

分子印迹技术在电化学中的应用

张 兴 尚宏周* 何俊男 王皓卿

(华北理工大学化工学院,唐山 063210)

摘 要 分子印迹技术是一种对目标分子进行特异性识别的新技术。分子印迹聚合物具有制备方法简单、稳定性好、识别能力强等特点,这些特点使其在膜分离、固相萃取、传感器、催化等方面有了广泛的应用。总结归纳了分子印迹技术的主要特点、分子印迹电化学传感器的制备方法和类别,并对未来发展趋势进行了展望。

关键词 分子印迹技术,电化学传感器,特异性识别

Application of molecular imprinting technology in electrochemistry

Zhang Xing Shang Hongzhou He Junnan Wang Haoqing

(College of Chemical Engineering, North China University of Science and Technology,
Tangshan 063210)

Abstract Molecular imprinting technology is a new technique which can recognize target molecules. Molecular imprinted polymers have been widely used in membrane separation, solid phase extraction, sensor and catalysis because of the advantages including simple preparation method, good stability and strong recognition ability. The characteristics of molecular imprinting techniques and the methods & types of molecular imprinting electrochemical sensors were summarized.

Key words molecular imprinting technology, electrochemical sensor, specific identification

分子印迹技术最早起源于生物化学领域,在上世纪 40 年代由 Pauling 提出了分子印迹聚合物(MIPs)的理论模型。经过几代人的探索,一直到 90 年代,分子印迹技术得到了很大提升。MIPs 的制备分为 3 个步骤,首先是在适当的介质中,模板分子与功能单体进行预聚合;然后加入交联剂引发剂进行交联聚合;最后洗脱模板分子,得到 MIPs^[1]。得到的 MIPs 上存在与模板分子结构互补并且具有多重作用位点的空穴,这是 MIPs 具有特异性识别能力的基础^[2]。MIPs 所具有的预定性、高选择性、可重复使用等特点,使其得到迅速发展,在传感器^[3-4]、固相萃取^[5]、膜分离^[6]、催化^[7]、药物分析^[8]和色谱分离^[9]等领域都有广泛的利用。

MIPs 对目标物具有特异性识别的能力,使其可以作为电极的敏感材料,用来构建电化学传感器,检测目标分子,当目标分子与 MIPs 结合之后,电极表面的电信号会发生改变,通过监测这种变化,从而实现目标物的检测^[10]。与传统传感器相比,其具

有选择性高、成本低、操作简便等优点,在环境监控、生物大分子标记、质量监控以及食物检测等领域备受关注。

1 分子印迹电化学传感器的制备方法

1.1 表面涂附法

该方法是一个物理吸附过程,将提前制备好的 MIPs 溶解在低沸点溶剂中,通过蘸涂、滴涂或旋涂等方式,将获得的溶液对电极表面进行修饰,溶剂自然挥发后,分子印迹聚合物敏感膜在电极表面形成^[11]。

Santos 等^[12]将乙烯基三甲氧基硅烷(VTMS)修饰的多壁碳纳米管(MWCNTs)溶解在 N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中,然后将溶液滴加在玻碳电极的表面,待溶剂挥发后,以其为基质,在电极表面制备用来检测咖啡因的 MIPs。在最佳条件下,传感器的线性响应范围为 0.75~40 μmol/L,检测限为 0.22 μmol/L。Zhang 等^[13]以石墨烯(GN)为基质,以对乙烯基苯甲酸(VBA)为功能单体,吡虫啉

基金项目:河北省高等学校自然科学基金(ZD2017059)

作者简介:张兴(1993-),男,硕士研究生,主要研究方向为精细化学品的合成。

联系人:尚宏周,男,副教授,主要研究方向为功能新材料和精细化学品的合成与应用研究。

(IDP)为模板分子,制备了 GN/MIPs,然后将得到的 GN/MIPs 产物滴加到玻碳电极上,制备传感器, IDP 在 GN/MIPs 改性生物金属微米花修饰的玻碳电极(GCE)上的峰值电流与 IDP 浓度在 $0.5 \sim 15 \mu\text{mol/L}$ 范围内呈线性关系,检测限为 $0.10 \mu\text{mol/L}$ 。

1.2 原位引发聚合法

原位引发聚合法是直接电极表面涂附含有功能单体、模板分子和引发剂的混合溶液,然后在一定条件下,引发聚合反应直接形成 MIPs 膜。Ma 等^[14]直接在玻碳电极表面,用具有导电性的碳纳米管加以修饰,以丙烯酰胺(AAM)为官能单体,人类免疫缺陷病毒 p24(HIV-p24)为模板,室温下加入引发剂引发聚合反应,在其表面制备印迹膜,该 MIPs 电化学生物传感器对 HIV-p24 线性检测范围为 $1.0 \times 10^{-4} \sim 2 \text{ ng/cm}^3$,检测限为 0.083 pg/cm^3 ($S/N=3$)。

1.3 电聚合法

电聚合法是目前最有潜力的制备方法。通常在室温下,将电极置于功能单体和模板分子的混合溶液中,通过电化学的方法[恒电流法,恒电压法以及伏安循环法(CV)等]在电极表面制备 MIPs 敏感膜。

Yang 等^[15]在多巴胺@石墨烯(DGr)和 GCE 上,以氨基苯硫酚(ATP)为单体,胆固醇(CHO)为模板分子通过电聚合法,制备了用来检测超痕量胆固醇(CHO)的新型印迹传感器,该 MIPs 传感器对 CHO 显示出高灵敏度、抗干扰性和良好的稳定性,在最佳的实验条件下,传感器的线性响应范围在 $10^{-18} \sim 10^{-13} \text{ mol/L}$ 之间,检测限为 $3.3 \times 10^{-19} \text{ mol/L}$ 。Nezhadali 等^[16]以吡咯为单体,2-氨基苯并咪唑(2-AB)为模板,通过 CV 和差分脉冲伏安法(DPV)在石墨电极表面制备了 MIPs,对 2-AB 显示出良好的选择性和敏感性,其检测限为 $1.0 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ 。Guo 等^[17]将对巯基苯胺(PATP)修饰在金电极表面,通过电聚合,使模板分子 1,3,5-三硝基甲苯与其发生聚合反应,该传感器的线性响应范围在 $4.4 \text{ fM} \sim 44 \text{ nM}$ 之间,检测限为 0.04 fM 。而且具有良好的重现性,可以应用于水龙头和天然水中三硝基甲苯的检测。

1.4 溶胶-凝胶法

溶胶-凝胶体系本身就具有稳定性高、多孔、交联度高等特点,当与分子印迹技术结合之后,使印迹材料的选择性和专一性得到提高。

Zhang 等^[18]通过溶胶-凝胶法制备出了用于检测 2-壬基苯酚(2-NP)的 MIPs,使用多壁碳纳米管-

全氟磺酸(MWNT-NF)复合材料组成的溶胶-凝胶 MIPs 将印迹膜修饰在玻碳电极的表面上,通过测量氧化还原探针 $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 的 DPV 反应变化情况,来观察 MIPs 溶胶-凝胶膜和目标分子之间的识别过程,在最佳的条件下,获得了线性响应浓度范围为 $0.2 \sim 360 \mu\text{mol/L}$,检出限为 $0.06 \mu\text{mol/L}$ 。目前该传感器应用于水土样品中 2-NP 的检测,回收率高达 $95.4\% \sim 98.1\%$,展现了很好的应用前景。Zhou 等^[19]通过溶胶-凝胶法制备了磁性的四溴双酚 A(TBBPA)MIPs,作为电极识别元件,用来改性碳糊电极,该传感器用于检测水样中痕量 TBBPA,检测的线性范围为 $5.0 \sim 2000 \text{ nmol/L}$,检测限为 0.77 nmol/L ($S/N=3$),目前已经成功应用于检测自来水、雨水和池水样品中的 TBBPA。

1.5 自组装法

自组装法又称为非共价法,是指在非共价力(氢键、静电作用力、范德华力、金属螯合作用等)的作用下,模板分子与功能单体自发形成复合物,然后在交联剂的作用下,将其结构固定保存。

Toro 等^[20]通过自组装法制备了用来检测环嗪酮的电化学传感器,在 pH 为 2.5 的 HCl 中,用 2-乙烯基吡啶作为功能单体,制备的传感器在浓度为 $1.9 \times 10^{-11} \sim 1.1 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ 之间显示出动态线性关系,检测限为 $2.6 \times 10^{-12} \text{ mol/L}$,成功应用于河水样品中环嗪酮的分析。Rao 等^[21]通过金和聚苯胺复合物($\text{Au}@\text{PANI}$)对玻碳电极进行改性,增加电极的灵敏度和放大传感器的信号,然后将三聚氰胺模板分子通过形成的氢键进一步组装到 $\text{Au}@\text{PANI}$ 上,从而可以对三聚氰胺进行检测。这种简单高效的传感器对三聚氰胺的检出限为 $1.39 \times 10^{-6} \mu\text{mol/L}$,远低于目前正在使用的检测手段。

2 分子印迹电化学传感器的种类

2.1 电位型

电位型传感器在制备过程中不需要去除目标物分子,同时,在测定过程中模板分子不用穿过印迹敏感膜,因此,不限制目标物的尺寸大小,应用非常广泛。

Widayani 等^[22]将葡萄糖分子作为模板,甲基丙烯酸(MAA)作为单体,通过本体聚合法来制备 MIPs,然后将 MIPs 作为电极的识别元件,用来检测葡萄糖浓度,研究表明,传感器的响应程度取决于葡萄糖的浓度,对于高达 7 mmol/L 的葡萄糖浓度,测得的电位在 $72.5 \sim 295.8 \text{ mV}$ 范围内。潜在的响应与 $0.02 \sim 5 \text{ mmol/L}$ 范围内的葡萄糖浓度呈线性

相关,灵敏度约为 $43.7 \pm 1.6 \text{ mV}/(\text{mmol/L})$ 。

Smolinska-Kempisty 等^[23]在有机溶剂中将丙烯酰胺作为功能单体,制备可卡因分子印迹纳米颗粒,将其作为合成电位型传感器的识别元件,实验证明该传感器能够在浓度为 $1 \text{ nmol/L} \sim 1 \text{ mmol/L}$ 之间对血清样品中的可卡因进行定量分析。

2.2 电容型

电容型分子印迹电化学传感器是在使用过程中不需要额外标记和试剂的传感器,检测原理就是将 MIPs 作为敏感膜,通过目标物与膜结合前后的电容变化,实现对目标物的检测。

Graniczkowska 等^[24]制备了安非他明的前体 *N*-甲酰苯丙胺分子印迹电容型电化学传感器,用来检测水样中痕量的 *N*-甲酰苯丙胺,检出限达 $10 \mu\text{mol/L}$,这一结果表明这种电容型传感器在环境和医学领域存在巨大潜力。Idil 等^[25]通过分子印迹技术和电容式生物传感器技术的结合,成功实现了对大肠杆菌的识别和检测,细菌标本制备后,将氨基酸作为识别元件,*N*-甲基丙烯酰基-*L*-组氨酸甲酯和甲基丙烯酸羟乙酯作为单体,二甲基丙烯酸乙二醇酯(EGDMA)作为交联剂,在紫外光条件下进行聚合,制备大肠杆菌分子印迹电极,检测限达到 70 CFU/mL ,该电容传感器具有高选择性,能够区分大肠杆菌以及已知的具有相似形状的竞争性细菌菌株。

2.3 电流型

电流型传感器是目前应用最为广泛的传感器,既可以直接检测电化学活性物质,也可以间接检测不具有电化学活性的物质。

Xue 等^[26]将金纳米粒子(AuNPs)掺杂在 MIPs 中制备了电流型印迹电化学传感器用来检测人血清中痕量的多巴胺,而且该传感器的应用最大限度降低了抗坏血酸(AA)和尿酸(UA)引起的干扰,DA 的电流检测线性范围为 $0.02 \sim 0.54 \mu\text{mol/L}$,检出限为 7.8 nmol/L 。Zhao 等^[27]通过热聚合法制备了用来检测四环素(TC)的电流型电化学传感器。在 TC 浓度为 $0.1 \sim 10 \text{ mg/L}$ 时,检出限为 0.026 mg/L 。Chen 等^[28]通过镍纳米粒子-石墨烯对玻碳电极进行改性,制备了一种用于检测 TBBPA 分子印迹电流型传感器,该传感器的响应电流密度与浓度范围为 $5.0 \times 10^{-10} \sim 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 的 TBBPA 呈线性关系,检测限为 $1.3 \times 10^{-10} \text{ mol/L}$ ($S/N=3$)。

2.4 电导型

电导型传感器目前应用程度较低,因为其性能不

稳定,受到很多因素限制,例如电极间印迹敏感膜的制备方式、目标物分子的去除、以及目标物溶液中杂质的含量等,因此该传感器需要进一步研究和开发。

Suede 等^[29]将三氯乙酸(TCAA)作为模板,4-乙烯吡啶(VPD)作为功能单体,以及乙二醇二甲基丙烯酸酯(EDMA)作为交联剂制备了 MIPs 敏感膜修饰传感器电极,该传感器通过检测氯水的电导率来确定所含有卤代乙酸的浓度。实验证明传感器对目标分析物具有较高的识别性和敏感性,并且在含无机阴离子的溶液中表现出稳定的信号响应。所需的最小样品体积为 2.5 mL ,测定时间为 2 min 。目前已经用于家用和商业饮用水水样的检测。Chai 等^[30]以沙丁胺醇为模板,甲基丙烯酸(MAA)为功能单体制备的 MIPs 作为一种电导探针用于检测沙丁胺醇,该传感器的电导响应在沙丁胺醇浓度为 $50 \sim 280 \text{ nmol/L}$ 的范围内呈现线性关系,检测限为 13.5 nmol/L 。

3 展望

分子印迹技术具有的稳定性高、选择性好、制备简单等特点使其在电化学领域确实得到很大的发展,但是依然存在很多问题。第一,传感器的各项指数达不到技术要求,不能推广使用;第二,应用的领域不够广泛,可以检测的物质有限;第三,对理论机理的研究不够深入,需要进一步挖掘。所以在未来的研究中,需要注意以下几方面的发展:

(1)开发更多的功能单体,拓宽分子印迹技术应用范围,提高它的实用性。

(2)促进该技术与新型纳米材料的结合,提高传感器的灵敏度。

(3)分子印迹电化学传感技术与生物技术相结合,拓宽其在医学领域的应用。

参考文献

- [1] 尚宏周,梁红玉,张小梅,等.分子印迹聚合物的最新研究进展[J].现代化工,2013,33(12):28-30.
- [2] 尚宏周,赵敬东,何俊男,等.离子印迹聚合物的最新研究进展[J].现代化工,2016,36(9):32-35.
- [3] Cai D, Ren L, Zhao H, et al. A molecular-imprint nanosensor for ultrasensitive detection of proteins[J]. Nature Nanotechnology, 2010, 5(8): 597-601.
- [4] Li X, Zhang L, Wei X, et al. A sensitive and renewable chloroturon molecularly imprinted polymer sensor based on the gate-controlled catalytic electrooxidation of H_2O_2 on magnetic Nano-NiO[J]. Electroanalysis, 2013, 25(25): 1286-1293.
- [6] Lee D S, Song H W, Choi C G, et al. Pore-size reduction proto-

- col for SiN membrane nanopore using the thermal reflow in nanoimprinting for nanobio-based sensing[J]. *Journal of Bio-medical Optics*, 2014, 19(5): 466-469.
- [7] Ribeiro A, Veiga F, Santos D, et al. Bioinspired imprinted PHEMA-hydrogels for ocular delivery of carbonic anhydrase inhibitor drugs[J]. *Biomacromolecules*, 2011, 12(3): 701-709.
- [8] Sellergren B, Allender C J. Molecularly imprinted polymers: a bridge to advanced drug delivery[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, 57(12): 1733-1741.
- [9] Huang B Y, Chen Y C, Wang G R, et al. Preparation and evaluation of a monolithic molecularly imprinted polymer for the chiral separation of neurotransmitters and their analogues by capillary electrochromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2011, 1218(6): 849-855.
- [10] 易娜, 张教强, 史长明, 等. 分子印迹传感器的研究进展[J]. *材料开发与应用*, 2013, 28(1): 117-124.
- [11] Lian W, Liu S, Yu J, et al. Electrochemical sensor based on gold nanoparticles fabricated molecularly imprinted polymer film at chitosan-platinum nanoparticles/graphene-gold nanoparticles double nanocomposites modified electrode for detection of erythromycin[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2012, 38(1): 163-169.
- [12] Santos W D J R, Santhiago M, Yoshida I V P, et al. Electrochemical sensor based on imprinted sol-gel and nanomaterial for determination of caffeine [J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2012, 166-167(6): 739-745.
- [13] Zhang M, Zhao H T, Xie T J, et al. Molecularly imprinted polymer on graphene surface for selective and sensitive electrochemical sensing imidacloprid [J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2017, 252: 991-1002.
- [14] Ma Y, Shen X L, Zeng Q, et al. A multi-walled carbon nanotubes based molecularly imprinted polymers electrochemical sensor for the sensitive determination of HIV-p24[J]. *Talanta*, 2017, 164: 121-127.
- [15] Yang H, Li L, Ding Y, et al. Molecularly imprinted electrochemical sensor based on bioinspired Au microflowers for ultra-trace cholesterol assay[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 92: 748-754.
- [16] Nezhadali A, Pirayesh S, Shadmehri R. Computer-assisted sensor design and analysis of 2-aminobenzimidazole in biological model samples based on electropolymerized-molecularly imprinted polypyrrole modified pencil graphite electrode[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2013, 185(8): 17-23.
- [17] Guo Z Z, Florea A, Cristea C, et al. 1,3,5-Trinitrotoluene detection by a molecularly imprinted polymer sensor based on electropolymerization of a microporous-metal-organic framework[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2015, 207: 960-966.
- [18] Zhang J, Niu Y, Li S, et al. A molecularly imprinted electrochemical sensor based on sol-gel technology and multiwalled carbon nanotubes-nafion functional layer for determination of 2-nonylphenol in environmental samples[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2014, 193(3): 844-850.
- [19] Zhou T, Feng Y, Zhou L, et al. Selective and sensitive detection of tetrabromobisphenol-a in water samples by molecularly imprinted electrochemical sensor[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2016, 236: 153-162.
- [20] Toro M J U, Marestoni L D, Sotomayor M D P T. A new biomimetic sensor based on molecularly imprinted polymers for highly sensitive and selective determination of hexazinone herbicide[J]. *Sensors & Actuators B Chemical*, 2015, 208: 299-306.
- [21] Rao H, Chen M, Ge H, et al. A novel electrochemical sensor based on Au@PANI composites film modified glassy carbon electrode binding molecular imprinting technique for the determination of melamine [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 87: 1029-1035.
- [22] Widayani, Yanti, Wungu T D K, et al. Preliminary study of molecularly imprinted polymer-based potentiometric sensor for glucose[J]. *Procedia Engineering*, 2017, 170: 84-87.
- [23] Smolinska-Kempisty K, Ahmad O S, Guerreiro A, et al. New potentiometric sensor based on molecularly imprinted nanoparticles for cocaine detection[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 96: 49-54.
- [24] Graniczawska K, Pütz M, Hauser F M, et al. Capacitive sensing of N-formylamphetamine based on immobilized molecular imprinted polymers [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2017, 92: 741-747.
- [25] Idil N, Hedström M, Denizli A, et al. Whole cell based microcontact imprinted capacitive biosensor for the detection of escherichia coli[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2016, 87: 807-815.
- [26] Xue C, Han Q, Wang Y, et al. Amperometric detection of dopamine in human serum by electrochemical sensor based on gold nanoparticles doped molecularly imprinted polymers[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2013, 49(22): 199-203.
- [27] Zhao H, Wang H, Quan X, et al. Amperometric sensor for tetracycline determination based on molecularly imprinted technique[J]. *Procedia Environmental Sciences*, 2013, 18: 249-257.
- [28] Chen H, Zhang Z, Cai R, et al. Molecularly imprinted electrochemical sensor based on nickel nanoparticles-graphene nanocomposites modified electrode for determination of tetrabromobisphenol A[J]. *Electrochimica Acta*, 2014, 117(4): 385-392.
- [29] Suede R, Intakong W, Dickert F L. Molecularly imprinted polymer-modified electrode for on-line conductometric monitoring of haloacetic acids in chlorinated water[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 569(1): 66-75.
- [30] Chai C, Liu G, Feng L, et al. Towards the development of a portable sensor based on a molecularly imprinted membrane for the rapid determination of salbutamol in pig urine[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 675(2): 185-190.

收稿日期: 2017-09-29

修稿日期: 2017-11-15