

铜介导的磁性表面分子印迹聚合物用于棉仁中棉酚的高效特异性分离

杨书凌, 曹 玉, 何坤霖, 封 顺, 张纯姑*, 单连海*

(西南交通大学生命科学与工程学院, 四川 成都 610031)

摘要:棉花是中国重要的经济作物,其棉籽是重要的油料和蛋白质资源。但棉籽中含有的天然活性产物棉酚(gossypol, GOS)对哺乳动物具有生育毒性和生长抑制作用,这严重限制了棉籽资源的综合利用。本研究创新性地设计了一种基于金属配位机制的磁性表面分子印迹聚合物(GOS/MIP),通过自由基聚合法将铜离子介导的印迹位点精准锚定于功能化磁核的表面,实现棉酚的高效特异性分离与资源化增值的协同目标。表征结果证实,GOS/MIP 是粒径为 400~500 nm 的核壳结构球形颗粒,具有优异的磁响应性(47.78 emu/g),可在 7 s 内实现快速磁分离。其具有优异的与 GOS 结合的能力,120 min 内的最大吸附容量为 74.01 mg/g,印迹因子(IF)达 6.48,此外,GOS/MIP 在复杂基质中对 GOS 表现出高选择性和高特异性,且具有良好的稳定性和重复使用性。以 GOS/MIP 为分散固相萃取吸附剂与高效液相色谱结合,所建立的方法在 5~200 $\mu\text{g/mL}$ 的 GOS 质量浓度范围内具有良好的线性关系($R^2 > 0.999$),检出限为 0.024 $\mu\text{g/mL}$,加标回收率为 95.1%~98.7%,相对标准偏差 $\leq 2.4\%$ 。进一步模拟工业化的 GOS 分离场景,仅消耗 50 mL 溶剂和 50 mg GOS/MIP 即可从 10 g 棉仁样品中分离得到 3 mg GOS,回收率达 77.0%~83.3%。这项工作有效克服了传统 GOS 分离过程中选择性差、环境负担大的瓶颈,为天然产物的高值化利用提供了绿色、高效的新策略,兼具基础研究创新性与产业化应用潜力。

关键词:棉酚;铜介导;分子印迹聚合物;磁分离;棉仁

中图分类号:O658

文献标识码:A

Efficient separation of gossypol from cotton kernels with copper mediated magnetic molecularly imprinted polymer

YANG Shuling, CAO Yu, HE Kunlin, FENG Shun, ZHANG Chungu*, SHAN Lianhai*

(School of Life Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

Abstract: Cotton is an economically important crop in China. Cotton fibers are widely used in the textile industry and cottonseed is a key source of edible oils and proteins. Cottonseed contains gossypol (GOS), a natural bioactive compound that exhibits medicinal properties, including antitumor and antiviral activities; it is also a potential contraceptive agent. Despite these benefits, GOS has some critical drawbacks, as it is associated with side effects such as antifertility and mammalian growth inhibition that limit the comprehensive utilization of cottonseed resources. Consequently, GOS needs to be efficiently and specifically separated for safe resource utilization. Conventional molecularly imprinted polymers (MIPs) have limitations as they often bind to targets in a manner that is too rigid or fragile, which leads to significantly lower specificities and mass-transfer rates. Accordingly, a novel copper-ion-mediated magnetic surface molecularly imprinted polymer (GOS/MIP) was designed and prepared to solve these problems. GOS/MIP integrates three key strategies: metal coordination, surface imprinting, and magnetic separation. Copper(II) ions were introduced

收稿日期:2025-01-19

* 通信联系人 .E-mail: mas3330@swjtu.edu.cn(单连海); E-mail: zcg@swjtu.edu.cn(张纯姑).

基金项目:国家自然科学基金项目(22174117);中央高校基础研究基金(2682024ZTPY014).

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 22174117); Central University Basic Research Fund of China (No. 2682024ZTPY014).

as functional “bridges” between the functional monomer and template, which resulted in softer and more flexible interactions and more homogeneous imprinted cavities. The imprinting sites were anchored to the surfaces of the functionalized magnetic cores, which accelerated the adsorption and desorption processes and simplified the preparation and separation steps. Free-radical polymerization enabled precise synthesis. GOS/MIP was thoroughly characterized, with scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) used to observe its morphology, and a vibrating sample magnetometer (VSM) used to measure magnetic properties. Energy-dispersive spectroscopy (EDS) was used to analyze the elemental composition, with Fourier-transform infrared (FT-IR) spectroscopy used to examine chemical bonding. The results confirmed the existence of a core-shell structure and that the imprinted layer had been successfully prepared. GOS/MIP was found to be composed of spherical particles 400–500 nm in diameter. The material also exhibited an excellent magnetic response, with a saturation magnetization of 47.78 emu/g, which enabled magnetic separation within only 7 s, thereby ensuring rapid recovery under practical conditions. Performance studies revealed that GOS/MIP exhibits an excellent binding ability for GOS, with equilibrium achieved in 120 min. The apparent maximum adsorption capacity and imprinting factor (IF) were determined to be 74.01 mg/g and 6.48, respectively. Selective and competitive binding experiments showed that GOS/MIP is highly specific for GOS in complex matrices, and pH binding experiments revealed that optimal binding occurs at pH 2–6, which covers most industrial processing conditions and highlights the large-scale industrial applications potential of the material. GOS/MIP retained its good adsorption capacity even after seven adsorption-desorption cycles, thereby demonstrating excellent stability and reproducibility. GOS/MIP was used as a dispersive solid-phase extraction (dSPE) adsorbent in combination with high-performance liquid chromatography (HPLC). The developed method exhibited linearity in the 5–200 $\mu\text{g/mL}$ range, with a high correlation coefficient ($R^2 > 0.999$) and limits of detection and quantification (LOD and LOQ) of 0.024 and 0.079 $\mu\text{g/mL}$, respectively. Average recovery rates at three spiked concentrations (0.08, 0.24, and 0.80 $\mu\text{g/mL}$) ranged between 95.1% and 98.7%, with relative standard deviations (RSDs) below 2.4%. Only 50 mL of solvent and 50 mg of GOS/MIP were required in a simulated industrial GOS-separation process, which separated 3 mg of GOS from 10 g of cottonseed. GOS-recovery rates of 77.0%–83.3% were observed. The GOS/MIP-based separation method combines specificity, sustainability, and cost-effectiveness, thereby addressing the key challenges faced by traditional GOS-separation methods. In addition, it overcomes the toxicity limitations associated with the comprehensive utilization of cottonseed. Hence, cottonseed can be safely processed and cottonseed byproducts can be used in animal feed. This study provides a potent tool for the green, fast, and specific separation of high-purity products from plants; the basic research presented herein is both innovative and is potentially industrially applicable.

Keywords: gossypol (GOS); copper mediated; molecularly imprinted polymer (MIP); magnetic separation; cotton kernels

引用本文: 杨书凌, 曹玉, 何坤霖, 封顺, 张纯姑, 单连海. 铜介导的磁性表面分子印迹聚合物用于棉仁中棉酚的高效特异性分离. 色谱, 2026, 44(1): 101-113.

YANG Shuling, CAO Yu, HE Kunlin, FENG Shun, ZHANG Chungu, SHAN Lianhai. Efficient separation of gossypol from cotton kernels with copper mediated magnetic molecularly imprinted polymer. Chinese Journal of Chromatography, 2026, 44(1): 101-113.

棉花是中国重要的经济作物,其棉纤维能制成丰富的纺织产品,棉籽则可作为食用油和蛋白质的重要来源^[1,2]。然而,棉籽中天然存在的棉酚(gossypol, GOS, $C_{30}H_{30}O_8$)是一种具有显著生物毒性的多酚羟基双萜醛类化合物,其会对哺乳动物产生抗生育^[3]、生长抑制^[4]等副作用。GOS 的存在不利于棉籽油和棉籽粕的加工,严重制约棉籽的资源化利用。因此,开发高效、精准的 GOS 分离技术,可消除棉籽的毒性隐患,使其食用价值得到最大化。

目前 GOS 分离技术主要包括微生物发酵法^[5]、溶剂萃取法^[6]和固相萃取法^[7]。其中,固相萃取法因操作条件温和、溶剂消耗少等优势备受关注,常用的吸附剂如氧化铝^[8]、石墨化炭黑^[9]等虽能实现部分分离,但普遍存在选择性差、传质效率低的问题。相较之下,分子印迹聚合物(molecularly imprinted polymers, MIPs)凭借更好的识别效率和选择性^[10-12],在从复杂基质中特异性分离目标分子方面展现出独特潜力^[13,14]。传统 MIPs 通过共价键或非共价键与模板结合,但刚性作用力易导致印迹空腔分布不均^[15],而弱相互作用(如氢键)则存在稳定性差、溶剂敏感性高等缺点^[16],因此可能无法达到理想的 GOS 分离效果。

近年来,金属介导 MIPs (metal-mediated MIPs)通过引入金属离子定向桥接功能单体和模板分子,实现了作用力“刚柔并济”的突破,有利于形成定向均匀的结合位点,构建更稳定、有效的印迹空腔,从而显著提高识别的特异性和选择性^[17,18]。此外,表面分子印迹技术(surface molecularly imprinted technology)通过将印迹层包覆在固体基质表面,可以增加活性位点的可及性,加速吸附和解吸过程^[19,20]。进一步使用 Fe_3O_4 纳米颗粒作为固体基质,可得到具有大比表面积和易接近结合位点的材料^[21],还可通过外部磁场大大简化和加快制备和分离过程^[22]。上述策略可有效克服传统 MIPs 的固有缺点。

已有一些关于 GOS 的 MIPs 的报道。Zhao 等^[23]制备了具有双层结构的块体 MIP,印迹因子(imprinting factor, IF)为 3.85,实现了 GOS 的快速电化学检测,然而其依赖氢键作用,结合易受溶剂或其他物质的干扰。Zhi 等^[24]通过溶胶-凝胶法制备 GOS 的表面分子印迹聚合物,吸附容量高(204 mg/g)且平衡时间短(10 min),但 IF 值有限,为 2.20。Zhi 等^[25]还通过自由基聚合法制备了 GOS

的 MIPs,其吸附容量佳(632 mg/g),但仅比非印迹聚合物(NIPs)高 13%~15%,且平衡时间较长(12 h),研磨过程使颗粒不规则,尺寸分布广。Wang 等^[26]通过本体聚合、溶胶-凝胶法和表面分子印迹法制备了 3 种 GOS 的 MIPs 并进行比较,本体聚合得到的 MIP 吸附容量高(564 mg/g),但相较于 NIP (506.5 mg/g)没有明显优势,且其平衡时间较长(720 min),溶胶-凝胶表面印迹得到的 MIP 平衡时间短(40 min),吸附容量较大(120 mg/g),但 IF 值有限,为 2.86。

本文采用金属介导-表面印迹-磁分离三元协同策略,设计并制备了一种新型 Cu(II)介导的磁性表面分子印迹材料 GOS/MIP。GOS/MIP 通过自由基聚合法制备得到,其以功能化 Fe_3O_4 为磁核, GOS 为模板分子,丙烯酰胺(AM)为功能单体,乙二醇二甲基丙烯酸酯(EDGMA)为交联剂, Cu(II)为连接功能单体和模板分子的“桥梁”。相较于现有报道,其充分整合了 3 种技术的优势,实现了协同优化结合作用力、印迹位点可及性与分离效率三大核心参数。通过多种方法对 GOS/MIP 进行了表征和性能测定,并成功应用于从植物样品棉仁中高效、绿色分离 GOS 的工业化模拟生产中。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

Inspect-F50 场发射扫描电子显微镜和 G2F20 高分辨透射电子显微镜(美国 FEI 公司), PPMS-9 振动样品磁力计(美国 Quantum Design 公司), Octane Super 能量色散光谱仪(美国 Octane 公司), XFlash 6130 能谱仪(美国 BRUKER 公司), FTIR-650 傅里叶变换红外光谱仪(天津港东科技发展股份有限公司), 1525 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司), UV-1800PC 紫外可见分光光度计(上海 AOE 仪器有限公司), EKUP-II-20E 纯水系统(四川宜科纯水设备有限公司), Nano-Zen 3600 激光粒度仪(英国 Malvern 公司)。

AM($\geq 98\%$)、偶氮二异丁腈(AIBN, $\geq 98\%$)、五水硫酸铜($Cu(SO_4)_2 \cdot 5H_2O$, $\geq 99\%$)、七水硫酸锌($Zn(SO_4)_2 \cdot 7H_2O$, $\geq 99.5\%$)、原硅酸四乙酯(TEOS, 99%)、甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷(MPS, 98%)、聚乙二醇 4000(PEG-4000, 生物超纯级)、醋酸钠(NaAC, 98%)、阿霉素(DOX, 98%)、多巴胺(DOP, $\geq 99\%$)、土霉素(OTC, $\geq 98\%$)、2-羟基-1-萘甲

醛(HNA, 98%)、2,6-二羟基萘-1,5-二甲醛(DHNDA, 98%)、甲基丙烯酸(MAA, 99%)、衣康酸(ITA, ≥99%)、4-乙烯基吡啶(4-VP, 99%)、氨水(NH₃·H₂O, 生物超纯级)、乙二醇(≥99.5%)、冰乙酸(≥99.5%)、氢氧化钠(≥98%)、甲酸(HPLC≥98%)均购自上海阿达玛斯试剂有限公司; EDGMA(98%)、诺氟沙星(NFX, ≥98%)均购自阿拉丁试剂(上海)有限公司; 六水合氯化铁(FeCl₃·6H₂O, 99%)购自上海麦克林生化科技有限公司; GOS(≥98%)购自成都健腾生物有限公司; 芦丁(RUT, ≥98%)购自成都德思特生物技术有限公司; 分析纯甲醇、乙醇、盐酸均购自成都市科隆化工试剂厂; 色谱级乙腈和甲醇购自赛默飞世尔科技公司; 实验用水为超纯水(18.2 MΩ·cm)。

1.2 材料制备

1.2.1 Fe₃O₄ 制备

称取 2.70 g FeCl₃·6H₂O 溶解于 20 mL 乙二醇中, 记为 A。称取 7.2 g NaAc 溶解于另外 20 mL 乙二醇中, 记为 B。称取 2 g PEG-4000 溶于另外 20 mL 乙二醇中, 记为 C。将 A、B、C 混合并快速搅拌 30 min 后, 转移至 100 mL 反应釜中, 200 ℃下反应 8 h。反应结束后将产物冷却至室温, 通过外部磁场收集产物, 用无水乙醇和去离子水洗涤数次后真空冷冻干燥 12 h, 得到 Fe₃O₄ 保存备用。

1.2.2 Fe₃O₄@SiO₂ 制备

在 Fe₃O₄ 纳米颗粒表面包覆二氧化硅层。称取 1 g Fe₃O₄ 分散到 100 mL 无水乙醇-水混合溶液(4:1, 体积比), 在 31.4 rad/s 机械搅拌下加入 3 mL NH₃·H₂O 和 2 mL TEOS, 室温反应 12 h 后, 通过外部磁场分离产物, 用无水乙醇和去离子水洗涤数次, 真空冷冻干燥 12 h, 得到 Fe₃O₄@SiO₂ 保存备用。

1.2.3 Fe₃O₄@SiO₂@MPS 制备

称取 200 mg Fe₃O₄@SiO₂ 分散于 100 mL 10% 冰醋酸中, 在 31.4 rad/s 机械搅拌下加入 1 mL MPS, 60 ℃下反应 5 h, 反应结束后待产物冷却至室温后, 通过外部磁场分离产物, 用无水乙醇和去离子水洗涤数次, 真空冷冻干燥 12 h, 得到 Fe₃O₄@SiO₂@MPS 保存备用。

1.2.4 GOS/MIP 制备

取 13 mg GOS 溶解于 16 mL 甲醇, 取 100 mg Cu(SO₄)₂·5H₂O 溶解于 4 mL 去离子水, 将二者混匀, 30 min 后加入 14 mg AM 进行预组装, 30 min 后加入 100 mg Fe₃O₄@SiO₂@MPS, 混匀 1 h 后加入 190 μL EGDMA 和 16 mg AIBN, 通氮除氧后, 在 31.4 rad/s 机械搅拌、60 ℃下反应 12 h。反应结束

待产物冷却至室温后, 磁分离产物, 用甲醇-乙酸混合溶液(8:2, 体积比)洗脱数次以去除模板, 然后用无水乙醇和去离子水将产物洗至中性, 再加入 0.2 mol/L Cu(II) 孵育 30 min, 孵育完成后用去离子水洗涤产物 3 次, 真空冷冻干燥 12 h, 得到 GOS/MIP 保存备用。

NIP 的制备过程除不加 GOS 外, 其余步骤均相同。

1.3 吸附性能测试

1.3.1 等温吸附实验

取 4 mg GOS/MIP 或 NIP, 用甲醇活化后分散到 4 mL 质量浓度为 0.5~500 μg/mL 的 GOS 标准溶液中。室温下旋转孵育 2 h 后, 磁分离材料, 用紫外可见分光光度计测定吸附前、后上清液在 373 nm 的吸光度, 结合标准曲线法计算上清液中 GOS 的质量浓度, 并利用公式(1)对 GOS 的吸附量进行计算, 公式(2)对 IF 值进行计算。

$$Q = \frac{(C_0 - C_t) \times V}{m} \quad (1)$$

$$IF = \frac{Q_{GOS/MIP}}{Q_{NIP}} \quad (2)$$

其中, Q (mg/g) 表示材料的吸附量, C_0 (μg/mL) 表示 GOS 溶液的初始质量浓度, C_t (μg/mL) 表示吸附后 GOS 的剩余质量浓度, V (mL) 表示溶液的体积, m (mg) 表示材料的质量; $Q_{GOS/MIP}$ 和 Q_{NIP} (mg/g) 分别表示 GOS/MIP 和 NIP 对 GOS 的吸附量。

1.3.2 动力学吸附实验

取 4 mg GOS/MIP 或 NIP, 用甲醇活化后分散到 4 mL 50 μg/mL 的 GOS 标准溶液中, 在室温下旋转孵育 5、10、20、30、40、50、60、80、120、240 min 后, 磁分离材料, 用紫外可见分光光度计测定吸附前、后上清液在 373 nm 的吸光度。

1.3.3 选择性吸附实验

取 4 mg GOS/MIP 或 NIP, 用甲醇活化后分散到 4 mL 质量浓度均为 50 μg/mL 的 GOS、RUT、OTC、DOX、DOP、NFX、DHNDA、HNA 标准溶液中, 室温下旋转孵育 2 h 后, 磁分离材料, 用紫外可见分光光度法测定并通过标准曲线计算上清液中 GOS 和各结构类似物的初始质量浓度和最终质量浓度。

1.3.4 竞争性吸附实验

取 4 mg GOS/MIP 或 NIP, 用甲醇活化后分散到 4 mL 质量浓度各为 50 μg/mL 的 GOS、RUT、

OTC、DOX、DOP 和 NFX 的混合溶液中,室温下旋转孵育 2 h 后,磁分离材料,用 3 mL 去离子水洗涤 2 次以去除非特异性吸附的组分,用 3 mL 甲醇-乙酸混合溶液(8:2,体积比)洗涤 2 次以洗脱吸附的药物分子。分别收集洗涤液和洗脱液,真空冷冻干燥 12 h 后,用 2 mL 流动相复溶,通过 HPLC 分析。

1.4 pH 适用范围测试

取 4 mg GOS/MIP 或 NIP,活化后分散到 pH 值在 2~13 范围内的 GOS 溶液中(用 2% HCl 水溶液和 2% NaOH 水溶液调节酸碱性)。室温下旋转孵育 2 h 后磁分离材料,通过紫外可见分光光度计测定吸附前、后上清液在 373 nm 的吸光度,并结合标准曲线计算 GOS 的质量浓度。

1.5 重复使用性测试

将 4 mg GOS/MIP 活化后分散到 4 mL 50 $\mu\text{g/mL}$ 的 GOS 溶液中,室温下旋转孵育 2 h 后,将 GOS/MIP 自体系中磁分离并洗脱解吸,用 Cu(II)孵育再生后再次放入 4 mL 50 $\mu\text{g/mL}$ 的 GOS 溶液中进行吸附。整个吸附-解吸-再生循环重复 7 次。测定和计算每次吸附前、后 GOS 的质量浓度。

1.6 方法评估与真实样本中 GOS 的分离

将 10 g 棉仁粗粉和 100 mL 丙酮-水(8:2,体积比)混合溶液放入 250 mL 平底烧瓶中,在 40 $^{\circ}\text{C}$ 下加热回流 3 h,收集 3 次提取液经减压过滤、旋转蒸发得到 0.7 g 浸膏,复溶于 50 mL 甲醇中备用。取 50 mg 活化后的 GOS/MIP 分散于上述 50 mL 复溶液中,室温旋转孵育 120 min 后,磁分离 GOS/MIP 并收集上清液,材料用 5 mL 水洗涤 2 次,5 mL 甲醇-乙酸(8:2,体积比)混合溶液洗脱 2 次,合并洗脱液并真空干燥,通过 HPLC 分析处理前、后溶液中 GOS 的质量浓度。

1.7 分析条件

方法评估与真实样本中 GOS 的分离实验:色谱柱为 Shimadzu WondaSil[®] C18-WR 柱(150 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm),柱温为 25 $^{\circ}\text{C}$;检测波长为 280 nm,流动相为甲醇-水-甲酸(85:15:0.1,体积比),流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μL 。

竞争性吸附实验:色谱柱、柱温、检测波长、流速和进样量与真实样本分离实验一致。流动相 A 和流动相 B 分别为 0.1% 甲酸水和 0.1% 甲酸甲醇。梯度洗脱程序:0~3.0 min, 60%A; 3.0~7.0 min, 60%A~25%A; 7.0~17.0 min, 25%A~25%A; 17.0~20.0 min, 25%A~60%A。

2 结果与讨论

2.1 GOS/MIP 的制备及条件优化

GOS/MIP 的制备过程如图 1 所示。首先通过预组装步骤形成稳定的模板(GOS)-金属离子(Cu(II))-单体(AM)三元复合物,这也是 GOS/MIP 成功制备的关键。然后以 EDGMA 为交联剂, AIBN 为引发剂,通过自由基聚合法在磁性纳米颗粒表面包覆聚合物层,获得具有核壳结构的 GOS/MIP,这种独特的形式有利于其与 GOS 的结合。

为了获得最佳的吸附能力,进行了优化实验。首先参考 Nicholls 等^[27]的工作,将 GOS 与 MAA、AM、4-VP、ITA(物质的量之比 1:4)在甲醇中振荡 30 min,测定各溶液在 190~500 nm 的 UV-Vis 谱图以筛选功能单体;将 GOS 与 Cu(II)、Mn(II)、Zn(II)、Ni(II)(物质的量之比 1:5)预混合 30 min 后加入单体二次振荡,测定各环节 UV-Vis 谱图。进一步通过单变量实验优化,按照 GOS/MIP 的条件和参数,制备 4 种单体不同的非金属介导 MIP,以及制备 4 种金属离子不同的金属介导 MIP 进行考察。筛选结果如图 2 所示。

由图 2a 和 2b 可知,功能单体 AM 和金属离子 Cu(II)使 GOS 的 UV-Vis 特征峰发生最显著的吸光度升高和红移效应;进一步分析发现, GOS-Cu(II)-AM 三元体系出现最强的吸收峰(图 2c、2d)。这些结果表明 GOS-Cu(II)-AM 是稳定的复合物。通过单变量实验验证发现,采用 AM 和 Cu(II)制备的 MIP 在吸附容量上均优于其他对应单体或金属离子的组合(图 2e、2f)。

为进一步验证上述实验结果,采用密度泛函理论(DFT)进行量子化学计算(Gaussian 09 软件, B3LYP-D3 泛函结合色散校正, def2-svp 基组)。首先对 GOS 与 4 种金属离子的复合物进行几何优化并计算各体系结合能(表 1,图 3),发现 GOS 与 Cu(II)结合时,其 1 号位结合能($\Delta E_{\text{GOS},\text{s1-M}}=-464.97$ kJ/mol)和 2 号位结合能($\Delta E_{\text{GOS},\text{s2-M}}=-429.07$ kJ/mol)的总和($\Delta E_{\text{GOS-M}}=\Delta E_{\text{GOS},\text{s1-M}}+\Delta E_{\text{GOS},\text{s2-M}}=-894.04$ kJ/mol)绝对值最大,表明 GOS-Cu(II)可通过金属离子与酚羟基氧、醛基氧的配位作用形成最稳定结构。进一步优化 GOS-Cu(II)与功能单体的配位体系(表 2,图 4),发现 GOS-Cu(II)与 AM 结合时,结合能($\Delta E_{\text{GOS-M-monomer}}=-1087.34$ kJ/mol)绝对值最大,表明其能够形成能量最低的稳定配位构

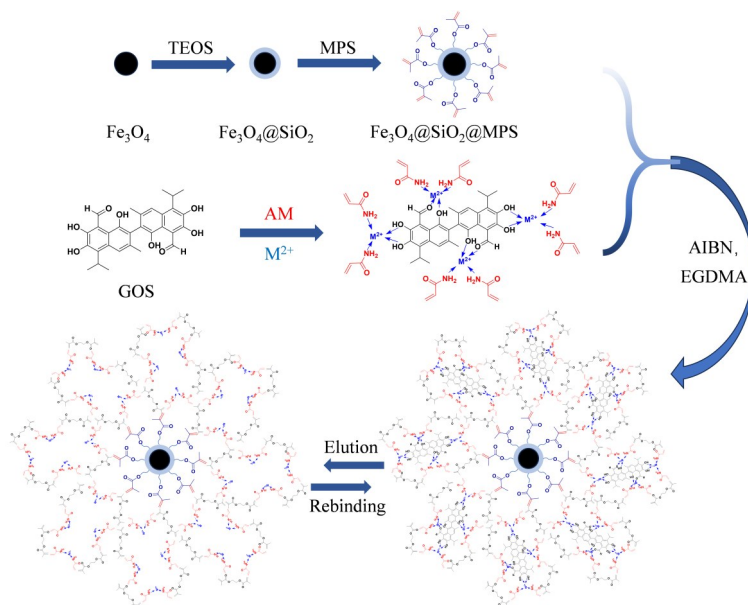


图 1 GOS/MIP 的合成示意图

Fig. 1 Synthesis process of GOS/MIP

GOS/MIP: metal-mediated magnetic surface molecularly imprinted polymer for gossypol (GOS); TEOS: tetracycline; MPS: methacryloxy propyl trimethoxyl silane; AM: acrylamide; AIBN: azobisisobutyronitrile; EGDMA: ethylene glycol dimethacrylate.

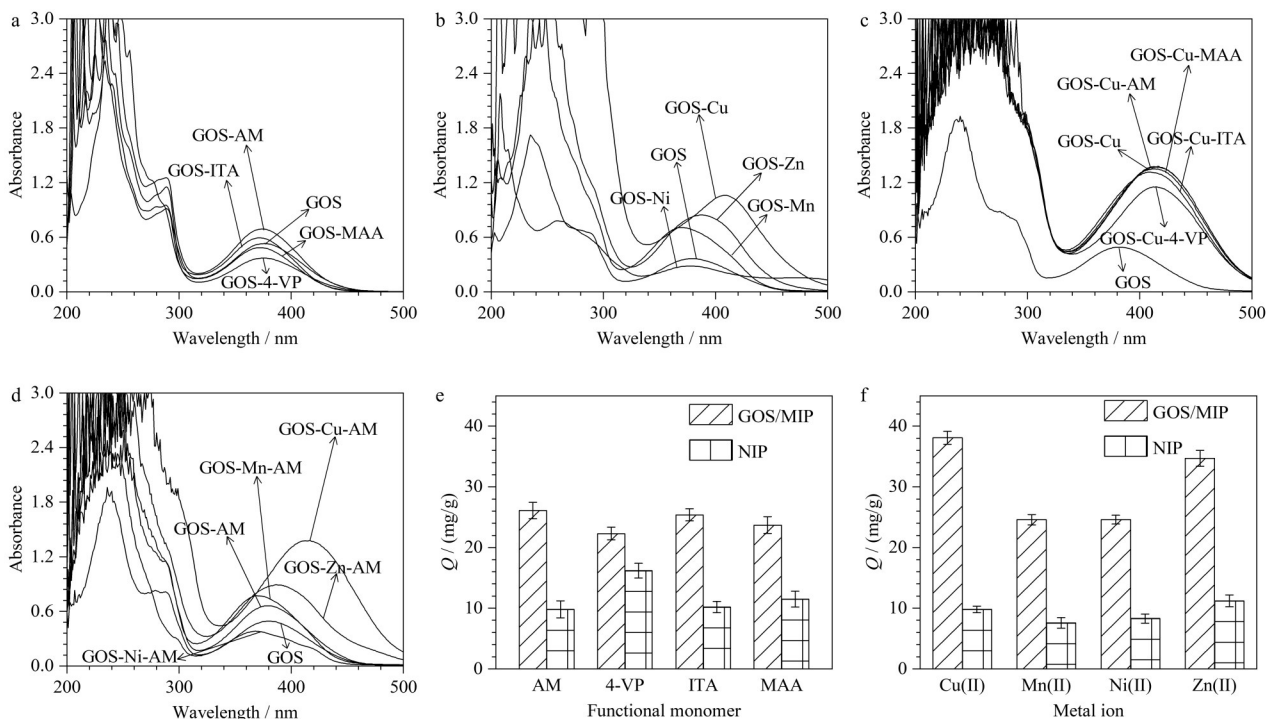


图 2 (a) GOS 与不同功能单体、(b) GOS 与不同金属离子、(c) GOS-Cu 与不同功能单体及 (d) GOS-AM 与不同金属离子的紫外可见光谱图; (e) 单体种类和 (f) 金属离子种类对 GOS/MIP 和 NIP 吸附 GOS 效果的影响 ($n=3$)

Fig. 2 UV-Vis spectra of (a) GOS with different functional monomers, (b) GOS with different metal ions, (c) GOS-Cu with different functional monomers, and (d) GOS-AM with different metal ions; effects of (e) monomer type and (f) metal ion type on adsorption performance of GOS/MIP and NIP to GOS ($n=3$)

4-VP: 4-vinylpyridine; ITA: itaconic acid; MAA: methacrylic acid; NIP: non-imprinted polymer.

型。DFT 计算结果与上述优化实验结果一致,最后选定 Cu(II) 和 AM 用于 GOS/MIP 的合成。

2.2 材料的表征

图 5a 为各材料的 FT-IR 图谱, 3441 cm^{-1} 处的

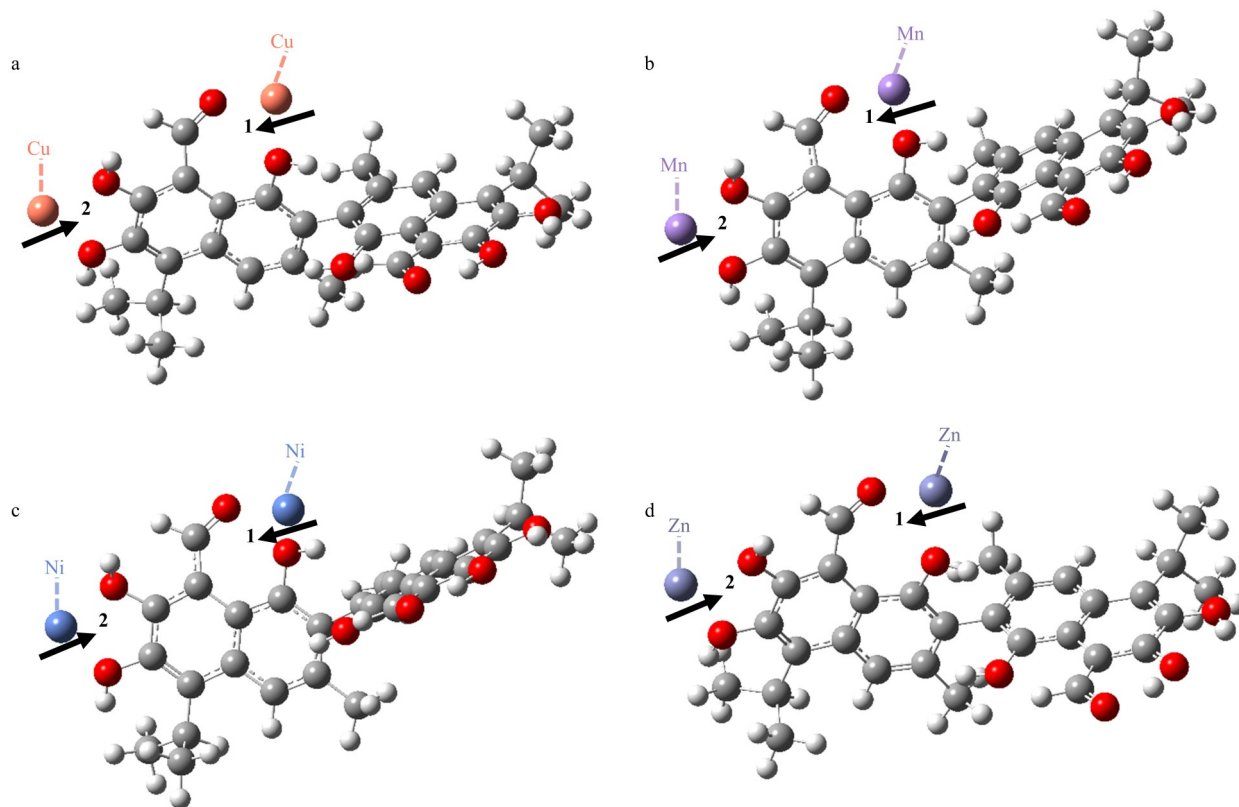


图3 (a)GOS-Cu(Ⅱ)、(b)GOS-Mn(Ⅱ)、(c)GOS-Ni(Ⅱ)和(d)GOS-Zn(Ⅱ)的优化结构图
Fig. 3 Optimal structures of (a) GOS-Cu(Ⅱ), (b) GOS-Mn(Ⅱ), (c) GOS-Ni(Ⅱ) and (d) GOS-Zn(Ⅱ)

-OH 特征峰和 558 cm^{-1} 处的 Fe-O 特征峰表明 Fe_3O_4 成功制备,并且在后续修饰、功能化和表面印迹过程中保持稳定。 745 、 949 和 $1\,070\text{ cm}^{-1}$ 处分别对应 O-Si-O、Si-OH 对称伸缩振动峰和 Si-O 不对称伸缩振动峰,表明 SiO_2 层成功包覆。 $\text{C}=\text{O}$ ($1\,625\text{ cm}^{-1}$) 以及 $\text{C}=\text{C}$ ($1\,386\text{ cm}^{-1}$) 特征峰验证 MPS 功能化及印迹层键合成功。GOS/MIP 和 NIP 由于成分相同呈现相似图谱,且均具有功能化磁核的所有特征峰。

粒径分布图(图 5b)表明, Fe_3O_4 的流体动力学粒径约为 392 nm ,经过层层包覆后纳米颗粒的粒径逐渐增大,表明 GOS/MIP 成功制备且能够吸附 GOS。Zeta 电位数据(图 5c)显示,修饰 SiO_2 、MPS、印迹层,以及吸附 GOS 后,材料的电位由正转负,进一步证明材料的成功制备,并且 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2@\text{MPS}$ 相较于 Fe_3O_4 能更趋于稳定地悬浮于体系中,吸附 GOS 后的材料也显示出比 GOS/MIP 和 NIP 更好的稳定性。

FE-SEM 图像显示 GOS/MIP(图 6a、6b)为均匀的球形颗粒,粒径约为 550 nm 。TEM 图像显示

GOS/MIP 具有核壳结构, Fe_3O_4 核(粒径约 410 nm)表面均匀包覆着厚度约为 30 nm 的 SiO_2 层(图 6c)和厚度约为 40 nm 的印迹层(图 6d),这种特殊的形貌有利于传质优化和吸附位点暴露。能量色散光谱(图 6e)显示,微球成功固定了 Cu(Ⅱ)。元素面分布分析(图 6f)显示 Cu 元素均匀分布在 GOS/MIP 上,这有利于印迹空腔的定向均匀,从而提升材料的选择性识别能力。磁滞曲线分析结果(图 6g)表明,材料经层层包覆后仍能保持超顺磁性 (47.78 emu/g),且在 7 s 内即可实现磁分离(图 6g 插图),极大降低材料的操作损耗,以及缩短制备和分离的时间。

2.3 材料的结合性能

通过等温吸附、动力学吸附、选择性吸附和竞争性吸附实验考察了 GOS/MIP 的吸附性能和选择性识别能力。

热力学吸附实验(图 7a)表明,材料的吸附量随着 GOS 溶液初始浓度的增大而增加,GOS/MIP 的吸附能力显著高于 NIP,归因于 GOS/MIP 中具有为 GOS 量身定制的印迹空腔,这些空腔在吸附过

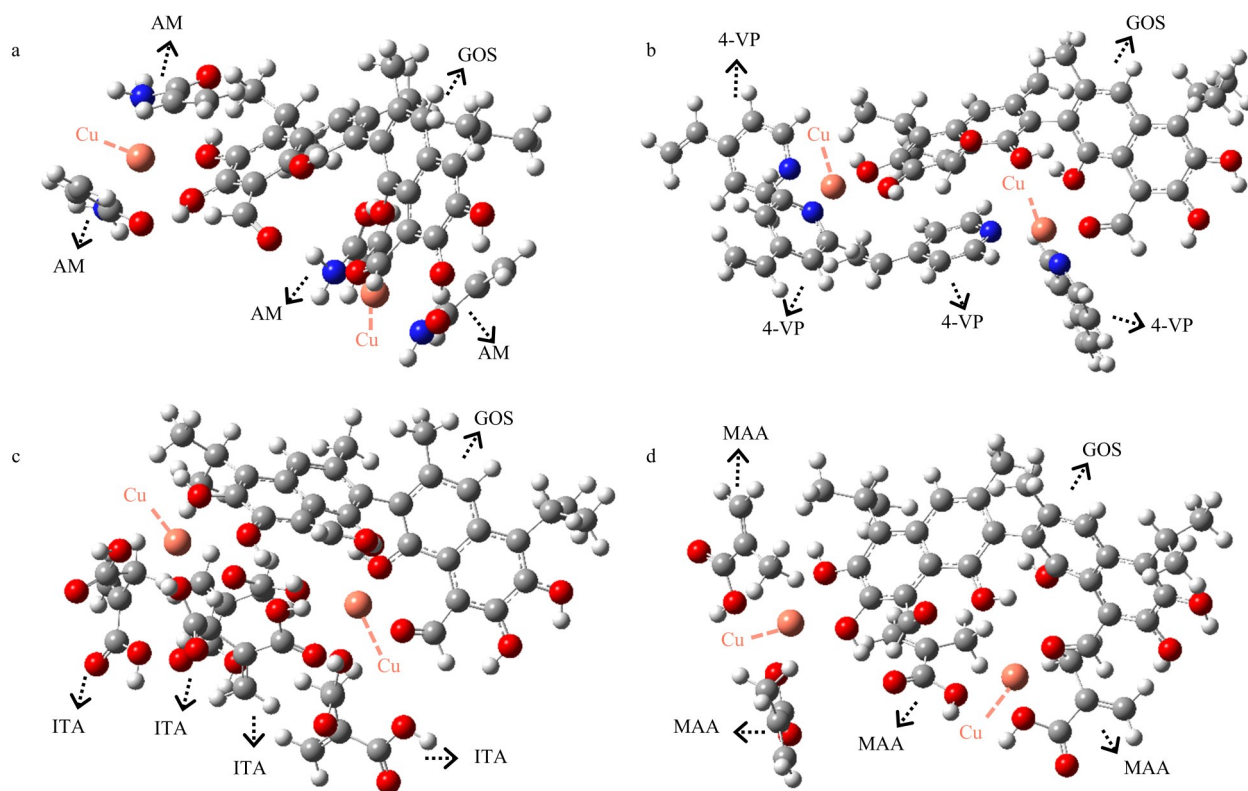


图 4 (a)GOS-Cu(Ⅱ)-AM、(b)GOS-Cu(Ⅱ)-4-VP、(c)GOS-Cu(Ⅱ)-ITA 和 (d)GOS-Cu(Ⅱ)-MAA 的优化结构图

Fig. 4 Optimal structures of (a) GOS-Cu(Ⅱ)-AM, (b) GOS-Cu(Ⅱ)-4-VP, (c) GOS-Cu(Ⅱ)-ITA and (d) GOS-Cu(Ⅱ)-MAA

表 1 GOS 与不同金属离子结合的结合能

Table 1 Binding energies between GOS and different metal ions

Metal ion	$\Delta E_{\text{GOS},s1-M}/$ (kJ/mol)	$\Delta E_{\text{GOS},s2-M}/$ (kJ/mol)	$\Delta E_{\text{GOS-M}}/$ (kJ/mol)
Cu(Ⅱ)	-464.97	-429.07	-894.04
Mn(Ⅱ)	-93.14	-160.21	-253.34
Ni(Ⅱ)	-491.33	-363.09	-854.41
Zn(Ⅱ)	-127.57	-99.70	-227.27

表 2 GOS-Cu(Ⅱ) 复合物与不同单体结合的结合能

Table 2 Binding energies between the GOS-Cu(Ⅱ) complex and different monomers

Monomer	$\Delta E_{\text{GOS-M-monomer}}/$ (kJ/mol)
AM	-1087.34
4-VP	-1054.12
ITA	-446.85
MAA	-643.58

程中发挥重要功能。Scatchard 方程分析显示, GOS/MIP 为一条拟合曲线(图 7b), 归因于金属离子的引入使其结合位点定向均匀, 同时印迹层位于载体表面使 GOS 能够很容易地到达特异性结合位点, 所以强力的特异性吸附掩盖了弱的非特异性吸附, 根据斜率和截距, 可计算出 GOS/MIP 的表观最

大吸附量($Q_{\max}$)和解离常数(K_d)值分别为 74.01 mg/g 和 90.42 $\mu\text{g/mL}$ 。NIP 只存在一种不可避免的非特异性吸附(图 7c), 其 $Q_{\max}$ 和 K_d 值分别是 11.43 mg/g 和 48.31 $\mu\text{g/mL}$ 。通过拟合结果得到 GOS/MIP 的 IF 为 6.48。上述结果表明, 与 NIP 相比, GOS/MIP 具有较强的特异性结合模板 GOS 的能力。

动力学吸附曲线(图 8a)显示, GOS/MIP 在初始 60 min 内吸附量迅速达到平衡容量的 70%, 随后速率减缓并于约 120 min 时达到吸附平衡。这归因于在吸附初始阶段印迹空腔可高效捕获 GOS, 随空腔饱和和吸附速率逐渐变慢。达到平衡时, GOS/MIP 的吸附量(35.03 mg/g)显著高于 NIP 的吸附量(8.79 mg/g), 这归功于所采用的配位键结合策略和表面印迹技术赋予了 GOS/MIP 高的特异性识别和结合 GOS 的能力, 而 NIP 缺乏这种特异性结合位点。采用伪一级和伪二级模型拟合吸附动力学数据(图 8b、8c)发现, 两种材料都更符合伪二级模型, 表明化学吸附可能是吸附过程中的速率控制步骤。

通过将 GOS/MIP 和 NIP 分别分散在 GOS 和

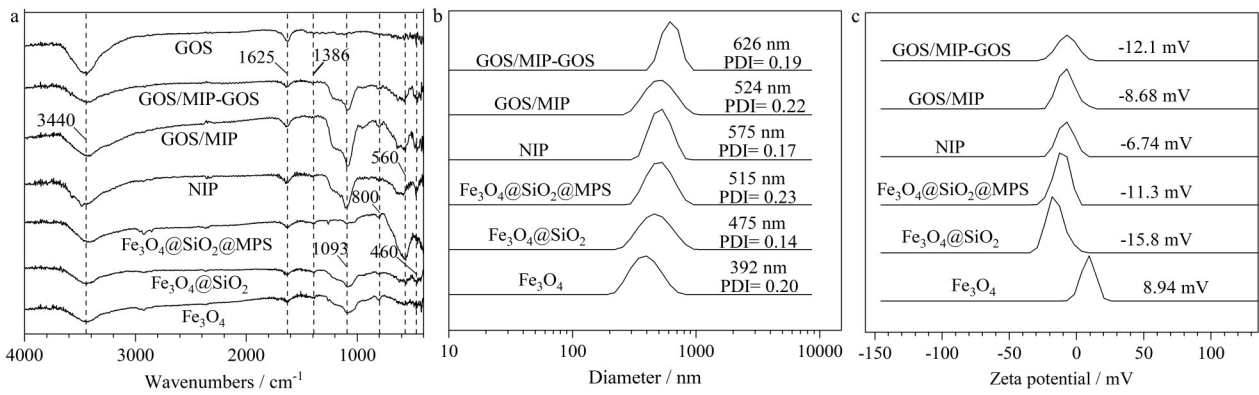
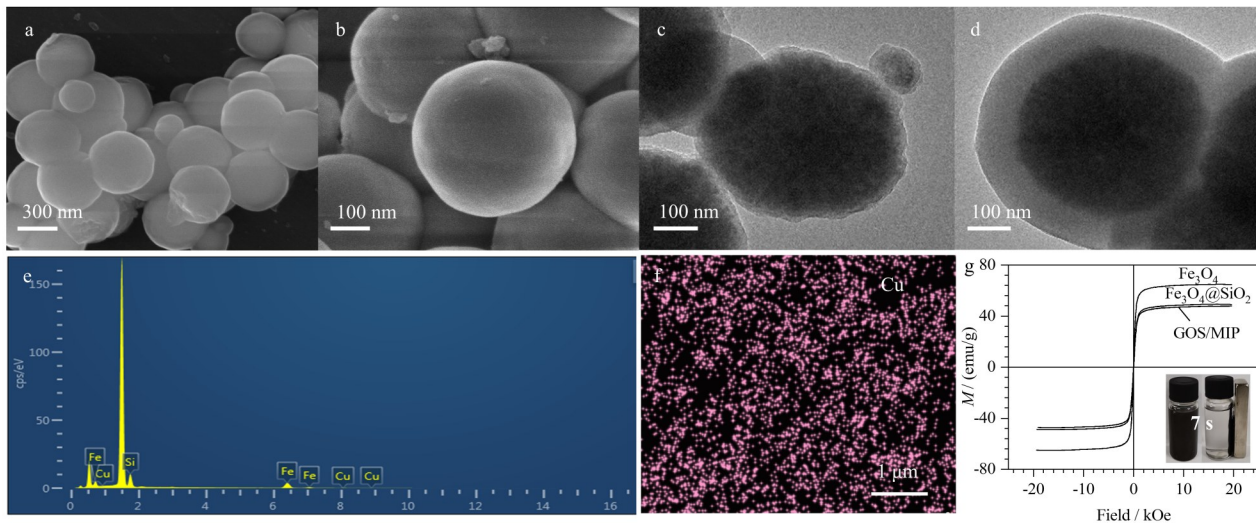
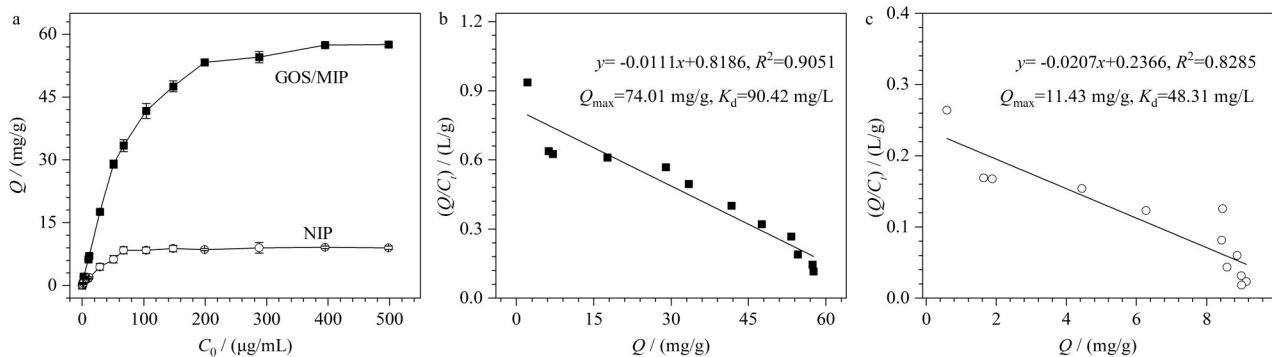


图5 载体、NIP及模板吸附前后GOS/MIP的(a)红外光谱、(b)粒径分布和(c)Zeta电势

Fig. 5 (a) FT-IR spectra, (b) particle size distributions and (c) zeta potentials of carriers, NIP and GOS/MIP before and after template adsorption

PDI: polymer dispersity index; GOS/MIP-GOS: GOS/MIP after adsorption of GOS.

图6 (a, b) GOS/MIP的扫描电镜图; (c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ 和(d) GOS/MIP的透射电镜图; GOS/MIP的(e)能谱分析和(f) Cu元素分布; (g) GOS/MIP及载体的磁滞曲线(插图:磁分离示意图)Fig. 6 (a, b) SEM images of GOS/MIP; TEM images of (c) $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{SiO}_2$ and (d) GOS/MIP; (e) energy dispersive spectroscopy analysis and (f) Cu elemental mapping of GOS/MIP; (g) magnetic hysteresis loops of GOS/MIP and carriers (inset: magnetic separation of GOS/MIP)图7 (a) GOS/MIP和NIP的等温吸附图; (b) GOS/MIP和(c) NIP的Scatchard拟合曲线($n=3$)Fig. 7 (a) Adsorption thermodynamic curves of GOS/MIP and NIP; scatchard curves of (b) GOS/MIP and (c) NIP ($n=3$)

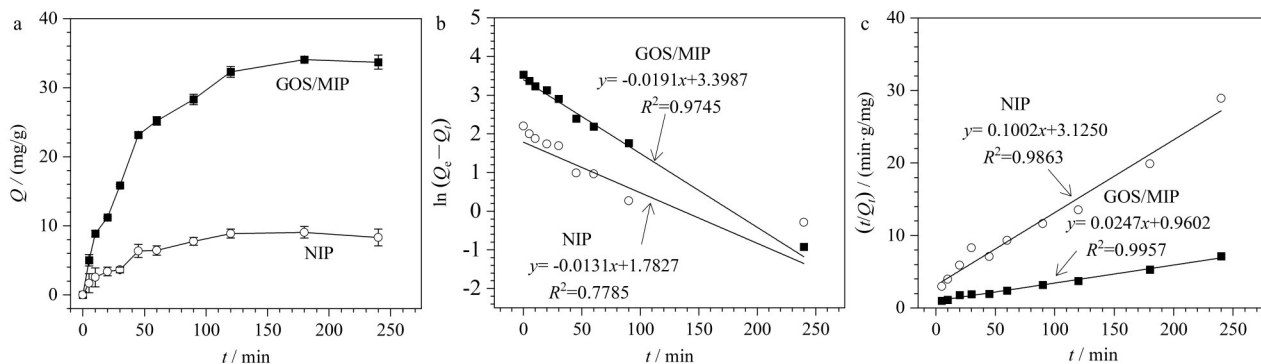


图 8 GOS/MIP 和 NIP 的 (a) 动力学吸附图、(b) 伪一级动力学拟合曲线和 (c) 伪二级动力学拟合曲线 ($n=3$)

Fig. 8 (a) Adsorption kinetic curves, (b) pseudo-first-order kinetic models and (c) pseudo-second-order kinetic models of GOS/MIP and NIP ($n=3$)

其结构类似物 (RUT、DOP、DOX、OTC、NFX、DHND、HNA, 结构式详见图 9) 的溶液中进行选择性吸附特性研究, 两种材料对各化合物的吸附量对比如图 10a 所示。结果显示, GOS/MIP 对模板分子 GOS 的吸附量 (约 35.55 mg/g) 显著高于对其他 7 种化合物的吸附量 (均低于 12.26 mg/g)。表明 GOS/MIP 对 GOS 具有较高的吸附选择性, 与 GOS 分子尺寸及官能团精准匹配的印迹空腔保证了这种特性, 而 NIP 没有表现出任何明显的优先吸附。

为了进一步评价 GOS/MIP 对 GOS 的特异性, 将 GOS/MIP 和 NIP 分散在 GOS、RUT、DOP、DOX、OTC 和 NFX 的混合溶液中进行竞争性吸附实验。从图 10b 可以看出, 经 GOS/MIP 处理后, 溶液中仅 GOS 的浓度明显降低, 洗脱液中仅出现一个与 GOS 对应的色谱峰, 而 NIP 的洗脱液中几乎

观察不到任何色谱峰。上述证据表明, GOS/MIP 对 GOS 有特异性识别和选择性吸附作用, 能从多种化合物的混合溶液中选择性地分离出 GOS, 克服复杂基质的影响。

2.4 pH 适用范围测试

体系的 pH 值会影响吸附效率, 导致吸附效果的不同。从图 11a 中可以看出, 在 pH 2~6 的范围内, GOS/MIP 对 GOS 的吸附量在 pH=6 时达最低值 (27.83 mg/g), 约为其最高值 (35.55 mg/g) 的 80%, 在此范围内能够保持较高效率的原因是 GOS 在这些 pH 条件下较为稳定, 由此形成的配位复合物也比较稳定。而当 pH 值高于 6.0 时, 配位复合物的稳定性被破坏, 导致 GOS 无法被微球有效捕获。而 NIP 对 GOS 的吸附效率没有明显规律。

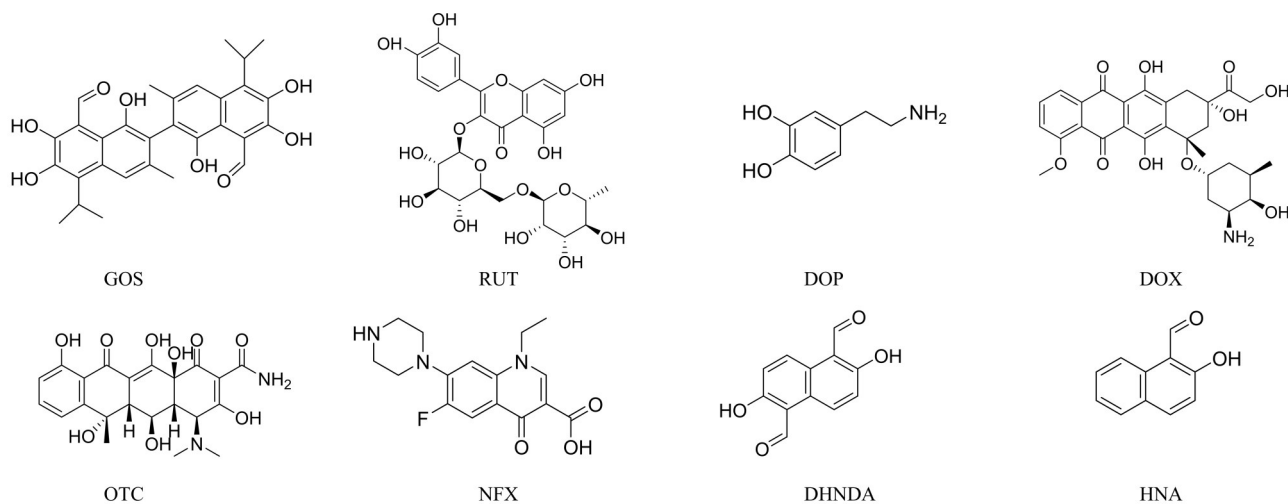


图 9 GOS 和 7 种类似物的结构

Fig. 9 Structures of GOS and seven analogs

RUT: rutin; DOX: doxorubicin; OTC: oxytetracycline; DOP: dopamine; NFX: norfloxacin; DHND: 2,6-dihydroxynaphthalene-1,5-dicarbaldehyde; HNA: 2-hydroxy-1-naphthaldehyde.

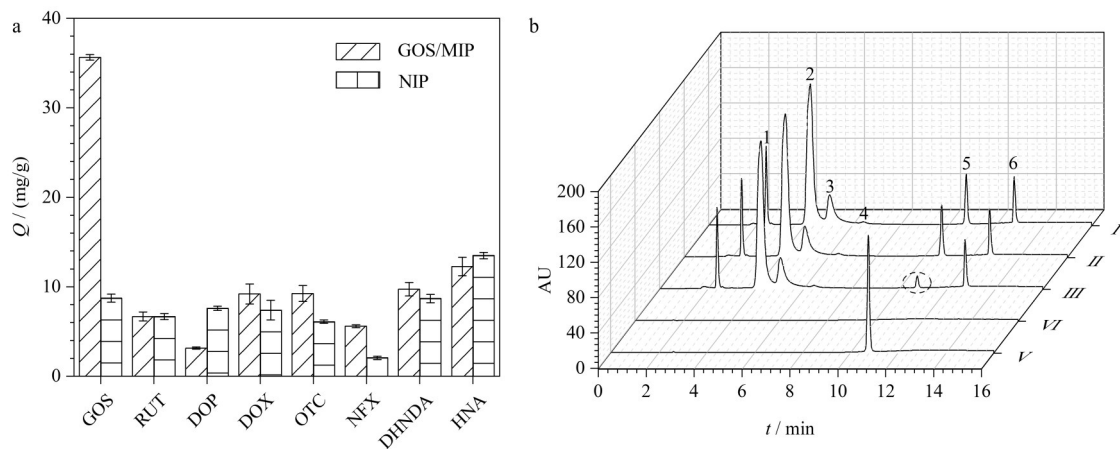


图 10 (a)GOS/MIP 和 NIP 对 GOS 及类似物的吸附容量考察 ($n=3$); (b) 竞争性吸附实验的色谱图

Fig. 10 (a) Adsorption capacity of GOS/MIP and NIP to GOS and analogs ($n=3$); (b) chromatograms of competitive adsorption tests

I : mixed solution; II : supernatant treated with NIP; III : supernatant treated with GOS/MIP; IV : eluent of NIP; V : eluent of GOS/MIP.

Peak identifications: 1. DOP; 2. NFX; 3. OTC; 4. RUT; 5. GOS; 6. DOX.

2.5 重复使用性测试

吸附剂的可重复使用性是实际应用中的关键因素之一。如图 11b 所示,历经 7 次吸附-解吸-再生循环后,GOS/MIP 的吸附容量仍保持在 80% 以上,表明即使反复吸附和洗脱导致部分结合位点被破坏,但再生的 GOS/MIP 仍然保持着良好的特异性识别 GOS 的能力,GOS/MIP 具有良好的可重复使用性。

2.6 真实样本中 GOS 的分离

为了评估 GOS/MIP 的工业化应用潜能,将其用于从棉仁粗提物中分离获取 GOS。首先建立了测定 GOS 的 HPLC 方法,标准曲线为 $y=2.088 \times 10^4 x - 6.158 \times$

$10^4 (R^2=0.999, x: \text{GOS 的质量浓度}, \mu\text{g/mL}, y: \text{峰面积}, \text{mAU} \cdot \text{min})$,线性范围为 $5 \sim 200 \mu\text{g/mL}$,按照 3 倍和 10 倍信噪比 (S/N) 计算检出限 (LOD) 和定量限 (LOQ),分别为 $0.024 \mu\text{g/mL}$ 和 $0.079 \mu\text{g/mL}$ 。为了评估 GOS/MIP 在实际样本中的适用性,将其用于从不同加标水平 ($0.08, 0.24, 0.80 \mu\text{g/mL}$) 的真实样本溶液 (稀释至 GOS 质量浓度可忽略 ($0.0098 \mu\text{g/mL}$),以避免对加标回收的影响) 中回收 GOS。由表 3 可知,GOS/MIP 对加标真实样本溶液中 GOS 的平均回收率为 $95.1\% \sim 98.7\%$,RSD 为 $1.9\% \sim 2.4\%$,说明所建立的 HPLC 方法准确性良好,适用于 GOS 的分析。

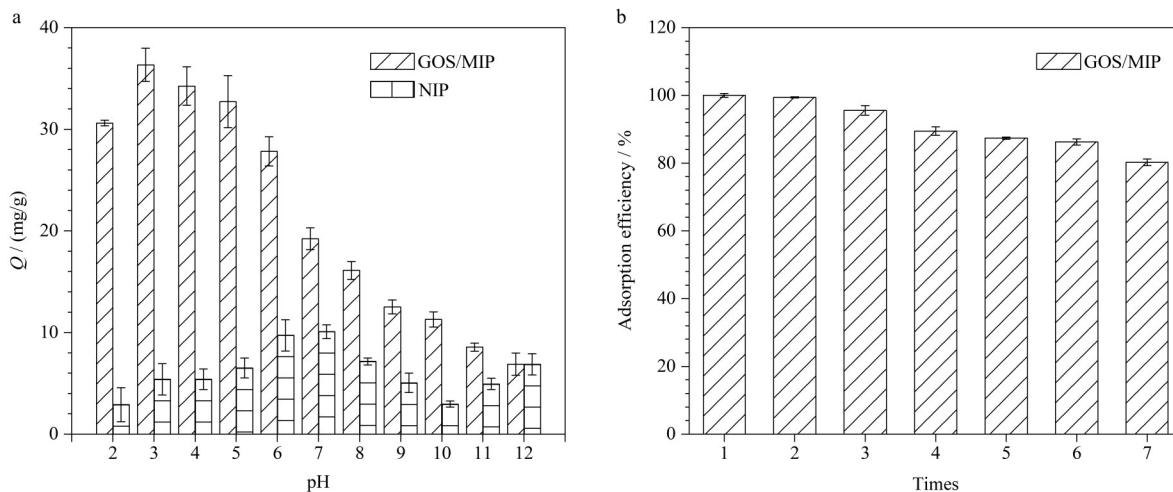


图 11 (a)GOS/MIP 和 NIP 在不同 pH 条件下对 GOS 的吸附效率; (b)GOS/MIP 的重复使用性 ($n=3$)

Fig. 11 (a) Adsorption efficiency of GOS/MIP and NIP to GOS under different pH conditions; (b) reusability of GOS/MIP ($n=3$)

表 3 棉仁的提取复溶溶液中 GOS 在 3 个水平下的加标回收率 ($n=3$)

Table 3 Recoveries of GOS in extracted reconstituted solutions of cotton kernels at three spiked levels ($n=3$)

Spiked/ ($\mu\text{g/mL}$)	Detected/ ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery/%	RSD/%
0.08	0.0854	95.1	2.4
0.24	0.246	98.7	1.9
0.80	0.783	96.7	2.0

根据动力学吸附实验的结果,设置 GOS/MIP 与样本的孵育时间为 120 min,可以满足规模化分离过程对时间的要求。如图 12 所示,GOS/MIP 从棉仁粗提物中分离得到的 GOS 保留时间为 7.48 min,与标准品(7.47 min)一致,样品中的 GOS 被成功回收。通过此方法测得棉仁中 GOS 的含量为 0.50 mg/g。表 4 的结果表明,用 50 mg GOS/MIP 从 10 g 棉仁样品中分离得到 3 mg GOS,回收率为 77.0%~83.3%,纯度高于 90%。上述结果证实了 GOS/MIP 是从棉仁中大规模分离得到高纯度 GOS 的有力工具。

表 4 棉仁样本中 GOS 的分离实验($n=3$)

Table 4 Separation of GOS in cotton kernel samples ($n=3$)

$C_{(\text{GOS})}/$ ($\mu\text{g/mL}$)	Measured/ ($\mu\text{g/mL}$)	Recovery/%	RSD/%	Purity/%
92.1	21.2	77.0	0.08	94.1
97.7	22.9	76.6	2.2	92.1
107.6	18.0	83.3	2.6	91.0

2.7 与其他 MIPs 对比

相较于已报道的 4 种 GOS 的 MIPs(表 5),本文合成的材料通过表面印迹和金属介导作用提高了位点的可及性和分布均匀度,从而显著提高了 IF 值(6.48),虽然 GOS/MIP 的吸附容量不占优势,但是以特异性吸附为主,相较于其他几种 MIP 非特异性吸附最小(体现于 IF 最优),有利于从复杂真实样本中特异性、选择性地识别和分离 GOS。配位键的高稳定性和高选择性略微牺牲传质速率,而更快实现平衡的两种 MIPs 略微牺牲了选择性。在今后的研究和材料设计中,可以适当减小磁核的粒径,增大比表面积,从而增加单位质量材料的有效印迹位点密度,提高吸附容量,同时,这也可使目标分子和印迹位点的接触更容易,从而加快传质速率、缩短平衡时间;此外,可以协同一些弱相互作用(如氢键),弥补单一强作用力的不足,以缩短平衡时间。

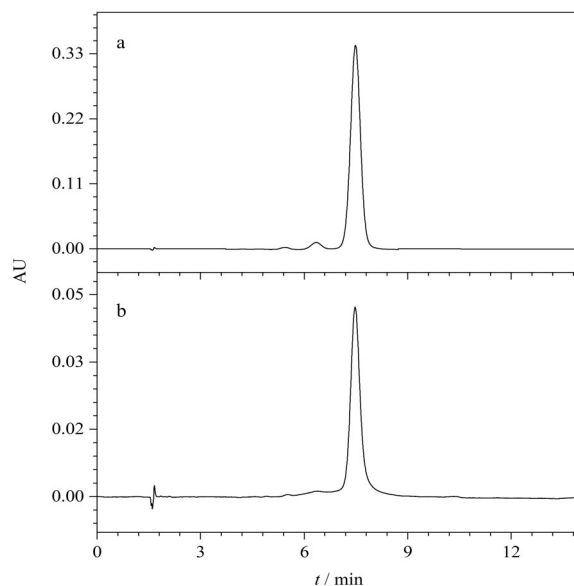


图 12 (a)GOS/MIP 从棉仁样本中分离得到的 GOS 及(b)GOS 标准品的色谱图

Fig. 12 Chromatograms of (a) GOS separated from cotton kernel samples using GOS/MIP and (b) standard GOS

表 5 与其他关于 GOS 的 MIPs 报道的比较

Table 5 Comparison with other reported MIPs towards GOS

Material	$Q_{\text{max}}/$ (mg/g)	Time/h	IF	Sample	Ref.
MIP-PMAA/SiO ₂	-	0.33	3.85	standard GOS	[23]
MIPs	632	12	1.3	-	[25]
MIPs	204	0.17	2.2	-	[24]
MIPs	120	0.67	2.86	-	[26]
GOS/MIP	71.32	2	6.48	cotton kernels	this work

IF: imprinting factor.

3 结论

本文通过表面印迹技术开发了一种铜介导的核壳结构磁性 MIP(GOS/MIP),用于特异性识别和选择性分离 GOS。Cu(II)的介导有助于构建定向均匀的活性位点,同时,其引入的配位作用也有利于提高材料的识别能力和吸附性能。此外,基于配位键的可逆形成特性,该材料易于实现高效再生,使 GOS 快速进出空腔。通过模拟工业化生产过程,GOS/MIP 可从植物样本中快速、高通量分离得到高纯度的 GOS,为其规模化分离提供新的解决方案。

参考文献:

- [1] Wu M, Pei W, Wedegaertner T, et al. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 864850
- [2] Qiu R F, Huang Z P, Wang L L. *Chinese Journal of Chromatography*, 2018, 36(9): 925
邱若风, 黄忠平, 王丽丽. 色谱, 2018, 36(9): 925
- [3] Qian S, Wang Z. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1984, 24(1): 329
- [4] Yu J, Yang H, Wang J, et al. *Poult Sci*, 2024, 103(9): 104025
- [5] Zhang W-J, Xu Z-R, Zhao S-H, et al. *Anim Feed Sci Technol*, 2007, 135(1/2): 176
- [6] Singh S, Sharma S K, Kansal S K. *Arab J Sci Eng*, 2020, 45(9): 7539
- [7] Wang Y, Cao J, Wang G, et al. *Food Chem*, 2023, 418: 135905
- [8] Ochoa G S, Synovec R E. *Talanta*, 2023, 259: 124525
- [9] Pyles M B, Brock K, Schendel R R, et al. *Front Nutr*, 2023, 10: 1066463
- [10] Xu H, Sun L, Du Y, et al. *Polymers*, 2024, 16(22): 3124
- [11] Xie B X, Lyu Y, Liu Z. *Chinese Journal of Chromatography*, 2024, 42(6): 508
谢宝轩, 吕洋, 刘震. 色谱, 2024, 42(6): 508
- [12] Zuo J, Ma P, Li Z, et al. *Macromol Mater Eng*, 2023, 308(3): 2200499
- [13] Leibl N, Haupt K, Gonzato C, et al. *Chemosensors*, 2021, 9(6): 123
- [14] Pan Y F, Zhang F, Gao W, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2022, 40(11): 979
潘怡帆, 张锋, 高薇, 等. 色谱, 2022, 40(11): 979
- [15] Whitcombe M, Rodriguez M, Villar P, et al. *J Am Chem Soc*, 1995, 117(27): 7105
- [16] Yu X, Liao J, Zeng H, et al. *Polymer*, 2022, 257: 125253
- [17] He K, Chen Q, Chen X, et al. *J Sep Sci*, 2024, 47(14): 2400003
- [18] Li F, Li X, Su J, et al. *Talanta*, 2021, 231: 122339
- [19] Gong H, Li S, Cheng Y, et al. *Sep Purif Technol*, 2025, 354: 128911
- [20] Zhang Y M, Guo L H, Li Y J, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2021, 39(10): 1137
张悦美, 郭丽华, 李一峻, 等. 色谱, 2021, 39(10): 1137
- [21] Li F, Wu H C, Li Y J, et al. *Chinese Journal of Chromatography*, 2020, 38(1): 2
李菲, 吴昊宸, 李一峻, 等. 色谱, 2020, 38(1): 2
- [22] Hao Y, Yang M, Li N, et al. *Food Chem*, 2024, 461: 140857
- [23] Zhao C, Wu D. *Sens Actuators B Chem*, 2013, 181: 104
- [24] Zhi K, Wang L, Zhang Y, et al. *Materials*, 2018, 11(5): 777
- [25] Zhi K, Wang L, Zhang Y, et al. *J Mol Recognit*, 2018, 31(3): e2627
- [26] Wang L, Zhi K, Zhang Y, et al. *Polymers*, 2019, 11(4): 602
- [27] Nicholls I A, Golker K, Olsson G D, et al. *Polymers*, 2021, 13(17): 2841