

甲胺磷分子印迹聚合物的结合机理及其分子识别特性的光谱学研究

申中兰, 杨俊, 朱晓兰, 高芸, 苏庆德*

中国科学技术大学化学系, 安徽 合肥 230026

摘要 采用分子自组装印迹技术合成了一种新的对甲胺磷农药分子有高度选择性的分子印迹聚合物。在预聚合阶段, 通过 ^1H NMR, FTIR 和 UV 光谱法研究了分子印迹聚合物的形成机理。结果表明模板分子和功能单体通过协同氢键作用形成 1:2 型氢键配合物, 配合物稳定常数 $K=2.894\times 10^6\text{ L}^2\cdot\text{mol}^{-2}$, 稳定性好。运用红外光谱法研究了印迹聚合物对模板分子的特异性识别作用, 进一步表明印迹聚合物通过协同氢键作用特异性地识别模板分子。

关键词 甲胺磷; 分子印迹聚合物; 红外光谱; 分子特异性识别

中图分类号: O433.1 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2009)01-0078-04

引言

甲胺磷[O,S-二甲基硫代磷酰胺](methamidophos, MAP)是一种极性较大的高毒、广谱有机磷杀虫剂和杀螨剂, 曾被广泛应用^[1]。由于违禁使用而导致的 MAP 中毒事件屡见报道^[2,3]。为了保障人们的生活安全, 有必要建立简单、快速的测定环境和食品中 MAP 农药残留的方法。分子印迹方法是制备对印迹分子具有高度选择性聚合物的技术, 该方法制备得到的聚合物具有预定性、识别性、实用性, 此类聚合物在异构体的分离、固相萃取、模拟酶催化、膜分离技术等领域展现了良好的应用前景^[4-6]。本文以 MAP 为模板分子, 以甲基丙烯酸(MAA)为功能单体, 采用分子自组装印迹技术合成了对 MAP 有高度选择性的聚合物, 通过 ^1H NMR、FTIR 和 UV 光谱法探讨了 MAP 分子印迹聚合物的形成机理, 并通过 FTIR 法研究了分子印迹聚合物对 MAP 的特异性识别, 结果表明聚合物中含有 COOH 功能基团, 并通过协同氢键作用特异性识别 MAP。该聚合物稳定性好, 价格便宜, 可作为固相萃取(solid phase extraction, SPE)吸附剂应用于土壤、食品及环境水体等样品中极性甲胺磷农药残留的分离富集和测定, 可供环保部门进一步开发和应用。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

甲胺磷(MAP)(北京百灵威化学技术有限公司); 偶氮二异丁腈(AIBN, 化学纯, 南开大学分校特种试剂实验厂); 甲基丙烯酸(MAA)和乙二醇二甲基丙烯酸酯(EGDMA)(上海安谱科学仪器有限公司), 使用前重新蒸馏除去阻聚剂, 其余试剂为分析纯或色谱纯。

SHZ-82 型超级恒温水浴槽(江苏省太仓医疗器械厂); LG10-2.4A 型离心机(北京医疗器械公司); AVerce AV 300 核磁共振波谱仪(Bruker, Switzerland); VECTOR22 红外分光光度计(Bruker, Germany); UV-2401PC 紫外-可见分光光度计(Shimadzu, Japan)。

1.2 印迹聚合物的制备

取 0.1411 g(1.0 mmol) MAP 溶于 5.6 mL 氯仿中, 加入 0.3443 g MAA(4.0 mmol), 于振荡器中振荡 6 h, 使 MAP 与单体充分作用。然后加入 3.9644 g EGDMA(20.0 mmol)和 40 mg AIBN, 充分混溶后, 转入 20 mL 玻璃安培瓶中, 超声后通 N_2 脱氧 15 min, 真空状态下密封。将密封好的安培瓶放入 58 °C 超级恒温水浴槽中保温 24 h, 得棒状 MIP。将获得的棒状聚合物用研钵磨碎, 过筛后选取粒径在 25~36 μm 之间的聚合物放入索氏提取器中, 用 9:1(ϕ)的甲醇/乙酸溶液洗至无模板分子, 再用甲醇洗至中性, 放入真空干燥箱中干燥 48 h, 即得到所用的 MIP。非印迹聚合物(NIP)的合成除不加 MAP 外按照上述方法制备。

1.3 ^1H NMR, FTIR 和 UV 光谱研究

用氘代氯仿作溶剂, 以四甲基硅烷(TMS)为内标, 在 20 °C 下测定 MAP ($15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$), MAA($30\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)和

收稿日期: 2007-09-02, 修订日期: 2007-12-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(20405013)和国家烟草专卖局烟草重大科技开发项目(110200202002)资助

作者简介: 申中兰, 女, 1978 年生, 中国科学技术大学化学系博士研究生 e-mail: zlshen88@mail.ustc.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: qdsu@ustc.edu.cn

MAP($15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)与 MAA($30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)共存时 ^1H NMR 光谱。

用四氯化碳作溶剂,测试 MAP($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)以及 MAP($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)和 MAA($400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)混合物的红外光谱图。

用二氯甲烷作溶剂,固定 MAP 的浓度并以其为参比,渐增 MAA 的浓度,作差示紫外吸收光谱。

1.4 聚合物平衡吸附试验和 MIP 对 MAP 识别特性的 FTIR 光谱研究

取一组等量的粒状聚合物(10.0 mg),分别置于 10 mL 磨口试管中,依次加入 1.0 mL 浓度为 $0.01 \sim 3.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MAP 二氯甲烷溶液,放入恒温水浴振荡器中于 20°C 振荡 24 h ,取适量的吸附溶液放入离心试管中,高速离心后取 0.50 mL 离心液进行 GC-NPD 测定,得到 MAP 的浓度。根据结合前后溶液中 MAP 的浓度变化可计算 MIP 和 NIP 的结合量 B 。

饱和吸附 MAP 前后的 MIP 分别进行 FTIR 光谱测定,用来探讨固体聚合物中的功能基团与模板分子的作用情况。固体样品与 KBr 以 $1:200$ 的质量比压片制备。

2 结果与讨论

2.1 印迹聚合物(MIP)的识别机理

印迹聚合物识别机理的研究对解释聚合物的印迹和识别现象非常重要。印迹的原理在于聚合物基质中的预组装的主客体配合物的结构,因此在聚合前的混合物中模板分子与功能单体可以结合成稳定的主客体配合物是非常关键的^[7]。我们用 ^1H NMR, FTIR 和 UV 光谱详细研究了 MAP 和 MAA 的结合反应。MAP 与 MAA 的自组装过程及印迹聚合物的识别过程见图 1。

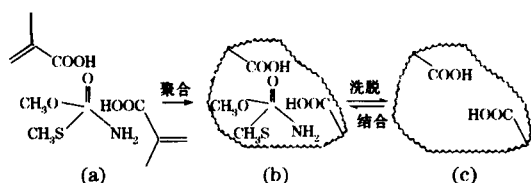


Fig. 1 Schematic illustration of the molecular imprinting procedures

(a): A template (MAP) and functional monomers (MAA) are induced to form a complex at the pre-polymerization stage; (b): Polymerization with cross-linking agents is carried out in the presence of the complex; (c): Subsequent removal of the template yields a binding site complementary to the template

2.1.1 ^1H NMR 研究

图 2 是 MAP(a)、MAA(b)以及 MAP 和 MAA 混合溶液(c)的 ^1H NMR 结果。MAP 分子中与氨基 N 原子相连的氢质子的位移由 3.160 ppm 在预组装后向低场移至 3.587 ppm ,同时 MAA 中羧基质子的位移由 10.090 ppm 在预组装后向高场移至 9.006 ppm ,这是质子参与氢键形成的共同特征^[8,9]。由此说明,在此体系中,MAP 中 NH_2 的 N 原子和

磷酸酯 $\text{P}=\text{O}$ 中氧原子与 MAA 的羧基之间产生了氢键作用形成配合物^[10],导致了 MAP 和 MAA 分子中特定质子的位移。

2.1.2 FTIR 光谱研究

如图 3 所示是 MAP($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)以及 MAP($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)与 MAA($400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)混合物的红外光谱图。图中 3237 和 3315 cm^{-1} 分别是 MAP 中 $\text{N}-\text{H}$ 的对称和不对称伸缩振动峰^[11],当 MAP 与 MAA 混合作用后,两峰分别蓝移至 3101 和 3273 cm^{-1} ; MAP 中 $\text{N}-\text{H}$ 弯曲振动峰和 $\text{P}=\text{O}$ 伸缩振动峰分别在 1563 和 1213 cm^{-1} ^[11],混合物中分别蓝移至 1556 和 1179 cm^{-1} 。MAP 中 $\text{N}-\text{H}$ 和 $\text{P}=\text{O}$ 红外吸收峰的蓝移说明了 NH_2 和 $\text{P}=\text{O}$ 都与 MAA 中羧基形成氢键^[12],这与 ^1H NMR 结果是一致的。

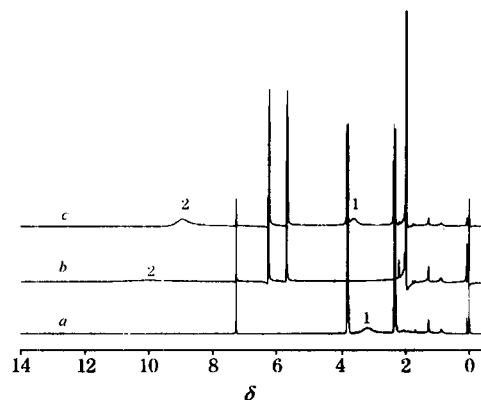


Fig. 2 ^1H NMR spectra of MAP

a: MAP ($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$); b: MAA($40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
c: MAP($20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)+MAA($40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) in CDCl_3 at 20°C

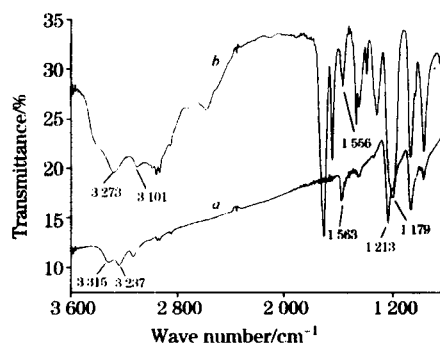


Fig. 3 IR spectra of MAP

a: ($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$);
b: MAP($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)+MAA($400 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) in CCl_4 at 20°C

2.1.3 差示紫外光谱研究

^1H NMR 和 FTIR 研究结果表明 MAP 分子中 NH_2 和 $\text{P}=\text{O}$ 都参与和 MAA 形成氢键作用,通过差示紫外光谱研究可以得知 MAP 和 MAA 的配位比以及反应的结合常数。由图 4 可见,随着 MAA 浓度的增加,MAP 吸收光谱中最大吸收波长向长波方向移动,且吸收峰的强度增加,这是氢键对生色团作为质子给予体的分子的第一个 $p \rightarrow p^*$ 吸收带的

影响所致^[13]。因为 MAA 的浓度 b_0 远大于 MAP 的浓度 a_0 ，参照文献[8, 13]，MAP 与 MAA 的结合反应公式可推导和整理得如下表达式

$$\Delta A/b_0 = -K\Delta A + K\Delta\epsilon c l a_0$$

式中 ΔA 为差示吸光度； K 表示 MAP 与 MAA 结合反应的结合常数； $\Delta\epsilon$ 为配合物与 MAP 的摩尔吸光系数差值； n 为配合物的组成，可取简单正整数，取 $n=1, 2, \dots$ 时，以 $\Delta A/b_0$ 对 ΔA 作图，结果发现 $n=1$ 和 3 时为曲线，而 $n=2$ 时为一直线，其回归方程为 $\Delta A/b_0 = 0.4488 - 2.894\Delta A$ ， $r = 0.9904$ 。说明此条件下主要形成 1:2 型氢键配合物，由其斜率求得 $K = 2.894 \times 10^6 \text{ L}^2 \cdot \text{mol}^{-2}$ ，表明该配合物十分稳定。由此可见，MAP 和 MAA 之间是通过协同氢键形成 1:2 型配合物(如图 4)，加入交联剂引发聚合后能够有效地被印迹在聚合物中。

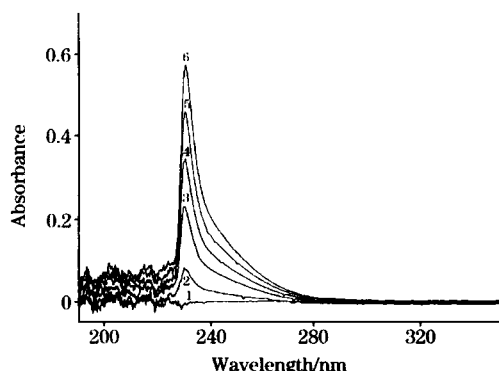


Fig. 4 Different absorption spectra of MAP and MAA system in dichloromethane at 20 °C

$a_0 = 0.05 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$; $b_0 = (\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1})$;

1: 0; 2: 0.20; 3: 0.50; 4: 0.80; 5: 1.50; 6: 2.50

2.2 印迹聚合物(MIP)对甲胺磷分子识别特性的 FTIR 光谱研究

2.2.1 聚合物平衡吸附试验

为了研究印迹聚合物的结合特性，用平衡吸附试验方法在 MAP 浓度为 $0.01 \sim 3.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内测定了 MIP 和 NIP 的结合量 B 对不同初始浓度的 MAP 吸附溶液的变化曲

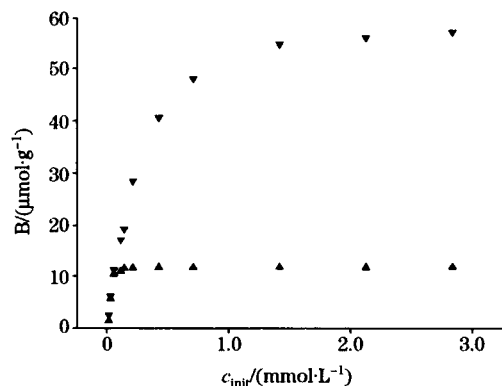


Fig. 5 Binding isotherm of MIP and NIP for MAP B

Amount of MAP bound to 10.0 mg of MIP or NIP;

$V = 1.0 \text{ mL}$; $t = 20 \text{ }^\circ\text{C}$; Absorption time: 24 h

线(图 5)。由图 5 可见，当 MAP 初始浓度高于 $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，MIP 对 MAP 的结合容量明显高于 NIP。MAP 初始浓度为 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时，MIP 的印迹因子 I 达到 4.23 ($I = B_{\text{MIP}}/B_{\text{NIP}}$)^[14]，表明 MIP 有良好的印迹效果。

2.2.2 MIP 对 MAP 分子识别特性的 FTIR 光谱研究

MAP 与 MAA 在预聚合阶段能形成氢键作用，用红外光谱进一步研究印迹聚合物对 MAP 的吸附作用情况。图 6 所示，依次为固体 MAP(a)、饱和吸附 MIP 前(b)和饱和吸附后 MIP(c)的红外光谱图。饱和吸附前聚合物(b)中 3440 cm^{-1} 处较宽的峰是羧基中 O—H 的不对称伸缩振动吸收峰^[15]，说明 MIP 中含有 COOH 功能基团，饱和吸附后(c)该吸收峰发生蓝移至 3434 cm^{-1} ，说明 COOH 与 MAP 中相关基团发生作用；固体 MAP(a)中 1221 cm^{-1} 处吸收峰是 P=O 的伸缩振动峰，对应的饱和吸附前后 MIP 的红外光谱图中 1155 cm^{-1} 处吸收峰强度有明显增大，结合图 3 得知 MAP 中 P=O 与 COOH 发生氢键作用从 1221 cm^{-1} 蓝移至 1155 cm^{-1} 从而导致此吸收峰强度增大。此结果共同说明 MAP 中 P=O 和 MIP 中 COOH 发生氢键作用。

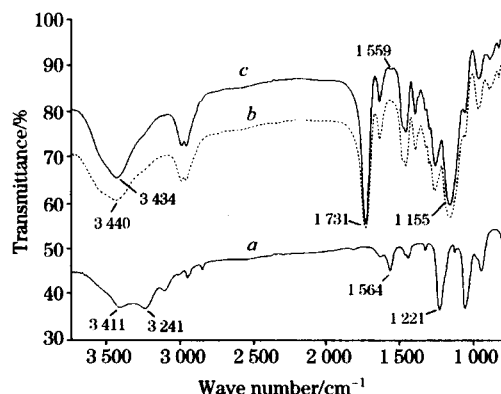


Fig. 6 FTIR spectra of MAP (a), MIP before (b) and after (c) saturated with MAP measured by KBr pellets

如图 6(b)中 1731 cm^{-1} 处较强的吸收峰为 C=O 的伸缩振动峰^[11, 15]，表明 MIP 中含有 C=O 基团。饱和吸附后该吸收峰强度增大，说明 MAP 中相关基团与 MIP 中的 P=O 发生氢键作用。

同时 MAP(a)中 1564 cm^{-1} 处吸收峰是 NH_2 的弯曲振动峰，饱和吸附后在 1559 cm^{-1} 处出现一吸收峰，结合图 3 可以认为是 N—H 与 C=O 发生氢键作用后蓝移的结果。上述两个峰位移共同说明 MAP 中 N—H 与 MIP 中 C=O 发生氢键作用。

固体 MIP 对 MAP 吸附特性的红外光谱研究结果表明 MIP 中含有 COOH 功能基团，并与 MAP 中 N—H 和 P=O 通过氢键协同作用特异性识别 MAP 分子，结果与预聚合阶段光谱学研究结果一致。

3 结 论

采用分子自组装印迹技术制备了一种新的对 MAP 分子

具有高度选择性的分子印迹聚合物。¹H NMR, FTIR 和 UV 光谱研究表明,该聚合物通过协同氢键作用专一地结合 MAP。印迹聚合物饱和吸附 MAP 的红外光谱研究进一步表明印迹聚合物中含有 COOH 功能基团,对 MAP 分子有特异

性识别作用证实了图 1 表示的印迹过程和识别机理。本研究为甲胺磷印迹聚合物在环境和生物样品中的分离应用奠定了良好的理论基础。

参 考 文 献

- [1] LEI Jin-hai(雷进海). Modern Chem. Industry(现代化工), 1994, 11: 22.
- [2] Ogawa T, Okamoto N, Taniguchi K, et al. J. Food Hygiene Soc. of Japan, 1997, 38: 204.
- [3] Tsuchiya T, Maeda K, Sekiguchi Y, et al. Bull. Nation Insti. of Health Sci., 1998, 116: 157.
- [4] Mullett W M, Lai E P C. Anal. Chem., 1998, 70: 3636.
- [5] He D, Tong A J, Li L D. Spectrochim. Acta Part A, 2003, 59: 279.
- [6] Fu Q, Zheng N, Li Y, et al. J. Mol. Recognit., 2001, 14: 151.
- [7] Matsui J, Miyoshi Y, Doblhoff-Doer O, et al. Anal. Chem., 1995, 67: 4404.
- [8] YANG Jun, ZHU Xiao-lan, SU Qing-de, et al(杨 俊,朱晓兰,苏庆德,等). Spectroscopy and Spectal Analysis(光谱学与光谱分析), 2007, 27(6): 1152.
- [9] Sellergren B, Lepisto M, Mosbach K. J. Am. Chem. Soc., 1988, 110: 5853.
- [10] XIE Meng-xia, LIU Yuan, ZHANG Xiao-tong, et al(谢孟峡,刘 媛,张晓彤,等). Spectroscopy and Spectal Analysis(光谱学与光谱分析), 2000, 20(5): 684.
- [11] Socrates G. Infrared and Roman Characteristic Group Frequencies, John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 2001. 230.
- [12] Zhu X L, Cai J B, Yang J, et al. J. Chromatogr. A, 2006, 1131: 37.
- [13] ZHOU Jie, HE Xi-wen, ZHAO Jie, et al(周杰,何锡文,赵 洁,等). Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报), 1999, 20(2): 204.
- [14] Schwarz L, Bowyer M C, Holdsworth C I, et al. Aust. J. Chem., 2006, 59: 129.
- [15] Sibrian-Vazquez M, Spivak D A. Journal of Polym. Sci. Part A: Polymer Chem., 2004, 42: 3668.

Spectroscopy Study of Binding Mechanisms and Molecular Recognition of Methamidophos-Specific Molecularly Imprinted Polymer

SHEN Zhong-lan, YANG Jun, ZHU Xiao-lan, GAO Yun, SU Qing-de*

Department of Chemistry, University of Science and Technology of China; Hefei 230026, China

Abstract A new methamidophos-specific molecularly imprinted polymer (MIP) was synthesized based on non-covalent interaction. The complexes formed between MAP and MAA were evaluated by ¹H NMR, FTIR and UV spectrometry. The MAP-MAA complexes of 1 : 2 mole ratio were obtained by cooperative hydrogen bonding and the complexes possessed better stabilization ($K=2.894 \times 10^6 \text{ L}^2 \cdot \text{mol}^{-2}$). The Infrared spectrometry differences of the MIPs before and after saturated with MAP further indicated that there were carboxyl functional groups in the MIP, which could interact with the template by cooperative hydrogen bonding specifically.

Keywords Methamidophos; Molecularly imprinted polymer; FTIR; Molecular recognition

(Received Sep. 2, 2007; accepted Dec. 6, 2007)

* Corresponding author