

辣椒碱分子印迹聚合物的合成研究

俞远志,刘赫扬

(浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023)

摘要: 为得到吸附性能优异且易于应用的辣椒碱分子印迹聚合物,对聚合体系及单体和交联剂的比例等进行了实验研究。通过比较聚合物形态和对模板分子的吸附能力大小,最终选择以 α -甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,以乙二醇二甲基丙烯酸酯(EDMA)为交联剂(MAA 与 EDMA 的摩尔比为 1 : 4),在以 AIBN 为引发剂的条件下,沉淀聚合合法合成辣椒碱分子印迹聚合物。合成得到的聚合物 MIP1 经电镜扫描知其为形态均一的微球,粒径在 500~1 000 nm。平衡吸附实验表明,聚合物 MIP1 对辣椒碱的吸附能力,在辣椒碱初始质量浓度为 0.03~0.8 mg/mL 范围内,均明显高于其空白印迹聚合物 NIP1,说明 MIP1 对辣椒碱的吸附作用为特异性吸附,可进一步应用于固相萃取等样品预处理中。

关键词: 辣椒碱;分子印迹;合成

中图分类号: TQ464.4; TQ316.33

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2015)06-0521-05

Study on synthesis of capsaicin molecularly imprinted polymers

YU Yuanzhi, LIU Heyang

(School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology,
Hangzhou 310023, China)

Abstract: To obtain capsaicin molecularly imprinted polymer with excellent adsorption which can be widely used, the reaction conditions such as polymerization systems and the molar ration of function monomer to cross-linker have been optimized. By comparing the morphologies and adsorption capabilities for capsaicin, a new method using MAA as functional monomer and EDMA as cross-linker (molar ratio of MAA to EDMA is 1 : 4) and AIBN as initiator by precipitation polymerization have been established. Scanning electron microscopy (SEM) showed that the molecularly imprinted polymer microspheres(MIP1) synthesized were uniformly globular and the particle size was in the range of 500 nm to 1 000 nm. The equilibrium adsorption

收稿日期: 2015-05-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(21306177);浙江省公益性技术应用研究计划项目(2013C37044)

作者简介: 俞远志(1976—),女,浙江省桐乡人,工程师,硕士,主要从事天然产物提取、分离及检测研究。

experiments showed that the adsorption efficiency of MIP1 had favorable higher binding ability for capsaicin compared with NIP1 in the capsaicin initial concentration range of 0.03 to 0.8 mg/mL. The results showed that MIP1 possesses the specific adsorptivity toward the template molecule, which can be further used in the solid phase extraction for separation and enrichment.

Key words: capsaicin; molecularly imprinted polymer; synthesis

辣椒碱(capsaicin)是辣椒中的主要辣味成分,是一种含香草酰胺的生物碱,结构见图 1。它具有镇痛、抗炎、抗氧化、保护心肌及调节血压等作用,在食品、医疗、农业和军事等领域均得到广泛应用^[1]。目前,有多篇报道将辣椒碱类物质作为检测食用油品质的一个重要的外源性污染指标^[2-4],而如何从油样中选择性地富集微量辣椒碱是提高检测灵敏度和准确性的重要环节之一。分子印迹技术是一种新型的可与固相萃取等技术联用的样品预处理手段^[5-7],它通过与模板分子之间的预组装过程产生相互作用位点,对模板具有高度辨识性,因此,能用于解决复杂样品中目标物质富集困难的问题。分子印迹材料合成过程简单,通过改变聚合条件可得到不同粒径的印迹材料^[8],便于操作。

本研究以辣椒碱为模板分子,以制备能用于固相萃取的材料为主要目标,根据辣椒碱分子结构,在已有报道的基础上^[9],选择能与酰胺基团发生氢键作用的 α -甲基丙烯酸(MAA)为功能单体,与丙烯酰胺(AM)为功能单体的合成物进行对比,采用试错法得到合适的聚合反应方法和条件,并对所合成印迹材料的吸附性能进行了初步的研究。

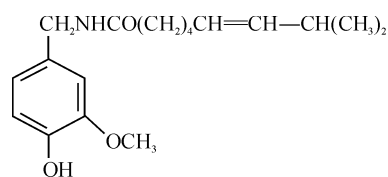


图 1 辣椒碱的分子结构

Fig. 1 Molecular structure of capsaicin

1 实验部分

1.1 仪器、材料与试剂

S-4700 型扫描电子显微镜(日本日立公司),F-4500 荧光分光光计(日本日立公司),THZ-C-1 台式冷冻恒温振荡器(太仓市实验设备厂),TG16-WS 台式高速离心机(湖南湘仪集团)。

辣椒碱标准品购自阿拉丁公司,纯度>95%。乙二醇二甲基丙烯酸酯(EDMA)购自上海聚瑞实业有限公司;MAA,纯度>99%,使用前除阻聚剂;AM(分析纯)购自阿拉丁公司;偶氮二异丁腈(AIBN,分析纯),使用前用无水乙醇进行重结晶。其他溶剂均为分析纯。

1.2 辣椒碱分子印迹聚合物的制备

称取一定量的辣椒碱于圆底烧瓶中,加入一定量溶剂溶解,然后加入一定量单体 MAA 或 AM 和交联剂 EDMA 及一定量引发剂 AIBN,充分溶解后,向混合液中通氮气 10 min,密封后置于 60 °C 恒温油浴中,在磁力搅拌下热引发聚合 16 h。

待反应结束后,将聚合产物取出冷却至室温,若产物是块状固体则分离后加以碾磨,若产物是微球则采用高速离心法分离。用大量甲醇-乙酸(体积比 9:1)溶液洗去印迹分子和未聚合的功能单体和交联剂,重复 3 次,直至洗脱液中检测不到印迹分子,再用等量的丙酮洗涤,最后于 35 °C 真空烘箱中干燥直至恒质量得印迹聚合物(MIP),计算产率。按同样方法不加辣椒碱制得空白聚合物(NIP)。

$$\text{产率} = \frac{\text{印迹聚合物质量}}{\text{功能单体和交联剂总质量}} \times 100\%$$

1.3 辣椒碱的定量分析

辣椒碱检测的荧光条件为:激发波长 λ_{ex} 为 282.0 nm,发射波长 λ_{em} 为 313.0 nm;激发狭缝和发射狭缝均为 5.0 nm;光电管负高压为 400 V;采用标准曲线法定量。准确配制辣椒碱标准品储备液 1.0 mg/mL,乙腈作溶剂;稀释储备液并分别配制成 2.0、4.0、6.0、8.0、10.0、12.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作

液,对辣椒碱质量浓度-荧光强度进行线性回归得到标准曲线方程。

1.4 印迹材料对模板分子的平衡吸附实验

称取一组等量的 MIP 和 NIP 各 20.0 mg,分别置于离心管中,各加入配制好的初始质量浓度 C_0 分别在一定范围内的辣椒碱标准品溶液 2 mL,密封,置于恒温振荡器中保持 30 ℃ 振荡 24 h,离心沉降,测定上清液中辣椒碱的平衡质量浓度 C ,平行测定一次,结合前后质量浓度的变化,计算单位质量聚合物对印迹分子的结合量 $Q(\text{mg/g})$,得到印迹聚合物对辣椒碱的吸附等温线。

2 结果与讨论

2.1 印迹聚合物制备结果分析

按表 1 聚合条件分别以 MAA 和 AM 为单体进行了 6 组印迹聚合物制备实验,结果如表 2 所示。MIP4 及 MIP5 是按传统的本体聚合法,即单体和交联剂占溶剂体积的 5 %,制备得到的聚合物为块状固体。为了得到可直接使用的印迹微球,改用沉淀法进行聚合,增加反应液中溶剂及致孔剂的体积,并减少引发剂的加入量,当单体和交联剂体积分数减至 2 %~2.5 %时,AM-EDMA 体系反应结束后无固体颗粒析出(MIP6),而 MAA-EDMA 体系则得到了形态均一的聚合物微球(MIP1 和 MIP2),粒径为 500~1 000 nm,见图 2。

表 1 聚合条件

Table 1 Preparation of molecularly imprinted microspheres

聚合物编号	模板分子/mmole	MAA/mmole	AM/mmole	EDMA/mmole	溶剂/mL
MIP1	0.1	0.35		1.4	15(CH ₃ CN)
NIP1		0.35		1.4	15(CH ₃ CN)
MIP2	0.1	0.1		0.5	5(CH ₃ CN)
NIP2		0.1		0.5	5(CH ₃ CN)
MIP3	0.1	1.1		1.1	16(CH ₃ CN)
MIP4	0.1	0.4		2.0	7(CH ₃ CN)
MIP5	0.1		0.4	2.0	8(CCL ₃)
NIP5			0.4	2.0	8(CCL ₃)
MIP6	0.1		0.4	2.0	16(CCL ₃)

注:AIBN 加入量,MIP1~MIP3 为单体和交联剂总量的 1.5 %;MIP4~MIP6 均为 2 %左右。

表 2 合成实验结果

Table 2 Results of synthetic experiments

聚合物编号	聚合物形态	产率/%
MIP1	微球	49.1
NIP1	微球	46.0
MIP2	微球	79.6
NIP2	微球	85.7
MIP3	—	—
MIP4	块状,硬度高	47.4
MIP5	块状,较脆	77.8
NIP5	块状	77.6
MIP6	—	—

注:—表示无固体析出。

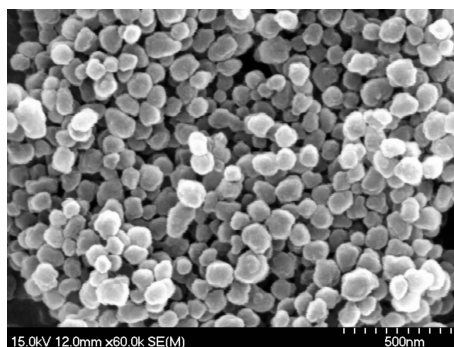


图 2 辣椒碱 MIP1 的 SEM 图

Fig. 2 SEM photograph of MIP1 of capsaicin

固定引发剂的用量后,聚合物的形态主要由聚合体系中单体和交联剂的比例决定。改变 MAA-EDMA 体系中单体和交联剂的比例,当 MAA 对 EDMA 的摩尔比从 1:5(MIP2)增加至 1:1(MIP3)时,由于交联剂的含量过少已不足以维持聚合物形成一定的空间网络,因此,在 1:1 的条件下没有得到聚合物固体。

由表 2 可知,同一条件合成得到的印迹聚合物和空白聚合物产率基本一致,误差在 $\pm 7\%$ 以内。

2.2 辣椒碱的定量分析

由于辣椒碱具有荧光特征^[10],采用荧光法对辣椒碱进行快速定量。按 1.3 的方法对辣椒碱标准品进行荧光强度测试,得到辣椒碱标准曲线方程为:

$$I = 6.8883c - 4.1840$$

式中: I —荧光强度; c —辣椒碱质量浓度, $\mu\text{g/mL}$ 。 $R^2 = 0.9997$, 平均加标回收率为 101.9%。

2.3 聚合物吸附性能比较

为了进一步研究不同反应条件下的印迹聚合物的性能差异,按 1.4 进行静态平衡吸附实验,得到结果如表 3 所示。在辣椒碱初始质量浓度低于 1.0 mg/mL 情况下,随机选取了 2 组数据进行比较。由表 3 可知,印迹聚合物 MIP5 仅在初始质量浓度低于 0.1 mg/mL 的情况下有吸附,辣椒碱起始质量浓度增大后,吸附产生的质量浓度变化被高质量浓度的模板分子所掩盖,导致吸附量出现异常的 0 值;其对模板分子的结合量均低于 MIP1,并与空白印迹聚合物 NIP5 接近,可能与聚合反应产物是团状固体,虽经碾磨,但分子内结合的辣椒碱仍不易被完全去除、而外部的辣椒碱又不易进入有关。对于同样以 MAA 作为功能单体且用沉淀聚合法合成得到的 MIP1 和 MIP2 来讲,其所能结合的模板分子量有明显的增加,且均随着辣椒碱起始质量浓度的增加而上升,都远高于其空白印迹聚合物。但 MIP2 的结合能力弱于 MIP1,说明提高功能单体与模板分子的比例能产生更多的结合位点,使特异性吸附增加。

表 3 印迹聚合物对模板分子吸附能力的比较

Table 3 Comparison of adsorption capabilities of different molecularly imprinted polymers for capsaicin

辣椒碱初始质量浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	平衡结合量 $Q/(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$					
	MIP1	NIP1	MIP2	NIP2	MIP4	MIP5
0.06	2.15	0.62			—	1.26
0.10	2.76	1.16			—	1.35
0.40	11.2	1.70	3.25	1.60	—	—
0.60	13.0	2.31	6.78	1.34	—	—

注:—表示无结合量。

图 3 是 MIP1 和 NIP1 的等温吸附曲线。由图 3 可知,在辣椒碱初始质量浓度为 0.03~0.8 mg/mL 范围内,MIP1 的吸附量均随辣椒碱起始质量浓度的增加而增加,在 0.6 mg/mL 附近基本达到饱和。NIP1 除起始质量浓度增加时结合量有所增加外,很快就达到了吸附饱和,且结合量远低于 MIP1。表明印迹聚合物 MIP1 在吸附过程中对模板物质产生了特异性的吸附作用,而 NIP1 的吸附能力仅限于非特异性吸附作用。

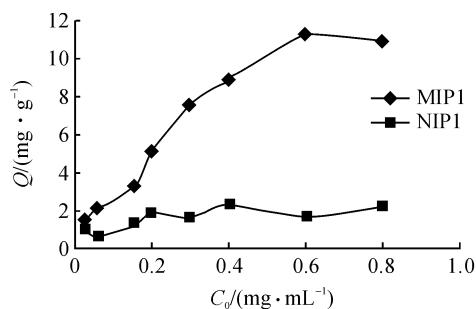


图 3 MIP1 和 NIP1 的等温吸附曲线

Fig. 3 Isotherm of capsaicin adsorption on MIP1 and NIP1

3 结 语

在对辣椒碱分子印迹聚合物的合成实验中,采用试错法比较了不同功能单体及同一体系单体与交联

剂比例不同对聚合反应结果的影响。采用沉淀聚合法合成得到了辣椒碱-MAA-EDMA 聚合物微球,平衡吸附实验证明该印迹聚合物对辣椒碱的结合能力明显优于辣椒碱-AM-EDMA 体系的传统本体聚合产物,且后处理简单便于使用。

参考文献:

- [1] 冯纪年,付健,韩明理. 辣椒碱的研究概述[J]. 西北农业学报,2005, 14(1): 84-87.
- [2] 王龙星,金静,王淑秋,等. 非正常食用油鉴别新方法(一):三种辣椒碱残留量的液相色谱-质谱分析[J]. 色谱,2012, 30(11): 1094-1099.
- [3] 张忠,任飞,张盼. 液-液萃取-液相色谱-串联质谱法测定“地沟油”中辣椒碱类化合物及丁香酚[J]. 色谱,2012, 30(11): 1108-1112.
- [4] 赵灿方,邓志芬,李琳,等. 地沟油中辣椒素的检测方法研究[J]. 中国卫生检验杂志,2014,24(18):2630-2633,2636.
- [5] Pebdani A A, Shabani A M, Dadfarnia S, et al. Solid phase microextraction of diclofenac using molecularly imprinted polymer sorbent in hollow fiber combined with fiber optic-linear array spectrophotometry[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2015,147:26-30.
- [6] Hu X G , Hu Y L, Li G K. Development of novel molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber and its application for the determination of triazines in complicated samples coupled with high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2007,1147(1): 1-9.
- [7] 李金花,温莹莹,陈令新. 分子印迹聚合物固相萃取研究进展[J]. 色谱,2013,31(3): 181-184.
- [8] Yoshimatsu K, Reimhult K, Krozer A, et al. Uniform molecularly imprinted microspheres and nanoparticles prepared by precipitation polymerization: The control of particle size suitable for different analytical applications[J]. Analytica Chimica Acta, 2007,584(1): 112-121.
- [9] 王遵臣,于海宁,沈生荣,等. 辣椒素分子印迹聚合物的制备及其在固相萃取中的应用[J]. 食品科学,2013, 34(12): 45-50.
- [10] 俞蔚,雍克岚. 辣椒素的荧光特征研究[J]. 食品科学,2003, 24(11): 105-108.