

MOŽNOSTI PRÍPRAVY POLYMÉROV S ODTLAČKAMI MOLEKÚL

ANDREA MACHYŇÁKOVÁ a KATARÍNA HROBOŇOVÁ

Ústav analytickej chémie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita v Bratislave, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
andrea.machynakova@stuba.sk

Došlo 1.10.15, prijaté 16.2.16.

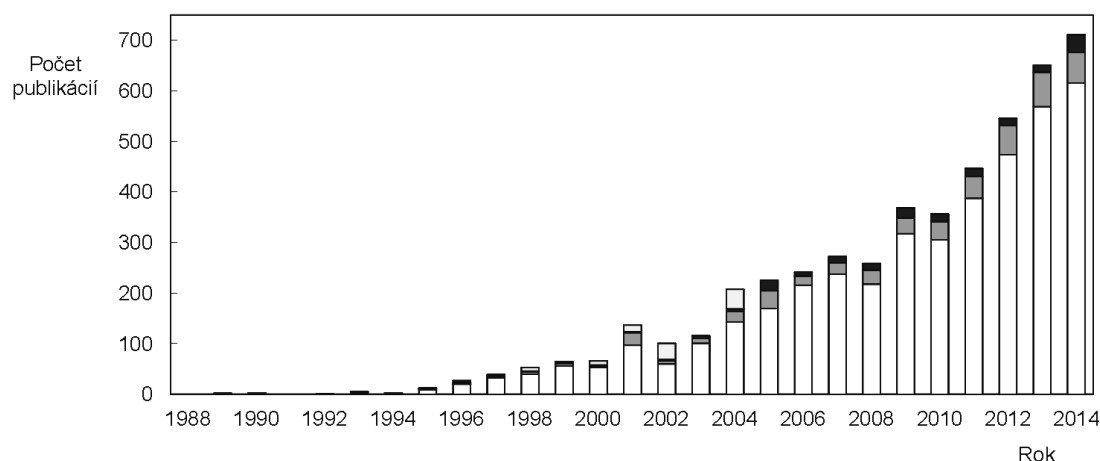
Kľúčové slová: polyméry s odtlačkami molekúl, polymerizačné techniky

Obsah

1. Úvod
2. Metódy prípravy polymérov s odtlačkami molekúl
 - 2.1. Blokovaná polymerizácia
 - 2.2. Suspenzná polymerizácia
 - 2.3. Precipitačná polymerizácia
 - 2.4. Emulzná polymerizácia
 - 2.5. Dvojkroková a viackroková napučiavacia polymerizácia
 - 2.6. Polymerizácia na povrchu nosiča
3. Záver

1. Úvod

Selektívne polymérne sorbenty sú stále viac využívané v analýze biomedicínskych, potravinových a ekologických vzoriek, predovšetkým pri príprave týchto zložitých vzoriek (sorbenty v predseparačných extrakčných technikách), ale aj v separačných metódach (stacionárne fázy v chromatografických metódach). Aj keď je na trhu dostupná široká škála sorbentov (najčastejšie používané sú založené na silikagéli modifikovanom funkčnými skupinami -C8, -C18, -NH₂, -CN, atď.), výhodou polymérnych sorbentov je odolnosť voči extrémnym podmienkam, tj. použiteľný široký rozsah pH, teploty a zmien tlaku^{1,2}. Zaujímavou skupinou sorbentov sú polyméry s odtlačkom molekuly (MIP, molecularly imprinted polymers), ktoré majú schopnosť selektívne viazať cieľový analyt alebo skupinu analytov s podobnou molekulovou štruktúrou. Polymérom s odtlačkami molekúl sa venuje čoraz väčšia pozornosť, najmä za posledných 10 rokov (obr. 1), kde možno pozorovať výrazný nárast počtu publikovaných prác týkajúcich sa prípravy, testovania a využitia MIP v oblasti obcej chémie (štúdie zamerané na voľbu zloženia polymerizačnej zmesi, stratégie prípravy, morfológie, selektivity, sorpčných vlastností MIP, atď.), farmaceutickej a medicínskej chémie a analýzy vzoriek životného prostredia. V chemickej analýze sa využívajú v rôznych formách, ako drvený monolit, guľovité častice alebo polymérne vrstvy nanosené na inom médiu (napr. magnetit



Obr. 1. Publikované práce v oblasti MIP od roku 1988 do roku 2014 (údaje z databázy Scopus); □ chémie, ■ analýza životného prostredia, ■ farmaceutická chémie, ■ ostatné

alebo silikagél). Ich výhodou oproti komerčne dostupným sorbentom (hlavne v extrakcii tuhou fázou, SPE) je to, že môžu byť mnohokrát použité bez straty selektivity.

Predkladaná práca je zameraná na prípravu polymérov s odtlačkami molekúl z hľadiska opisu v súčasnosti využívaných polymerizačných spôsobov. Snahou bolo priblížiť spôsoby prípravy, ktorými možno získať MIP s definovaným tvarom a veľkosťou častíc, čo súvisí so samotným využitím sorbentov.

2. Metódy prípravy polymérov s odtlačkami molekúl

Spôsob prípravy MIP je založený na vytvorení predpolymerizačného komplexu cieľového analytu (templátu) a monoméru. Funkčné skupiny monoméru sú schopné poskytovať špecifické nekovalentné interakcie s molekulami templátu vo vhodnom rozpúšťadle (porogéne). Typickými interakciami sú napr. hydrofóbne interakcie, vodíkové väzby, Van Der Walsove sily a elektrostatické interakcie². Ďalším krokom v syntéze je prídanie sieťovacieho činidla a iniciátora, ktorý vplyvom teploty alebo elektromagnetického žiarenia je schopný iniciovať polymerizačnú reakciu. Molekuly templátu sú z polyméru odstránené použitím extrakčného činidla. Vo výslednom polyméri sa nachádzajú dutiny, ktoré sú zhodné so štruktúrou a veľkosťou molekuly templátu a sú schopné jeho opätovného viazania z roztoku vzorky, prípadne z primárneho extraktu vzorky. Okrem nekovalentného prístupu k príprave MIP sa môžu využiť aj kovalentné väzby medzi funkčným monomérom a templátom a kovalentne-kovalentný spôsob. V každom prípade sa typ funkčného monoméru volí tak, aby poskytoval dostatočný počet interakcií/väzieb s funkčnými skupinami templátu. Vplyvom týchto interakcií sa vytvárajú špecifické väzbové miesta komplementárne s analytom z chemického aj priestorového hľadiska. Základné prístupy k príprave MIP sú podrobnejšie popísané v práci autorov Sádecká a Polonský³.

Rôznorodé využitie MIP v analytickej chémii (sorbenty pre extrakčné techniky, stacionárne fázy pre chromatografické a elektrochromatografické metódy, biosenzory, atď.) kladie osobité požiadavky na prípravu polymérov. Najčastejšou a najjednoduchšou metódou prípravy polymérov je bloková polymerizácia (bulk syntéza, získa sa blok porézneho polymérneho materiálu), ale využíva sa aj suspenzná polymerizácia, precipitačná polymerizácia, emulzná polymerizácia a viackroková napučiacia polymerizácia. V odbornej literatúre je publikovaných čoraz viac prác zameraných na syntézu MIP na povrchu vhodného nosiča. Každý z uvedených spôsobov sa líši z hľadiska postupu prípravy, čo umožňuje získať MIP charakteristického tvaru a veľkosti častíc, v dôsledku čoho majú výsledné sorbenty rozdielne sorpčné vlastnosti a aj využitie⁴.

2.1. Bloková polymerizácia

V procese blokovej polymerizácie sa zložky polymerizačnej zmesi (templát, monómér, porogén, sieťovacie činidlo, iniciátor)³ zmiešajú a radikálovou polymerizáciou najčastejšie pri zvýšenej teplote vznikne polymér. Predpokladá sa, že v počiatočnej fáze polymerizácie vytvárajú molekuly templátu s monomérom komplexy a priechnú väzbou sú kopolymerizované do pevného bloku polyméru². Monolitný blok polyméru si vyžaduje náročný proces mechanického drvenia, frakcionácie a následne odstránenie templátu Soxhletovou extrakciou. Tieto operácie sú časovo náročné a tiež dochádza k vysokým stratám z pôvodného množstva polyméru (do 70 %). Mletie monolitu poskytuje častice nepravidelného tvaru a nerovnomernej zrnitosti. Počas drvenia polyméru dochádza k čiastočnej deštrukcii odtlačených dutín, čím sa znižuje sorpčná kapacita MIP (cit.⁴). Uvedený postup polymerizácie nevyžaduje zložité experimentálne zariadenie a môže sa uskutočniť aj pri laboratórnej teplote (napr. ak je polymerizácia iniciovaná pomocou UV žiarenia). MIP pripravené touto metódou sa využívajú najmä ako sorbenty pre rôzne typy extrakcie, najčastejšie pre „off-line“ extrakciu tuhú fázou⁵⁻⁷, zriedkavo ako stacionárne fázy v HPLC^{8,9}, alebo CEC (kapilárna elektrochromatografia)¹⁰. V prípade použitia ako stacionárne fázy často dochádza k rozmývaniu elúčných zón, čo sa prejavuje chvostovaním píkov (najmä u molekúl templátu, ale aj u štruktúrne podobných analytov). Takéto správanie je dôsledkom nepravidelného tvaru, heterogenity interakčných miest a väčšieho priemeru MIP častíc (nad 10 μm), čo spôsobuje menšiu rýchlosť interakcie medzi analytom a väzbovým miestom a tým zníženie účinnosti kolóny, rozlíšenia separovaných látok, špecifickej sorpčnej kapacity a selektivity MIP stacionárnej fázy¹¹.

Tieto obmedzenia blokovej polymerizácie viedli k modifikáciám a vývoju nových spôsobov prípravy MIP sorbentov, pomocou ktorých možno získať častice guľovitého tvaru s rovnomernou zrnitosťou, čo vedie k účinnejšej separácii v HPLC a CEC a vyššej sorpčnej kapacite. Snahou je obmedziť manipuláciu s polymérom a zabrániť deštrukcii odtlačených dutín v MIP (cit.^{11,12}).

2.2. Suspenzná polymerizácia

Suspenzná polymerizácia sa uskutočňuje v disperznom prostredí (voda, kvapalná perfluorovaná uhľovodíky napr. perfluorooktán). Polymerizačnú zmes tvorí monómér [napr. kyselina metakrylová (MAA), alebo 3-(2-karboxyallyl)-1-metyl-1*H*-imidazol-3-ium-bromid] nerozpustný v disperznom rozpúšťadle, iniciátor [2,2'-azobis(2-metylpropionitril) (AIBN)], sieťovacie činidlo [2,2-bis(hydroxymetyl)butanoltrimetakrylát (TRIM), etylenglykoldimetakrylát (EGDMA)]¹³⁻¹⁶ a templát rozpustný v monoméri. Pretrepávanie alebo miešanie zmesi zabezpečuje rozptýlenie monoméru a iniciátora do kvapiek, v ktorých sa uskutoční polymerizácia podobným spôsobom ako pri blokovej polymerizácii. Výhodou je účinnejší odvod tepla

z reakčnej zmesi. Na zabránenie zhlukovania rozptýlených kvapiek monoméru sa pridáva stabilizátor suspenzie (polyvinylalkohol, iónová kvapalina), ktorý zvyšuje viskozitu disperznej fázy, čím sa spomaľuje pohyb kvapiek a obmedzuje ich vzájomné zrážky¹⁷.

Suspenzná polymerizácia je vhodná na prípravu MIP častíc definovaného tvaru s rovnomernou zrnitosťou v rozsahu 10–100 μm (cit.^{18,19}). Veľkosť častíc možno ovplyvniť množstvom pridaného stabilizátora a reguláciou rýchlosti miešania (vyššou rýchlosťou miešania a väčším množstvom stabilizátora sa dosahujú častice menšej zrnitosti a naopak)²⁰. Voda ako disperzné rozpúšťadlo môže svojou prednostnou tvorbou potláčať vodíkové väzby a elektrostatické interakcie pri tvorbe a stabilizácii komplexu templát-monomér. Jej použitie je vhodnejšie v prípade kovalentného prístupu tvorby odtlačku molekuly, čím sa eliminuje narušenie interakcií templát-monomér^{21–23}. Nevýhodou je potreba odstránenia stabilizátora po ukončení polymerizácie z polymerizačnej zmesi, keďže jeho zvyšky môžu narušovať interakcie templát-monomér pri opätovnom viazaní analytu na MIP (cit.²⁴). Ako disperzné rozpúšťadlo možno použiť aj minerálny olej v polymerizačných zmesiach bez použitia stabilizátora suspenzie. Obmedzením je, že polymerizačná zmes nesmie byť rozpustná v minerálnom oleji, čo limituje použitie bežných porogénov ako sú toluén, chloroform či dichlórmetán (vhodným porogénom je napr. acetonitril)²⁵. MIP pripravené suspenznou a blokovou polymerizáciou preukazujú podobné charakteristiky z hľadiska zloženia, povrchovej plochy, priemeru pórov, avšak špecifická sorpčná kapacita je spravidla vyššia u MIP pripravených suspenznou polymerizáciou^{25–28}. Predpokladá sa, že vyššia sorpčná kapacita sa dosahuje vďaka lepšej dostupnosti rozpoznávacích miest v polyméri pre molekuly analytu. Výhodou suspenznej polymerizácie je vysoká selektivita a guľovitý tvar častíc, minimálna manipulácia s polymérom (odpadá proces drvenia a preosievania polyméru)^{17,28}.

2.3. Precipitačná polymerizácia

Pri precipitačnej polymerizácii sa v porovnaní s blokovou polymerizáciou používa väčšie množstvo rozpúšťadla v polymerizačnej zmesi (2 až 10 \times). Polymerizáciu možno iniciovať zvýšením teploty (zvyčajne na 60 $^{\circ}\text{C}$) alebo UV žiarením. Pri tepelnej iniciácii má reakcia rýchlejší priebeh (tvorba častíc do dvoch hodín), kým pri iniciácii pomocou UV žiarenia je rýchlosť reakcie pomalšia (tvorba častíc do piatich hodín). Tvar, veľkosť častíc, porovitost' a rovnomernosť zrnitosti výsledného polyméru závisia od typu templátu, typu sieťovacieho činidla [TRIM, divinylbenzén (DVB), EGDMA]; napr. TRIM poskytuje častice menších rozmerov ako DVB], typu a množstva monoméru [MAA, 4-vinylpyridín (4-VP)], alebo teploty pri polymerizačnej reakcii^{29–33}. Častice s menšou zrnitosťou (0,1–1 μm) sa získajú v prípade použitia menšieho množstva funkčného monoméru a naopak častice väčších rozmerov (1–10 μm) sa dosahujú použitím vyššej teploty (70 $^{\circ}\text{C}$) pri reakcii³⁴. Väčšie množstvo roz-

púšťadla vyžaduje použitie oveľa väčšieho množstva templátu, čo zvyšuje finančné náklady. Táto metóda nevyžaduje pridávanie ďalších reakčných činidiel (napr. stabilizátory), čím sa znižuje riziko kontaminácie výsledného polyméru a umožňuje pripraviť MIP pre široký rozsah cieľových analytov. Podobne ako pri suspenznej polymerizácii výsledný polymér nevyžaduje drvenie a preosievanie (nedochádza k stratám polyméru, znižuje sa časová náročnosť prípravy MIP). Výsledné častice sú jednotného tvaru a veľkosti ako aj dosť malých rozmerov (zvyčajne 0,1 až 1 μm , zriedkavejšie 1–10 μm , v závislosti od zloženia polymerizačnej zmesi)^{35–37}, čo je výhodné pre použitie MIP v CEC, zriedkavejšie v SPE a HPLC³⁸.

2.4. Emulzná polymerizácia

Emulzná polymerizácia sa uskutočňuje v micelách vo vodnom prostredí. Predpolymerizačná zmes obsahuje monomér [najčastejšie MAA, akrylamid (AA), monoméry zabezpečujúce hydrofóbne interakcie s templátom, napr. akryloyl- β -cyklohextrín v kombinácii s AA], sieťovacie činidlo (napr. EGDMA, *N,N'*-metylénbisakrylamid) a templát málo rozpustné vo vode, iniciátor (tiosíran draselný, hydrogénsíričitán sodný) rozpustný vo vode a emulgátor^{39–41}. Molekuly emulgátora vytvárajú micely s hydrofóbnou vnútornou časťou a hydrofílnou vonkajšou časťou. Keďže monomér je nerozpustný vo vodnom prostredí, môže difundovať do vnútra hydrofóbnej časti micely. Pri emulznej polymerizácii iniciátor difunduje do micely, kde dochádza k blokovej polymerizácii a vzniku izolovaných MIP častíc. Výsledné častice majú priemer v rozsahu 1–60 μm (cit.^{42–44}) v závislosti od zloženia polymerizačnej zmesi. Nevýhodou je použitie vodného prostredia a emulgátora, v dôsledku čoho sa minimalizujú interakcie medzi monomérom a templátom, čo bráni vytvoreniu stabilného komplexu templát-monomér a výsledné väzbové miesta majú nižšiu afinitu k cieľovému analytu. Uvedený spôsob polymerizácie sa používa vtedy, keď monomér vykazuje vysokú afinitu k templátu a vplyv vodného prostredia je zanedbateľný⁴⁵. Pickeringova⁴⁶ emulzná polymerizácia, na rozdiel od konvenčnej emulznej polymerizácie, nevyužíva na stabilizáciu emulzie emulgátory, ale tuhé častice, ako napr. silikagél, magnetické a chitozánové nanočastice. Tieto častice stabilizujú emulziu tým, že sú lokalizované na povrchu kvapiek a vytvárajú okolo nich ochranný obal, ktorý zabraňuje zhlukovaniu. Takto pripravené MIP častice (hydrofílny obal s hydrofóbnym jadrom obsahujúcim odtlačenú dutinu komplementárnu s cieľovým analytom) sú vhodné na použitie aj vo vodnom prostredí⁴⁷.

2.5. Dvojkroková a viackroková napučivacia polymerizácia

Dvojkroková/viackroková napučivacia polymerizácia zahŕňa (i) napučivanie vopred pripravených polymérnych častíc (zvyčajne na báze polystyrénu): zmes dispergovaných polymérnych častíc, surfaktantu, aktivačného

Tabuľka I
Porovnanie polymerizačných techník pre prípravu MIP

Typ polymerizácie	Výhody	Nevýhody
Bloková polymerizácia	jednoduchosť postupu prípravy, univerzálnosť, nenáročné zariadenie, využitie ako SPE sorbent	zdĺhavý proces drvenia a preosievania, nepravidelný tvar a veľkosť častíc, nevhodné ako stacionárna fáza v HPLC
Suspenzná polymerizácia	guľovité častice, vysoko reprodukovateľné výsledky, vysoká účinnosť separácie vhodné ako stacionárna fáza v HPLC	použitie stabilizátorov, vodné prostredie, obmedzené použitie pre určité látky
Precipitačná polymerizácia	mikroguľovité častice, jednotná veľkosť, vysoký výťažok, jednoduchosť, univerzálnosť, vhodné ako stacionárna fáza v HPLC a CEC ^a	veľké množstvo templátu a rozpúšťadla, vysoká hodnota zried'ovacieho faktora, nevhodné ako SPE sorbent
Viacukrová napučiacia polymerizácia	monodisperzné častice s požadovaným priemerom, vhodné ako stacionárna fáza v HPLC a CEC ^a	komplikovaný postup prípravy, agresívne reakčné podmienky
Polymerizácia MIP na silikagéli	monodisperzné častice, tenké imprintované filmy s požadovanou hrúbkou a porozitou, pravidelný tvar a veľkosť častíc vhodné ako stacionárna fáza v HPLC a CEC ^a	komplikovaný postup prípravy, časovo náročný postup
Polymerizácia MIP na magnetických časticiach	vyššia sorpčná kapacita, selektivita a kinetika sorpcie, jednoduchšia extrakcia vhodné pre využitie ako sorbent pre magnetickú extrakciu	časovo náročný a pracný postup, magnetická citlivosť sa môže znižovať

^aCEC – kapilárna elektrochromatografia

čínidla a vody sa mieša do vymiznutia kvapiek emulzie; (ii) polymerizáciu MIP: zmes sieťovacieho činidla (EGDMA), funkčného monoméru (MAA, 4-VP, 2-akrylamido-4-metylpyridín), porogénu, stabilizátora a templátu sa polymerizuje pri zvýšenej teplote, alebo pomocou UV^{48–50}. Rozhodujúcim krokom prípravy je aktivácia polymérnych častíc aktivačným činidlom (napr. dibutylftalát). Požadovanú veľkosť častíc, porozitu a rovnomernú zrnitosť možno dosiahnuť vhodným množstvom aktivačného činidla, porogénu, stabilizátora a pomerom sieťovacieho činidla a vody. MIP sorbenty pripravené týmto spôsobom majú častice väčších rozmerov, ako u precipitačnej polymerizácie (5–150 μm v závislosti od množstva a typu zložiek polymerizačnej zmesi). Rozmery a rovnomerná zrnitosť umožňujú využitie takto pripravených MIP ako stacionárnej fázy v HPLC, na rozdiel od blokovej či precipitačnej polymerizácie. Okrem toho sú vhodné aj na použitie v SPE. Nevýhodou je použitie vodného prostredia a aktivačných činidiel, ktoré často znižujú selektivitu alebo sorpčnú kapacitu polyméru^{50,51}.

2.6. Polymerizácia na povrchu nosiča

V poslednom období boli vyvinuté spôsoby prípravy MIP na povrchu nosiča, ktorým môže byť napr. aktívovaný silikagél, magnetické nanočastice Fe₃O₄, chitozán, membrány oxidu hlinitého⁵², atď. Proces prípravy zahŕňa vytvorenie povrchovej selektívnej membrány alebo filmu

na povrchu nosiča, pričom táto polymérna vrstva má väzbové miesta distribuované po povrchu. Výhodou takto pripravených sorbentov v porovnaní s blokovou polymerizáciou je rýchlejšia kinetika sorpcie, výrazne vyššia selektivita, väčší počet dostupných interakčných miest, rovnomerná zrnitosť častíc⁵².

Polymerizácia MIP na silikagéli

Silikagélové nanočastice sa často využívajú ako nosiče MIP. Prvým krokom prípravy je aktivácia silikagélu v kyslom prostredí, následne sa aktívovaný silikagél zmieša s iniciátorom (napr. AIBN, peroxidisíran amónny) a so zmesou templátu, porogénu a monoméru [3-aminopropyl-3-etoxyxilán (APTES), poly(dimetylaminoetylmetakrylát), trietoxyfenylsilán]^{53–59}. Termická polymerizácia môže trvať približne 10 až 15 h a po jej ukončení sa polymér suší. Voľbou podmienok reakcie, ako je pH, teplota, typ rozpúšťadla, možno ovplyvniť hrúbku vrstvy MIP na povrchu silikagélu a porozitu. Nevýhodou prípravy MIP na silikagéli je časová náročnosť a pomerne komplikovaný postup prípravy^{60–62}.

Polymerizácia MIP na magnetických časticiach

Magnetická časť sorbentu je tvorená magnetickými prvkami ako napr. železo, nikel, kobalt, alebo ich oxidy a zliatiny s feromagnetickými alebo superparamagnetickými vlastnosťami. Najčastejšie sa využívajú magnetit (Fe₃O₄) a hematit (Fe₂O₃) vďaka veľkej povrchovej plo-

Tabuľka II

Príprava MIP rôznymi spôsobmi a ich využitie pre vybrané biologicky aktívne látky ako templáty

<i>Templát</i>	Monomér/Porogén/ Sieťovacie činidlo/ Iniciátor ^a	Použitie MIP, veľkosť MIP častíc typ vzorky	Lit.
<i>17-β-estradiol</i>			
Precipitačná polymerizácia (70 °C/24 h)	MAA/ACN/TOL/DVB/ AIBN	stacionárna fáza v HPLC, 2–5 μm, separácia štruktúrne podobných zlúčenín	34
Viacukrová napučiacia polymerizácia (50 °C/24 h)	4-VP/TOL/EGDMA/ ADV N	off-line SPE, 8 μm, vzorky životného prostredia (riečna voda)	65
Polymerizácia na povrchu magnetických častíc (65 °C/24 h)	MAA/ACN/EGDMA/ AIBN	magnetická extrakcia, 5 μm, biologické vzorky (rakovinové bunky)	66
<i>Bisfenol A</i>			
Precipitačná polymerizácia (65 °C/24 h)	4-VP/TOL/EGDMA/ AIBN	stacionárna fáza v HPLC, 3–3,5 μm, potravínové vzorky (mäso), biologické vzorky (moč)	32
Emulzná polymerizácia (70 °C/16 h)	4-VP/TOL/EGDMA/ AIBN	off-line SPE, 30–60 μm, biologické vzorky (moč)	67
Polymerizácia na povrchu magnetických častíc a silikagélu (60 °C/24 h)	AA/CHF/TEOS/ AIBN	magnetická extrakcia, 0,022 μm, vzorky životného prostredia	68
<i>Erytromycín</i>			
Suspenzná polymerizácia (60 °C/24 h)	MAA/CHF/EGDMA/ AIBN	stacionárna fáza v HPLC, 50–80 μm, separácia štruktúrne podobných zlúčenín	13
Suspenzná polymerizácia (60 °C/24 h)	MAA/CHF/EGDMA/ AIBN	off-line SPE, 60 μm, potravinové vzorky (mlieko)	15
<i>Fluorochinolóny</i>			
Bloková polymerizácia (55 °C/20 h)	HM/MeOH/H ₂ O/ EGDMA/AIBN	off-line SPE, 30 μm, potravinové vzorky (mäso)	69
Bloková polymerizácia (50 °C/24 h)	MAA/ACN/EGDMA/ ADV N	off-line SPE, 25–50 μm, biologické vzorky (moč)	70
Emulzná polymerizácia (60 °C/8 h)	AA-AO-C/CH/MBA/ TD	stacionárna fáza, separácia štruktúrne podobných zlúčenín	40
Polymerizácia na povrchu magnetických častíc (70 °C/24 h)	MAA/ACN/TRIM/ AIBN	magnetická extrakcia, 0,23 μm, vzorky životného prostredia (riečna voda)	71
<i>Chloramfenikol</i>			
Bloková polymerizácia (60 °C/48 h)	DAM/THF/EGDMA/ AIBN	off-line SPE, potravinové a biologické vzorky (med, moč, mlieko, plazma)	72
Suspenzná polymerizácia (60 °C/24 h)	MAA/EA/CHF /EGDMA/AIBN	stacionárna fáza v HPLC, 20–50 μm, separácia štruktúrne podobných zlúčenín	73
Polymerizácia na povrchu magnetických častíc (60 °C/24 h)	MAA/ACN/EGDMA/ AIBN	magnetická extrakcia, 0,009 μm, vzorky životného prostredia (voda)	74
<i>Triazíny</i>			
Viacukrová napučiacia polymerizácia (50 °C/24 h)	MAA/TOL/EGDMA/ ADV N	on-line SPE, 5–6 μm, vzorky životného prostredia (riečna voda)	75
Polymerizácia na povrchu silikagélu (15 °C/4 h)	MAA/THF/TEOS/ AIBN	stacionárna fáza v HPLC, 10 μm, separácia štruktúrne podobných zlúčenín	76

^a AA-AO-C – akrylamid/akryloyl-β-cyklohexán, AA – akrylamid, ACN – acetonitril, ADVN – 2,2'-azobis(2,4-dimetylvaleronitril), AIBN – 2,2'-azobis(2-metylpropionitril), CH – cyklohexán, CHF – chloroform, DAM – (dietylamin)etyl metakrylát, DVB – divinylbenzén, EA – etylacetát, EGDMA – etylénglykoldimetakrylát, HM – 2-hydroxyetylmetakrylát, MAA – kyselina metakrylová, MBA – *N,N'*-metylénbisakrylamid, TEOS – trietoxysilán, THF – tetrahydrofurán, TD – tiosíran draselný, TOL – toluén, TRIM – 2,2-bis(hydroxymetyl)butanoltrimetakrylát, 4-VP – 4-vinylpyridín

che, ktorá poskytuje rýchlejšiu kinetiku sorpcie a väčšiu väzbovú kapacitu pre analyty. Postup prípravy zahŕňa (i) tvorbu magnetických častíc Fe_3O_4 , najčastejšie koprecipitáciou Fe(II) a Fe(III) v alkalickom prostredí⁶³, (ii) modifikáciu ich povrchu a (iii) polymerizáciu MIP na povrchu týchto častíc. Na modifikáciu povrchu sa používa silikagél, ale je možné použiť aj aluminu, oxidy iných kovov alebo polyméry. Požadovanú veľkosť MIP častíc možno dosiahnuť reguláciou teploty polymerizácie a rýchlosti miešania.

Magnetické MIP sorbenty sa využívajú najmä na extrakciu analytov z biologických vzoriek. Extrakcia má viacero výhod: väčšia kontaktná plocha so vzorkou, jednoduchý spôsob oddelenia sorbentu od roztoku použitím magnetického poľa, menšia spotreba organických rozpúšťadiel, vysoká extrakčná výťažnosť, nevyžaduje manipuláciu polymérom^{63,64}.

Porovnanie výhod a nevýhod jednotlivých polymerizačných spôsobov prípravy MIP materiálov, vlastností a využitia sorbentov je zhrnuté v tab. I. Jednotný a univerzálny spôsob prípravy MIP sorbentov s časticami jednotného tvaru a veľkosti, s vysokou účinnosťou separácie, sorpčnou kapacitou a selektivitou pre všetky analyty zrejme neexistuje. Je nutný individuálny výber podmienok polymerizácie a ich prispôbenie k cieľovému analytu. Príklady prípravy MIP rôznymi spôsobmi a ich využitia pre vybrané biologicky aktívne látky dokumentuje tab. II.

3. Záver

Viaceré dostupné polymerizačné spôsoby prípravy MIP poskytujú väčšiu variabilitu pri výbere, no na druhej strane testovanie experimentálnych podmienok (zloženie polymerizačnej zmesi, podmienky prípravy) a hodnotenie vlastností pripraveného MIP je časovo náročné. Mnohé publikácie v oblasti MIP, nové poznatky o predpokladaných mechanizmoch a molekulárne modelovanie urýchľujú pokrok v príprave a využití MIP sorbentov. Pri výbere spôsobu prípravy MIP treba prihliadať na ich zamýšľané využitie. Ak je cieľom príprava sorbentu pre SPE, vhodným spôsobom je experimentálne nenáročná blokovaná polymerizácia. Pre využitie ako stacionárne fázy v HPLC a kapilárnej elektrochromatografii (CEC) sú vhodnejšou voľbou prípravy suspenzná, emulzná, alebo viackroková napučiavací polymerizácia. Jednoduchým spôsobom prípravy MIP je aj precipitačná polymerizácia, no vzniknuté častice sú dosť malých rozmerov, čo umožňuje ich použitie ako stacionárne fázy v CEC a menej v HPLC a SPE. Trendom je príprava MIP na povrchu nosiča, ktorá poskytuje väčší povrch pre interakcie templátmonomér, vyššiu rýchlosť interakcie medzi analytom a väzbovým miestom ako konvenčné sorbenty a často zjednodušenie extrakčných postupov. Predpokladá sa, že výskum v tejto oblasti bude stále viac napredovať s cieľom (i) optimalizovať prípravu MIP tak, aby sa získali homogénne častice (rovnaký tvar a veľkosť), (ii) zvyšovať sorpčnú kapacitu a selektivitu MIP pre cieľové analyty a (iii) rozširovať aplikovateľnosť MIP sorbentov pri analýze zložitých vzoriek.

LITERATÚRA

1. Yang Y. Z., Liu X. G., Xu B. S.: *New. Carbon Mater.* 29, 1 (2014).
2. Kadimalla V. B., Ju H.: *Anal. Bioanal. Chem.* 380, 587 (2004).
3. Sádecká J., Polonský J.: *Chem. Listy* 99, 222 (2005).
4. Peréz-Moral N., Mayes A. G.: *Anal. Chim. Acta* 504, 15 (2004).
5. Zhu F., Wang J., Zhu L., Tan L., Feng G., Liu S., Dai Y., Wang H.: *Talanta* 150, 388 (2016).
6. Khan S., Bhatia T., Trivedi P., Satyanarayana G. N. V., Mandrah K., Saxena P. N., Mudiam M. K. R., Roy S. K.: *Food Chem.* 199, 870 (2016).
7. Garcia R., Martins N., Carreiro E. P., Simoes M., Carrott M. M. L. R., Carrott P. J. M., Burke A. J., Cabrita M. J.: *J. Sep. Sci.* 38, 1204 (2015).
8. Song Y. L., Wang X. J., Ni F. Y., Gu R., Zhao Y. W., Huang W. Z., Wang Z., Xu X., Xiao W.: *China J. Chin. Mater. Med.* 40, 1012 (2015).
9. Dong H., Zheng M., Ou Y., Zhang C., Liu L., Li J., Yang X.: *J. Chromatogr. A* 1376, 172 (2015).
10. Wei Z. H., Mu L. N., Pang Q. Q., Huang Y. P., Liu Z. S.: *Electrophoresis* 33, 3021 (2012).
11. Tóth B., Horvai G.: *Top. Curr. Chem.* 325, 267 (2012).
12. Hu. S. G., Li L., He X. W.: *Anal. Chim. Acta* 537, 215, (2005).
13. Zhang Y., Qu X., Yu J., Xu L., Zhang Z., Hong H., Liu C.: *J. Mater. Chem. B* 10, 1390 (2014).
14. Luo X., Dong R., Luo S., Zhan Y., Tu X., Yang L.: *J. Appl. Polym. Sci.* 127, 2884 (2013).
15. Geng L., Kou X., Lei J., Su H., Ma G., Su Z.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 87, 635 (2012).
16. Luo X., Zhan Y., Huang Y., Yang L., Tu X., Luo S.: *J. Hazard. Mater.* 187, 274 (2011).
17. Kim K., Kim D.: *J. Appl. Polym. Sci.* 96, 200 (2005).
18. Geng L., Kou X., Lei J., Su H., Ma G., Su Z.: *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 87, 635 (2012).
19. Regal P., Diaz-Bao M., Barreiro R., Cepeda A., Fente C.: *Cent. Eur. J. Chem.* 10, 766 (2012).
20. Shah N., Ha J., Ul-Islam M., Park J. K.: *Korean J. Chem. Eng.* 28, 1936 (2011).
21. Hu Y., Liu R., Zhang Y., Li G.: *Talanta* 79, 576 (2009).
22. Song X., Xu S., Chen L., Wei Y., Xiong H.: *J. Appl. Polym. Sci.* 131, 1 (2014).
23. Haginaka J.: *J. Chromatogr. B* 866, 3 (2008).
24. Mayes A. G., Mosbach K.: *Anal. Chem.* 68, 3769 (1996).
25. Kempe H., Kempe M.: *Macromol. Rapid Commun.* 25, 315 (2004).
26. Lai J. P., Niessner R., Knopp D.: *Anal. Chim. Acta* 522, 137 (2004).
27. Lin C. J., Chu W. P., Joseph K. A., Wong Y. C., Chang C. K., Lee Y. D.: *Jpn. J. Med. Electron. Biol.* 23, 53 (2003).
28. Pardo A., Mespouille L., Blankert B., Trouillas P.,

- Surin M., Dubois P., Duez P.: *J. Chromatogr. A* 1364, 128 (2014).
29. Zhang Z., Cheng Z., Zhang C., Wang H., Li J.: *J. Appl. Polym. Sci.* 123, 962 (2012).
30. Miura C., Li H., Matsunaga H., Haginaka J.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 114, 139 (2015).
31. Alizadeh T., Memarbashi N.: *Sep. Purif. Technol.* 90, 83 (2012).
32. Jiang M., Shi Y., Zhang R. L., Shi C. H., Peng Y., Huang Z., Lu B.: *J. Sep. Sci.* 32, 3265 (2009).
33. Yoshimatsu K., Reimhult K., Krozer A., Mosbach K., Sode K., Ye L.: *Anal. Chim. Acta* 584, 112 (2007).
34. Wei S., Molinelli A., Mizaikoff B.: *Biosens. Bioelectron.* 21, 1943 (2006).
35. Chen Z., Ye L.: *J. Mol. Recognit.* 25, 370 (2012).
36. Pardeshi S., Dhodapkar R., Kumar A.: *Food Chem.* 146, 385 (2014).
37. Rostamizadeh K., Abdollahi H., Parsajoo C.: *Int. Nano Lett.* 3, 1 (2013).
38. Mohajeri S. A., Karimi G., Aghamohammadian J., Khansari M. R.: *J. Appl. Polym. Sci.* 121, 3590, (2011).
39. Zhou T., Shen X., Chaudhary S., Ye L.: *J. Appl. Polym. Sci.* 131, (2014).
40. Zhang H., Dramou P., He H., Tan S., Pham-Huy C., Pan H.: *J. Chromatogr. Sci.* 50, 499 (2012).
41. Cai P. S., Zhao Y., Yang T. H., Chen J., Xiong C. M., Ruan J. L.: *J. Huazhong Univ. Sci. Technol., Med. Sci.* 34, 845 (2014).
42. Chen H., Son S., Zhang F., Yan J., Li Y., Ding H., Ding L.: *J. Chromatogr. B* 983, 32 (2015).
43. Yang J., Li Y., Wang J., Sun X., Cao R., Sun H., Huang Ch., Chen J.: *Anal. Chim. Acta* 872, 35 (2015).
44. Zhu W., Ma W., Li C., Pan J., Dai X., Gan M., Qu Q., Zhang Y.: *Colloids Surf., A* 453, 27 (2014).
45. Ou H., Chen Q., Pan J., Zhang Y., Huang Y., Qi X.: *J. Hazard. Mater.* 289, 28 (2015).
46. Pickering S. U.: *J. Chem. Soc., Trans.* 91, 2001 (1907).
47. Zhang K., Wu W., Meng H., Guo K., Chen J. F.: *Powder Technol.* 190, 393 (2009).
48. Manesiotis P., Osmani Q., McLoughlin P.: *J. Mater. Chem.* 22, 11201 (2012).
49. Haginaka J., Tabo H., Ichitani M., Takihara T., Sugimoto A., Sambe H.: *J. Chromatogr. A* 1156, 45 (2007).
50. Haupt K. (ed.): *Molecular Imprinting*. Springer-Verlag, Berlin 2012.
51. Chen L., Xu S., Li J.: *Chem. Soc. Rev.* 40, 2922 (2011).
52. Singh M., Kumar A., Tarannum N.: *Anal. Bioanal. Chem.* 405, 4245 (2013).
53. Gao B., Chen Y., Men J.: *J. Chromatogr. A* 1218, 5441 (2011).
54. Yin Y. M., Chen Y. P., Wang X. F., Liu Y., Liu H. L., Xie M. X.: *J. Chromatogr. A* 1220, 7 (2012).
55. Yang P., Hou W. D., Qiu H. D., Liu X., Jiang S. X.: *Chin. Chem. Lett.* 23, 615 (2012).
56. Cheng W., Liu Z., Wang Y.: *Talanta* 116, 396 (2013).
57. Junjie L., Mei Y., Danqun H., Changjun H., Xianliang L., Guomin W., Dan F.: *J. Sep. Sci.* 36, 1142 (2013).
58. Raof S. F. A., Mohamad S., Abas M. R.: *Int. J. Mol. Sci.* 14, 5952 (2013).
59. Zhang Z., Zhang M., Liu Y., Yang X., Luo L., Yao S.: *Sep. Purif. Technol.* 87, 142 (2012).
60. Mujahid A., Lieberzeit P. A., Dickert F. L.: *Mater. J.* 3, 2196 (2010).
61. Jiang X., Tian W., Zhao C., Zhang H., Liu M.: *Talanta* 72, 119 (2007).
62. Semsarilar M., Perrier S.: *Nat. Chem.* 2, 811 (2010).
63. Giakissikli G., Anthemidis A. N.: *Anal. Chim. Acta* 789, 1 (2013).
64. He D., Zhang X., Gao B., Wang L., Zhao Q., Chen H., Zhao C., Wang H.: *Food Control* 36, 36 (2014).
65. Watabe Y., Kubo T., Nishikawa T., Fujita T., Kaya K., Hosoya K.: *J. Chromatogr. A* 1120, 252 (2006).
66. Zhang J., Wang L., Han Y.: *J. Sep. Sci.* 36, 3486 (2013).
67. Yang J., Lim Y., Wang J., Sun X., Cao R., Sun H., Huang C., Chen J.: *Anal. Chim. Acta* 872, 35 (2015).
68. Li Y., Li X., Chu J., Dong C., Qi J., Yuan Y.: *Environ. Pollut.* 158, 2317 (2010).
69. Yan H. Y., Row K. H.: *Bull. Korean Chem. Soc.* 29, 1173 (2008).
70. Benito-Peña E., Martins S., Orellana G., Moreno-Bondi M. C.: *Anal. Bioanal. Chem.* 393, 235 (2009).
71. Tan F., Sun D., Gao J., Zhao Q., Wang X., Teng F., Quan X., Chen J.: *J. Hazard. Mater.* 244, 750 (2013).
72. Boyd B., Björk H., Billing J., Shimelis O., Axelsson S., Leonora M., Yilmaz E.: *J. Chromatogr. A* 1174, 63 (2007).
73. Zhang Y., Lei J.: *Bull. Korean Chem. Soc.* 34, 1839 (2013).
74. Ma W., Dai J., Dai X., Da Z., Yan, Y.: *Monatsh. Chem.* 146, 465 (2015).
75. Sambe H., Hoshina K., Haginaka J.: *J. Chromatogr. A* 1152, 130 (2007).
76. Tamayo F. G., Titirici M. M., Martin-Esteban A., Sellergren B.: *Anal. Chim. Acta* 542, 38 (2005).

Práca vznikla za podpory grantu č. 1/0499/14 Vedeckej grantovej agentúry Ministerstva školstva Slovenskej republiky a Slovenskej akadémie vied.

A. Machyňáková and K. Hroboňová (*Institute of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology in Bratislava, Bratislava, Slovak Republic*): **The Possibilities of Preparation of Molecularly Imprinted Polymers**

The article reviews methods for preparation of molecularly imprinted polymers. Various methods of polymerization and their advantages and disadvantages are discussed.