, 采用负向电压并辅助进口端压力可加快分离.

图 1 还比较了优化实验条件下不同内径毛细管电色谱柱的分子印迹效果. 在 p-CEC 模式下, 即在分离过程中加负电压, 同时在样品的进口端施加 12×10^5 Pa 的气压作用下, MIP6 的柱效较高, 其理论塔板数超过 35000 plate/m, 分离度达到 3.18, 远远大于 MIP2 的柱效和分离度, 这说明随着柱子内径的增大, 焦耳热效应会使柱效急剧降低. 而空白柱(MIP3)对 4-HBA 和 2-HBA 没有分离效果, 这证明了 MIP2 和 MIP6 对二者的分离是由印迹过程产生的. 不同固定相长度对 100 μm 内径毛细管整体柱分子印迹效果有所不同, 图 1 中 MIP7 使用 6.5 cm 长的固定相仍然可以产生印迹效果, 只是在相同的实验条件下 MIP6 对 4-HBA 和 2-HBA 的分离度达到 3.18, 远远高于 MIP7 上的 0.99. 不过通过对实验条件进行优化也可以在 MIP7 上对二者实现基线分离, 分离度达到 2.93, 说明此时固定相长度对分子印迹效果并没有较大影响, 这和固定相长度对液相色谱分子印迹效果的影响一致^[10].

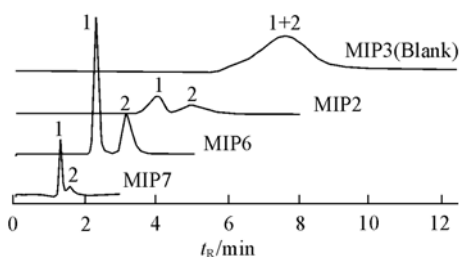


Fig. 1 Chromatogram of 4-HBA and 2-HBA on MIP monolithic column and blank column

Buffer: (1) MIP6 and MIP7, $V[\text{ammonium acetate}(50 \text{ mmol/L})]: V(\text{water}): V(\text{acetonitrile}) = 1:4:5$; (2) MIP2 and MIP3 (blank), $V[\text{ammonium acetate}(10 \text{ mmol/L})]: V(\text{acetonitrile}) = 4:6$; injection: 10 kV \times 5 s; operation: -20 kV + 12×10^5 Pa (inlet); detection: DAD, 20 $^{\circ}\text{C}$, pH = 7.0; peak 1: 2-HBA; peak 2: 4-HBA.

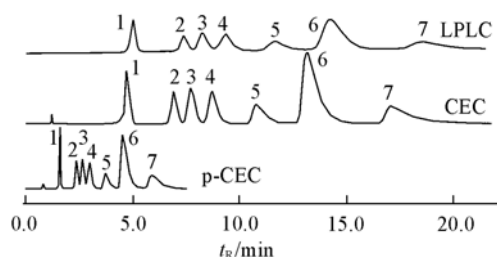


Fig. 2 Chromatogram of aromatic compounds on MIP6 in the modes of p-CEC, CEC and LPLC

Buffer: $V[\text{ammonium acetate}(50 \text{ mmol/L})]: V(\text{water}): V(\text{acetonitrile}) = 1:4:5$; injection: 10 kV \times 5 s; applied voltage: 20 kV, pH = 7.0, detection: 200 nm, 20 $^{\circ}\text{C}$; peak identification (in the order of elution): 1. thiourea; 2. benzene; 3. toluene; 4. ethylbenzene; 5. naphthalene; 6. biphenyl; 7. phenanthrene.

2.2 整体柱反向色谱性能考察 国内外在制备分子印迹柱的色谱过程评价中, 一般只考察分子印迹的效果. 本文在制备电色谱柱的过程中, 由于采用的是双致孔体系, 有可能产生多种不同的孔径分布. 尝试对多种苯环类化合物进行分离测试, 实验效果很好. 分别采用 CEC(即分离过程加电压, 同时在电色谱毛细管两端加 12×10^5 Pa 气压)、p-CEC(分离时加电压, 同时仅在毛细管入口端加 12×10^5 Pa 气压)和 LPLC(分离时只在进口端施加 12×10^5 Pa 气压)3 种模式, 7 种有机小分子均能得到基线分离. 由图 2 可知, p-CEC 操作模式出峰最快, 其次是 CEC 操作模式, 最后是 LPLC 操作模式. 采用 p-CEC

操作模式可以实现物质的快速分离,这是由于物质在毛细管中的运动不仅受电渗流作用,也受压力驱动;采用 CEC 模式,物质出峰较慢;另外不加电压,仅用较低的气压推动也可以实现硫脲和 6 种多环芳烃的分离. 3 种操作模式对硫脲的最大柱效均在 50000 plate/m 以上. 以上实验结果表明,所制备的毛细管电色谱整体均体现了反向色谱的分配机理,且柱通透性好.

2.3 乙腈含量和温度对电渗流的影响 在毛细管区带电泳中,随着流动相中乙腈含量的增大,电渗流减小,但在毛细管电色谱中电渗流的变化趋势与之相反. 本实验发现,随着乙腈在缓冲溶液中的增大,电渗流减小,乙腈含量由 40% 提高到 60% 时,电渗流(μ_{eof})由 $1.45 \times 10^{-8} \text{ m}^2/(\text{V} \cdot \text{s})$ 下降为 $0.65 \times 10^{-8} \text{ m}^2/(\text{V} \cdot \text{s})$,这可能由于随着乙腈含量的增大,介电常数和区带电势也随之增大所致. 柱温是影响分离的一个重要因素,实验考察了 30 °C 到 50 °C 范围内温度对保留时间和分离度的影响. 随着柱温的升高,各种物质的出峰更快,保留时间减少,分离度随着温度升高而有一定减小. 另外,我们还利用所制备的整体柱实现了苯胺、甲基苯胺、乙酰基苯胺及二苯胺的基线分离.

参 考 文 献

- [1] Nilsson J., Spegel P., Nilsson S. J. Chromatogr. B[J], 2004, **804**: 3—12
- [2] DONG Xiang-Zhao(董襄朝), SUN Hui(孙慧), HANG Bing(韩冰), *et al.*. Acta Chim. Sin. (化学学报)[J], 2002, **11**: 2035—2042
- [3] YANG Min-Li(杨敏莉), LI Yuan-Zong(李元宗). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2004, **25**(6): 1034—1036
- [4] Sun B. W., Li Y. Z., Chang W. B., *et al.*. J. Mol. Recogn. [J], 2001, **14**: 388—392
- [5] Liu Z. S., Xu Y., Gao R. Y., *et al.*. Chin. Chem. Lett. [J], 2004, **15**: 1469—1471
- [6] Liu Z. S., Xu Y., Gao R. Y., *et al.*. Anal. Chim. Acta[J], 2004, **523**: 243—250
- [7] Jin W. H., Fu H. J., Zou H. F., *et al.*. Electrophoresis[J], 2003, **24**: 3172—3180
- [8] Gong W. J., Zhang Y. J., Zhang Y. P., *et al.*. Chin. Chem. Lett. [J], 2006, **6**: 813—816
- [9] Zhang Y. P., Gong W. J., Fan L. Q., *et al.*. Chin. Chem. Lett. [J], 2006, **17**: 1485—1488
- [10] Huang X. D., Qin F., Zou H. F., *et al.*. J. Chromatogr. B[J], 2004, **804**: 13—18

Rapid Preparation of Molecularly Imprinted Capillary Monolithic Columns by Microwave Polymerization

ZHANG Yu-Ping^{1*}, ZUO Guo-Qiang², XU Guang-Ri¹, LI Quan-Min², YUAN Zhuo-Bin^{1,3}

(1. Institute of Applied Chemistry, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China;

2. Department of Chemistry, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

3. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract Microwave irradiation was firstly attempted to prepare molecularly imprinted polymers (MIPs) monoliths, which were *in situ* prepared rapidly with methacrylic acid (MAA) as a functional monomer, ethylene glycol dimethacrylate (EDMA) as a cross-linking agent, toluene and isooctane as the porogenic solvents and AIBN as an initiator. The baseline separation of isomers of hydroxybenzoic acid was achieved on these monolithic columns with 4-HBA as the template, but not on the blank polymer. Furthermore, some neutral compounds could also be baseline-separated on the imprinted polymer columns in the modes of pressure-driven capillary electrochromatography and low-pressure driven capillary electrochromatography. It was shown that the monoliths were not only used as the molecularly imprinted polymers but also as the reverse phase chromatographic material.

Keywords Microwave; Molecularly imprinted polymer; Monolithic column; Electrochromatography

(Ed.: A, G)