



“十一五”国家重点图书

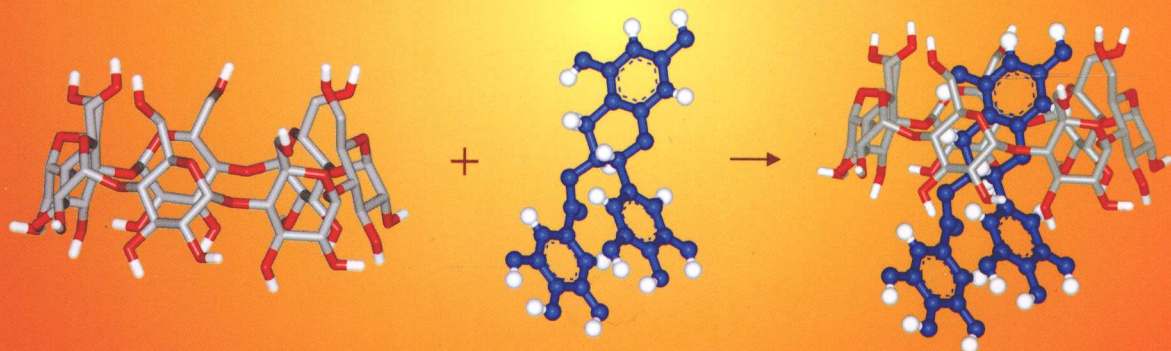
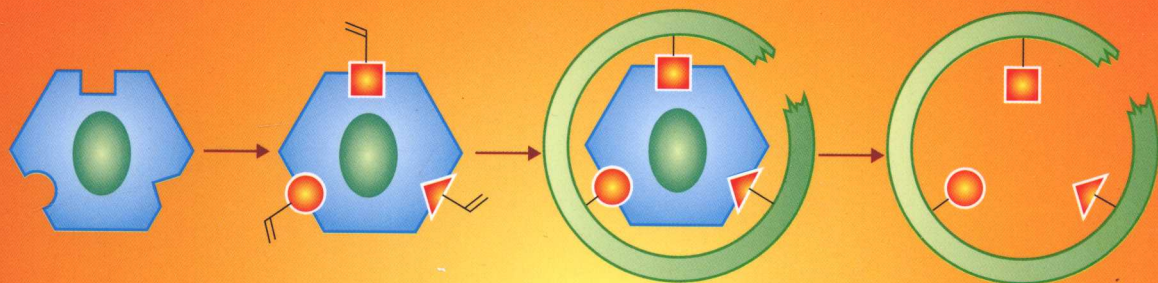
国家科学技术学术著作出版基金资助出版

超分子科学丛书



分子印迹技术 及应用

谭天伟 编著



化学工业出版社

“十一五”国家重点图书

国家科学技术学术著作出版基金资助出版

超分子科学丛书



分子印迹技术 及应用

谭天伟 编著



化学工业出版社

· 北 京 ·

分子印迹技术是 20 世纪 80 年代迅速发展起来的一种化学分析分离技术, 涉及化学、高分子、生物、材料等多学科交叉, 在化学仿生传感器、模拟抗体、模拟酶催化、膜分离技术、对映体和位置异构体的分离、固相提取、临床药物分析等领域展现了良好的应用前景。

本书对分子印迹的原理、应用和最新研究进展进行了全面系统的介绍和阐述。内容包括分子印迹技术的基本概念、作用机制与研究模型, 分子印迹的研究方法、分析分离技术, 表面分子印迹, 分子印迹聚合物的制备及其影响因素, 分子印迹技术和分子印迹聚合物在色谱分析与分离、模拟酶和辅助试剂、膜分离、固液萃取、仿生传感器等方面的应用, 并展望了分子印迹技术领域的发展趋势。

本书十分适合高等院校和科研院所化学、生物、医药以及材料专业的研究生、教师和相关科技人员学习参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

分子印迹技术及应用/谭天伟编著. —北京: 化学工业出版社, 2010. 6

(超分子科学丛书)

ISBN 978-7-122-08005-9

I. 分… II. 谭… III. 分子印迹-技术-应用 IV. O631

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 050588 号

责任编辑: 李晓红 梁 虹

装帧设计: 刘丽华

责任校对: 吴 静

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 19¼ 字数 488 千字 2010 年 7 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 68.00 元

版权所有 违者必究

序

以原子或原子团之间的共价键为基础，以分子为研究对象的化学称为“分子化学”；以分子间相互作用为基础，以分子聚集体为研究对象的化学称为“超分子化学”。超分子化学主要研究包括：分子间相互作用是如何相互协同与加合、从而产生方向性和选择性的？分子间相互作用的方向性和选择性是如何导致分子识别和位点识别，并组装成结构各异、形态可控的超分子体系的？超分子体系中发生的物理和化学过程，特别是能量传递、电子转移、物质传输和化学转换过程有什么特点？弄清这些问题才能指导我们设计和组装新的超分子体系，才能实现超分子体系的功能化、智能化。

超分子化学是化学和多门学科的交叉领域。首先，它体现化学和生命学科的交叉。与生命现象有关的功能的基本单位是超分子体系，在超分子水平上的生物学称为超分子生物学。第二，物理学中，三维材料不断分割到纳米尺度的微粒，产生了量子限域效应和介电限域效应，从而发展了一系列新概念，产生了宏观与微观之间的介观物理，介观物理研究的对象是分子聚集体，在这个层次上，化学与物理相互融合。第三，现在的材料科学和化学都充分认识到有序高级结构是高级功能材料的灵魂。纳米材料的研究如火如荼，化学提示这种高级结构如何形成，以及怎样调控才能制备高级功能材料。化学和材料科学在超分子层次上相互交叉。第四，分子电子器件、分子电子学正在为信息科学带来一场革命。分子电子学的载体是分子聚集体，当属于超分子科学的研究范畴。深入研究超分子体系不仅将极大地推动分子化学学科的发展，而且将会促进化学与物理学、生命科学、材料科学、信息科学等学科的交叉，从而产生新的概念、方法、材料和器件。

超分子化学是 20 世纪 60 年代末 70 年代初发展起来的。1967 年 Pedersen 报道了冠醚对碱金属离子的络合；此后，Cram 合成了很多刚性的预组织的球苑类分子，研究了分子中的氧与金属离子间的静电作用，提出了“主-客体化学”的概念；Lehn 合成了穴状配体，提出超分子化学是“研究分子组装和分子间键的化学”。1987 年上述三人因在超分子化学领域中的杰出贡献获得诺贝尔化学奖，标志着一个新学科的诞生。近三十年来，超分子化学的快速发展导致了超分子体系的多元化，超分子体系由最初的主-客体体系发展到范围更广泛的分子聚集体。

超分子化学正在吸引着越来越多的科研人员的关注。化学工业出版社组织出版了这套《超分子科学丛书》，该丛书共分五个分册：《超分子构筑调控高分子合成导论》、《界面组装化学》、《金属基超分子自组装化学》、《配位聚合物晶体工程》和《分子印迹技术及应用》，每个分册都由该领域的专家撰写，既介绍了国际上在该领域的最新进展和发展趋势，又总结了他们自己的研究成果，具有基础性、前沿性和新颖性，对于从事这方面研究的人员有很好的指导与借鉴作用。丛书的出版得到各方的鼓励和支持，参加编写的都是在一线从事科研与

教学的学术骨干，他们在繁重的科研任务之余，耗费大量的时间来整理与编撰，在此向他们表示感谢。

修振吉

中国科学院院士
2020年1月

前 言

分子印迹技术，也叫分子模板技术，属于超分子化学研究范畴，是指以某一特定的目标分子（模板分子、印迹分子或烙印分子）为模板，制备对该分子有特异选择性识别的聚合物的过程。分子印迹技术涉及物理化学，高分子化学，分析化学以及超分子化学等基础学科。在高效分析与分离、环境监测与分析、手性拆分、药物监测与分析、传感器、人工酶与人工受体等领域得到越来越多的应用。分子印迹聚合物具有选择性高、稳定性好、应用范围广等特点，近年来得到了日益广泛和深入的研究。

本书是结合作者课题组多年来在分子印迹技术领域的体会，对分子印迹技术及其应用进行了较为全面的总结。首先对分子印迹技术的理论进行了阐述，包括分子印迹技术的发展历史、原理及介质制备等；在了解分子印迹技术基础上，对分子印迹识别机理、分子模拟及其分析测试方法进行了系统的总结；随后详细介绍了分子印迹技术在各领域的广泛应用，具体包括分子印迹与各种高效分离分析技术的结合，分子印迹整体柱的制备与应用，分子印迹在手性拆分、传感器、酶催化领域的应用以及表面分子印迹介质的制备与广泛应用。最后，对环糊精超分子分离技术及其应用进行了详细介绍。

在成书之际，作者想对多年给予支持的国家自然科学基金委、国家科技部表示衷心感谢。并对为本书内容做出贡献的我的博士生雷建都、苏海佳、贺湘凌、李强、徐军、王满意、吕永琴、杨丽，以及贺小进等多位硕士生表示感谢。同时对参与本书整理及录入工作的学生俞建良、张颖华、鄢凤翔、李倩、梅丹萍、钟京、潘馨馨、王娟、杨超、康茜、杨晓丹、陈燕蓉、迟媛、李春玲、王琰、韩广杰、周雅莉、钟娜、胡瑜、杨自信、莫志朋致以诚挚的谢意！

由于作者水平有限，缺点和错误在所难免，敬请读者提出宝贵的意见和建议。

谭天伟

2010年5月

目 录

1 分子印迹技术概论	1
1.1 引言	1
1.2 分子印迹技术的发展历史	2
1.2.1 分子印迹的起源	2
1.2.2 共价的印迹	2
1.2.3 非共价的印迹	2
1.2.4 共价与非共价印迹的杂化体系法	3
1.3 分子印迹技术原理	3
1.3.1 分子印迹技术的基本原理	3
1.3.2 分子印迹技术的分类	4
1.4 分子印迹介质的制备	6
1.4.1 制备过程	6
1.4.2 印迹体系的选择	7
1.4.3 聚合方法	8
1.5 分子印迹技术的应用	12
1.5.1 分子印迹在分离分析中的应用	13
1.5.2 分子印迹整体柱	16
1.5.3 分子印迹传感器	16
1.5.4 分子印迹酶及生物印迹酶	17
1.5.5 表面分子印迹	18
1.6 小结	18
参考文献	19
2 分子印迹机理及模型	22
2.1 分子印迹热力学	22
2.2 分子印迹平衡吸附理论	25
2.2.1 吸附平衡等温线模型	25
2.2.2 空间质量作用模型	27
2.3 分子印迹识别中的空间作用理论及分子簇理论	37
2.3.1 空间构型对分子印迹识别的影响	37
2.3.2 分子簇理论	38
2.4 分子印迹识别模型	40
2.4.1 三点作用模型	40

2.4.2 亲和吸附模型	41
2.5 小结	45
参考文献	45
3 分子印迹的研究方法	47
3.1 分子印迹的表征方法	47
3.1.1 扫描电子显微镜	47
3.1.2 原子力显微镜	49
3.1.3 核磁共振	52
3.1.4 傅里叶变换红外光谱	60
3.1.5 紫外光谱分析	65
3.1.6 X射线光电子能谱分析	67
3.2 分子印迹的分子模拟	68
3.2.1 分子模拟方法	69
3.2.2 分子模拟在分子印迹中的应用	70
3.3 小结	83
参考文献	85
4 分子印迹分离分析技术	89
4.1 分子印迹高效色谱分离	89
4.1.1 分子印迹高效液相色谱	89
4.1.2 分子印迹薄层色谱	97
4.1.3 分子印迹毛细管电色谱	99
4.2 分子印迹固相萃取	101
4.2.1 固相萃取	102
4.2.2 分子印迹技术固相萃取	102
4.2.3 分子印迹 MISPE-HPLC 在线联用	103
4.2.4 分子印迹固相萃取技术的应用	105
4.3 分子印迹膜分离	113
4.3.1 分子印迹膜的分离机理	113
4.3.2 分子印迹膜的制备方法	114
4.3.3 分子印迹膜在分离方面的应用	116
4.4 小结	116
参考文献	117
5 分子印迹整体柱	123
5.1 整体柱简介	124
5.2 整体柱的制备	125
5.2.1 有机整体柱的制备	126
5.2.2 硅胶整体柱的制备	130
5.3 整体柱的应用	132
5.3.1 离子交换色谱	132
5.3.2 疏水色谱和反相色谱	137
5.3.3 亲和色谱	145
5.3.4 对映体和异构体的拆分	145
5.3.5 微流芯片上的应用	146

5.3.6	固相萃取中的应用	147
5.3.7	整体柱的优势和潜在问题	147
5.4	分子印迹整体柱	148
5.4.1	分子印迹整体柱的制备	148
5.4.2	分子印迹整体柱的表征	151
5.4.3	分子印迹整体柱的应用	153
5.5	小结	156
	参考文献	156
6	分子印迹技术在手性拆分中的应用	161
6.1	手性拆分	161
6.1.1	手性化合物	161
6.1.2	手性拆分方法	162
6.2	分子印迹手性拆分的识别机理	164
6.3	分子印迹手性拆分柱的制备	166
6.3.1	分子印迹聚合物制备方法的简介	166
6.3.2	分子印迹聚合物制备的影响因素——功能单体和交联剂	169
6.4	分子印迹技术在手性拆分中的应用	169
6.4.1	MIPs 作为色谱手性固定相在手性拆分中的应用	171
6.4.2	分子印迹膜在手性拆分中的应用	178
6.5	小结	179
	参考文献	180
7	分子印迹传感器	184
7.1	传感器	184
7.1.1	传感器的组成	184
7.1.2	传感器的分类	185
7.1.3	生物传感器	186
7.2	分子印迹传感器	187
7.2.1	分子印迹传感器的研究概况	188
7.2.2	分子印迹传感器的制备方法与性能参数	188
7.2.3	分子印迹传感器的分类	190
7.2.4	新型技术在分子印迹传感器中的应用	195
7.2.5	分子印迹传感器应用实例	197
7.3	小结	202
	参考文献	202
8	印迹酶及其应用	206
8.1	印迹酶的设计原理	206
8.1.1	分子印迹酶的设计原理	206
8.1.2	生物印迹酶的设计原理	207
8.2	分子印迹酶的制备	207
8.2.1	分子印迹酶的制备过程	207
8.2.2	分子印迹酶的制备方法	212
8.3	分子印迹酶的应用	214
8.3.1	分子印迹酶催化酯化反应	214

8.3.2	分子印迹酶催化脱氟化氢反应	214
8.3.3	分子印迹酶催化水解反应	215
8.3.4	分子印迹酶催化加环反应	216
8.3.5	分子印迹酶催化异构化反应	216
8.3.6	分子印迹酶催化还原反应	217
8.4	生物印迹酶	217
8.4.1	生物印迹酶的制备	217
8.4.2	生物印迹酶的应用	218
8.5	小结	221
	参考文献	222
9	表面分子印迹	226
9.1	概述	226
9.1.1	印迹位点处于载体表面 MIPs 薄层之中	227
9.1.2	印迹位点严格处于 MIPs 材料表面	229
9.2	表面分子印迹材料	231
9.2.1	无机物表面分子印迹材料	231
9.2.2	聚合物表面分子印迹材料	232
9.2.3	生物物质表面分子印迹材料	234
9.3	表面分子印迹介质的制备	239
9.3.1	无机物表面分子印迹材料的制备	239
9.3.2	聚合物表面分子印迹材料的制备	242
9.3.3	生物物质表面分子印迹材料的制备	243
9.4	表面分子印迹的应用	257
9.4.1	应用于手性拆分	257
9.4.2	蛋白质特异性识别	257
9.4.3	工业污水处理	258
9.4.4	选择性催化	266
9.4.5	传感器电极表面印迹	266
9.5	小结	267
	参考文献	268
10	环糊精超分子分离技术	271
10.1	概述	271
10.2	环糊精及其聚合物	272
10.2.1	环糊精及其聚合物简介	272
10.2.2	环糊精及其聚合物在分离中的应用概述	274
10.3	环糊精寡聚物超分子结构分离技术	276
10.3.1	环糊精聚合物分离介质的合成	276
10.3.2	环糊精寡聚物超分子在分离天然活性物质中的应用	286
10.4	小结	298
	参考文献	299
	缩略语表	304

分子印迹技术概论

1.1 引言

分子印迹，又称为分子烙印（molecular imprinting），是源于高分子化学、材料科学、生物化学等学科的一门交叉学科技术。

分子印迹技术（molecular imprinting technique, MIT）也叫分子模板技术，属于超分子化学研究范畴，是指以某一特定的目标分子（模板分子、印迹分子或烙印分子）为模板，制备对该分子具有特异选择性聚合物的过程（图 1-1），通常被描述为制备与识别“分子钥匙”的人工“锁”技术。

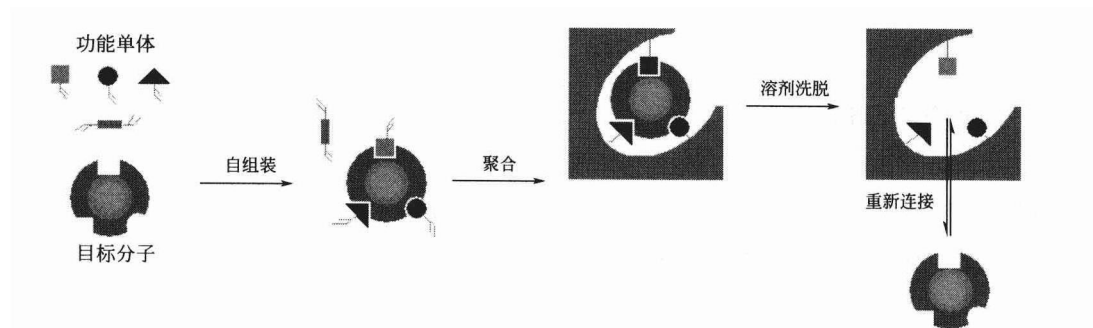


图 1-1 分子印迹示意图

目前，全世界至少有包括瑞典、日本、德国、美国、中国、澳大利亚、法国在内的几十个国家、上百个学术机构和企事业团体在从事分子印迹聚合物（molecular imprinting polymers, MIPs）的研究和开发^[1]。分子印迹技术发展如此迅速，主要因为它有三大特点：构效预定性、特异识别性和广泛适用性。基于该技术制备的分子印迹聚合物具有亲和性和选择性高、抗恶劣环境能力强、稳定性好、使用寿命长、应用范围广等特点，分子印迹技术在许多领域，如色谱分离、固相萃取、仿生传感、模拟酶催化、临床药物分析、膜分离等领域得到日益广泛的研究和开发，在生物工程、临床医学、天然药物分离、食品工业、环境监测等行业形成广泛的应用。

分子印迹技术的出现，铺设了一条通向分子器件的途径^[2]；从前人们将溶液和气体看作是无规则分子运动的简单集合体，而无法为这些运动提供出一幅“快速的照相”，分子印

迹技术使这个梦想得以实现——可以在体系中取出任一分子并将它们放置于“快照”中的理想位置。从这个意义上讲，分子印迹的方法铺设了通向分子器件的途径（如分子记忆、分子机器等），它是 21 世纪科学发展的先进技术。

1.2 分子印迹技术的发展历史

在分子印迹法未得到应用之前，化学家们已经熟悉所谓的模板效应。当某些分子加入到反应混合物内，可使化学反应加速，同时反应产物的分布也会发生明显的变化。在那里，这些加入物和反应物间发生了相互作用，并使它们处于一种能有效导致所生成产物的可能构象。换言之，它们稳定了某种产物而促使其生成。十分明显，这些现象和分子印迹的概念是相关的。然而，真正的分子印迹方法则是在 Wulff、Mosbach 以及一些其他研究工作者先驱性工作的基础上发展起来的，直至今日的普遍化程度。

1.2.1 分子印迹的起源

分子印迹技术起源于免疫学。20 世纪 30 年代，Breinl、Haurowitz 和 Mudd 都提出了抗原侵入导致生物体产生抗体的理论。著名的诺贝尔奖获得者 Pauling^[3] 在 20 世纪 40 年代提出了抗体形成学说：抗原物质进入生物机体后，蛋白质或多肽链以抗原为模板进行分子自组装和折叠形成抗体。该学说的要点是：抗体在形成时其三维结构会尽可能地同抗原形成多重作用位点，抗原作为一种模板就会“铸造”在抗体的结合部位。尽管 Pauling 的理论被后来的“克隆选择”理论所推翻，但它仍具有一定的合理性，为分子印迹理论的产生奠定了一定的理论基础。

1.2.2 共价的印迹

1949 年，Dickey^[4] 提出了“专一性吸附”的概念，实际上可以看作“分子印迹”的萌芽，但在很长的一段时间内没有引起重视。1972 年，Wulff^[5] 研究小组首次成功制备出分子印迹聚合物（MIPs），使这方面的研究产生了突破性进展。

1977 年 Wulff 研究小组发表了第一个共价印迹实例^[6]：他们合成了由 *p*-乙烯基苯基硼酸和 4-硝基苯基- α -D-甘露糖苷（作为模板）反应而得到的共价配体化合物，并通过与甲基丙烯酸甲酯以及乙二醇反应，使硼酸酯分解，除去 4-硝基苯基- α -D-吡喃甘露糖苷。如期望的那样，所制得的高聚物能强烈而有选择地与糖相结合，即在共价的配合物内，两个硼酸基的构型位置被冻结于高聚物内，使模板的结构得到记忆。与此相类似，Shea 在模板羰基和功能单体的 1,3-二醇间生成一个缩酮（ketal），并将此共价配合体应用于分子印迹技术^[7]。

在这个时期，分子印迹技术仅限于催化领域应用。而在分子识别领域的应用没有展开，发展缓慢。

1.2.3 非共价的印迹

20 世纪 80 年代后非共价型模板聚合物的出现，尤其是 1993 年 Mosbach^[8] 等人有关茶碱分子印迹聚合物的研究报道，分子印迹聚合物以其通用性和惊人的立体专一识别性，越来越受到人们的青睐。

Mosbach 及其合作者指出：对分子印迹而言，功能单体和模板间的共价联合并非为分子印迹法所必需。他们认为：只要单体和模板间存在非共价的相互作用，也能充分达到上述的印迹目的^[8,9]。因此，可以通过将反应混合物简单地混合在一起，就可使这种非共价的加成物自发生成，并得到足够满意的印迹效果。例如，在甲基丙烯酸和茶碱的印迹生成中，一种非共价的单体与模板的加成物就可通过氢键与静电相互作用而生成。从此，分子印迹法这一如此简单且具有如此显著效果的方法得到了广泛的应用与发展。

1.2.4 共价与非共价印迹的杂化体系法

将共价印迹法的优点（轮廓清晰）与非共价印迹能快速键合客体分子的长处结合起来，可构成所谓的杂化印迹法^[10]。这里，高分子的制备和共价印迹法相同，但对客体的键合则采用非共价的相互作用。通过这一方法，共价印迹的一个缺点（较慢的客体键合和释放）就可以得到解决。

近年来，该技术已广泛应用于色谱分离、抗体或受体模拟、生物传感器以及生物酶模拟和催化合成等诸多领域，并由此使其成为化学和生物学交叉的新兴领域之一，得到世界瞩目并迅速发展。

从一个历史进程上看，Pauling 的锁匙理论可看作分子印迹产生的理论基础；Dickey 的专一性吸附就是分子印迹的萌芽；而 Wulff 的首次合成是分子印迹技术的形成标志；Mosbach 的茶碱分子印迹聚合物标志着分子印迹的发展；当 Lund University 成立分子印迹学会（society for molecular imprinting, SMI）时，分子印迹已成为 21 世纪超分子结构研究的热点。

1.3 分子印迹技术原理

1.3.1 分子印迹技术的基本原理

分子印迹技术原理如图 1-2 所示。当模板分子（印迹分子）与聚合物单体接触时会形成多重作用点，通过聚合过程这种作用就会被记忆下来，当模板分子去除后，聚合物中就形成

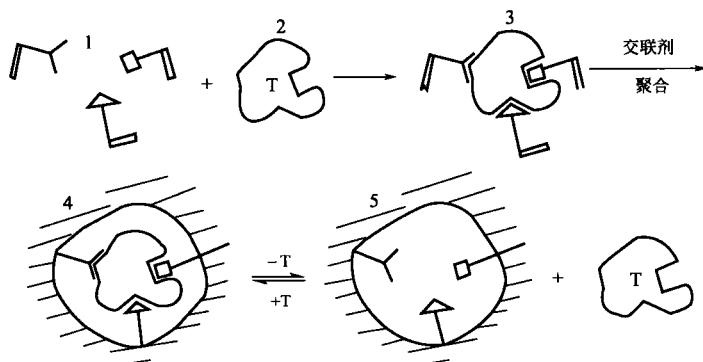


图 1-2 分子印迹技术原理^[11]

1—功能性单体；2—模板分子；3—模板-聚合物单体；4—模板聚合物母体；5—模板聚合物

了与模板分子空间构型相匹配的、具有多重作用点的空穴,这样的空穴将对模板分子及其类似物具有选择识别特性。

MIPs 的制备过程主要由以下 3 步构成:

- ① 印迹分子与功能单体通过共价或非共价键作用相互结合,形成主客体配合物;
- ② 通过功能单体与交联剂共聚,将该主客体配合物进行固定;
- ③ 洗脱印迹分子,得到印迹聚合物,其中含有与印迹分子形状和功能基团排列相匹配的空穴。

因此 MIPs 对印迹分子有“记忆”功能,对其具有高度的选择性。

目前用于检测分子印迹机理的主要方法有扫描电子显微镜 (scanning electron microscopy, SEM),核磁共振波谱 (nuclear magnetic resonance spectroscopy, NMR)、傅里叶转换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)、紫外光谱 (ultra violet spectra, UV)、X 射线光电子能谱分析 (X-ray photoelectron spectrom, XPS) 和原子力显微镜 (atomic force microscope, AFM) 等。随着计算化学技术的发展,分子模拟在辅助物质设计和分子结构理解方面取得的显著成绩使得它在其他领域中有着越来越广泛的应用 (具体内容见第 3 章)。

1.3.2 分子印迹技术的分类

根据印迹分子和功能单体之间作用的不同,可将制备 MIPs 的方法分为以下四种:

(1) 预组装法 (pre-organized approach) —— 共价键作用

共价键法是由 Wulff 等人创立发展起来的。该方法中印迹分子 (目标分子) 和功能单体以共价键的形式结合生成印迹分子的衍生物,该聚合物进一步在化学条件下打开共价键使印迹分子脱离。功能单体一般采用小分子化合物。共价键结合作用包括硼酸酯、席夫碱、缩醛 (酮)、酯、螯合键作用等。共价键法主要应用于制备各种具有特异识别功能的聚合物,如糖类及其衍生物、甘油酸及其衍生物、氨基酸及其衍生物、扁桃酸、芳香酮、二醛、三醛、铁转移蛋白、联辅酶及甾醇类物质。

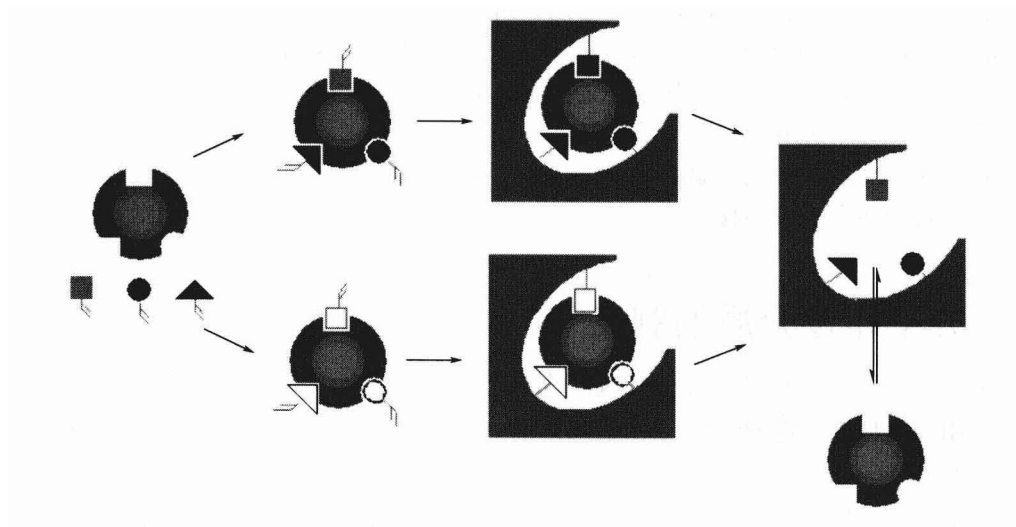
(2) 自组装法 (self-assembly approach) —— 非共价作用

非共价键法是由 Mosbach 等人发展起来的。即把适当比例的印迹分子与功能单体和交联剂混合,通过非共价键结合在一起生成非共价键印迹分子聚合物。这些非共价键包括氢键、静电引力、金属螯合作用、电荷转移作用、疏水作用以及范德华力等。最常用到的是氢键,但是如果在印迹和后续的分离过程中只有氢键作用时,则拆分外消旋体的效果不佳;如果在印迹过程中既有氢键,又有其他的非共价键作用时,其拆分外消旋体的分离系数很高。此法主要应用于下列物质的分离中:染料、二胺、维生素、氨基酸衍生物、多肽、肾上腺素功能药物阻抑剂、茶碱、二氮杂苯、核苷酸碱基、非甾醇类抗感染药萘普生和苄胺等。

共价键法和非共价键法的主要区别在于单体与模板分子的结合机理不同:非共价键法中通过弱的相互作用力在溶液中自发地形成单体模板分子复合物;而共价键法是通过单体和模板分子之间的可逆性共价键合成单体模板分子复合物的,见图 1-3^[12]。

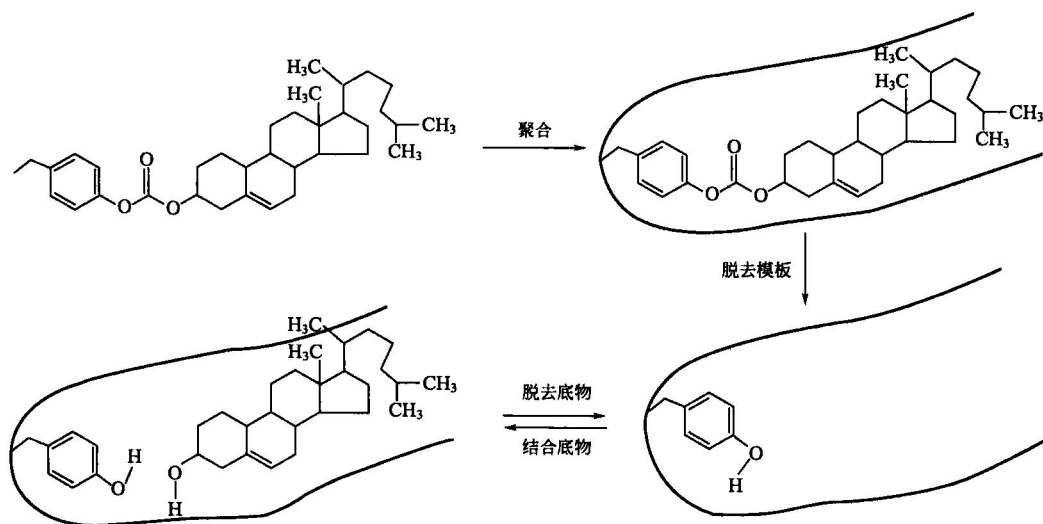
(3) 共价作用与非共价作用杂化

近来 Vulfson^[10]等人又发展了一种称之为“牺牲空间法 (sacrificial spacer method)”的分子印迹技术。该法实际上是把分子自组装和分子预组装两种方法结合起来形成的方法,

图 1-3 共价作用与非共价作用过程^[12]

上部为非共价方法，下部为共价方法

其制备过程如图 1-4 所示。

图 1-4 牺牲空间法示意图^[12]

首先，模板分子与功能单体以共价键的形式形成模板分子的衍生物（单体-模板分子复合物），这一步相当于分子预组装过程，然后交联聚合，使功能基固定在聚合物链上，除去模板分子后，功能基留在空穴中。当模板分子重新进入空穴中时，模板分子与功能单体上的功能基不是以共价键结合，而是以非共价键结合，如同分子自组装。

(4) 金属螯合作用

金属离子与生物或药物分子的螯合作用具有高度立体选择性、结合和断裂均比较温和的特点，故有望应用于分子印迹中。Y. Fujii 等研究了 Co^{2+} 的配合物对于 *N*-苄基-D,L-缬氨酸

的光学拆分^[13], 结果表明: 分离因子很高, 可以实现较好的拆分。但进一步研究发现该 MIPs 应用于色谱分离时传质非常慢, 难以实际应用。此外, 利用金属螯合作用还可以实现对金属离子的高选择性吸附, 已用于印迹的金属离子主要有 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} , 常用的功能单体主要有 1-乙烯基咪唑、乙烯多胺等。

我们制备壳聚糖分子印迹吸附树脂, 以对金属离子有螯合作用的壳聚糖包埋法制备了壳聚糖分子印迹树脂, 对重金属离子的吸附容量可达到 100 mg/g 以上^[14]。

1.4 分子印迹介质的制备

Wulff 认为理想的 MIPs 应该具有如下特征^[15]:

① MIPs 应具有一定的刚性, 以确保在印迹分子除去后能够使空穴的形状和印迹位点的空间取向得到保持;

② MIPs 空间构型应具有一定的柔性, 以使分子识别作用能够较快达到平衡;

③ MIPs 上的印迹位点应具有可接近性;

④ MIPs 还应具有一定的机械强度和热稳定性, 以便能承压用于高效液相色谱、搅拌反应器中进行的催化反应过程等。

为使 MIPs 对印迹分子具有高选择性, 印迹分子与功能单体之间的作用力应该足够强, 以使形成的主客体配合物在聚合过程中能够保持稳定。由于印迹分子在聚合反应完成后应从 MIPs 中除去, 所以要求 MIPs 与印迹分子间的相互作用可以被断裂, 即印迹分子与 MIPs 之间的作用在一定程度上是可逆的。

1.4.1 制备过程

分子印迹聚合物的制备通常包括 4 个步骤^[16]。

(1) 功能单体的选择

单体的选择主要由印迹分子决定, 它首先必须能与印迹分子成键, 且在反应中它与交联剂分子处于合适的位置才能使印迹分子恰好镶嵌于其中。常根据单体与印迹分子作用力的大小预测, 合理地设计、合成带有能与印迹分子发生作用的功能基的单体。

(2) 聚合反应

在印迹分子和交联剂存在的条件下, 对单体进行聚合。首先, 在一定溶剂(也称致孔剂)中, 模板分子(即印迹分子)与功能单体依靠官能团之间的共价或非共价作用形成主客体配合物; 其次, 加入交联剂, 通过引发剂引发进行光或热聚合, 使主客体配合物与交联剂通过自由基共聚合在模板分子周围形成高度交联的刚性聚合物。

聚合方式有本体聚合、分散聚合、沉淀聚合、原位聚合、悬浮聚合、表面印迹以及抗原印迹等。为维持良好的特定空间构型, 一般需要控制较高的交联度(通常高达 80%)。

(3) 印迹分子的去除

采用温和的物理手段或化学手法如酶解方法将占据在识别位点上的绝大部分印迹分子洗脱或降解下来。

(4) 后处理

在适宜的操作条件下对印迹分子聚合物进行成型加工和真空干燥等后处理。所制备的分

子印迹聚合物应具备良好的物理化学和生物稳定性、高吸附容量和使用寿命、特定的形状尺寸，以获得较高的应用效率。

这样在聚合物中便留下了与模板分子大小和形状相匹配的立体孔穴，同时孔穴中包含了精确排列的与模板分子官能团互补的由功能单体提供的功能基团，如果构建合适，这种分子印迹聚合物就像锁一样对此钥匙具有选择性。这便赋予该聚合物特异的“记忆”功能，即类似生物自然的识别系统，这样的空穴将对模板分子及其类似物具有选择识别特性。

1.4.2 印迹体系的选择

分子印迹实验中所需的化学品包括^[2]：①能与模板相互作用（共价或非共价）的功能单体；②交联剂；③聚合用的溶剂；④断“键”用的溶剂，用于从聚合物中除去模板分子。

(1) 功能单体

所有各种不同的聚合反应都可用于分子印迹法中，唯一的条件是：要求在聚合时能够保证体系中所有组分包括模板、交联剂、单体和模板等所形成的非共价印迹保持完好不变。在这些不同的聚合方法中，以自由基聚合反应应用最为广泛，这是由于它操作方便，并且有着多方面的应用可能。

在共价连接的印迹法中，模板和烯类单体间是通过共价键连接在一起。聚合中以丙烯酸、甲基丙烯酸酯以及酰胺等为最常用的单体（表 1-1）。

表 1-1 各种功能单体

共价型单体	4-乙烯苯硼酸、4-乙烯苯甲醛、4-乙烯苯胺、4-乙烯苯酚
非共价型单体	丙烯酸、甲基丙烯酸、甲基丙烯酸甲酯、对乙烯苯甲酸、对乙基苯乙烯、亚甲基丁二酸、二丙烯酸酯-2-甲基-1-丙磺酸、1-乙烯基咪唑、4-乙烯基吡啶、2-乙烯基吡啶
印迹分子	糖类：甘露糖、半乳糖、果糖； 氨基酸及其衍生物，蛋白质，核苷酸及其衍生物，嘌呤，嘧啶等生物碱，羧酸，二醛，胆固醇，维生素，酶，抗原，乙酰胆碱，杀虫剂，除草剂，染料，药物

(2) 交联剂

为了获得比较高的专一性，在制备分子印迹聚合物时需要较高的交联度（一般为70%~90%）。由于要兼顾交联剂和功能单体在溶液中的溶解性，可应用的交联剂不多，已有几种交联剂获得广泛应用。常用的交联剂如表 1-2。

表 1-2 常用的交联剂

交联剂	用 途	交联剂	用 途
乙二醇双甲基丙烯酸酯	有机溶剂分子印迹	戊二醛	表面分子印迹
二乙烯基苯	有机溶剂分子印迹	环氧氯丙烷	表面分子印迹
N,N'-亚甲基双丙烯酸酰胺	水相分子印迹		

这些试剂的基本作用是为了固定客体的键合点，使之牢固地处于希望的结构之中。它们可使带有印迹的高聚物在溶剂中不能溶解，而有利于其实际应用。此外，通过应用不同种类的交联剂还可使我们能很好地控制客体键合点的结构，以及围绕它们的化学环境。

(3) 溶剂

溶剂首先应能溶解聚合反应中所需的各种试剂，另外溶剂应为印迹高聚物提供多孔结构，进而促进客体分子的键合程度。多孔结构的形成对于被键合客体的释出也是重要的。在