

# 17 $\beta$ - 雌二醇乙酸纤维分子印迹复合膜的制备及性能研究

刘美华<sup>1</sup>, 邱彬<sup>2</sup>, 陈国南<sup>2</sup>, 陈曦<sup>2,3</sup>

(1. 福建师范大学福清分校, 福建 福清 350300 ;

2. 福州大学 食品安全分析与检测教育部重点实验室, 化学化工学院, 福建 福州 350002 ;

3. 厦门大学 海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005)

**摘要:** 以多孔乙酸纤维膜为载体, 17 $\beta$  - 雌二醇为模板, 采用紫外光引发制备了17 $\beta$  - 雌二醇乙酸纤维分子印迹复合膜。试验对膜的选择吸附性和分离透过性进行了探讨。实验结果表明, 所合成的乙酸纤维分子印迹复合膜对模板分子17 $\beta$  - 雌二醇具有较好的选择吸附性, 吸附量达10.2  $\mu$  mol/g; 17 $\beta$  - 雌二醇/17 $\alpha$  - 炔雌醇的分离因子为4.7。膜透过实验表明, 该分子印迹复合膜能将17 $\beta$  - 雌二醇与17 $\alpha$  - 炔雌醇分离开, 表明17 $\alpha$  - 炔雌醇作为结构类似物在复合膜上的结合牢固性不如模板分子。

**关键词:** 乙酸纤维膜, 17 $\beta$  - 雌二醇, 分子印迹复合膜

中图分类号: TQ 028.8 文献标识码: A 文章编号: 1009-8143(2011)06-0001-05

## Study on synthesis and application of 17 $\beta$ - Estradiol molecularly imprinted composite membrane

Liu-Mei-hua<sup>1</sup>, Qiu Bin<sup>2</sup>, Chen Guo-nan<sup>2</sup>, Chen Xi<sup>2,3</sup>

(1. Fuqing Branch of Fujian Normal University, Fuqing, Fujian, 350300, China ;

2. Key Laboratory of Analysis and Detection Technology for Food Safety (Fuzhou University), Ministry of Education, Department of Chemistry, Fuzhou University, Fuzhou, Fujian, 350002, China ;

3. State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian, 361005, China)

**Abstract:** In this paper, the 17 $\beta$  - Estradiol molecularly imprinted composite membrane through UV initiation was prepared by using porous cellulose acetate membrane as support. The selective binding properties and separation capacity of the membranes were investigated. The results showed that the 17 $\beta$  - Estradiol molecularly imprinted composite membrane had high binding capacity for 17 $\beta$  - Estradiol, the binding amount Q for 17 $\beta$  - Estradiol was 10.2  $\mu$  mol/g and separation factor was 4.7 for 17 $\beta$  - Estradiol/ 17 $\alpha$  - ethinylestradiol. Permeation experiment results showed that the molecularly imprinted composite membrane could separate 17 $\beta$  - Estradiol from 17 $\alpha$  - ethinylestradiol. The bonding force between 17 $\alpha$  - ethinylestradiol and the membrane was weaker than the template.

**Keywords:** cellulose acetate membrane, 17 $\beta$  - Estradiol, molecularly imprinted composite membrane.

分子印迹(molecular imprinting, 简称 MIP)技术产生于 20 世纪 70 年代, 由于其对模板分子具有预定性、特异选择性, 广泛应用于色谱固定相、固相萃取、膜分离、免疫分析、抗体模拟、仿生传感器等领域<sup>[1]</sup>。分子印迹聚合物膜 (molecular imprinting

membrane, 简称 MIM)<sup>[2]</sup>与传统膜比较, 具有操作简便、稳定性好、耗能少、具备选择识别性、可反复使用等优点。S.A. Piletsky<sup>[3]</sup>以多孔聚丙烯膜为支撑体制备了具有较好的韧性和机械性能 of 分子印迹复合膜。近年来, 我国对分子印迹膜也有一些相关

收稿日期: 2011-5-18

基金项目: 福建省教育厅 B 类项目(JB09241)

作者简介: 刘美华(1978-), 女, 讲师, 博士, 研究方向: 食品安全与药物化学、食品加工与贮藏技术. E-mail: foodsafety6@126.com

的研究报道。左言军等人<sup>[4]</sup>采用电化学聚合法首次合成了对有机磷毒剂沙林有快速响应和高灵敏度的分子印迹纳米膜。刘玉坤等人<sup>[5]</sup>用溶液自由基聚合法制备以尿嘧啶为模板分子的丙烯腈,甲基丙烯酸共聚物分子印迹膜。

多孔乙酸(醋酸)纤维膜具有较大的比表面积和良好的吸附性能。钟世安等<sup>[6]</sup>以醋酸纤维膜为支撑体,(S)-萘普生为模板分子,制得醋酸纤维-(S)-萘普生分子印迹复合膜。张春静等<sup>[7]</sup>采用多孔醋酸纤维膜为支撑体,制备了奎宁分子印迹复合膜。

17 $\beta$ -雌二醇(17 $\beta$ -Estradiol)是一种内源性雌激素,可通过人类和动物的代谢产物进入环境,影响环境生物的生殖系统形态与功能<sup>[8]</sup>。关于17 $\beta$ -雌二醇的分子印迹技术的研究已有一些报道<sup>[9-14]</sup>。但以乙酸纤维为载体合成17 $\beta$ -雌二醇的分子印迹复合膜的研究尚未见报道。

本实验以乙酸纤维膜为支撑体,选用17 $\beta$ -雌二醇作为模板分子,制备17 $\beta$ -雌二醇乙酸纤维分子印迹复合膜。并以17 $\alpha$ -炔雌醇为结构类似物,通过膜透过性试验,对膜的选择识别分离能力进行了探讨。

## 1 实验

### 1.1 试剂和仪器

17 $\beta$ -雌二醇(98%)(17 $\beta$ -Estradiol, 17 $\beta$ -E)、17 $\alpha$ -炔雌醇(98%)(17 $\alpha$ -ethynylestradiol, 17 $\alpha$ -EE)、三羟甲基丙烷三甲基丙烯酸甲酯99%(trimethylolpropane trimethacrylate, TRIM)、甲基丙烯酸(MAA)99%、偶氮二异丁腈(乙醇重结晶)(azo(bis)-isobutyronitrile, AIBN)均购于Sigma Aldrich公司(St. Louis, MO, USA)公司;甲醇,色谱纯,天津市福晨化学试剂厂;其余试剂均为分析纯。实验用水为蒸馏水。

电镜(XL-30 SEM Philips, Eindhoven, Netherlands)精密电子天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司;756 MC 紫外可见分光光度计,上海精密科学仪器有限公司(分析仪器总厂);KQ-500DB 型数控超声波清洗器,昆明市超声仪器有限公司;紫外灯(STEB 系列),北京四通新技术产业有限公司。

乙酸纤维膜(孔径0.8  $\mu\text{m}$ , CAM),购自上海化

学试剂公司;

### 1.2 分子印迹复合膜的制备

称取17 mg 17 $\beta$ -雌二醇溶于装有5 mL 氯仿的锥形瓶中,超声溶解,依次加入0.25 mmol 甲基丙烯酸(MAA)、0.25 mmol 三羟甲基丙烷三甲基丙烯酸甲酯(TRIM),混匀。然后加入2.5 mg 偶氮二异丁腈(AIBN),超声5 min。将2 cm 乙酸纤维膜缠绕在磁力搅拌器的搅拌磁子上,用线捆绑,放入干燥的带盖试管中。将锥形瓶试剂混合液转入装有乙酸纤维膜的试管中,通氮气5 min,加盖密封,放置阴暗处存放2 h。将试管中缠绕乙酸纤维膜的搅拌磁子移至试管上部分悬挂,于紫外光照(360 nm)引发聚合15 min,将所合成的分子印迹膜用甲醇/乙酸(9:1, v/v)反复洗脱,直到最后一次的洗脱液用紫外分光光度计检测不到17 $\beta$ -雌二醇。所制备的分子印迹复合膜保存于甲醇中备用。

空白印迹复合膜的制备除不添加模板分子外,其余操作步骤同上。

### 1.3 电镜扫描

对商业乙酸纤维膜和自制分子印迹乙酸纤维复合膜分别进行电镜扫描。

### 1.4 分子印迹复合膜吸附量的测定

将缠绕在搅拌磁子上的经过洗脱去除模板分子的复合膜连带搅拌磁子一起,浸没于5 mL 浓度为0.25 mmol/L 含有待分析物的样品溶液中,整个装置置于磁力搅拌器上,搅拌速度600 rpm,时间80 min;采用紫外-可见分光光度计在物质特征吸收波长处计算复合膜上吸附的模板分子的浓度。

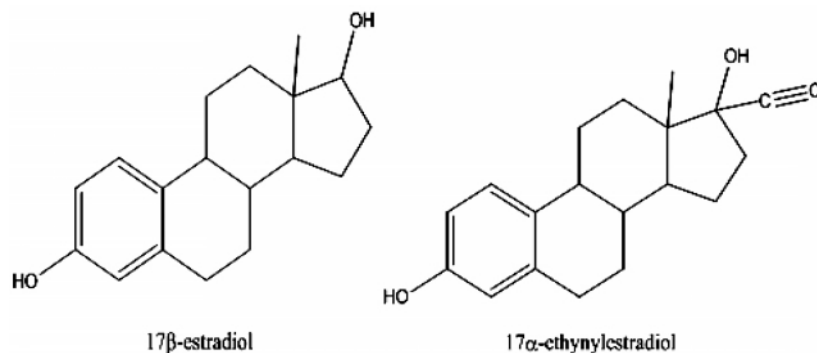
### 1.5 膜的选择性吸附能力考察

选择结构类似的17 $\beta$ -雌二醇(17 $\beta$ -estradiol, 17 $\beta$ -E)和17 $\alpha$ -炔雌醇(17 $\alpha$ -ethynylestradiol, 17 $\alpha$ -EE)(结构式见图1)作为底物,分别测定了分子印迹膜和空白印迹膜对底物的吸附量。按照上述吸附实验装置操作,分别配制浓度为0.25 mmol/L 的17 $\beta$ -雌二醇,17 $\alpha$ -炔雌醇的甲醇溶液作为样品溶液。为方便考察,膜吸附量Q 采用膜吸附实验前后溶液中目标物质的浓度变化量来考察。计算方法参考<sup>[14]</sup>

$$Q = (C_1 - C_2) V / m \quad \text{公式(1)}$$

$$K = (C_1 - C_2) / C_2 \quad \text{公式(2)}$$

公式(1)和公式(2) Q 为分子印迹复合膜对底

图1 17 $\beta$ -雌二醇和17 $\alpha$ -炔雌醇的结构Fig. 1 Scheme of structure of 17 $\beta$ -estradiol and 17 $\alpha$ -ethynylestradiol

物的吸附量, 单位 mmol/g;  $C_1$  为目标物质的初始浓度, 单位 mmol/L;  $C_2$  为吸附平衡后目标物质的浓度, 单位 mmol/L;  $V$  为底物溶液的体积, 单位 L;  $m$  为膜质量, 单位 g;  $K$  为目标物质在膜和溶液之间的结合分配系数。

膜对两种物质的分离因子  $\alpha$  计算方法如下:

$$\alpha = K_{A1} / K_{A2} \quad \text{公式(3)}$$

公式(3)中,  $\alpha$  为 A1、A2 两种目标物质的分离因子;  $K_{A1}$ 、 $K_{A2}$  分别为物质 A1、A2 在分子印迹膜吸附后的分配系数。

### 1.6 分子印迹复合膜选择透过性实验

选择透过性实验装置参考文献<sup>[13]</sup>操作。将复合膜从搅拌磁子上取下, 用胶水固定于一带盖的有机玻璃池中间, 确保膜的两边不能有溶液通过。玻璃

池被复合膜分隔为两个部分, 向左边部分中加入 10 mL 待分析的底物甲醇溶液 (浓度均为 0.25 mmol/L), 并加搅拌磁子搅拌。同时, 向右边部分中加入 10 mL 甲醇, 加盖密封。每隔 20 min 取样, 用紫外可见分光光度计测定左右两边的分析物浓度, 计算复合膜的透过性能。

## 2 结果与讨论

### 2.1 电镜扫描

对商业膜和自制分子印迹复合膜的电镜扫描图见图 2。从图上可见, 商业乙酸纤维膜孔隙大小不一, 结构疏松。分子印迹复合膜的孔隙更均匀、致密。

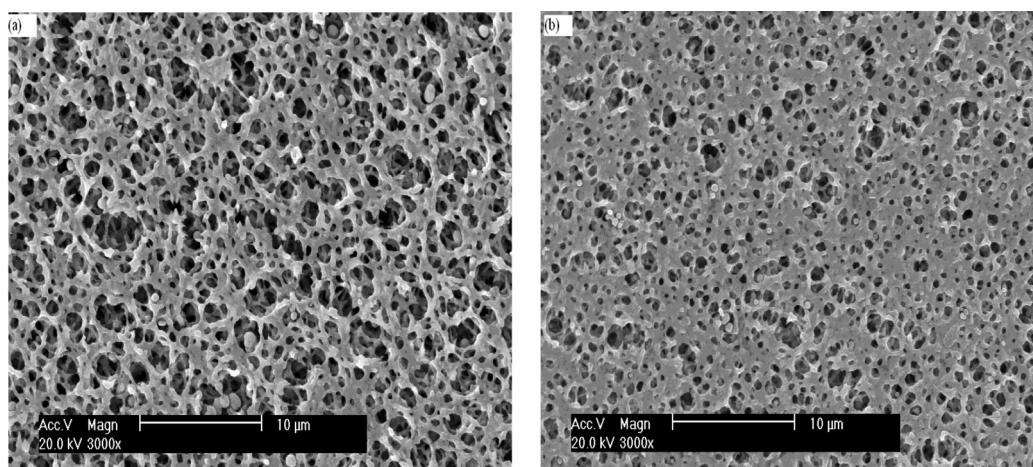


图2 商业膜(a)和自制分子印迹复合膜的电镜扫描图(b)

Fig. 2 Scanning electron micrographs of the unmodified CA (a) and the MIP-CA (b) under 3000 magnification

preparation conditions of MIP-CA: solvent: chloroform; monomer: MMA; cross linker: TRIM; initiator: AIBN; UV polymerization; time: 15 min.

## 2.2 膜对底物的吸附性

17 $\beta$ -雌二醇及其结构类似物在乙酸纤维分子印迹复合膜(CA-MIM)和空白印迹复合膜(CA-NIM)的吸附量以及根据公式(2)和(3)计算的结果见表1。可见分子印迹复合膜CA-MIM对模板分子的吸附量大于对结构类似物17 $\alpha$ -炔雌醇的吸附量。CA-MIM对模板分子17 $\beta$ -雌二醇具有较高的结合能力,吸附平衡后结合量达到10.2  $\mu\text{mol/g}$ 。而

空白印迹膜对两种分子的吸附量相差不大。

通过计算,分子印迹复合膜对两种物质的分离因子为4.7,表明其对17 $\beta$ -雌二醇和其结构类似物17 $\alpha$ -炔雌醇具有较好的分离能力。而空白印迹膜对两种物质的分离因子为1.3,表明其对17 $\beta$ -雌二醇和其结构类似物17 $\alpha$ -炔雌醇不具备较好的分离能力。

表1 底物在膜上的吸附参数

Table 1 Binding amounts of substrates on membranes

membrane	The quantity of adsorbing Q ( $\mu\text{mol/g}$ )		K		a
	17 $\beta$ -E	17 $\alpha$ -EE	17 $\beta$ -E	17 $\alpha$ -EE	
CA-MIM	10.2	3.5	124.2	24.7	4.7
CA-NIM	3.1	2.9	41.0	31.5	1.3

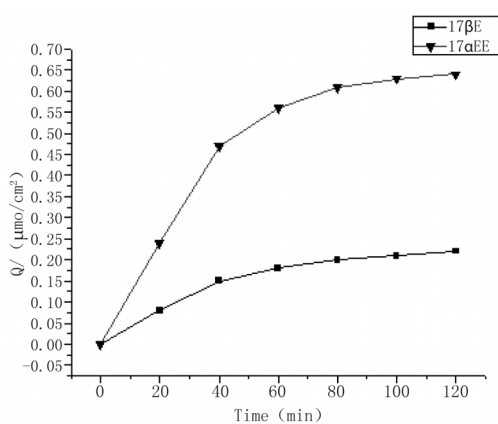


图3 自制分子印迹膜对两种物质的吸附曲线

Fig. 3 Q-t curves of substrates through CA-MIM

K为目标物质在膜和溶液之间的结合分配系数, a为两种目标物质的分离因子 Concentration: 0.25 mmol/L; V: 5 mL; Stirring speed: 600 rpm; Time: 80 min

## 2.3 膜的选择透过性

17 $\beta$ -雌二醇, 17 $\alpha$ -炔雌醇透过CA-MIM, CA-NIM的量随时间的变化情况见图3和图4。由此可见,对于CA-MIM,随时间延长,底物的透过量逐渐增加,后期增加平缓。在底物透过率基本达平衡时,17 $\alpha$ -炔雌醇的透过率高于17 $\beta$ -雌二醇。这是由于膜的结合位点与模板分子具有更强的结合力,对其通过产生阻碍,因此,17 $\alpha$ -炔雌醇的透

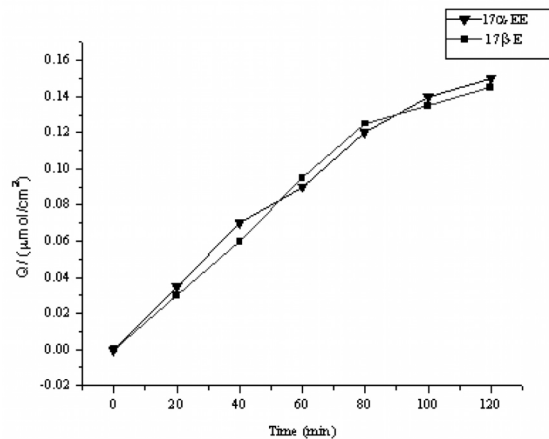


图4 空白印迹膜对两种物质的吸附曲线

Fig. 4 Q-t curves of substrates through CA-NIM

过率更高。这说明17 $\beta$ -雌二醇与分子印迹复合膜的结合力更牢固。对于CA-NIM,两种物质的透过率均较低而且接近,表明空白印迹膜对模板分子和其结构类似物的透过不具有特异选择性。

## 3 结论

以多孔醋酸纤维膜为支撑载体制备了17 $\beta$ -雌二醇分子印迹复合膜。所合成的分子印迹醋酸纤维复合膜对模板分子17 $\beta$ -雌二醇具有特异选择性吸附能力,吸附量可达到10.2  $\mu\text{mol/g}$ ; 17 $\beta$ -雌二醇/17 $\alpha$ -炔雌醇的分离因子为4.7。膜透过实验结果表明,该分子印迹复合膜能将17 $\beta$ -雌二醇与



17 $\alpha$ -炔雌醇分离开,17 $\alpha$ -炔雌醇作为结构类似物在分子印迹复合膜上的结合牢固性不如模板分子。

## 参考文献

- [1] 杨座国,许振良,邢乃慈.分子印迹膜的研究进展[J].化工进展(CHEMICAL INDUSTRY AND ENGINEERING PROGRESS),2006,25(2):131-135.
- [2] 姜忠义,喻应霞,吴洪.分子印迹聚合物膜的制备及其应用[J].膜科学与技术(MEMBRANE SCIENCE AND TECHNOLOGY),2006,26(1).
- [3] Piletsky S A, Dubei I Y, Fedroyak D M, et al. Substrate-selective polymeric membranes Selective transfer of nucleic acid components[J]. Biopolym. K letka 1990, 6:55.
- [4] 左言军,余建华.分子印迹纳米膜的制备及其在检测神经性毒剂沙林中的应用[J].分析化学,2003,31(7):769-773.
- [5] 刘玉坤,孙宏,夏绍灵,等.分子印迹高分子膜和模板分子间的相互作用[J].郑州大学学报(理学版),2005,37(3):75.
- [6] 钟世安,张春静,华怀杰,等.醋酸纤维-(s)-萘普生分子印迹复合膜的制备及分离性能[J].中南大学学报(自然科学版)(CENT. SOUTH UNIV. I SCIENCE AND TECHNOLOGY),2006,37(6):1123-1126.
- [7] 张春静,钟世安.醋酸纤维-奎宁分子印迹复合膜的制备及分离性能研究[J].膜科学与技术,2008,28(4):60-61.
- [8] PISCOPO L, PRANDI C, COPPA M, et al. Uniformly sized molecularly imprinted polymers (MIPs) for 17 $\beta$ -Estradiol [J]. Macromol Chem Phys, 2002, 203: 1532-1538.
- [9] 朱秋劲,顾小红,汤坚,等.17 $\beta$ -雌二醇及类似物与功能单体的相互作用[J].北京化工大学学报(JOURNAL OF BEIJING UNIVERSITY OF CHEMICAL TECHNOLOGY), 2007,34(1):18-23.
- [10] 刘峻,林汉华,于红霞,等.内分泌干扰物17 $\beta$ -雌二醇荧光分子印迹识别方法[J].环境科学研究.2006,19(5):9-95.
- [11] 刘峻,于红霞,林汉华.17 $\beta$ -雌二醇微球状分子印迹聚合物优化合成条件[J].南通大学学报(自然科学版)(Journal of Nantong University Natural Science Edition) 2008,7(3):72-74.
- [12] 王硕,陈双,乔好,等.分子印迹技术在环境雌激素检测中的应用[J].食品与生物技术学报.2003,26(6):99-104.
- [13] WEIS, MOLINELLI A, MIZAKOFF B. Molecularly imprinted micro and nanospheres for the selective recognition of 17 $\beta$ -estradiol [J]. Biosens Bioelectron, 2006, 21: 1943-1951.
- [14] Y Hu, Y Wang, G Li, et al. A novel molecularly imprinted solid-phase microextraction fiber coupled with high performance liquid chromatography for analysis of trace estrogens in fishery samples[J]. Talanta, 2010, 80(5): 2099-2105.