



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102617813 B

(45) 授权公告日 2014.06.18

(21) 申请号 201210097865.5

(22) 申请日 2012.04.06

(73) 专利权人 济南大学

地址 250022 山东省济南市市中区济微路
106号

(72) 发明人 李慧芝 许崇娟 李冬梅 陈亚明
魏琴

(56) 对比文件

WO 2008103828 A1, 2008.08.28, 全文.

WO 2012004790 A2, 2012.01.12, 全文.

CN 101880355 A, 2010.11.10, 全文.

CN 102000549 A, 2011.04.06, 全文.

CN 1473862 A, 2004.02.11, 全文.

审查员 刘雅婷

(51) Int. Cl.

C08F 290/10 (2006.01)

C08F 222/14 (2006.01)

C08F 220/56 (2006.01)

C08B 37/02 (2006.01)

C08J 9/26 (2006.01)

B01J 20/285 (2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材
料的制备及应用

(57) 摘要

本发明公开了一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料的制备方法及其在食品、药品分析中对芹菜素分子选择性吸附分离的应用。该方法以葡聚糖凝胶为支持体,在其表面修饰上芹菜素分子印迹聚合物。主要技术特征是:按一定的比例加入芹菜素、丙烯酰胺、乙二醇二甲基丙烯酸酯、偶氮二异丁腈、酰基化葡聚糖凝胶,在四氢呋喃介质中,氩气除去氧,于60~65℃恒温水浴中反应20~30h,过滤洗涤。用体积分数12~18%乙酸甲醇溶液索氏萃取12~22h,以除去芹菜素模板分子,洗涤干燥既得该材料。对芹菜素分子具有特异的识别能力,选择性高,吸附速度快,解吸性能好,可生物降解,工艺简单,具有再生能力,并具有环境友好等优点。

1. 一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料的制备方法,其特征是:在于该方法具有以下工艺步骤:

(1) 葡聚糖凝胶活化处理:将葡聚糖凝胶溶胀后,洗涤多次,再将其置于 6mol/L 盐酸溶液,室温下浸泡 24h,用去离子水洗涤至中性,抽滤后 80℃烘干,得活化葡聚糖凝胶;

(2) 葡聚糖凝胶的酰基化处理:将活化葡聚糖凝胶于反应器中加入适量四氢呋喃和水,加热此溶液至 60 ~ 65℃;在搅拌下加入 NaOH,搅拌均匀后,滴加 3- 溴丙烯,加入量按下组成质量百分比加入,活化葡聚糖凝胶:8 ~ 15%;四氢呋喃:35 ~ 45%;去离子水:35 ~ 45%;NaOH:2.5 ~ 4.5%,3- 溴丙烯:2.8 ~ 6.0%,各组分含量之和为百分之百,滴加完毕后,在 60 ~ 65℃恒温,搅拌反应 4 ~ 6h,冷至室温过滤,去离子水、甲醇洗涤,干燥得到酰基化葡聚糖凝胶;

(3) 葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料制备:按如下组成质量百分比加入,四氢呋喃:40 ~ 55%,芹菜素:0.2 ~ 1.0%,丙烯酰胺:2.5 ~ 6.5%,乙二醇二甲基丙烯酸酯:24 ~ 40%,偶氮二异丁腈:0.2 ~ 1.0%,酰基化葡聚糖凝胶:10 ~ 22%,各组分含量之和为百分之百,通入惰性气体 5min 除去氧气,密封与空气隔绝,于 60 ~ 65℃恒温水浴中反应 20 ~ 30h,过滤洗涤;

(4) 模板分子的脱除:以体积分数 12 ~ 18%乙酸甲醇溶液索氏萃取 12 ~ 22h,再用乙醇洗去残留的乙酸和甲醇,过滤,置于 60℃真空干燥箱中干燥,即为葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料。

2. 根据权利要求 1 所述的一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料的制备方法,其特征是:葡聚糖凝胶为葡聚糖凝胶 G-25,葡聚糖凝胶 G-50,葡聚糖凝胶 G-75。

3. 根据权利要求 1 中所述的一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料的制备方法,其特征是:惰性气体为氩气。

4. 根据权利要求 1 制备的葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料对芹菜素分子选择性吸附分离的应用。

一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料的制备及应用

技术领域

[0001] 本发明涉及的是一种分子印迹吸附材料的制备方法与应用技术,特别涉及一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料的制备方法及在食品检测中的应用技术。

背景技术

[0002] 芹菜素又称芹黄素,属黄酮类化合物,具有抗肿瘤、抗炎症、降血压、抗动脉硬化和血栓、抗焦虑抗菌抗病毒以及抗氧化等多种药理活性,有很高的研究与应用价值。从复杂的中草药和植物中分离、提取芹菜素的选择性问题一直未得到有效的解决。因此,将对模板分子具有特殊亲和性和选择性分子印迹聚合物应用于中药的提纯及分析中,从而高效有选择性分离提取特定结构的化合物具有重要的意义。

[0003] 具有分子识别功能的高选择性材料,一直受到人们的关注,分子印迹技术是当前制备高选择性材料的主要方法之一。依据此技术制备的分子印迹聚合物,由于对印迹分子的立体结构具有“记忆”功能而表现预定、专一的识别性能,在分离科学、生物模拟科学等领域有十分广阔的应用前景。申请号为 200910036069.9 的专利中公开一种芹菜素分子印迹聚合物的制备方法,印迹聚合物的传统制备方法是:将模板分子、功能单体、交联剂和引发剂按一定配比溶解在溶剂(致孔剂)中,在适当条件下引发聚合后得到块状的高度交联刚性聚合物;然后经粉碎、过筛而得到尺寸符合要求的粒子。此方法所需装置简单,普适性强,但通常存在以下问题:(1) 在研磨过程中可控性差,不可避免地产生一些不规则颗粒,同时破坏部分印迹点。经筛分后获得的合格颗粒一般低于 50%,造成明显浪费;(2) 存在模板分子包埋过深、难以洗脱、模板渗漏和机械性能低;(3) 印迹位点分布不均一,一部分处于颗粒孔壁上,其传质速率较快,而另一些包埋在聚合物本体之中,受位阻影响,可接近性差,再结合模板分子的速率慢,从而降低了印迹位点的利用率。为了解决上述问题,表面印迹作为一种新的方法近年来成为研究的热点。所谓表面分子印迹就是采取一定的措施把所有的结合位点结合在具有良好可接近性的表面上,从而有利于模板分子的脱除和再结合。所以选择理想的支持体很重要,目前所用的支持体主要是碳微球和硅胶颗粒,申请号为 200410072308.3、201010156001.7、201010242495.0 的专利中公开都是以硅胶球为支持的印迹吸附材料;申请号为 201010137822.6 的专利中公开一种以碳微球为支持的印迹吸附材料。

[0004] 葡聚糖凝胶是具有多孔性三维空间网状结构的高分子化合物,属于软性凝胶,其微孔能吸入大量溶剂。凝胶溶胀性能好,在生物化学中广泛用于蛋白质、核酸、酶和多糖类高分子物质的分离,是生物大分子分离纯化技术中不可缺少的一类介质。其分离基础是根据溶液中这些物质分子体积大小进行过筛,葡聚糖凝胶起分子筛的作用。但葡聚糖凝胶应用于稀溶液的浓缩效果不理想,而且对分子体积相近的无法分离,更对结构相近的分子无法识别。葡聚糖含有亲水性,还带有丰富的配位基,很容易进行化学改性,是理想聚合物支持体。国内在 1986 年王启超等(分析化学,1986,14(8),584~586)首次将巯基连接到葡

聚糖上合成巯基葡聚糖凝胶用于金属离子分离富集。而用葡聚糖凝胶作为支持体合成芹菜素分子印迹吸附材料的未见公开的专利和文献报道。

发明内容

[0005] 本发明的目的之一是提供一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料的制备方法,主要是以葡聚糖为支持体,在其表面印迹上芹菜素分子,合成对芹菜素分子具有高选择性、有特异识别能力的吸附材料。

[0006] 本发明的目的通过以下技术方案实现。

[0007] 一种葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料的制备方法,特征在于该方法具有以下工艺步骤:

[0008] (1) 葡聚糖凝胶活化处理:将预先溶胀洗涤多次葡聚糖凝胶于 6mol/L 盐酸溶液,室温下浸泡 24h,用去离子水洗涤至中性,抽滤后 80℃烘干,得活化葡聚糖凝胶;

[0009] (2) 葡聚糖凝胶的酰基化处理:将活化葡聚糖凝胶于反应器中加入适量四氢呋喃和水,加热此溶液至 60 ~ 65℃;在搅拌下加入 NaOH,搅拌均匀后,滴加 3- 溴丙烯,加入量按如下组成质量百分比加入,活化葡聚糖凝胶:8 ~ 15%;四氢呋喃:35 ~ 45%;去离子水:35 ~ 45%;NaOH:2.5 ~ 4.5%,3- 溴丙烯:2.8 ~ 6.0%,滴加完毕后,在 60 ~ 65℃恒温,搅拌反应 4 ~ 6h,冷至室温过滤,去离子水、甲醇洗涤,干燥得到酰基化葡聚糖凝胶;

[0010] (3) 葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料制备:按如下组成质量百分比加入,四氢呋喃:40 ~ 55%,芹菜素:0.2 ~ 1.0%,丙烯酰胺:2.5 ~ 6.5%,乙二醇二甲基丙烯酸酯:24 ~ 40%,偶氮二异丁腈:0.2 ~ 1.0%,酰基化葡聚糖凝胶:10 ~ 22%,各组分含量之和为百分之百,通入惰性气体 5min 除去氧气,密封与空气隔绝,于 60 ~ 65℃恒温水浴中反应 20 ~ 30h,过滤洗涤;

[0011] (4) 模板分子的脱除:以体积分数 12 ~ 18%乙酸甲醇溶液索氏萃取 12 ~ 22h,再用乙腈洗去残留的乙酸和甲醇,过滤,置于 60℃真空干燥箱中干燥,即为葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料。

[0012] 本发明的另一个目的是提供葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料在食品分析中对芹菜素的识别及吸附中的应用。特征为:将制备好的葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料制作成吸附柱,在乙醇-水介质中,按动态法吸附,流速为 0.20 ~ 0.60mL/min。吸附后用体积分数 10 ~ 15%乙酸甲醇溶液洗脱,流速为 0.2 ~ 0.45mL/min。洗脱液用化学发光法测定芹菜素的含量。

[0013] 本发明的优点及效果是:

[0014] (1) 本发明获得高选择性吸附材料是葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料,以丙烯酰胺和 4- 乙烯基吡啶为功能单体,与芹菜素为印迹分子,葡聚糖凝胶为支持体,再加交联剂和引发剂,采用本体聚合的方法制备葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料。该法制得的分子印迹聚合物具有特定的空穴,对芹菜素具有特异的识别能力,选择性较高,对其它共存物质不吸附。

[0015] (2) 本发明葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料制备过程简单,条件易于控制,生产成本低。

[0016] (3) 本发明制备葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料,由于是在葡聚糖凝胶

表面修饰上分子印迹聚合物,其吸附位点都在吸附剂的表面,有利于模板分子吸附和洗脱,洗脱时间短,吸附能力强、效率高,其对芹菜素分子最大吸附容量为 156mg/g,最高吸附率可达 95%。

[0017] (4) 本发明制备葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料,所用的支持原料葡聚糖凝胶来源广泛,可生物降解,并且是再生资源,有良好的物理化学稳定性和优异的机械稳定性。

具体实施方式

[0018] 实施例 1

[0019] (1) 葡聚糖凝胶活化处理:将预先溶胀洗涤多次葡聚糖凝胶于 6mol/L 盐酸溶液,室温下浸泡 24h,用去离子水洗涤至中性,抽滤后 80℃ 烘干,得活化葡聚糖凝胶;

[0020] (2) 葡聚糖凝胶的酰基化处理:在四口烧瓶中加入 35mL 水,40mL 四氢呋喃,10g 活化葡聚糖凝胶,加热此溶液 60℃;在搅拌下加入 3.0g NaOH,搅拌均匀,恒压滴加 3.0g 3-溴丙烯,滴加完毕后,恒温 60℃,搅拌反应 5h,冷至室温过滤,去离子水、甲醇洗涤,干燥得到酰基化葡聚糖凝胶;

[0021] (3) 葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料制备:在四口烧瓶中加入 11.3mL 四氢呋喃,再加入 0.10g 芹菜素与 1.0g 丙烯酰胺,常温下搅拌充分溶解后,加入 8.0g 乙二醇二甲基丙烯酸酯,0.1g 偶氮二异丁腈,3.0g 酰基化葡聚糖凝胶,通入氩气 10min 除去氧气,搅拌均匀,升温于 60℃ 恒温水浴中反应 25h,过滤洗涤;

[0022] (4) 模板分子的脱除:以体积分数 15% 乙酸甲醇溶液索氏萃取 18h,再用乙腈洗去残留的乙酸和甲醇,过滤,置于 60℃ 真空干燥箱中干燥,即为葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料。

[0023] 实施例 2

[0024] (1) 葡聚糖凝胶活化处理:将预先溶胀洗涤多次葡聚糖凝胶于 6mol/L 盐酸溶液,室温下浸泡 24h,用去离子水洗涤至中性,抽滤后 80℃ 烘干,得活化葡聚糖凝胶;

[0025] (2) 葡聚糖凝胶的酰基化处理:在四口烧瓶中加入 35mL 水,40mL 四氢呋喃,10g 活化葡聚糖凝胶,加热此溶液 60℃;在搅拌下加入 3.0g NaOH,搅拌均匀,恒压滴加 3.0g 3-溴丙烯,滴加完毕后,恒温 60℃,搅拌反应 5h,冷至室温过滤,去离子水、甲醇洗涤,干燥得到酰基化葡聚糖凝胶;

[0026] (3) 葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料制备:在四口烧瓶中加入 13.5mL 四氢呋喃,再加入 0.15g 芹菜素与 0.8g 丙烯酰胺置于,常温下搅拌充分溶解后,加入 6.0g 乙二醇二甲基丙烯酸酯,0.15g 偶氮二异丁腈,5.0g 酰基化葡聚糖凝胶,通入氩气 8min 除去氧气,搅拌均匀,升温于 65℃ 恒温水浴中反应 22h,过滤洗涤;

[0027] (4) 模板分子的脱除:以体积分数 12% 乙酸甲醇溶液索氏萃取 20h,再用乙腈洗去残留的乙酸和甲醇,过滤,置于 60℃ 真空干燥箱中干燥,即为葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料。

[0028] 实施例 3

[0029] (1) 葡聚糖凝胶活化处理:将预先溶胀洗涤多次葡聚糖凝胶于 6mol/L 盐酸溶液,室温下浸泡 24h,用去离子水洗涤至中性,抽滤后 80℃ 烘干,得活化葡聚糖凝胶;

[0030] (2) 葡聚糖凝胶的酰基化处理 :在四口烧瓶中加入 35mL 水,40mL 四氢呋喃,10g 活化葡聚糖凝胶,加热此溶液 60℃ ;在搅拌下加入 3.0gNaOH,搅拌均匀,恒压滴加 3.0g 3- 溴丙烯,滴加完毕后,恒温 60℃,搅拌反应 5h,冷至室温过滤,去离子水、甲醇洗涤,干燥得到酰基化葡聚糖凝胶 ;

[0031] (3) 葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料制备 :在四口烧瓶中加入 11.5mL 四氢呋喃,再加入 0.10g 芹菜素与 1.0g 丙烯酰胺置于,常温下搅拌充分溶解后,加入 7.0g 乙二醇二甲基丙烯酸酯,0.15g 偶氮二异丁腈,2.0g 酰基化葡聚糖凝胶,通入氮气 10min 除去氧气,搅拌均匀,升温于 63℃ 恒温水浴中反应 30h,过滤洗涤 ;

[0032] (4) 模板分子的脱除 :以体积分数 18% 乙酸甲醇溶液索氏萃取 12h,再用乙腈洗去残留的乙酸和甲醇,过滤,置于 60℃ 真空干燥箱中干燥,即为葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料。

[0033] 实施例 4

[0034] (1) 葡聚糖凝胶活化处理 :将预先溶胀洗涤多次葡聚糖凝胶于 6mol/L 盐酸溶液,室温下浸泡 24h,用去离子水洗涤至中性,抽滤后 80℃ 烘干,得活化葡聚糖凝胶 ;

[0035] (2) 葡聚糖凝胶的酰基化处理 :在四口烧瓶中加入 35mL 水,40mL 四氢呋喃,10g 活化葡聚糖凝胶,加热此溶液 60℃ ;在搅拌下加入 3.0gNaOH,搅拌均匀,恒压滴加 3.0g 3- 溴丙烯,滴加完毕后,恒温 60℃,搅拌反应 5h,冷至室温过滤,去离子水、甲醇洗涤,干燥得到酰基化葡聚糖凝胶 ;

[0036] (3) 葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料制备 :在四口烧瓶中加入 9.0mL 四氢呋喃,再加入 0.15g 芹菜素与 1.2g 丙烯酰胺置于,常温下搅拌充分溶解后,加入 6.0g 乙二醇二甲基丙烯酸酯,0.1g 偶氮二异丁腈,3.0g 酰基化葡聚糖凝胶,通入氮气 5min 除去氧气,搅拌均匀,升温于 65℃ 恒温水浴中反应 28h,过滤洗涤 ;

[0037] (4) 模板分子的脱除 :以体积分数 12% 乙酸甲醇溶液索氏萃取 18h,再用乙腈洗去残留的乙酸和甲醇,过滤,置于 60℃ 真空干燥箱中干燥,即为葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料。

[0038] 实施例 5

[0039] 葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料应用方法 :芹菜籽中芹菜素的检测,分离后采用化学发光法检测,其具体方法的步骤如下 :

[0040] (1) 萃取柱的制备 :将制备好的葡聚糖凝胶表面芹菜素分子印迹吸附材料,以水为匀浆液,进行湿法装柱,该柱依次用水洗涤多次备用 ;

[0041] (2) 芹菜籽的提取 :将干燥,粉碎过 50 目筛,准确称取 3.000g 粉碎好的芹菜籽样品加入 0.5mmol/LKOH 溶液 20mL,加热 70℃,回流 40min,冷至室温过滤,残渣再反复提取一次,两次提取液合并作为芹菜籽的提取液,加标液是在提取液中添加 0.02mmol/L 的芹菜素 ;

[0042] (3) 芹菜籽提取液的固相萃取 :取 5.0mL 提取液和 2.0mL 加标液以 0.25mL/min 分别通过固相萃取柱,用去离子水淋洗固相萃取柱,并用氩气吹干,最后用 5mL 体积分数为 15% 乙酸甲醇溶液洗脱,流速为 0.25mL/min,收集洗脱液 ;

[0043] (4) 洗脱液用化学发光法测定芹菜素的含量。