

表面印迹法制备胆红素分子印迹材料及其识别性能

陈志萍, 高保娇, 杨晓峰, 李延斌

(中北大学化学工程系, 山西 太原 030051)

摘要: 以 γ -(甲基丙烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷(MPS)为媒介, 将功能大分子聚乙烯亚胺(PEI)偶合接枝到硅胶微粒表面, 形成了接枝微粒 PEI/SiO₂. 以胆红素为模板分子, 乙二醇二缩水甘油醚(EGDE)为交联剂, 采用分子表面印迹技术, 制备了胆红素分子表面印迹材料 MIP-PEI/SiO₂, 采用静态与动态两种方法研究了 MIP-PEI/SiO₂ 对胆红素的结合特性. 结果表明, 印迹材料 MIP-PEI/SiO₂ 对胆红素分子具有特异的识别选择性与优良的结合亲和性, 也具有优良的解吸性能, 以 EDTA 与 NaOH 混合溶液作为洗脱液, 11 个床体积内解吸率可达 99.39%.

关键词: 聚乙烯亚胺; 硅胶; 分子印迹; 表面印迹; 胆红素

中图分类号: 0647 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2009)02-0387-06

1 前言

分子印迹聚合物(Molecular Imprint Polymers, MIPs)是被精心裁制的一类功能聚合物材料, 其内部分布有大量模板分子的印迹空穴, 这些空穴与模板分子在空间结构、结合位点等方面高度匹配, 使分子印迹聚合物对模板分子具有特异的识别选择性与优良的结合亲和性^[1,2], 被称为人工抗体或人工接受器. 目前, 分子印迹聚合物已被广泛用于各种高科技领域, 如固相萃取、传感器构建、抗体模拟及催化模拟等^[3-6].

制备分子印迹聚合物的传统方法是包埋法, 即将模板分子、功能单体、交联剂和引发剂溶解在溶剂中, 引发交联聚合, 首先制得块状的交联聚合物, 然后经粉碎、研磨、筛选得到尺寸符合要求的粒子. 该方法具有明显的缺点: 对模板分子包埋过深或过紧, 洗脱困难; 由于孔道深, 模板分子扩散阻力大, 传质速度慢, 不易与识别位点结合; 粉碎研磨过程使大量印迹空穴被破坏, 使材料的结合性能降低. 为有效克服上述缺点, Gao 等^[7,8]建立了一种新型的表面印迹方法, 制备了高性能的分子印迹聚合物, 分别采用“接枝到”法(Grafting to)或“接出法”(Grafting from), 先将功能大分子接枝到微米级硅胶粒子表面, 然后在模板分子被饱和吸附的条件下, 使用特殊的交联剂, 使功能大分子得以交联, 凭借功能大分子与模板分子之间的相互作用, 实现模板分子的印迹, 除去模板分子后, 在硅胶粒子表面的接枝聚合物薄层中留下大量的印迹空穴, 获得了高性能(对模板分子结合速度快、识别选择性强)的印迹聚合物材料.

胆红素是由血红蛋白代谢产生的一种生物活性物质. 血清中胆红素含量是判断肝功能的一项重要指标, 可诊断各种肝脏疾病^[9,10]. 因此, 血清中胆红素含量的

分析测定在医学上具有重要的意义. 已建立了几种胆红素分析方法, 包括酶法、高效液相色谱法、毛细管电泳法、荧光测定法及电化学法等. 虽然具有良好的敏感性, 但多数方法缺乏选择性, 这是由于血清中存在的其他物质会对分析测定产生一定干扰. 人们^[11,12]将具有高度识别选择性的分子印迹聚合物与相关的传感元件相结合, 研究与构建各种类型的传感器, 用于胆红素的分析测定, 但印迹方法仍为传统方法.

本研究首先将聚乙烯亚胺(Polyethyleneimine, PEI)接枝到硅胶粒子表面, 制得 PEI/SiO₂ 接枝微粒^[13]. 在此基础上, 以胆红素为模板分子, 乙二醇二缩水甘油醚(Ethylene Glycol Diglycidyl Ether, EGDE)为交联剂, 采用新型表面印迹方法, 制得高性能的印迹材料 MIP-PEI/SiO₂, 考察其对胆红素分子的识别性能.

2 实验

2.1 试剂与仪器

硅胶: 120~160 目(96~120 μm), 青岛海洋化工有限公司, 试剂级; γ -(甲基丙烯酰氧)丙基三甲氧基硅烷(3-Methacryloxypropyl trimethoxysilane, MPS), 商品名 KH-570, 南京创世化工助剂有限公司, 分析纯; EGDE, 稀释剂 669, 无锡方荣物资有限公司, 化学纯; PEI(分子量 2×10^4), 武汉强龙化工新材料有限责任公司, 化学纯; 胆红素(Bilirubin, 含量 94%), 平顶山市东珠生物试剂有限公司; 黄体酮(Progesterone, 含量 98%), 上海晶纯试剂有限公司; 其他试剂均为市售分析纯.

UV-2602 分光光度计(上海尤尼柯公司), PHS-2 型酸度计(上海第二分析仪器厂), DDS-11Ar 数字电导率仪(上海雷磁新汀仪器有限公司), THZ-92C 型气浴恒温振

荡器(上海博迅实业有限公司医疗设备厂)。

2.2 PEI/SiO₂的制备及表征

按文献[13]的步骤制备接枝微粒材料 PEI/SiO₂: 首先用甲烷磺酸水溶液对硅胶进行活化处理, 然后以二甲苯为溶剂, 加入少量水, 与 γ -氯丙基三甲氧基硅烷在 80 °C 反应, 制得氯丙基化的硅胶(MPS-SiO₂), 将其置于一

定浓度的聚乙烯亚胺水溶液中, 90 °C 下反应, 制得 PEI/SiO₂ 复合吸附材料, 并通过盐酸电滴定法测定复合载体上的胺基含量, 进一步计算出硅胶上 PEI 的接枝量(g/g)。接枝微粒材料 PEI/SiO₂ 的制备过程如图 1 所示, 由于 PEI 大分子具有支链结构, 因此在 SiO₂ 表面的接枝方式可有图 1 所示的两种形式。

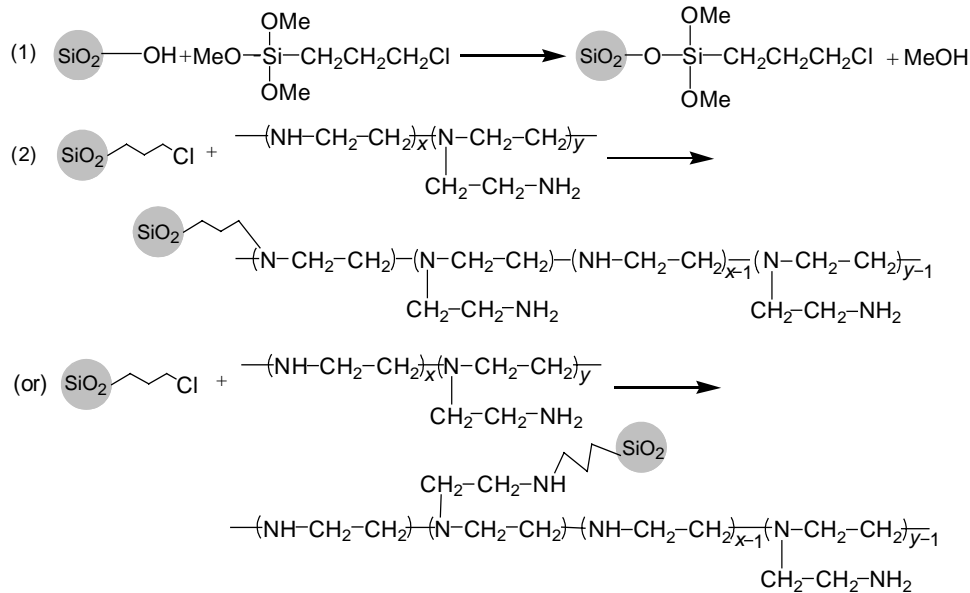


图 1 制备复合材料 PEI/SiO₂ 的化学反应过程

Fig.1 The synthesis route of composite material PEI/SiO₂

2.3 胆红素印迹材料 MIP-PEI/SiO₂ 的制备

称取 1 g PEI/SiO₂ 与 50 mL 浓度为 500 mg/L 的胆红素溶液(pH 7.4)混合, 在恒温振荡器中振荡, 吸附达平衡抽滤. 将一定量饱和吸附胆红素的 PEI/SiO₂ 置于乙醇水溶液(乙醇体积分数 0.5)中, 用稀 NaOH 溶液调节体系 pH 为 8, 加入一定量 EGDE, 50 °C 下搅拌 8 h. 反应结束后, 用 EDTA 与 NaOH 混合溶液反复洗涤, 除去模板分子胆红素, 抽滤制得胆红素印迹材料 MIP-PEI/SiO₂.

2.4 MIP-PEI/SiO₂ 对胆红素的结合性能

2.4.1 胆红素吸附液的配制

在避光条件下称取一定量胆红素, 用少量浓度为 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液将其溶解, 转移到 100 mL 容量瓶中, 用 pH 7.4 的磷酸缓冲溶液稀释至刻度混匀, 然后再定量转移, 配制浓度系列变化的胆红素吸附液.

2.4.2 动力学曲线测定

准确称取 0.2 g 左右的印迹材料 MIP-PEI/SiO₂ 微粒, 加入到 10 mL 一定浓度的胆红素溶液中, 在恒温 37 °C 下避光振荡, 同时以空白为对照. 吸附一定时间后, 吸取上层清液, 稀释后用分光光度法(438 nm)测定胆红素浓度, 按式(1)计算胆红素的吸附量 Q (mg/g), 并绘制吸附量-时间关系曲线, 考察 PEI/SiO₂ 及

MIP-PEI/SiO₂ 与胆红素的结合速度, 确定吸附达到平衡的时间.

$$Q = (C_0 - C_t)V / (1000m), \quad (1)$$

式中, C_0 是胆红素溶液的初始浓度(mg/L), C_t 是上层清液中胆红素的浓度(mg/L), V 是胆红素溶液的体积(L), m 是吸附材料 MIP-PEI/SiO₂ 的质量(g).

2.4.3 等温结合线的测定

在恒定温度 37 °C 下, 将 0.2 g MIP-PEI/SiO₂ 分别加入到初浓度不同的 10 mL 胆红素溶液中, 避光振荡达到吸附平衡, 吸取上层清液, 稀释后测定平衡浓度, 由式(2)计算平衡吸附量 Q_e (mg/g), 并绘制平衡结合量-平衡浓度关系曲线.

$$Q_e = (C_0 - C_e)V / (1000m), \quad (2)$$

式中, C_e 为吸附后溶液中胆红素的平衡浓度(mg/L).

依同样方法绘制接枝微粒 PEI/SiO₂ 对胆红素的吸附等温曲线. 为考察印迹材料 MIP-PEI/SiO₂ 对胆红素的识别性能, 选择黄体酮作对比物. 黄体酮与胆红素(化学结构见图 2)同时存在于血清中, 分子量分别为 314 和 584, 分子大小基本相同. 按上述方法测定了 MIP-PEI/SiO₂ 与接枝微粒 PEI/SiO₂ 对黄体酮的等温吸附线.

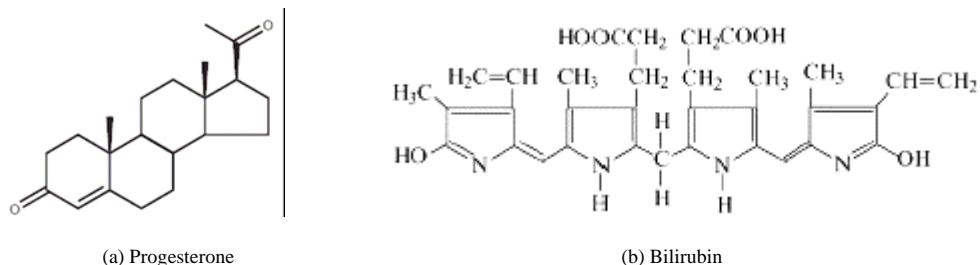


图 2 黄体酮和胆红素的化学结构
Fig.2 Chemical structures of progesterone and bilirubin

2.4.4 动态结合性能测定

室温条件下, 将 1.3278 g MIP-PEI/SiO₂ 在蒸馏水中溶胀后装在玻璃填充柱内, 松紧适宜, 使床体积 V₀ 为 2 mL. 将浓度为 500 mg/L 的胆红素溶液以 5V₀/h 的流速逆流通过填充柱, 以 1V₀ 的间隔收集流出液, 测定流出液中胆红素的浓度, 绘制动态结合曲线, 并确定 MIP-PEI/SiO₂ 对胆红素的泄漏吸附量与饱和吸附量.

2.4.5 洗脱性能考察

将已饱和吸附胆红素的 MIP-PEI/SiO₂ 装柱, 在室温条件下用 EDTA 与 NaOH 的混合溶液洗脱, 以 2V₀/h

的流速逆流通过填充柱, 进行解吸实验, 以 1V₀ 间隔收集洗出液, 测定洗出液中胆红素分子的浓度, 绘制解吸曲线, 考察洗脱程度.

3 结果与讨论

3.1 接枝微粒 PEI/SiO₂ 表面印迹胆红素的过程与机理

聚乙烯亚胺 PEI 是一种水溶性的聚胺, 分子链中有大量胺基(伯、仲、叔胺基比例为 1:2:1), 这些胺基在水溶液中(尤其在酸性溶液中)会被大量地质子化, 因此, PEI 往往被视为阳离子聚电解质. 而胆红素分子中含有

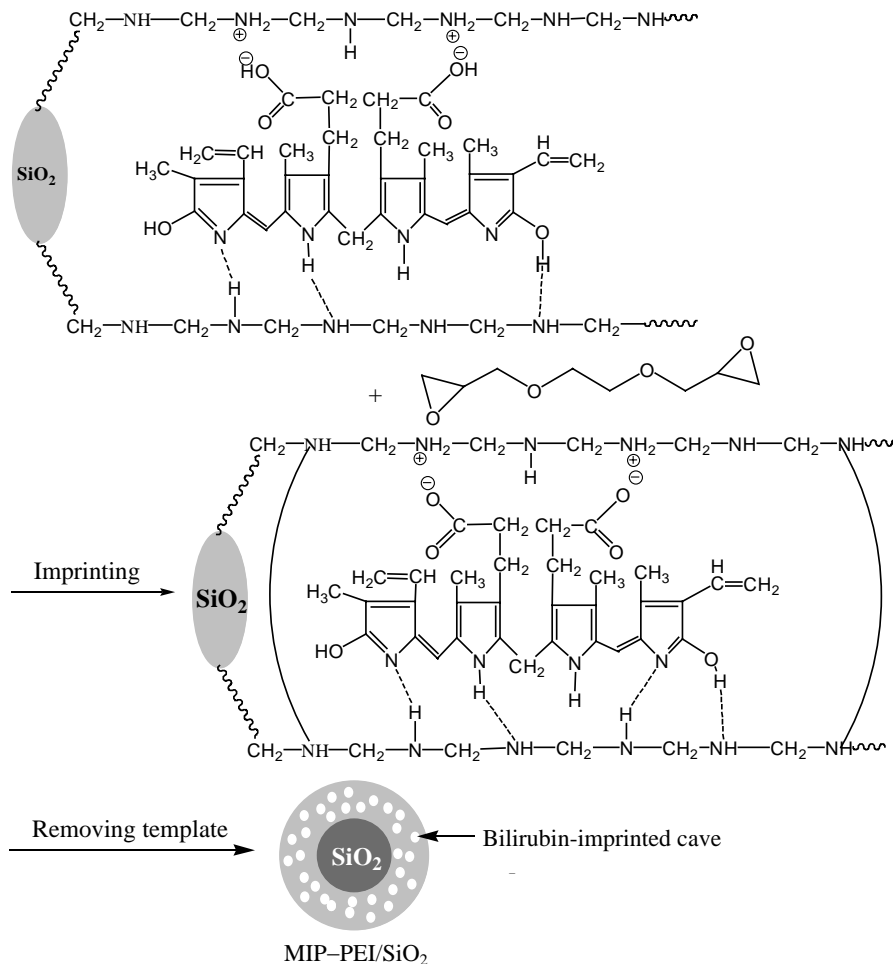


图 3 制备复合材料 MIP-PEI/SiO₂ 的化学反应过程
Fig.3 Schematic representation of preparing process of composite material MIP-PEI/SiO₂

2 个丙酸基, 在水溶液中电离度较大($pK_a=4.2\sim 4.5$), 形成酸基阴离子; 分子中还含有数个胺基与亚胺基. 接枝在 PEI/SiO₂ 表面上的 PEI 在水介质中充分溶胀后, 与胆红素之间会产生很强的静电作用^[14], 还会产生氢键作用, 对胆红素将产生强的吸附作用, 大量的胆红素分子将被吸附到接枝微粒表面, 这时加入交联剂 EGDE, 在 NaOH 存在下, 交联剂上的环氧基团会与 PEI 大分子中的胺基发生开环反应, PEI 大分子被交联, 胆红素分子则被包裹在交联网络中, 从而实现了胆红素的分子印迹. 洗去模板分子胆红素后, 在硅胶表面的聚合物薄层中留下了大量胆红素的空穴, 形成了印迹材料 MIP-PEI/SiO₂, 其制备过程可示意地用图 3 表示.

3.2 吸附动力学曲线

图 4 为 MIP-PEI/SiO₂ 与 PEI/SiO₂ 两种吸附材料的吸附动力学曲线. 从图可以看出, 随吸附时间的增加, 2 种吸附材料对胆红素的吸附量不断上升. 90 min 后 PEI/SiO₂ 的吸附量增加缓慢, 120 min 时基本达到吸附平衡; MIP-PEI/SiO₂ 的吸附量相对增加较快, 75 min 后基本达到平衡, 表明印迹材料具有较快的吸附速率, 说明 MIP-PEI/SiO₂ 表面的胆红素印迹孔穴及孔道很浅, 胆红素分子扩散阻力小, 很容易进入印迹孔穴与结合位点相接触, 充分显示了硅胶表面修饰的分子印迹技术的优势所在. 后续等温吸附实验中分别取 120 和 75 min 作为吸附材料 PEI/SiO₂ 和 MIP-PEI/SiO₂ 的平衡吸附时间.

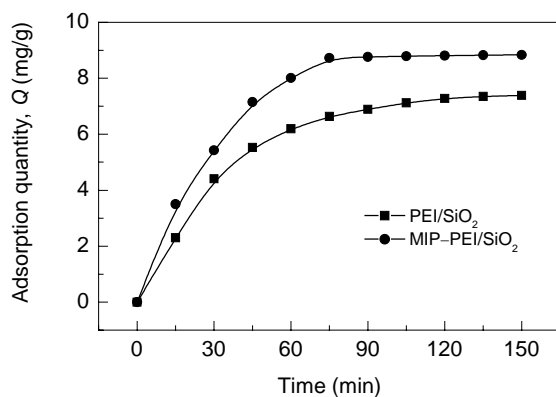


图 4 PEI/SiO₂ 和 MIP-PEI/SiO₂ 的胆红素吸附动力学曲线
Fig.4 Adsorption kinetic curves of PEI/SiO₂ and MIP-PEI/SiO₂ for bilirubin

3.3 MIP-PEI/SiO₂ 对胆红素的识别特性

3.3.1 吸附等温线

图 5 为 PEI/SiO₂ 对胆红素及黄体酮两种分子的吸附等温线. 由图可知: (1) 随溶液中胆红素平衡浓度的增大, 接枝微粒对胆红素的平衡吸附量不断增加, 饱和吸附量为 16.5 mg/g, 高的吸附容量表明 PEI/SiO₂ 对胆红素具有强的吸附作用; (2) 随溶液中黄体酮平衡浓度增

大, 接枝微粒 PEI/SiO₂ 对黄体酮的平衡吸附量也不断增加, 饱和吸附量为 13.4 mg/g, 说明接枝微粒 PEI/SiO₂ 对黄体酮也有一定强度的吸附作用. 黄体酮分子中的羰基氧与 PEI 分子链上的胺基之间形成氢键, 导致微粒 PEI/SiO₂ 对黄体酮产生吸附作用.

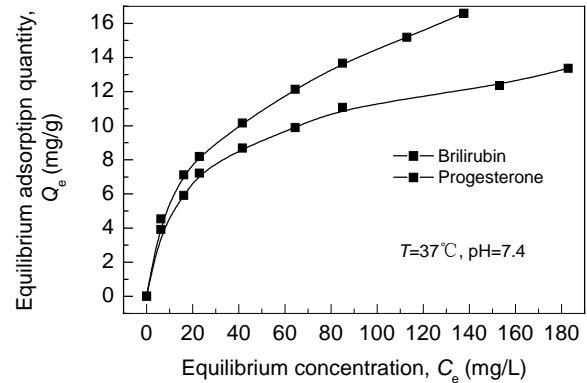


图 5 PEI/SiO₂ 对胆红素、黄体酮的吸附等温线
Fig.5 Adsorption isotherms of PEI/SiO₂ for bilirubin and progesterone

将平衡吸附量与平衡浓度数据按 Freundlich 方程 $Q_e=KC_e^n$ 的对数形式 $\ln Q_e=\ln K+n\ln C_e$ 进行线性回归处理, 得到图 6 的直线, 回归系数 $R=0.9991$, 表明胆红素在接枝微粒 PEI/SiO₂ 表面的吸附能较好地满足 Freundlich 等温吸附方程式, 属于单分子层吸附.

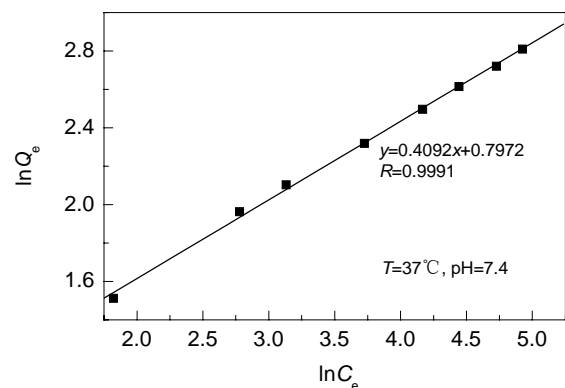


图 6 PEI/SiO₂ 平衡吸附量与胆红素平衡浓度的对数关系
Fig.6 Logarithm relationship between adsorption capacity and equilibrium concentration of bilirubin

由于接枝微粒 PEI/SiO₂ 对胆红素具有较强的吸附作用, 可在此基础上进一步进行分子印迹, 制备对胆红素分子具有识别选择性的分子印迹材料.

图 7 为 MIP-PEI/SiO₂ 对胆红素及黄体酮的吸附等温线. 从图可知: (1) 经胆红素印迹后, MIP-PEI/SiO₂ 对胆红素的饱和吸附量为 17.5 mg/g, 比印迹前 PEI/SiO₂ 对胆红素的饱和吸附量略有增加; (2) 印迹后

MIP-PEI/SiO₂对黄体酮的吸附量大为降低,饱和吸附量仅为 1.42 mg/g. 充分表明印迹材料 MIP-PEI/SiO₂对胆红素具有高度的识别选择性与结合亲和性,而对黄体酮分子基本不识别、不结合,原因在于在 MIP-PEI/SiO₂表面聚合物薄层内分布有大量胆红素的印迹孔穴,这些空穴在分子大小、空间结构和作用位点等方面与胆红素分子是完全匹配的,对胆红素产生强的吸附作用;虽然黄体酮分子比胆红素分子小,但这些空穴与黄体酮分子无论是空间结构还是作用位点都不能完全匹配,故在 MIP-PEI/SiO₂表面聚合物薄层内的空穴对黄体酮分子的结合能力很弱,导致印迹微粒对胆红素吸附容量有所增加,而对黄体酮的吸附能力却大大降低,使 MIP-PEI/SiO₂对胆红素分子具有特异的识别能力.

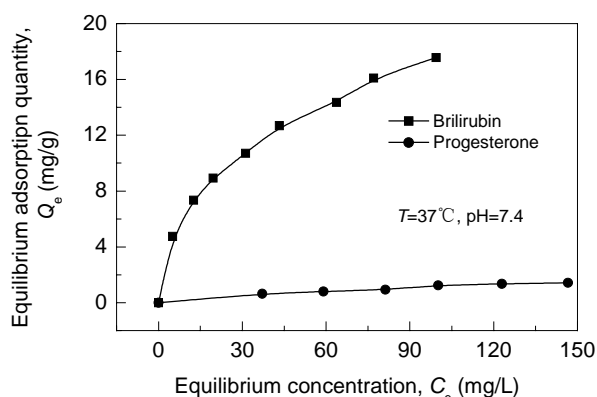


图7 MIP-PEI/SiO₂对胆红素与黄体酮的吸附等温线
Fig.7 Adsorption isotherms of MIP-PEI/SiO₂ for bilirubin and progesterone

3.3.2 动态结合曲线

图8为PEI/SiO₂对胆红素及黄体酮的动态吸附曲线.由图可知,当胆红素溶液以 5V₀/h 的流速逆流通过 PEI/SiO₂填充柱时,在 17V₀开始泄漏,经计算,泄漏吸附量为 12.34 mg/g,饱和吸附量为 18.96 mg/g;相同浓

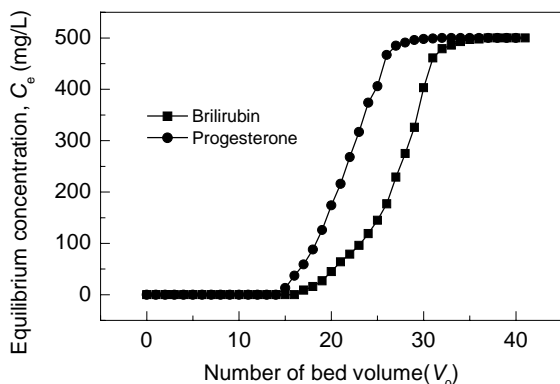


图8 PEI/SiO₂对胆红素、黄体酮的动态结合曲线
Fig.8 Breakthrough curves of bilirubin and progesterone on PEI/SiO₂ column

度的黄体酮溶液以同样流速流过时,在 15V₀开始泄漏,经计算,泄漏吸附量为 11.27 mg/g,饱和吸附量为 15.79 mg/g.可以看出接枝微粒 PEI/SiO₂对两者的动态吸附容量差别不很显著.

图9为MIP-PEI/SiO₂对胆红素及黄体酮的动态吸附曲线.从图看到,当胆红素溶液以 5V₀/h 的流速逆流通过 MIP-PEI/SiO₂填充柱时,在 19V₀开始泄漏,经计算,泄漏吸附量为 14.31 mg/g,饱和吸附量为 19.94 mg/g;相同浓度的黄体酮溶液以同样流速流过时,在 2V₀就开始泄漏,经计算,泄漏吸附量为 1.42 mg/g,饱和吸附量仅为 2.52 mg/g.从动态吸附的实验数据同样可以看出,印迹前的接枝微粒 PEI/SiO₂对2种分子的动态吸附量相差不大;但印迹后的 MIP-PEI/SiO₂对黄体酮吸附量很低,而对模板分子胆红素却具有强的吸附能力,表现出优良的分子识别选择性.这再一次表明,胆红素表面分子印迹材料 MIP-PEI/SiO₂是一种高性能的分子识别材料.

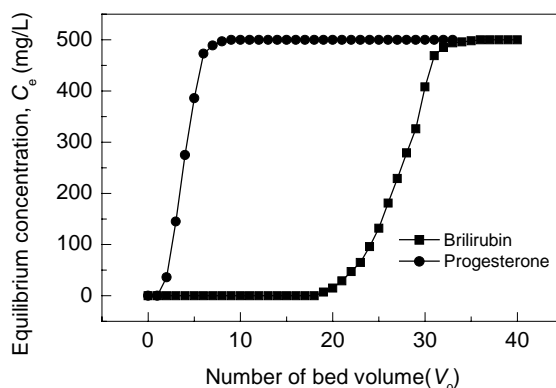


图9 MIP-PEI/SiO₂对胆红素、黄体酮的动态吸附曲线
Fig.9 Breakthrough curves of bilirubin and progesterone on MIP-PEI/SiO₂ column

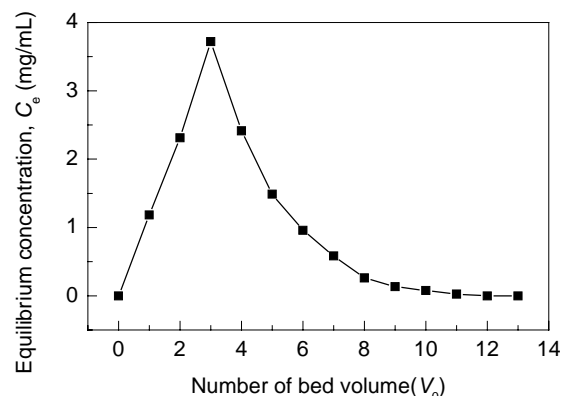


图10 MIP-PEI/SiO₂柱中胆红素的动态解吸曲线
Fig.10 Elution curves of bilirubin on MIP-PEI/SiO₂ column

3.4 MIP-PEI/SiO₂的脱附性能

图10为MIP-PEI/SiO₂的动态解吸曲线。由图可知,脱附曲线尖锐无拖尾,经计算,8V₀内解吸率达97.60%,11V₀内解吸率达99.39%。充分说明被结合在印迹材料MIP-PEI/SiO₂上的胆红素由于分布在聚合物表层而具有优良的解吸性能。该印迹材料经9次重复使用后,对胆红素的饱和吸附量仍保持在16.2~17.3 mg/g,说明其再生和重复使用性能良好。

4 结论

(1) 以胆红素为模板分子,乙二醇二缩水甘油醚为交联剂,成功地在接枝有聚乙烯亚胺的硅胶表面实施了胆红素分子的表面印迹,制得了高性能的印迹材料MIP-PEI/SiO₂,且具有良好的再生与重复使用性能。

(2) MIP-PEI/SiO₂因表面的聚合物薄层内分布有大量的印迹空穴而对胆红素具有高度的识别选择性与优良的结合亲和性,而黄体酮分子由于与空穴的结合位点与空间构型均不匹配,MIP-PEI/SiO₂对其结合量很低。MIP-PEI/SiO₂的印迹空穴分布在微粒表面的聚合物膜层中,导致结合在MIP-PEI/SiO₂上的胆红素洗脱性能良好。

参考文献:

- [1] Hsieh R Y, Tsai H A, Syu M J. Designing a Molecularly Imprinted Polymer as an Artificial Receptor for the Specific Recognition of Creatinine in Serums [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(9): 2083–2089.
- [2] Shinkai S, Takeuchi M. Molecular Design of Synthetic Receptors with Dynamic, Imprinting, and Allosteric Functions [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2004, 20(6): 1250–1259.
- [3] Syu M J, Chiu T C, Lai C Y, et al. Amperometric Detection of Bilirubin from a Micro-sensing Electrode with a Synthetic Bilirubin Imprinted Poly(MAA-co-EGDMA) Film [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2006, 22(4): 550–557.
- [4] Syu M J, Nian Y M. An Allosteric Model for the Binding of Bilirubin to the Bilirubin Imprinted Poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethylacrylate) [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2005, 539(1/2): 97–106.
- [5] Araki K, Maruyama T, Kamiya N, et al. Metal Ion-selective Membrane Prepared by Surface Molecular Imprinting [J]. *J. Chromatogr. B*, 2005, 818(2): 141–145.
- [6] Brüggemann O, Visnjeviski A, Burch R, et al. Selective Extraction of Antioxidants with Molecularly Imprinted Polymers [J]. *Anal. Chim. Acta*, 2004, 504(1): 81–88.
- [7] Gao B J, An F Q, Zhu Y. Novel Surface Ionic Imprinting Materials Prepared via Couple Grafting of Polymer and Ionic Imprinting on Surfaces of Silica Gel Particles [J]. *Polymer*, 2007, 48(8): 2288–2297.
- [8] Gao B J, Wang J, An F Q, et al. Molecular Imprinted Material Prepared by Novel Surface Imprinting Technique for Selective Adsorption of Pirimicarb [J]. *Polymer*, 2008, 49(5): 1230–1238.
- [9] Asano T, Tsuru K, Hayakawa S, et al. Bilirubin Adsorption Property of Sol-Gel-derived Titania Particles for Blood Purification Therapy [J]. *Acta Biomaterialia*, 2008, 4(4): 1067–1072.
- [10] Baydemir G, Bereli N, Anda M, et al. Bilirubin Recognition via Molecularly Imprinted Supermacroporous Cryogels [J]. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 2009, 68(1): 33–38.
- [11] Huang C Y, Syu M J, Chang Y S, et al. A Portable Potentiostat for the Bilirubin-specific Sensor Prepared from Molecular Imprinting [J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2007, 23(8): 1694–1699.
- [12] Syu M J, Nian Y M, Chang Y S, et al. Ionic Effect on the Binding of Bilirubin to the Imprinted Poly(methacrylic acid-co-ethylene glycol dimethylacrylate) [J]. *J. Chromatogr. A*, 2006, 1122(1/2): 54–62.
- [13] Gao B J, An F Q, Liu K K. Studies on Chelating Adsorption Properties of Novel Composite Material Polyethyleneimine/Silica Gel for Heavy-metal Ions [J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2006, 253(4): 1946–1952.
- [14] Gao B J, Lei H B, Jiang L D, et al. Studies on Preparing and Adsorption Property of Grafting Terpolymer Microbeads of PEI-GMA/AM/MBA for Bilirubin [J]. *J. Chromatogr. B*, 2007, 853(1/2): 62–69.

Preparation of Molecular Surface Imprinting Material and Its Identification Properties for Bilirubin

CHEN Zhi-ping, GAO Bao-jiao, YANG Xiao-feng, LI Yan-bin

(Department of Chemical Engineering, North University of China, Taiyuan, Shanxi 030051, China)

Abstract: Polyethyleneimine (PEI) was grafted onto the surface of silica gel particles via the coupling effect of 3-methacryloxypropyl trimethoxysilane (MPS), and the grafted particle PEI/SiO₂ was prepared. Then, the molecular imprint polyethyleneimine on the surface of silica gel, MIP-PEI/SiO₂, was prepared with bilirubin as a template molecule and ethylene glycol diglycidyl ether (EGDE) as crosslinking agent by using novel molecular surface imprinting technique. Both static and dynamic methods were adopted to study the identification properties of MIP-PEI/SiO₂ for bilirubin. The experimental results show that MIP-PEI/SiO₂ has higher selectivity ability and excellent combination property for bilirubin. Besides, MIP-PEI/SiO₂ has excellent elution property, with the mixed solvent of EDTA and NaOH as the eluent, the desorption ratios of bilirubin reach 99.39% in 11 bed volumes.

Key words: polyethyleneimine; silica gel; molecular imprint; surface imprint; bilirubin