

分子印迹技术的研究的新进展及应用

王荣艳^{1,2} 王培龙² 王静^{2*} 王锡昌^{1*} 钟耀广¹

(¹上海水产大学食品学院 上海 200090)

(²中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所 北京 100081)

摘要 分子印迹技术是近年来发展起来的一种新的分子识别技术,通过分子印迹技术获得的分子印迹聚合物具有选择性高、稳定性好及制备简单的特点。分子印迹聚合物作为固相萃取、色谱分离和传感器的功能材料广泛应用于生物、医药、环境样品等复杂基体中痕量分析物的分析。本文详细介绍了分子印迹技术的研究进展,阐述了分子印迹聚合物及其在氯霉素分析中的应用。

关键词 分子印迹技术;氯霉素;分子印迹聚合物;固相萃取;色谱分离;传感器

中图分类号 O658, TB34

New Progress and Application of Molecular Imprinting Technique

Wang Rongyan^{1,2}, Wang Peilong², Wang Jing^{2*}, Wang Xichang^{1*}, Zhong Yaoguang¹

(¹ College of Food Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

(² Institute of Quality Standards and Testing Technology for Agro-Products, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081, China)

Abstract Molecularly imprinting technique, an emerging technique for preparing synthetic polymer with molecular recognition, is developing rapidly in recent years. The polymers which are made using MIT can be applied into highly selective separation and enrichment of trace analysis in complicated biological materials, pharmacy and environmental samples as the functional material of solid-phase extraction and chromatographic fractionating and sensor, because of its characteristics of high selectivity, chemical stability and easy preparation. This review introduces the progress of molecular imprinting technique and summarizes its application in chloramphenicol analysis.

Key words molecularly imprinting technique; chloramphenicol; molecularly imprinted polymers; solid-phase extraction; chromatographic fractionating; sensor

1 引言

分子印迹技术(Molecularly Imprinting Technique, MIT)是制备空间结构和结合位点与模板分子完全匹配的聚合物的实验技术。1940年Pauling^[1]就提出了可利用抗原作为模板来制备抗体的空间结合位点理论。20世纪80年代初,研究人员利用天然化合物或合成化合物模拟生物体系进行分子识别研究,在一定意义上构成了MIT的雏形^[2]。在MIT发展的初期,德国Heinrich Heine大学的G. Wulff教授^[3-4]采用共价结合方式制备分子印迹聚合物(Molecularly Imprinted Polymers, MIPs),但由于可供选择的材料十分有限,故在20世纪90年代以前研究进展缓慢。20世纪90年代以后,瑞典Lund大学的K. Mosbach^[5-7]在非共价MIT方面做了许多开创性工作,并于1997年成

立了国际性的分子印迹学会(Society for Molecular Imprinting, SMI),极大的促进了MIT及其理论的发展。这种基于分子印迹的分子识别新型材料在手性分离、环境分析和催化科学等领域中的潜在应用价值引起了许多学者的关注,成为国内外研究的热点。

目前,国内外对MIT的研究正方兴未艾,研究及应用文献较多^[8]。本文重点介绍MIT在固相萃取、色谱分离及传感器等方面的研究进展以及MIP在氯霉素分析领域的研究、应用及前景。

2 分子印迹技术的原理

分子印迹技术是指为获得在空间结构和结合位点上与某一分子(印迹分子)完全匹配的聚合物的实验制备技术。通过分子印迹技术合成具有分子识别

收稿日期:2007-11-08

基金资助:“十一五”国家科技支撑计划资助项目。

作者简介:王荣艳(1982-),女,汉族,河北省人,硕士研究生,食品科学专业,研究方向为食品营养与卫生。

*通讯联系人:王静教授 E-mail: w_jing2001@126.com; 王锡昌教授 E-mail: xcwang@shfu.edu.cn。

现代科学仪器 2008 1

11

功能的聚合物称为分子印迹聚合物(MIPs)。MIPs 是一种具有较强分子识别能力的新型高分子仿生材料,具有类抗体的特异性、高选择性、高强度等优点,另外还具有制备简单,模板分子可回收重复利用等天然抗体不具备的特点。

MIPs 的制备是将模板分子与功能单体、交联剂和引发剂等特定的分散体系中进行共聚合,制得高交联刚性聚合物。然后通过物理或化学的方法除去

MIPs 中的模板分子,得到具有确定空间构型的空穴和功能基在空穴内精确排布的聚合物^[9],其过程如图 1 所示。因此,MIPs 具有从复杂样品中选择性提取目标分子或与其结构相近的某一类化合物的能力,适合作为固相萃取填料、固相微萃取涂层以及分子印迹薄膜来分离富集复杂样品中的痕量分析物,克服样品体系复杂、预处理繁琐等不利因素,达到样品分离纯化的目的^[10]。

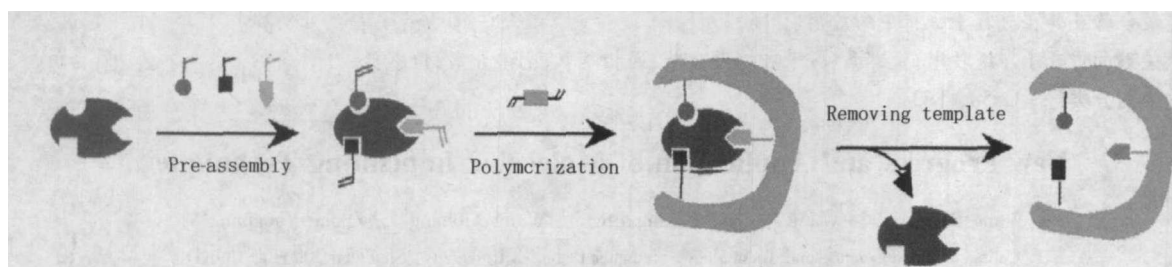


图 1 分子印迹过程

目前,分子印迹过程机理还缺乏定量和系统的研究,从本质上讲分子印迹聚合物(MIPs)对分子的识别源于它与模板分子之间在化学基团以及三维空间结构上的相互匹配,即 MIPs 的选择性与模板分子和功能单体之间相互作用的数量与强度以及模板分子的形态与刚性有关,一些研究者认为 MIPs 复合物的形成过程以及 MIPs 与印迹分子之间识别过程均受热力学定律制约相应的自由能变化可通过下式计算:

$$\Delta G_{\text{bind}} = G_{\text{t+r}} + \Delta G_{\text{r}} + \Delta G_{\text{h}} + \Delta G_{\text{vib}} + \sum \Delta G_{\text{p}} + \Delta G_{\text{conf}} + \Delta G_{\text{vdw}}$$

式中 ΔG_{bind} 是形成复合物时 G_{ibbe} 自由能的变化; $\Delta G_{\text{t+r}}$ 是分子转动引起的自由能减少; ΔG_{r} 是分子内旋受限引起的自由能减少; ΔG_{h} 是疏水作用引起的自由能增加; ΔG_{vib} 是基团振动引起的自由能变化; ΔG_{p} 是极性基团相互作用对自由能的贡献; ΔG_{conf} 是由构型变化引起的自由能变化; ΔG_{vdw} 是由非范德华力引起的自由能减少。由上式可以分析影响 MIPs 形成和识别过程的因素并进而改善 MIPs 的设计与制备。

3 分子印迹技术(MIT)的应用

3.1 MIT 在固相萃取中的应用

传统固相萃取(Solid-Phase Extraction, SPE)的目标物与吸附剂之间的作用力是非特异性的,通常需对萃取和洗脱条件进行仔细选择,而且对不同分析物与基质的分离需要选择不同的柱填料,从而限制了 SPE 的进一步发展。为了提高柱效与重现性、扩大其

应用领域,新型高选择性识别能力填料基质的开发研制是非常重要的,MIPs 独特的选择性和亲和力适应了这一发展要求。由于模板选择的多样性,使得 MIPs 能广泛应用于物质的分离与分析过程,它对于目标物质的高度选择性也是普通 SPE 所不能比拟的^[11-12]。

自 1994 年 Sellaergren^[13]首次报道了在 SPE 中使用 MIPs 材料以来,MIPs 在 SPE 中被广泛研究和应用。1995 年 Maria 和 Kempe 等^[14]又将 MIT 用于蛋白质的分离纯化。Masque 等^[15]以 4-硝基酚为模板制备 MIP,并将 MIP-SPE 与 HPLC 在线联用,选择性地将 4-硝基酚与样品中基质分离,与传统的萃取材料相比,MIP-SPE 对环境中微量污染物质的选择性较高^[10]。Kempe^[16]等人用非共价键分子 L-mandelic acid 作为模板分子进行分子印迹固定相的手性拆分。Zander 等^[17]比较了不同固相萃取材料对尼古丁及其氧化产物的分离富集能力,其中 MIPs 对底物具有高的富集能力和重现性;而使用无 MIPs 和 C_{18} 作萃取剂,回收率低且重现性不好。Andersson^[18]在使用 MIP-SPE 分离富集血浆中布比卡因时,以传统的液液萃取法及 C_{18} -SPE 法为对照,发现使用 MIPs 后,SPE 的选择性和富集效率大为提高。最近,国外已有文献报道应用 MIP-SPE 结合 LC/MS 测定动物肌肉组织和牛尿中克伦特罗和莱克多巴胺等多种 β -兴奋剂^[19-20]。Mullett 等^[4]以心得安为模板分子的分子印迹 SPME 装置与自动进样器串联起来,用 LC 分析结果良好。Ester 等^[21]制备非共价奈普生 MIP,将其

作为 SPE 的填料用于人体尿液样品中萘普生腹肌和分离,并用 HPLC 检测,试验重复性良好。Legido - Quigley 等^[22]以 2,4 - 二氯苯氧基乙酸(2,4 - D)为模板在富含水的有机溶剂中制备 2,4 - D - MIP,用色谱法来描述此聚合物,此研究为在富含水的环境中聚合物的色谱分析提供了最前沿的信息。

近年来,国内期刊也有相关的文献报道。周杰等^[23]制备甲氧苄氨嘧啶(TMP)为模板的 TMP - MIP - SPE,方法简便可靠,用于尿样中低浓度的 TMP 的测定,回收率达到 91.7%。刘勤等^[24]用自制 MIP - SPE 来分离净化大米中的神经性毒剂降解产物,并用毛细管电泳法进行检测,方法简便,提高了分析的准确性和灵敏度,使检出限达到 0.05 $\mu\text{g/g}$ 。杨春艳等^[25]用与盐酸金霉素结构相似的四环素作为虚拟模板合成了对盐酸金霉素有特异吸附的 MIP,并将其填充到聚四氟乙烯管中作为 SPE 柱,连接在八通阀上对盐酸金霉素进行萃取和预富集,对鸡肝脏中盐酸金霉素含量测定结果令人满意。邴乃慈^[26]等制备左氧氟沙星分子印迹膜,并应用于 SPE 选择性分离外消旋体(OFLX),该方法为分子印迹膜萃取技术用于手性药物拆分提供了理论和实验方法。

3.2 MIT 在色谱分离中的应用

分子印迹在色谱分离技术中主要是用 MIPs 作为色谱分离的固定相,以建立 SPE、HPLC 或毛细管电泳分析法进行手性物质的分离,也可以用于样品的预处理。在这些应用中,分子印迹聚合物的作用类似于免疫色谱中的免疫吸附剂。Sellergren 等^[27]于 1994 年首次报道了以戊脒为模板制备的印迹聚合物用于试样的预处理,该聚合物作为吸附剂完成了对生物液体试样尿中戊脒的提取、纯化和浓缩。Hosoya^[28]等人用高效液相色谱印迹柱分离了胺类物质 N - (3,5 - dimitrobenzoyl) - methylbenzy - lamin。欧俊杰等^[29]在常规不锈钢色谱管中以甲基丙烯酸为功能单体,采用原位聚合法制备了(5S,11S) - 特罗格尔碱(S - TB)的印迹整体柱。另外,将 MIPs 用作毛细管电泳(CEC)的固定相可以克服 MIPs - HPLC 柱效低的缺点,已成为高效高选择性的分离手段,这也是 MIPs 发展中的重要进展。Tan 等以碱性单体 2 - 二甲氨基甲基丙烯酸酯(DAMA)为功能单体,在毛细管中采用原位聚合法制备了毛细管分子印迹整体柱,用于在毛细管电泳(CEC)中对消旋体 1,1' - 联 - 2 - 萘酚(BNL)进行手性分离。结果表明,以 DAMA 为功能单体可以制备其他酸性模板的 MIPs,从而扩大了现代科学仪器 2008 1

MIP 在 CEC 分离中的应用范围。

3.3 MIT 在传感器中的应用

传感器由识别元件和信号转换器组成,通常 MIPs 被制成膜或是可填柱的多孔珠,作为传感器设备的识别元件被固定在传感器与待测物的界面。当 MIPs 与模板分子结合时,产生一个物理或化学信号,转换器将此信号转换成一个可定量的输出信号,通过监测输出信号实现对待测分子的实时测定。

1997 年 Levi 等^[30]报道了采用 MIP 传感器测定血浆中氯霉素,药物浓度的线性范围在 10 ~ 20 $\mu\text{g/mL}$ 之间。Peng 等^[31]报道了测定镇静安眠剂苯巴比妥的仿生传感器,线性范围在 $9 \times 10^{-8} \sim 50 \times 10^{-5} \text{M}$ 之间,检测限为 $5 \times 10^{-8} \text{M}$ 。Andrea 等^[32]利用 MIP 对电极的固体结合机制进行改性,采用差示脉冲伏安法检测猪肝中的盐酸克仑特罗。Percival 等^[33]将 MIP 材料涂布在电极上,研制出声波传感器,用于筛选激素类兽药诺龙。Chun - Yueh Huang 等^[34]制备胆红素电化学传感器,其灵敏性为 $1.344 \pm 0.38 \mu\text{A/mg}$ 。至今国外已有 30 项有关分子印迹传感器的专利声明。

国内,马杰^[35]报道了将克仑特罗 MIP 颗粒填充在化学发光流通池中,采用甲醛/高锰酸钾发光体系与 MIP 吸附的克仑特罗反应,通过化学发光法建立了测定克仑特罗分子印迹流动注射化学发光分析法。周候江等^[36]利用 MIP 识别元件通过化学发光传感器检测尿样中沙丁胺醇,检测限为 0.016 $\mu\text{g/L}$ 。目前,国内唯一关于分子印迹传感器应用的相关专利是关于有机磷农药仿生识别检测试剂盒的制备^[37]。

但是,目前对于 MIT 的研究与应用还处在探索阶段,从理论到方法都缺乏系统、深入的研究,并且远未达到预期的应用和影响。MIPs 的选择性吸附、制备简单、性质稳定和可重复利用等优点已获得公认,在设计药物残留的选择性净化和检测方法方面取得一定进展,如 MIP - SPE、分子印迹色谱技术(MIC)、生物传感器等,但最突出的优势目前仍表现在与分离相关的技术方面^[38]。

3.4 MIP 应用于氯霉素残留的分析

氯霉素(Chloramphenicol, CAP)是一种杀菌力极强的广谱抗生素,由于其优良的抗菌性、稳定的药性、低廉的价格,而广泛作为饲料添加剂,用于治疗细菌性疾病。但研究发现 CAP 对骨髓和新生儿有较大的毒性,易引起人体血中毒,导致不可逆的再生障碍性贫血等严重的毒副作用,对人类的健康构成巨大的潜在威胁。因此,欧盟、美国均在法规中规定 CAP 的残

留限量标准为“零容许量”^[39]。我国农业部也明文规定 CAP 及其盐、脂等在所有动物的可食组织中不得检出。

目前, CAP 的检测方法主要有微生物法、免疫分析法、色谱法、色质联用法、超临界流体色谱法^[40]、免疫荧光毛细管电泳法^[41]等等。但这些方法都有其不可避免的缺点。更为重要的是由于 CAP 类抗生素的残留浓度低, 样品前处理繁琐, 且样品基体成分复杂, 限制了常规快速检测方法以及大型仪器方法对样品中 CAP 残留的有效检测。所以, 发展新型的样品前处理技术, 对提高样品中药物残留检测灵敏度和准确性十分重要。近年来, 许多研究人员将 MIT 应用到 CAP 的分析中, 并且取得了一定的效果。目前, 瑞典已经有 CAP - MIP - SPE 的成熟产品。而我国在分子印迹领域的研究尚处于起步阶段, 还没有 MIT 的检测方法和标准, 这些技术和标准的缺少将可能使我国在快速检测能力上与国外的差距加大。

在氯霉素分子印迹聚合物的制备中由于 CAP 在通常选用的甲苯和氯仿等弱极性溶剂中溶解度很低, 一般选择极性较强的四氢呋喃为溶剂^[39, 42]。功能单体的选择是聚合物合成的一个关键步骤之一^[43]。颜流水等^[38]考虑到所选溶剂为极性溶剂以及 CAP 结构中易形成氢键的活性位点有两个醇羟基和一个酰胺基, 故而选择甲基丙烯酸胺为功能单体。因为在极性溶剂中酰胺比羧酸能形成更强的氢键, 并且制备的丙烯酸胺基体的 MIPs 比甲基丙烯酸基体的 MIPs 具有更高的选择结合特性。Scott McNiven 等^[44]比较了甲基丙烯酸二乙氨基乙酯 (DEAEM)、丙烯胺、甲基丙烯酸对 CAP 的聚合效果, 发现甲基丙烯酸并不是对任何模板分子都有效。结果证明 DEAEM 是最有效的, 因为其有一个单独的氢键受体并且其三位上的胺应该是强于丙烯胺的基体。在 CAP - MIPs 的制备中交联剂一般都选用乙二醇二甲基丙烯酸酯 (EGDMA), 引发剂为偶氮二乙丁腈 (AIBN)。

传统的 CAP - MIP 制备方法一般用本体聚合法, 例如颜流水^[38]、Christina Schirmer^[45]、Mena^[46]等采用本体聚合的方法来制备 CAP - MIPs 的无定形微粒, 不同的是颜流水等人将热聚合和光聚合进行比较, 结果得出采用紫外光照引发聚合的粗的聚合物的特异性较好。这种制备方法虽然简单, 但是其后处理过程过于冗长和繁琐 (要经过研磨、筛分、漂洗), 加之得到的颗粒不规则, 严重影响了聚合物对模板分子的特异性选择。Xizhi Shi 等^[42]采用悬浮聚合法来制备 CAP

- MIP 微球, 此法经过简单的一步聚合即可获得所需的整体印迹聚合物, 且对模板分子具有一定的识别能力。宋巍巍等^[46]用电化学聚合方法来制备 CAP 分子印迹膜, 该膜响应快速、灵敏度高、选择性好具有良好的再生性能。CAP - MIPs 性质的表征到目前还没有一个统一的理论描述, 主要是因为其应用范围的不同。目前, 表征主要有以下几种方法: 通过测定 MIPs 的结合量来对其的选择性和特异性进行表征, 通过微分脉冲伏安法对 CAP 的分子印迹膜进行表征; 通过用扫描电镜的方法来对 MIPs 的结构和表面形貌进行表征。

在已报到的文献中, CAP - MIPs 用作 SPE 的填料制成 CAP - MIP - SPE 较常见^[42, 47, 49], 用来对不同的样品中的 CAP 进行分离、富集, 并且回收率都在 94% 以上。Scott 等^[44]用原位聚合法制成液相色谱柱, 可以用到高效液相色谱仪中来检测样品中的 CAP。宋巍巍等^[48]研制的 CAP 的纳米膜为检测 CAP 的传感器的制备创造了良好的条件。

4 展 望

MIPs 对印迹分子的分析具有高稳定性和强选择性, 且关于 MIT 的研究已经有不少, 但这并不代表 MIT 已经相当深入。

首先, MIPs 结合位点的作用机理、传质机理还不够清楚, 更好的理解分子识别过程仍需要开展大量工作; 其次, 由于目前大多 MIPs 的制备是在有机溶液中进行的, 其识别为点与印迹分子间的分子间作用力以氢键为主。而很多样品是在水相体系下, 当 MIPs 用于此类样品的前处理时, 其识别过程会受到水等强极性溶剂干扰, 在水溶液中进行分子印迹和识别仍然是一个问题; 第三, 在分子印迹固相萃取中, 模板分子渗漏是急需解决的问题^[50-51], 要通过设计选择模板分子, 优化功能单体和模板分子, 进一步消除模板分子渗漏引起的干扰。CAP - MIPs 可用于固相微萃取 (SPME), 因为 SPME 最大特点是能在萃取的同时对分析物进行浓缩, 既继承了 SPE 的优点, 又有效克服了在采用 SPE 技术时出现操作繁琐、空白值高、易堵塞吸附柱等缺陷^[51], 并经此 MIP - SPME 与 HPLC、GC、HPLC - MS、GC - MS 等技术联用, 从而实现集样品前处理技术和高灵敏度的快速检测为一体的一步法技术; 第四, 将 MIPs 应用于 CEC 中, MIPs 的高选择性与 CEC 的高分离效率相结合。两种技术的优缺点

互补,具有极大的发展前景。特别是 CEC 的微柱形式可以降低印迹分子等的化学物质消耗。因为在预聚合混合物中印迹分子的浓度很高,而一般情况下可得到的印迹分子的量很少,所以 MIP 微柱的大规模生产比起传统的 LC 柱要容易得多;最后,生物模拟传感器和催化领域的发展还很不成熟,现在越来越多的研究者和资金进入了该领域。在化学传感器方面,利用和开发膜技术制备分子印迹聚合物是这方面研究的发展方向。

随着合成手段、现代分析检测手段、电子技术等迅猛发展,分子印迹聚合物的制备、表征和理论体系将日益完善,固相萃取、仿生传感器将更广的步入商业化阶段。分子印迹技术所取得的成果将在不久发挥其重要作用,并且应用范围也将会更加的广泛。

参考文献

- [1] Pauling L J. A Theory of the Structure and Process of Formation of Antibodies [J]. Am Chem Soc, 1940, 62(3): 2643-2657
- [2] VIATAKIS G, ANDERSSON L J MULLERR, et al. Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting [J]. Nature, 1993, 361: 645-647
- [3] Wulff G., Sarhan A, Zabrocki. Enzyme-analogue Built Polymers and Their Use for the Resolution of Race mares [J]. Tetrahedron Lett, 1973, 44: 4329-4332
- [4] Wulff G., D. Oberkobusch and M. Minarik Enzyme-analogue Built Polymers, Chiral Cavities in Polymer Layers Coated on Wide-Pore Silica. React. Polym., 1985, 3: 261-275
- [5] Mayes A G, Mosbach K.. Molecularly imprinted polymer beads: suspension polymerization using a liquid perfluorocarbon as the dispersing phase [J]. Anal. Chem., 1996, 68: 3769-3774
- [6] Kempe M, Mosbach K.. Direct resolution of naproxen on a non-covalently molecularly imprinted chiral phase [J]. Chromatogr. A, 1994, 664(2): 276-279
- [7] Leonhardt A. Mosbach K. Enzyme-mimicking polymers Exhibiting Specific Substrate Binding and Catalytic Functions [J]. React Polym, 1987, 6(3): 285-291
- [8] 刘志航, 浣石, 蒋国平. 分子印迹聚合物应用研究进展. 科技导报, 2006, 24(1): 51-54
- [9] Wulff G., Molecular imprinting in cross-linked materials with the aid of molecular templates a way towards artificial antibodies [J], Angew Chem. Int. Ed. End., 1995, 34: 1812-1832
- [10] 胡小刚, 李攻科. 分子印迹技术在样品前处理中的应用. 分析化学评述与进展, 2006, 7: 1035-1041
- [11] RAYNIE D E. Modern extraction techniques [J]. Anal. Chem., 2006, 78(12): 3997-4004
- [12] POOLE C F. New trends in solid-phase, extraction [J]. Trends Anal. Chem., 2008, 27(1): 1-10
- [13] Sellergren B.. Direct Drug Determination by Selective Sample Enrichment on an Imprinted Polymer [J]. Anal. Chem., 1994, 66: 1578-1582
- [14] Marria Kempe, Klaus Mosbach Separation of Amino Acids, Peptides and Proteins on Molecularly Imprinted Stationary Phases [J]. J Chromatography, 1995, 691(2): 317-323
- [15] Ester Caro, N ria Masqu, Rosa M. Marc, Francesc Borrull, Peter A. G. Cormack and David C. Sherrington. Non-covalent and semi-covalent molecularly imprinted polymers for selective on-line solid-phase extraction of 4-nitrophenol from water samples. Journal of Chromatography A, 2002, 963(1-2): 169-178
- [16] Kempe M, Fischer L, Mosbach K. Chiral separation using molecularly imprinted heteroaromatic polymers [J]. J. Mol. Recognit., 1993, 6(1): 25-29
- [17] Zander A., Findlay P., Renner T., Sellergren B., Swietlow A.. Analysis of nicotine and its oxidation products in nicotine chewing gum by a molecularly imprinted solid phase extraction [J]. Anal. Chem., 1998, 70(15): 3304-3314
- [18] Andersson L. I.. Efficient sample pre-concentration of bupivacaine from human plasma by solid-phase extraction on molecularly imprinted polymers. Analyst, 2000, 125(9): 1515-1517
- [19] Christine W., Fredrik L., Maurizio F., Cinzia C., Sabrina M. and Gianfranco B.. Evaluation of MISPE for the multi-residue extraction of β -agonists from calves urine. Chromatography B, 2004, 804: 85-91
- [20] P. R. Koestra, C. J. P. F. Kuijpers K. L. Wubs, D. van Doorn, S. S. Sterk, L. A. van Ginkel, R. W. Stephany. The analysis of β -agonists in bovine muscle using molecularly imprinted polymers with ion trap LC/MS screening. Analytica Chimica Acta., 2005, 529: 75-81
- [21] Ester Caro, Rosa M. Marc e, Peter A. G. Cormack, David C. Sherrington, Francesc Borrull. A new molecularly imprinted polymer for the selective extraction of naproxen from urine samples by solid-phase extraction. Journal of Chromatography B, 2004, 813: 137-143
- [22] C. Legido-Quigley, J. Oxelbark, E. De Lorenzi, A. Zurutuza-Elorza, P. A. G. Cormack. Chromatographic characterisation, under highly aqueous conditions, of a molecularly imprinted polymer binding the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. Analytica Chimica Acta, 2007, 591: 22-28
- [23] Zhou J (周杰), Han H Y (韩红岩), He X W (何锡文), Shi H M (史慧明). Selective Enrichment and Direct Determination of Trace Drug by Solid-phase Extraction. Chinese J. Anal. Chem. (分析化学), 1999, 27(1): 5-9
- [24] Liu Q (刘勤), Zhou Y X (周永新), Meng Z H (孟子晖), Wang Q Q (王清清). Determination of Nerve Agent Degradation Products in Rice by Molecule Imprinting Polymer-Solid Phase Extraction and Capillary Electrophoresis. 分析化学 (Chinese J. Anal. Chem.), 2001, 29(4): 387-390
- [25] 杨春艳, 熊艳, 何超, 章竹君. 分子印迹固相萃取-化学发光测定盐酸金霉素. 应用化学, 2007, 24(3): 273-277
- [26] 郝乃慈, 许振良, 王学军, 杨座国. 左氧氟沙星分子印迹膜固相萃取. 分析化学, 2008, 36(1): 1-5

- 取选择性分离氧氟沙星. 华东理工大学学报(自然科学版), 2007, 33(2): 163-167
- [27] Sellergren B, Shea KJ. Enantioselective ester hydrolysis catalyzed by imprinted polymers [J]. *Tetrahedron Asymmetry*, 1994, 5(8): 1403-1406.
- [28] Hosoya K, Yoshizako K, Shirasu Y, et al. Molecular imprinted uniform-size polymer based stationary phase for high performance liquid chromatography [J]. *J. Chromatogr. A*, 1996, 728: 139-147
- [29] 欧俊杰, 董靖, 吴明火, 孔亮, 邹汉法. 分子印迹整体柱在高效液相色谱和电色谱手性分离中的应用. 色谱(Chinese Journal of Chromatography), 2007, 25(2): 129-134
- [30] Levi R, McNiven S, Piletsky S A, et al. Optical Detection of Chloramphenicol Using Molecularly Imprinted Polymers [J]. *Anal Chem*, 1997, 69(11): 2017-2021
- [31] Peng H, He D, Nie L H, et al. Non-aqueous Assay System for Phenobarbital Using Biomimetic Bulk Acoustic Wave Sensor Based on a Molecularly Imprinted Polymer [J]. *Analytical Letters*, 2000, 33(5): 793-808
- [32] Andrea P, Miroslav S, Silvia S, et al. A Solid Binding Matrix/molecularly Imprinted Polymer-based Sensor System for the Determination of Clenbuterol in Bovine Liver Using Differential-pulse Voltammetry [J]. *Sensors and Actuators B*, 2001, 76(1-3): 286-294
- [33] Percival C J, Braithwaite A, Newton M I, et al. Molecular Imprinted Polymer Coated QCM for the Detection of Nandrolone. [J]. *The Analyst*, 2002, 127(8): 1024-1026
- [34] Chun-Yueh Huang, Mei-Jywan Syu, Yong-Shuen Chang, Chih-Hung Chang, Tse-Chuan Choub, Bin-Da Liu. A portable potentiostat for the bilirubin-specific sensor prepared from molecular imprinting. *Biosensors and Bioelectronics* 2007, 22: 1694-1699
- [35] 马杰. 分子印迹化学发光法测定瘦肉精的含量 [J]. 矿业科学技术, 2005, 4: 36-41
- [36] Zhou H, Zhang Z, He D, et al. Flow through Chemiluminescence Sensor using Molecularly Imprinted Polymer as Recognition Elements for Detection of Salbutamol [J]. *Sensors and Actuators B*, 2005, 107(2): 798-804
- [37] 杨黄浩, 周文辉, 尹晓斐. 有机磷农药仿生识别检测试剂盒: 中国, CN 1773287 [P]. 2006-05-17
- [38] 彭涛, 杜小燕, 李俊锁. 分子印迹技术及其在痕量分析中的应用. 农药学报, 2001, 3(4): 1-14
- [39] 颜流水, 黄智敏, 蒲守智, 刘任炜. 氯霉素分子印迹聚合物的制备研究. 南昌航空工业学院学报(自然科学版), 2005, 19(1): 1-5
- [40] 吴晓丰, 杨鹭花. 氯霉素残留的危害及其检测方法. 动物医学进展. 动物医学进展, 2004, 25(3): 41-43
- [41] Burton W B, Anna C, Hiroshi Y A. novel immunofluorescence Capillary Electrophoresis Assay System for the determination of Chloramphenicol in milk [J]. *Food and Agricultural Immunology*, 1994(6): 409-415
- [42] Xizhi Shi, Aibo Wu, Sulian Zheng, Rongxiu Li, Dabing Zhang. Molecularly imprinted polymer microspheres for solid-phase extraction of chloramphenicol residues in foods. *Journal of Chromatography B*, 2007, 850: 24-30
- [43] Kal Karim, Florent Breton, Regis Rouillon, Elena V. Piletska, Antonio Guerreiro, Iva Chianella, Sergey A. Piletsky, . How to find effective functional monomers for effective molecularly imprinted polymers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2005, 57: 1795-1808
- [44] Scott McNiven, Maiko Kato, Raphael Levi, Kazuyoshi Yano, Isao Karube. Chloramphenicol sensor based on an in situ imprinted polymer. *Analytica Chimica Acta*, 1998, 365: 69-74
- [45] Christina Schirmer, Hans Meisel. Synthesis of a molecularly imprinted polymer for the selective solid-phase extraction of chloramphenicol from honey. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1132: 325-328
- [46] 姜忠义, 喻应霞, 吴洪. 分子印迹聚合物膜的制备及其应用. 膜科学与技术, 2006, 26(1): 78-84
- [47] M. L. Mena, L. Aguil, P. Martinez-Ruiz, P. Yáñez-Sedeño, A. J. Reviejo, J. M. Pingarrón. Molecularly imprinted polymers for on-line clean up and preconcentration of chloramphenicol prior to its voltammetric determination. *Anal Bioanal Chem*, 2003, 376: 18-25
- [48] 宋巍巍, 丁明星, 刘国艳, 张焱, 柴春彦. 氯霉素分子印迹膜的制备及其吸附特性的电化学研究. 上海交通大学学报, 2006, 24(6): 449-502
- [49] Yoshikawa M., Ooi T, Izumi J. I. Novel membrane materials having EEE derivatives as a chiral recognition site [J]. *Eur Polym J.*, 2001, 37(2): 335-342
- [50] 王静, 金芬, 邵华, 杨锚. 农药多残留检测样品前处理技术研究进展. 农业质量标准, 2007(1): 28-32
- [51] Cormack P. A. G., Mosbach K. Molecular imprinting: recent developments and the road ahead. *React. Funct. Polym.*, 1999, 1(13): 115-124
- [51] 王锡昌, 陈俊卿. 固相微萃取技术及其应用. 上海水产大学学报, 2004, 13(4): 348-352