

文章编号: 1000-5862(2018)05-0477-05

L-甲硫氨酸-壳聚糖分子印迹复合膜的 制备与性能研究

隋雨佳 汤建萍* 刘杨军 赖丽娟 袁文松 邓慧慧 胡子涛

(江西师范大学化学化工学院 江西 南昌 330022)

摘要: 采用本体聚合法,以壳聚糖(CTS)为基材,*L*-甲硫氨酸为印迹分子,聚乙二醇(PEG) 2000、戊二醛为交联剂,制备了*L*-甲硫氨酸-戊二醛-聚乙二醇-壳聚糖分子印迹复合膜.实验结果表明:合成的*L*-甲硫氨酸-戊二醛-PEG-壳聚糖分子印迹复合膜的溶胀性和膜清水通量较好,对氨基酸的渗透量为 $0.130\text{ mmol}\cdot\text{cm}^{-2}$ 和*L*/*D*-甲硫氨酸的分离因子为 1.76. FT-IR、SEM、XRD 和 TGA 表征分析显示:分子印迹膜表面平整、微观结构规整紧密,具有较低的结晶度和高热稳定性.

关键词: 分子印迹膜; 壳聚糖; *L*-甲硫氨酸; 手性拆分

中图分类号: TQ 317 文献标志码: A DOI: 10.16357/j.cnki.issn1000-5862.2018.05.08

0 引言

分子印迹技术有着许多其他技术所没有的优点,包括特异识别性、构效预订性、广泛实用性^[1].分子印迹技术主要是由模板分子和功能单体所形成的自组装结构,加入交联剂固定得到结构稳定的高聚物,通过物理或化学方法将聚合物中的模板分子洗脱或解离出来,在聚合物中形成“印迹空穴”,该空穴对模板分子具有专一性识别作用.按照不同的需求可以制备所需要的有机分子印迹聚合物(MIP)^[2-3].分子印迹膜作为分子印迹技术的一个重要发展方向,它兼具 MIP 对特定印迹分子的专一识别性和膜分离的操作简单、易于连续化、实验条件温和等优点,受到广泛关注^[4].

壳聚糖(CTS)是一种天然多糖,价格低廉、无毒害,具有良好的生物相容性、生物可降解性、部分结晶性和力学性能^[5].壳聚糖本身是手性物质,而且含有氨基和羟基,能与氨基酸、多糖、肽、DNA、蛋白质等生物活性分子形成大量氢键^[6-11],因此可将其用于印迹聚合物的合成,制备具有特定吸附分离功能的天然分子印迹膜^[12].*L*-甲硫氨酸是构成人体必需的 8 种氨基酸之一,参与蛋白质合成,但其不能在体内自身生成,如果人体缺乏甲硫氨酸会导致体内

蛋白质合成受阻引起食欲减退、生长减缓或不增加体重、肾脏肿大和肝脏铁堆积等现象,最后导致肝坏死或纤维化.*D*/*L*-甲硫氨酸对映体拆分是获得*L*-甲硫氨酸的途径.

本文研究了*L*-甲硫氨酸-壳聚糖分子印迹复合膜的合成,测试了膜的各项性能,通过渗透实验考察了分子印迹壳聚糖膜对*L*-甲硫氨酸的分子识别性能,为更好地从外部获得*L*-甲硫氨酸提供技术支持.

1 实验材料及方法

1.1 主要原料

壳聚糖(CTS):脱乙酰度 95%,阿拉丁试剂有限公司,生化试剂;聚乙二醇 2000,天津市大茂化学试剂厂,分析纯;硫酸,南昌鑫光精细化工厂,分析纯;*D*/*L*-甲硫氨酸壳聚糖、茚三酮、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠,阿拉丁试剂有限公司,分析纯;戊二醛,上海化学试剂厂,分析纯.

1.2 仪器与测试

红外光谱(FT-IR):Nicolet-6700 型傅里叶变换红外光谱仪,采用薄膜试样法;扫描电镜(SEM):S-3400N 型扫描电子显微镜;X-射线衍射(XRD):D8

收稿日期:2018-01-29

基金项目:横向课题(5188)和江西师范大学国家实验教学示范中心“科研基础与创新实验”资助项目.

通信作者:汤建萍(1975-),男,江西丰城人,副教授,博士,主要从事天然产物开发与研究. E-mail: humantip@163.com

ADVANCE 型 X-射线衍射仪; 热重分析(TGA): 采用 TG6300 型热重差热分析仪, 温度范围 20 ~ 800 °C, 升温速率 10 °C · min⁻¹; 拉伸测试: CMT 8102 型微机控制电子万能试验机, 拉伸速度为 5 mm · min⁻¹, $T = 25$ °C.

液相色谱分析(HPLC): 岛津公司 LC-20a 型高效液相色谱, 美国 Regis 手性冠醚色谱柱 ChiroSil SCA(-) (150 mm × 4.6 mm 5 μm), 流动相 $v(\text{甲醇}):v(\text{水}) = 80:20$, + H_3PO_4 5 mmol · L⁻¹, 紫外检测波长为 210 nm.

1.3 膜的制备

L-甲硫氨酸分子印迹膜的制备: 分别称取 2 g 壳聚糖和一定量的聚乙二醇(PEG 2000), 加入 2% 的冰醋酸溶液溶解, 水浴加热, 控制水浴温度 35 ~ 40 °C, 充分溶解. 然后向反应体系中加入一定量的 *L*-甲硫氨酸, 充分溶解, 再加入一定量的戊二醛. 控制温度在 35 ~ 40 °C 反应 12 h. 聚合反应完成后, 真空抽滤, 滤液静置 4 h. 然后将铸膜液涂覆于硅质玻璃表面, 在 35 °C 烘箱中干燥 12 h 成膜.

采用硫酸交联的方法对膜进行处理, 降低了壳聚糖膜的溶胀度, 同时印迹膜内识别位点的结构仍得以保持. 实验用 0.1 mol · L⁻¹ 硫酸浸泡 24 h, 取出膜, 用蒸馏水反复冲洗, 直至冲洗液用茚三酮无法检出氨基酸存在. 将膜晾干成型.

空白膜的制备: 非印迹空白膜的制备方法同上, 只是不加入印迹分子氨基酸.

1.4 膜的溶胀性测试

将制备的各种膜分别置于 35 °C 烘箱中干燥 12 h, 取出称质量记作 m , 室温下浸泡于蒸馏水中, 至其质量恒定后将膜夹在 2 层吸水滤纸之间以拭去膜表面液体, 称其质量记为 m_1 , 膜的溶胀度为 $D_s = (m_1 - m) / m \times 100\%$.

2 结果与讨论

2.1 膜的红外光谱分析

L-甲硫氨酸-戊二醛-PEG-壳聚糖分子印迹膜的 FT-IR 图谱如图 1 所示. 图 1(a) 和图 1(b) 分别是非印迹分子空白膜和 *L*-甲硫氨酸-戊二醛-PEG-壳聚糖分子印迹膜的红外光谱. 图 1(a) 壳聚糖膜在 2 900 ~ 3 500 cm⁻¹ 处的宽峰是 O—H 和 N—H 的伸缩振动峰, 说明分子间存在很强的氢键; 1 600 ~ 1 700 cm⁻¹ 处的吸收峰是 C=O 的伸缩振动峰(酰胺 I), 1 533 cm⁻¹ 是壳聚糖中 N—H 的弯曲振动吸收峰(酰胺 II);

1 260 cm⁻¹ 为 C—O 伸缩振动峰; 1 070 cm⁻¹ 是糖苷键 C—O—C 的伸缩振动峰. 图 1(b) 中上述特征峰都有微小的偏移, 可能是印迹后形成的特殊“印迹空穴”影响官能团的氢键作用所导致的. 综上分析, 实验合成了 *L*-甲硫氨酸-戊二醛-PEG-壳聚糖分子印迹膜.

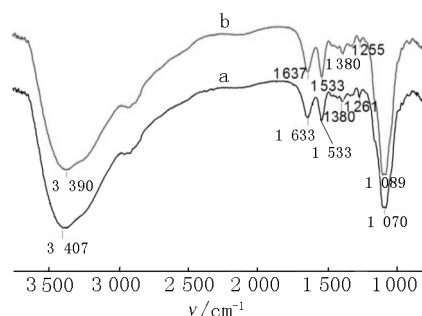


图 1 壳聚糖分子印迹膜的 FT-IR 图谱

2.2 膜的 SEM 分析

图 2 是非印迹膜和印迹膜表面的电镜扫描图. 图 2(a) 空白膜具有更为平滑致密的表面, 图 2(b)、图 2(c)、图 2(d) 中 *L*-甲硫氨酸分别为 0.1、0.2、0.3 g *L*-甲硫氨酸-戊二醛-PEG-壳聚糖分子印迹膜表面致密, 稍显毛糙, 且印迹分子用量越多, 膜表面的粗糙程度相应增加.

2.3 膜的 XRD 衍射谱图分析

L-甲硫氨酸-戊二醛-PEG-壳聚糖分子印迹膜的 XRD 衍射谱图如图 3 所示. 从图 3 可看出 *L*-甲硫氨酸-壳聚糖分子印迹膜的 XRD 衍射曲线在 $(11.5 \pm 0.5)^\circ$ 有一个弱衍射峰, 在 $(19.5 \pm 0.5)^\circ$ 有一个宽而弱的衍射峰, 这与文献[13]所述相符. 分析 *L*-甲硫氨酸-壳聚糖分子印迹膜 XRD 衍射谱图可见 *L*-甲硫氨酸壳聚糖分子印迹膜具有弱结晶性^[14].

2.4 膜的热重分析

在氮气保护下, 以 10 °C · min⁻¹ 的升温速率, 样品质量为 5 ~ 10 mg, 在 20 ~ 800 °C 的范围内升温, 对不同氨基酸含量的壳聚糖分子印迹膜进行热重分析, 结果如图 4 ~ 图 6 所示.

由图 4 可看出, 壳聚糖在氮气中的热氧降解分为 2 步. 在 100 °C 之前, 有一个小的质量损失过程, 质量损失约为 18%, 这是壳聚糖膜所含的结合水和结晶水产生的. 在 220 ~ 300 °C, 壳聚糖发生强烈降解, 质量损失约为 47%; 在 300 ~ 600 °C, 降解缓慢, 质量损失约为 29%. 热降解在 600 °C 结束, 这表明壳聚糖抗热氧性强, 热稳定性好. 在图 4 中空白膜(a) 分解温度是 204.9 °C, 印迹分子(b)、(c)、(d) *L*-甲硫氨酸用量分别为 0.1、0.2、0.3 g, 制备的壳聚糖

膜热分解温度分别为 192.2 ℃、200.5 ℃和 196.4 ℃ 当印迹分子的含量增加时,壳聚糖膜的热分解温度有所降低.

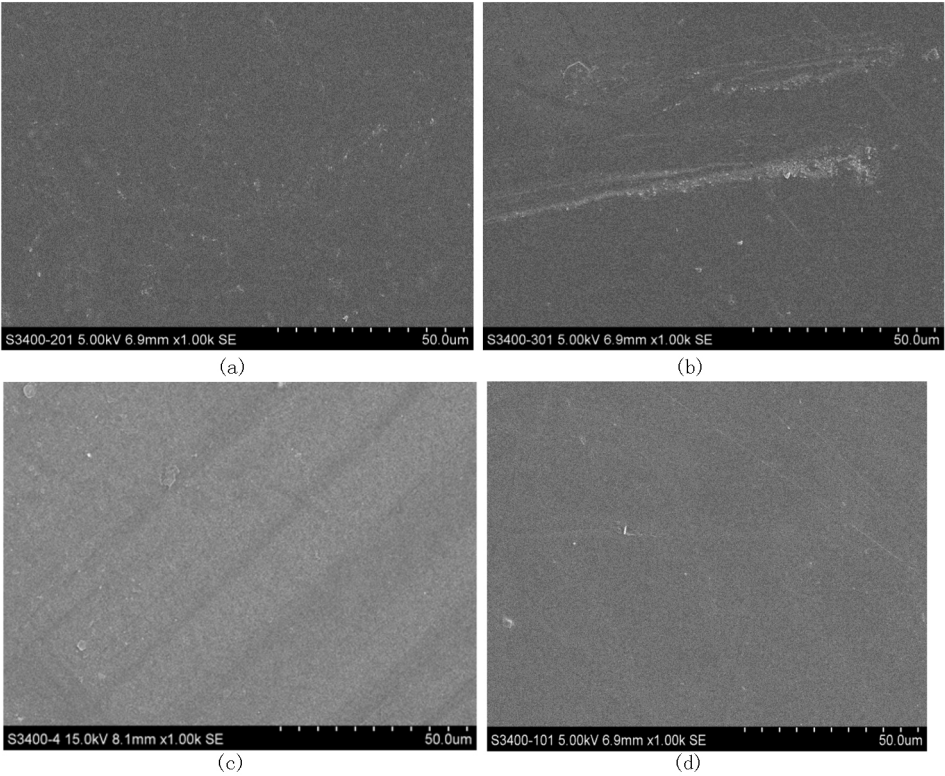


图 2 分子印迹膜表面的电镜扫描图

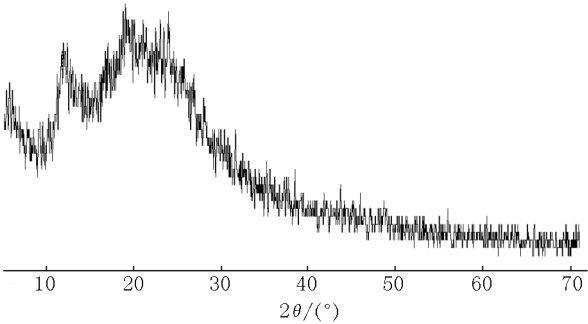


图 3 壳聚糖分子印迹膜的 XRD 衍射谱图

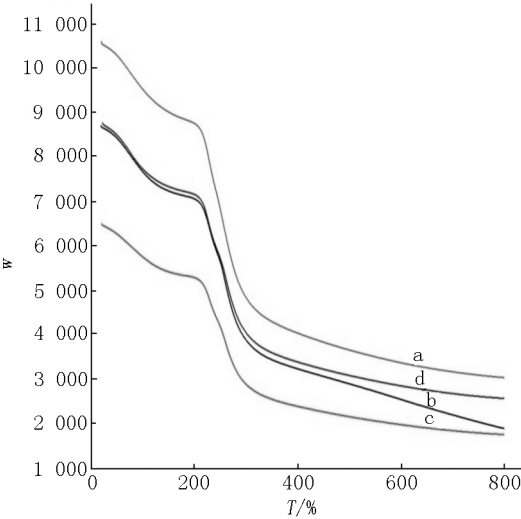


图 4 壳聚糖分子印迹膜的 TG 曲线

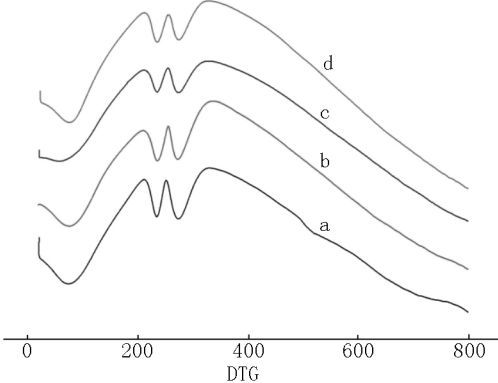


图 5 壳聚糖分子印迹膜的 DTA 曲线

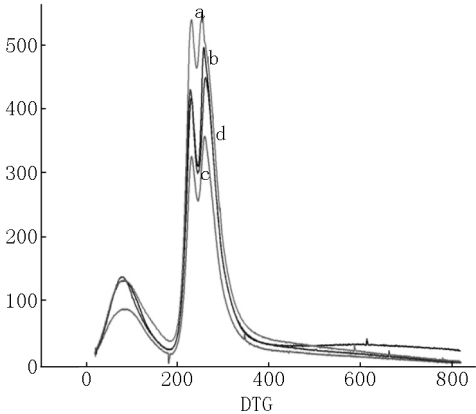


图 6 壳聚糖分子印迹膜的 DTG 曲线

由图 5 可知,不同的壳聚糖分子印迹膜具有 3 个质量损失阶段:第 1 个质量损失阶段在 73 ℃左

右,质量损失主要是分子印迹膜中自由水的蒸发而引起的;250 ℃左右的尖峰可能是交联键破坏而形成的;300 ℃后是壳聚糖分子的热解.图6也表现相同的变化过程.

2.5 膜的溶胀性

实验以壳聚糖分子印迹膜的溶胀性为指标,通过二因素(PEG 2000 用量、戊二醛用量)混合水平进行正交实验,结果如表1所示.

表1 正交实验表及结果(壳聚糖 2 g)

因素	PEG2000/g	戊二醛/mL	溶胀性/%
实验 1	0.4	0.1	76
实验 2	0.4	0.2	7
实验 3	0.4	0.3	77
实验 4	0.4	0.2	7
实验 5	0.6	0.1	68
实验 6	0.6	0.2	66
实验 7	0.6	0.3	81
实验 8	0.6	0.2	66
实验 9	0.8	0.1	68
实验 10	0.8	0.2	76
实验 11	0.8	0.3	75
实验 12	0.8	0.2	76
实验 13	1.0	0.1	88
实验 14	1.0	0.2	82
实验 15	1.0	0.3	74
实验 16	1.0	0.2	82
均值 1	0.732	0.75	
均值 2	0.703	0.735	
均值 3	0.738	0.768	
均值 4	0.815		
$A_2 = 0.6$		$B_2 = 0.2$	

壳聚糖分子中的氨基、羟基以及 PEG 2000 分子中的羟基能够与 L-甲硫氨酸中的羧基、氨基发生氢键作用,对 L-甲硫氨酸进行“定位”;而后加入的戊二醛与壳聚糖、PEG 交联聚合,形成印迹穴结构,从而实现对 L-甲硫氨酸的分子印迹.壳聚糖是一种亲水性材料,溶胀度较大,戊二醛的交联聚合过程同时能够降低膜的溶胀度.由表1的实验数据和极差分析结果可看到在壳聚糖用量为 2 g、PEG 2000 用量为 0.6 g、戊二醛用量为 0.2 mL 条件下分子印迹膜的溶胀性更好.

2.6 膜的机械力学性能

印迹分子含量是影响分子印迹聚合物膜性能的重要因素之一.当印迹分子含量高时,形成的印迹穴越多,识别点越多,相应的膜内的物理结构会有所差异.实验研究了使用不同甲硫氨酸用量制备的壳聚糖分子印迹膜的机械力学性能,结果如表2所示.

由表2可知,当印迹分子 L-甲硫氨酸的用量较大时,制备的分子印迹膜的拉伸强度下降.这是因为印迹分子用量越大,形成的“印迹穴”越多,相应的壳聚糖膜强度下降.

2.7 膜的分离性能

1) 纯水通量 实验将制备的 L-甲硫氨酸-PEG-戊二醛-壳聚糖分子印迹膜置于真空过滤系统中,在一定的渗透压力下进行膜过滤,测定不同印迹分子用量所制备的壳聚糖分子印迹膜的纯水通量.结果见表3.

表2 壳聚糖分子印迹膜的机械力学性能

甲硫氨酸/g	试样厚度/ μm	试样宽度/mm	试样原始标距/mm	拉伸屈服应力/MPa	最大力/N	拉伸强度/MPa
0.1	27.00	4.08	9.345	16.91	4.30	39.20
0.2	35.00	3.92	9.230	21.33	4.91	35.91
0.3	37.33	4.19	8.51	24.38	5.31	34.23

表3 壳聚糖分子印迹膜的清水通量

实验序号	甲硫氨酸/g	纯水通量/ $(\text{kg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1})$
1	0.1	373.8
2	0.2	159.0
3	0.3	80.0

注:这里渗透压力 = 0.1 MPa.

在 0.1 MPa 压力下,测定一定时间内通过膜的纯水体积,计算出壳聚糖分子印迹膜的纯水通量.由表3可知,当印迹分子 L-甲硫氨酸的用量为 0.1 g 时,壳聚糖分子印迹膜的纯水通量更优.

2) 氨基酸渗透量 将壳聚糖分子印迹膜固定

于 2 个渗透池(每个池的容积为 50 mL)之间.先向原料池中加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 L-甲硫氨酸溶液 50 mL,再向透过池中加入 50 mL 水,渗透一定时间取样分析.实验装置如图7所示.

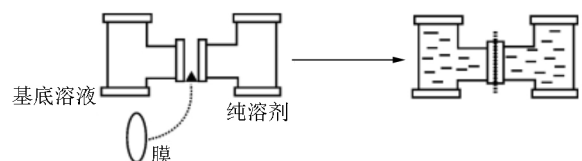


图7 渗透装置图

将不同印迹分子含量的壳聚糖分子印迹膜进行氨基酸渗透性能考察,结果见表4.

表4 壳聚糖分子印迹膜的氨基酸渗透量

实验序号	甲硫氨酸/g	渗透量/(mmol·cm ⁻²)
1	0.1	0.127
2	0.2	0.127
3	0.3	0.130

由表4可知,在相同的时间内,对印迹分子含量不同的 *L*-甲硫氨酸-PEG-戊二醛-壳聚糖分子印迹膜来说,印迹分子含量越多,渗透量越大.这是因为印迹膜中形成了与印迹分子相匹配的空穴,印迹分子含量越多,印迹点位越多,越多的印迹分子与印迹点位发生相互作用并识别,不断地扩散到渗透池中.

3) 选择透过性 将膜固定于2个渗透池(每个池的容积为50 mL)之间.先向原料池中加入0.1 mol·L⁻¹的 *D*、*L*-甲硫氨酸混合溶液50 mL,再向透过池中加入50 mL水,渗透一定时间取样进行HPLC分析.

分离手性甲硫氨酸的透过系数 P (cm²·s⁻¹)、渗透通量 J (mol·cm⁻²·s⁻¹) 及分离因子 $\alpha_{L/D}$ 分别计算如下

$$J = KV/A, P = Jd/(c_F - c_R), \alpha_{L/D} = P_L/P_D,$$

其中 K 为透过池中氨基酸浓度-时间透过曲线的斜率; V 为原料液体积; A 为有效膜面积; d 为膜的厚度; c_{R_i} 为透过池溶液的浓度; c_{F_i}/c_{R_i} 为原料池与透过池溶液的浓度差; $i = L, D$.

表5 印迹分子用量对膜的分离因子的影响

实验序号	甲硫氨酸/g	分离因子
1	0.1	1.53
2	0.2	1.74
3	0.3	1.76

注:膜的组成:壳聚糖2 g, PEG 0.6 g, 戊二醛0.2 mL.

从表5可看出,随着 *L*-甲硫氨酸的用量增加,“印迹穴”增加,分离因子相应提高;但当 *L*-甲硫氨酸的用量提高到0.3 g时,分离因子提高不多,考虑到膜的强度和通量等因素,选择 $m_{\text{壳聚糖}}:m_{L\text{-甲硫氨酸}} = 10:1$ 较为适宜.

3 结论

本文完成了 *L*-甲硫氨酸-PEG-戊二醛-壳聚糖分子印迹膜的合成,并研究了各因素对壳聚糖膜性能的影响,实验结果显示:1) 实验在壳聚糖2 g、聚乙二醇2000 0.6 g、戊二醛0.2 mL条件下制备的 *L*-甲硫氨酸壳聚糖分子印迹膜具有更好的溶胀性、高机械强度;2) 制备的 *L*-甲硫氨酸-PEG-戊二醛-壳聚糖分子印迹膜的纯水通量为373.8 kg·m⁻²·h⁻¹) *L*-

甲硫氨酸渗透量为0.130 mmol·cm⁻²,对 *D*、*L*-甲硫氨酸选择透过性的分离因子为1.76;3) FT-IR 表征分析显示 *L*-甲硫氨酸与壳聚糖等产生了印迹,特征吸收峰有所迁移;SEM 分析显示壳聚糖分子印迹膜表面平整、微观结构规整紧密;XRD 分析显示壳聚糖分子印迹膜具有较低的结晶度;TGA 分析显示壳聚糖分子印迹膜有良好的热稳定性.本文对 *L*-甲硫氨酸-PEG-戊二醛-壳聚糖分子印迹膜的制备与研究有助于在外部获得 *L*-甲硫氨酸.

4 参考文献

- [1] Chen Lingxin, Xu Shoufang, Li Jinhua. Recent advances in molecular imprinting technology: current status, challenges and highlighted applications [J]. Chem Soc Rev, 2011, 40 (5): 2922-2942.
- [2] Whitcombe M J, Kirsch N, Nicholls I A. Molecular imprinting science of technology: a survey of the literature for the years 2004-2011 [J]. J Mol Recognit, 2014, 27 (6): 297-401.
- [3] 刘亚强, 王大伟. 分子印迹原理及其聚合物的合成 [J]. 渭南师范学院学报, 2004, 19 (2): 30-32.
- [4] 杨座国, 许振良, 郝乃慈. 分子印迹膜的研究进展 [J]. 化工进展, 2006, 25 (2): 131-135.
- [5] 麻金海, 刘万顺. 乳酸-赖氨酸/壳聚糖自组膜的制备 [J]. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2007, 37 (3): 449-452.
- [6] Aburto J, Borgne S I. Selective adsorption of dibenzothio-phenyl sulfone by an imprinted and stimuli-responsive chitosan hydrogel [J]. Macromolecules, 2004, 37 (8): 2938-2943.
- [7] Xia Yongqing, Guo Tianying, Song Moudao, et al. Hemoglobin recognition by imprinting in semi-interpenetrating polymer network hydrogel based on polyacrylamide and chitosan [J]. Biomacromolecules, 2005, 6 (5): 2601-2606.
- [8] Guo Tianying, Xia Yongqing, Wang Jin, et al. Chitosan beads as molecularly imprinted polymer matrix for selective separation of proteins [J]. Biomaterials, 2005, 26 (28): 5737-5745.
- [9] Guo Tianying, Xia Yongqing, Hao Guangjie, et al. Adsorptive separation of hemoglobin by molecularly imprinted chitosan beads [J]. Biomaterials, 2004, 25 (27): 5905-5912.
- [10] Tan Tianwei, He Xiaojing, Du Weixia. Adsorption behaviour of metal ions on imprinted chitosan resin [J]. J Chem Technol Biotechnol, 2001, 76 (2): 191-195.

(下转第506页)

The Analysis on the Structure of Phytoplankton Community in Qingshan Lake of Nanchang City

ZHANG Yige ,XIE Jinlin ,LI Shouchun*

(College of Life Science ,Jiangxi Normal University ,Nanchang Jiangxi 330022 ,China)

Abstract: Phytoplankton community structure and water pollution in Qingshan Lake of Nanchang City are investigated on July and October 2015 ,January and April 2016. The results show that a total of 112 species belonging to 73 genera ,7 phylum of phytoplankton are identified. Among which the most species are Chlorophyta(33 genera ,56 species) ,accounting for 50% of the total species. The cell densities of phytoplankton are in the range from 3.4×10^8 cells \cdot L⁻¹ to 7.26×10^8 cells \cdot L⁻¹ ,and Cyanobacteria dominates in cell number. The average biomass is 8.105 mg \cdot L⁻¹ ,with the dominance by Chlorophyta and Bacillariophyta. The dominant species of cell density are *Pseudoanabaena* ,*Merimopedia minima* ,*Asteriomella formosa* ,*Scenedesmus bicauda* and *Monoraphidium*. The biomass dominant species include *Melosira granulata* var *angustissima* ,*Stephanodiscus neoastraea* ,*Scenedesmus* and *Oocystis*. The Shannon-Wiener diversity index ,Pielou evenness index ,Margalef index and Richness index are combined with the chemical properties of water to evaluate the water quality. The results show that Qingshan Lake is in the condition of medium pollution.

Key words: Qingshan Lake; phytoplankton; diversity index

(责任编辑: 刘显亮)

(上接第 481 页)

- [11] Yu Cong ,Mosbach K. Molecular imprinting utilizing an amide functional group for hydrogen bonding leading to highly efficient polymers [J]. J Org Chem ,1997 ,62(12) : 4057-4064.
- [12] Liu Bingjie ,Wang Dongfeng ,Yu Guangli et al. Adsorption of heavy metal ions ,dyes and proteins by chitosan composites and derivatives: a review [J]. Journal of Ocean Uni-

versity of China 2013 ,12(3) : 500-508.

- [13] 孙亮亮. 壳聚糖聚乙二醇接枝聚合物的合成及表征 [D]. 杭州: 浙江大学 2013: 31-32.
- [14] 陈彰旭 ,李明春 ,辛梅华 ,等. *N*-组氨酸壳聚糖/左旋聚乳酸支架的制备及表征 [J]. 功能材料 2015 ,46(5) : 118-122.

The Preparation and Properties of L-Methionine-Chitosan Molecularly Imprinted Composite Membrane

SUI Yujia ,TANG Jianping* ,LIU Yangjun ,LAI Lijuan ,YUAN Wensong ,DENG Huihui ,HU Zitao

(College of Chemical and Chemical Engineering ,Jiangxi Normal University ,Nanchang Jiangxi 330022 ,China)

Abstract: *L*-methionine-glutaraldehyde-polyethylene glycol (PEG)-chitosan molecularly imprinted membrane are prepared by ontology polymerization with chitosan(CTS) as the backing material ,*L*-methionine as imprinting molecule and polyethylene glycol (PEG) 2000 ,glutaraldehyde as crosslinking agent. The experimental results show that the swelling and water flux of chitosan composite membrane are good ,the permeation capacity of *L*-methionine is reached by 0.130 mmol \cdot cm⁻² ,and separation factor of *L* ,*D*-methionine is 1.76. The molecularly imprinted composite membrane ,which is characterized by FT-IR ,SEM ,XRD and TGA ,has compact microstructure ,low crystallinity and high thermal stability.

Key words: molecularly imprinted membrane; chitosan; *L*-methionine; chiral resolution

(责任编辑: 刘显亮)