

分子印迹聚合物传感器研究

晋 园^{1,2}, 江 明^{1,2}, 彭 彦², 吕 斌^{1*}, 戴 康¹

(1 华中科技大学同济医学院公共卫生学院环境与健康教育部重点实验室;

2 华中科技大学同济医学院药学院, 武汉 430030)

摘要:分子印迹聚合物(molecular imprinting polymers, MIPs)是利用分子印迹技术合成的一种交联高聚物。分子印迹技术(molecular imprinting technique, MIT)是在近十几年来才发展起来的一门边缘科学技术。它结合了高分子化学、生物化学等学科,是模拟抗体-抗原相互作用的一种新技术,具有选择性识别位点的性质,作为传感器的理想敏感材料的制备方法日益受到研究者的重视。本文综述了分子印迹技术的原理和分子印迹聚合物的制备方法,及其应用于传感器敏感材料的研究现状,并展望了其发展前景。

关键词:分子印迹技术; 分子印迹聚合物; 传感器

引言

分子印迹技术(molecular imprinting technique, MIT)也叫分子模板技术,是一种分子识别技术,其理论基础是Fischer的酶与底物作用的“锁钥模型”、Pauling提出的抗体形成学说、以及Dickey的“专一性吸附理论”,即以目标分子为模板分子,将具有结构上互补的功能化聚合物单体通过共价或非共价键与模板分子结合,并加入交联剂进行聚合反应,反应完成后通过物理或化学方法将模板分子洗脱出来,形成的一种具有固定空穴大小和形状及有确定排列功能团的交联高聚物。这种交联高聚物即分子印迹聚合物(molecular imprinting polymers, MIPs)。由于MIPs具有高度交联的结构,稳定性好,能够在高温、高压、有机溶剂、酸、碱等苛刻环境中使用,而且造价低廉,是传感器的理想敏感材料,因此近年来在传感器方面的应用开始受到重视^[1]。

本文详细论述了目前以分子印迹技术为基础的传感器的研究现状,列举了目前已知的各类MIPs传感器,并展望了其发展前景。

1 分子印迹聚合物作为传感器敏感材料的研究现状

传感器由识别元件和信号转换器组成,通常MIPs被制成膜或是可填柱的多孔珠,作为传感器设备的识别元件被固定在传感器与待测物的界面。当MIPs与模板分子结合时,产生一个物理或化学信号,转换器将此信号转换成一个可定量的输出信号,通过监测输出信号实现对待测分子的实时测定。我们把这种传感器称为MIPs传感器。目前研究的MIPs传感器根据转换器的测量原理不同分为三种:电化学式、光学式和质量式。

1.1 电化学传感器

MIPs电化学传感器可以分为电导型、电容型、电流型、电位型四大类。

1.1.1 电导型(Conductrometry)传感器 该类传感器通过测量敏感膜或涂布有MIP的修饰电极在结合被检物质前后电导的变化进行检测。

1995年,Piletsky等^[1]用甲基丙烯酸二乙胺乙基酯和甲基丙烯酸作为功能单体,制得除草剂阿特拉津(Atrazine)的分子印迹聚合物薄膜,通过测定该薄膜在结合阿特拉津后的导电性变化来测定样品中是否含

基金项目:国家自然科学基金资助项目(NO. 20307004和NO. 30471432);

作者简介:晋园,华中科技大学硕士研究生,研究方向:MIP在药物分析中的应用。

* 通讯联系人;E-mail:lubin@mails.tjmu.edu.cn.

有模板分子阿特拉津。结果表明,随着溶液中阿特拉津浓度的增加,膜电阻减小;而三嗪和西玛三嗪这两种阿特拉津的结构类似物对膜电阻的变化影响很小,说明该膜具有高度专一的选择性。该传感器的响应时间为 30min,检测范围为 0.01~0.5mg/L,并且在室温下存放 4 个月,灵敏度没有降低。1999 年,该研究小组^[2]改用甲基丙烯酸和丙烯酸低聚氨基甲酸酯两种单体混合物进行制备传感膜,结果显示,膜稳定性得到了提高,而且响应时间大大缩短,对阿特拉津的检测限达到 5×10^{-9} mol/L。

1.1.2 电容型(Capacitance)传感器 该类传感器通过测量涂布有 MIP 的修饰电极在结合被检物质前后电容的变化进行检测。

Delaney 等^[3]采用接枝聚合技术在巯基十六烷修饰的金电极表面直接合成厚约 10nm 的 MIPs 膜,将此电极与饱和甘汞电极(SCE)组成电容性传感器,测定水溶液中敌草净,响应时间约为 5min,电容每变化一个单位对应待测物的浓度变化是 4.3mM,敌草净的结构类似物扑灭通和阿特拉津对测定没有干扰,但赛克嗪对测定有明显干扰,尚需进一步提高此传感器的灵敏度和特异性。

1.1.3 电流型(Amperometry)传感器 该类传感器通过测量敏感膜或涂布有 MIP 的修饰电极在结合被检物质前后电流的变化进行检测。根据被测物的电亲和性差异可用差示脉冲伏安法(Differential Pulse Voltammetry)或计时电流法等不同检测方法。

1999 年, Panasyuk 等^[4]利用电聚合在巯基苯酚乙醇溶液处理后的金电极表面合成苯丙氨酸为模板,苯酚为聚合剂的厚约 16nm 的 MIPs 膜。此电极与 SCE 组成测定苯丙氨酸的电容性传感器,响应时间约为 15min,对苯丙氨酸有明显响应,对色氨酸、苯酚和 4-羟基苯基甘氨酸等类似物只有微弱响应。

1.1.4 电位型(Potentialmetry)传感器 该类传感器通过测量敏感膜或 HPLC 色谱柱上结合被检物后膜或柱电位的变化进行检测。

Andersson^[5]等制备了专一结合苯丙酰胺的分子印迹聚合物的 HPLC 色谱柱,功能基选用甲基丙烯酸(MAA),其检测范围为 33~3300mg/L,响应时间 30min。Kroger 等^[6]将制备的 MIP 涂布于丝网印制电极表面,研制出检测 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)的电位型化学传感器。尽管 2,4-D 在玻璃碳电极上能够直接被还原,但需要很高的电位(-1.4V vs Ag/AgCl),在环境分析中容易受到干扰,因此选用与 2,4-D 结构相近,具有电化学活性的 2,5-二羟苯乙酸(HGA)作为竞争物质,以竞争结合位点的方法进行测定。该方法的检测范围相对较宽,为 $(1 \sim 1000) \times 10^{-6}$ mol/L,但是与其它以 MIP 作为敏感材料的传感器相比,测定时间短,无须进行长时间平衡建立背景电流,一次扫描仅需 15s,而且对没有电活性或者不易标记的分析物也适用(见表 1)。

1.2 光学型传感器

化学发光法灵敏度高且设备简单,在很多领域都得到应用。分子印迹技术可以提高化学发光法的选择性,有望开发出能用于直接检测的传感器。近年来,各种光学方法尤其是荧光技术也已经广泛应用在 MIP 传感器中。

Piletsky 等^[24]首次报道了以烯丙基胺和乙烯基苯基硼酸为功能单体,甲基丙烯酸乙二醇酯为交联剂,采用自组装和预组织结合的方法制备而成的检测硅酸的荧光型分子印迹聚合物传感器。其荧光检测原理是:功能基氨基可与邻苯二乙醛和 β -巯基乙醇在糖的存在下形成稳定的荧光物质,加入硅酸后,硅酸与伯胺基结合,使荧光强度降低。该系统检测范围为 0.5~10 μ M,响应时间为 40min。稳定性实验证明室温存放一个月,没有任何影响。Piletsky 等^[25]还报道了检测除草剂阿特拉津的荧光检测系统。该系统是利用荧光标记和未经标记的阿特拉津之间竞争结合位点的原理,检测范围为 0.01~100 μ M。Jenkins 等^[26]利用镧系元素与被测物结合后光谱发生改变的原理制备镧系发光光纤测定草甘膦、二嗪磷、甲基氯吡啶磷等物质,其检测范围均在 0.009~100mg/L,检测限均小于 10 μ g/L。Lin^[14]等以异丁烯酸为功能单体、4-乙烯吡啶衍生的 CdSe/ZnS 为半导体、EGDMA 为交联剂合成了不同模板的人工受体,研究出利用量子点的光致发光检测半导体毫微粒物质的 MIP 薄膜。原理是半导体毫微粒物质与 MIP 的混合物模板能够熄灭量子点的光致发光,这种光致发光的熄灭可能是由于量子点和模板分子之间的荧光共振能量转导,而空白对照聚合物的光致发光则未受影响(见表 2)。

表 1 电化学分子印迹传感器举例

Table 1 Examples of electrochemical sensors based on MIPs

类型	待分析物	单体	检测相关系数
电导型	苯丙氨酸、6-氨基-1-丙基尿嘧啶、硅酸 ^[7]	MAA 或 DEAM+EDMA	检测范围: 1~50 μ M
	苄基三苯基磷离子 ^[8]	MAA	检测范围: 0~2mg
	吗啡 ^[9]	MAA	检测范围: 0.1~10mg/L
电容型	肌酸肝 ^[10]	AMPS/MBA(1;2)	检测范围: 10~600mM
	苯丙氨酸 ^[4]	苯酚	检测范围: 0.5~8mg/mL
	葡萄糖 ^[11]	邻苯二胺	检测范围: 0.1~20mM LOD: 0.05mM
电流型	苯丙氨酸苯胺 ^[12]	MAA	检测范围: 33~3300mg/L
	吗啡 ^[13]	MAA	检测范围: 0.1~10 μ g/mL
	克仑特罗 ^[14]	MAA/EDMA(1;5)	检测范围: 0.004~25 mM
	2,4-二氯苯氧乙酸 ^[7]	EDMA/4-乙烯基吡啶	检测范围: 0.1~9.0mM
	茶碱 ^[12]	MAA/EDMA	检测范围: 0.4~6mg/mL
	1-羟基芪 ^[15]	苯乙烯/DVB(19;1)	检测范围: 0.1~1 mM
	对硝苯磷酸 ^[16]	乙烯基咪唑+DVB(1;9)	LOD: 100 μ M
	甲氧基-4-羟基扁桃酸 ^[17]	MAA/EDGMA(1;5)	检测范围: 0.1~1.5mM
	肌苷、ATP、阿糖腺苷 ^[18]	吡咯	检测浓度: 10mg/L
	硝基苯 ^[19]	卟啉 IX	检测范围: 0.01~1M
电位型	酪氨酸光学异构体 ^[20]	多吡咯	检测范围: 5~45mM
	正丁烯二酸 ^[21]	钛化合物(Ti(O- <i>n</i> Bu) ₄)	检测范围: 0.2~3.0mM LOD: 0.25 mM
	反丁烯二酸 ^[21]	钛化合物 (Ti(O- <i>n</i> Bu) ₄)	检测范围: 0.08~1.0mM LOD: 15mM
	NO ₃ ⁻ ^[22]	吡咯	检测范围: 5.0 × 10 ⁻⁵ ~0.5M
	沙丁胺醇 ^[23]	酸酐聚合物	灵敏度: 10 ⁻⁶ M

表 2 光学型分子印迹传感器举例

Table 2 Examples of optical sensors based on MIPs

待分析物	单体	检测相关参数
多环芳烃如芘 ^[27]	芳香聚氨酯	灵敏度: 1ng/L
糖类如 D-果糖 ^[28]	甲基丙烯酸酯	灵敏度: 10 ⁻⁵ M
cAMP ^[29]	vB-DMASP	灵敏度: 10 μ M
氯霉素 ^[30]	DEAEM	检测范围: 3~30 μ g/mL
频哪醇基甲基磷酸酯 ^[31]	铈的配位络合物	检测范围: 0.125~150000 μ g/L
茶碱 ^[32]	/	检测范围: 0.4~6mg/mL
L-色氨酸 ^[33]	丹酰氯酯	检测浓度: 52 μ M
3-羟基黄酮 ^[34]	MAA	灵敏度: 5 × 10 ⁻⁸ M
三嗪 ^[25]	MAA	检测范围: 0.01~100mM
NATA ^[35]	HEAPTES+TES	检测浓度: 0.01mg/L
磷酸吡哆胺 ^[36]	EuIII+DVMB	检测范围: 0.125~150000 μ g/L
睾酮 ^[37]	MAA	检测范围: 0.1~1.25mM

1.3 质量敏感传感器

压电石英晶体也称石英晶体微天平(quartz crystal microbalance, QCM), 对其表面的质量变化非常敏感。MIPs 与 QCM 结合, 构成 MIPs-QCM 传感器。

Cao 等^[38] 在修饰乙烯基单分子层的 QCM 金电极表面采用紫外光聚合合法合成 MIPs 膜, 制作对 L-丹酰苯丙氨酸对映体敏感的对映体选择性 MIPs-QCM 传感器, 检出限为 5mg/L, 检测范围为 5~500mg/L, 10min 内频率响应达到稳定。Stanley 等^[39] 在 QCM 的一只电极上涂布以非共价方式聚合的左旋丝氨酸

MIP 薄膜,检测限为 0.4ppm,对丝氨酸对映异构体的选择性系数为 4.8,证明此种传感器能够选择性结合特定的对映体的能力(见表 3)。

表 3 MIPs-QCM 传感器举例
Table 3 Sensors based on MIPs-QCM

待分析物	单体	检测相关参数
多环芳烃如芘、聚氨酯 ^[40]	DVB(二乙烯基苯)	检测浓度:200mg/L
土臭味素、2-甲基异龙脑 ^[41]	MAA	LOD:10ppb
甲醛 ^[42]	MAA	LOD:20.5 μ M
α -D-葡萄糖 ^[43]	组氨酸,MAH	LOD:0.07mM
(S)-普萘洛尔 ^[44]	MAA	检测浓度:0.38mM
非那西汀 ^[45]	MAA	灵敏度: 5.0×10^{-9} M LOD: 2.5×10^{-8} M
烟碱 ^[46]	MAA	检测范围: $5.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ M 检测范围: $5.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ M
对乙酰氨基酚 ^[47]	MAA	检测范围: $5.0 \times 10^{-8} \sim 1.0 \times 10^{-4}$ M
羧酸(苯甲酸、辛酸等) ^[48]	钛化合物(Ti(O- <i>n</i> Bu) ₄)	检测浓度:25mM
微囊藻素 LR ^[49]	AMPSA	LOD:1nM
离子如 Ni ²⁺ ,Ca ²⁺ ,K ⁺	TEOS 等	检测浓度: 9×10^{-6} M
中性物质如葱、芘等 ^[50]		
邻二甲苯 ^[51]	芳香聚氨酯	检测浓度:0.25mM

3 展望

综上所述,经过多年的研究,在 MIP 的制备、检测条件以及换能器的选择等多方面取得了不少可喜的成绩,MIP 本身具有的高灵敏度、强抗干扰能力、良好的稳定性等优点,使其在传感器的应用方面有着非常广阔的应用前景。相信随着进一步的研究,分子印迹传感器的发展会越来越成熟,应用也会越来越广。

参考文献:

- [1] Piletsky S A, Piletskaya E V, Elgersma A V, Yano K, Karube I. *Biosens Bioelectron.* 1995, 10, 959.
- [2] Sergeyeva T A, Piletsky S A, Brovko A A, Slinchenko E A, Sergeyeva L M, Panasyuk T L, El'skaya A V. *Analyst.* 1999, 124, 331.
- [3] Delaney T, Mirsky V M, Ujbricht M, Wolfbeis O S. *Anal Chim Acta.* 2001, 435, 157.
- [4] Panasyuk T L, Mirsky V M, Piletsky S A, Wolfbeis O. *Anal Chem.* 1999, 71, 4609.
- [5] Andersson L I, Moshach K, Miyabayashi A, O'Shannessy D J. *J Chromatogr A.* 1990, 516, 313.
- [6] Kroger S, Turner A P F, Mosbach K, Haupt K. *Anal Chem.* 1999, 71, 3698.
- [7] Piletsky S A, Piletskaya E V, Panasyuk T L, El'skaya A V, Levi R, Karube I, Wulff G. *Macromolecules.* 1998, 31, 2137.
- [8] Kriz D, Kempe M, Mosbach K. *Sens Actuators B.* 1996, 33, 178.
- [9] Kriz D, Andersson L I, Khayyami M, Danielsson B, Larsson P O, Mosbach K. *Biomimetics.* 1995, 3, 81.
- [10] Delaney T P, Mirsky V M, Wolfbeis O S. *Electroanalysis.* 2003, 14, 221.
- [11] Cheng Z, Wang E, Yang X. *Biosens Bioelectron.* 2001, 16, 179.
- [12] Yoshimi Y, Ohdaira R, Iiyama C, Sakai K. *Sens. Actuators B.* 2001, 73, 49.
- [13] Kriz D, Mosbach K. *Anal Chim Acta.* 1995, 71, 300.
- [14] Pizzariello A, Strel'ansky M, Stred'anska S, Miertus S. *Sens. Actuators B.* 2001, 76, 286.
- [15] Kirsh N, Hart J P, Bird D J, Luxton R W, McCalley D V. *Analyst.* 2001, 126, 1936.
- [16] Yamazaki T, Meng Z, Mosbach K, Sode K. *Electrochemistry.* 2001, 69, 969.
- [17] Blanco-Lopez M C, Lobo-Castanón M J, Miranda-Ordieres A J, Tuno n-Blanco P. *Biosens Bioelectron.* 2003, 18, 353.
- [18] Spurlock L D, Jaramillo A, Praserthdam A, Lewis J, Brajter-Toth A. *Anal Chim Acta.* 1996, 336, 37.
- [19] Panasyuk T, Dall'Orto V C, Marrazza G, El'skaya A, Piletsky S A, Rezzano I, Mascini M. *Anal Lett.* 1998, 31, 1809.
- [20] Liang H J, Ling T R, Rick I F, Chou T C. *Anal Chim Acta.* 2005, 542, 83.

- [21] Zayats M, Lahav M, Kharitonov A B, Willner I. *Tetrahedron*, 2002, 58, 815.
- [22] Hutchins R S, Bachas L G. *Anal Chem*, 1995, 67, 1654.
- [23] Huang H C, Lin C I, Joseph A K, Lee Y D. *J Chromatogr A*, 2004, 1027, 263.
- [24] Piletsky S A, Piletskaia E V, Yano K, Kugimiya A, Elgersma A V, Levi R, Kahlow V, Takeuchi T, Karube I. *Anal Lett*, 1996, 29, 157.
- [25] Piletsky S A, Piletskaia E V, Elgersma A V, Levi R, Wano K, Karube I. *Anal Lett*, 1997, 30, 445.
- [26] Jenkins A L, Yin R, Jensen J L. *Analyst*, 2001, 126, 798.
- [27] Dickert F L, Lieberzeit P, Tortschanoff M. *Sens Actuators B*, 2000, 65, 186.
- [28] Gao S H, Wang W, Wang B H. *Bioorganic Chem*, 2001, 29, 308.
- [29] Wandelt B, Mielniczak A, Cywinski P. *Biosens Bioelectron*, 2004, 20, 1031.
- [30] Levi R, McNiven S, Pitetsky S A, Cheong O H, Yano K, Karube I. *Anal Chem*, 1997, 69, 2017.
- [31] Jenkins A L, Uy O M, Murray G M. *Anal Chem*, 1999, 71, 373.
- [32] Lai E P C, Fara A, Noot V A V, Kono M, Can P B. *J Chem*, 1998, 76, 265.
- [33] Liao Y, Wang W, Wang B H. *Bioorganic Chem*, 1999, 27, 463.
- [34] Suarez-Rodriguez J L, Diaz-Garcia M E. *Anal Chim Acta*, 2000, 405, 67.
- [35] Lulka M F, Chambers J P, Valdes E R, Thompson R G, Valdes J J. *Anal Lett*, 1997, 30, 2301.
- [36] Jenkins A L, Uy O M, Murray G M. *Anal Commun*, 1997, 34, 221.
- [37] Cheong S H, Rachkov A, Park J K, Yano K, Karube I. *J Polym Sci A: Polym Chem*, 1998, 36, 1725.
- [38] Cao L, Li S F Y, Zhou X C. *Analyst*, 2001, 126(2), 184.
- [39] Stanley S, Percival C J, Moral T, Braithwaite A, Newton M I, McHale G, Hayes W. *Sens Actuators B*, 2003, 89, 103.
- [40] Dickert F L, Lieberzeit P, Miarecka S G, Mann K J, Hayden O, Palfinger C. *Biosens Bioelectron*, 2004, 20, 1040.
- [41] Ji H S, McNiven S, Lee K H, Saito T, Ikebukuro K, Karube I. *Biosens Bioelectron*, 2000, 15, 403.
- [42] Feng L, Liu Y J, Zhou X D, Hu J M. *J Colloid Interface Sci*, 2005, 284, 378.
- [43] Ersoz A, Denizli A, Ozcan A, Say R. *Biosens Bioelectron*, 2005, 20, 2197.
- [44] Piacham T, Josell A, Arwin H, Prachayasittikul V, Ye L. *Anal Chim Acta*, 2005, 536, 191.
- [45] Tan Y G, Peng H, Liang C D, Yao S Z. *Sens Actuators B*, 2001, 73, 179.
- [46] Tan Y G, Yin J, Liang C D, Peng H, Nie L H, Yao S Z. *Bioelectrochemistry*, 2001, 53, 141.
- [47] Tan Y G, Zhou Z L, Wang P, Nie L H, Yao S Z. *Talanta*, 2001, 55, 337.
- [48] Lee S W, Yang D H, Kunitake T. *Sens Actuators B*, 2005, 104, 35.
- [49] Chianella I, Piletsky S A, Tothill I E, Chen B, Turner A P F. *Biosens Bioelectron*, 2003, 18, 119.
- [50] Dickert F L, Hailikias K, Hayden O, Piu L, Sikorski R. *Sens Actuators B*, 2001, 76, 295.
- [51] Dickert F L, Forth P, Lieberzeit P, Tortschanoff M, Fresenius J. *Anal Chem*, 1998, 360, 759.

Study on Sensors Based on Molecular Imprinting Polymers

JIN Yuan^{1,2}, JIANG Ming^{1,2}, PENG Yan², LÜ Bin¹, DAI Kang¹

(1 MOE Key Laboratory of Environment & Health, School of Public Health, Tongji Medical College,

Huazhong University of Science and Technology, China;

2 School of Pharmacy, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

Abstract: Molecular imprinting Technique (MIT), a new technology to produce molecular imprinting polymers (MIPs), developed rapidly in recent decades. It combined high polymer chemistry and biochemistry. MIPs had selective identify character, which is necessary for sensor making. Now more and more interest has been attracted in this area. This article describes recent trends and some examples of sensors based on molecular imprinting.

Key words: Molecular imprinting; Molecular imprinting polymers (MIPs); Sensors