

羧基聚苯乙烯微球的单分散性制备及表征

秦学¹, 秦守磊², 周雷激³

(1. 中国航空综合技术研究所, 北京 100028; 2. 韩庄中心学校, 山东 济宁 277602; 3. 厦门大学 化学化工学院, 福建 厦门 361005)

[摘要]文章通过分散聚合法, 以苯乙烯(St)为聚合单体, 聚乙烯吡咯烷酮(PVP)为稳定剂, 偶氮二异丁腈(AIBN)为引发剂, 乙醇和水作为分散介质, 合成微米级聚苯乙烯微球, 并以此微球为种子, 利用种子修饰法进一步合成羧基聚苯乙烯微球, 并对合成的羧基微球单分散性、表面形貌及表面羧基密度进行表征。结果表明, 在合成的聚苯乙烯微球表面成功连接上羧基基团, 微球具有较高的羧基密度, 并且保持良好的单分散性, 适合下一步在其表面进行化学与生物活化以制备液相芯片的敏感元件。

[关键词]羧基; 聚苯乙烯微球; 种子修饰法

[中图分类号]TQ

[文献标识码]A

[文章编号]1007-1865(2011)11-0012-02

Synthesis and Characterization of Micron-size Monodisperse Carboxylated Polystyrene Microspheres

Qin Xue¹, Qin Shoulei², Zhou Leiji³

(1. China Aero-Polytechnology Establishment, Beijing 100028; 2. Hanzhuang Central Primary School, Jining 277602; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Micron-size monodisperse polystyrene microspheres were prepared by using styrene(St), poly(N-vinylpyrrolidone) (PVP), 2,2'-azo-bisobutyronitrile (AIBN), ethanol/water, as monomer, stabilizer, initiator and the media through dispersion polymerization and then modified with carboxyl group on the surface. We also characterized the surface morphology and determined the carboxyl content of the microspheres. Monodisperse Carboxylated polystyrene microspheres with the mean size of 2.2 μm diameter and the smooth surface were obtained. The prepared microspheres are of good characteristics to be applied for the sensing unit carriers of the liquid biochips.

Keywords: polystyrene microspheres; carboxyl; seeded dispersion polymerization

表面带有羧基、氨基、羟基等功能基团的微米级聚苯乙烯微球, 因其表面基团容易与酶、蛋白质、核酸等生物活性物质反应, 在生物工程、生物医学等方面应用广泛。大多数病毒均为蛋白质组成, 微球表面的羧基基团可以结合病毒中含有的氨基基团, 从而实现细胞分离与标记。结合微球的微米级尺寸及单分散性良好的特性, 可以将微球用于构建液相芯片的敏感元件, 实现高效、快速、高通量、集成化检测多种疾病或者分析多种生物成分的目的^[1]。目前, 液相芯片广泛应用于基因测序、基因表达分析、蛋白质相互作用研究、疾病诊断等方面^[2-5]。

制备单分散性的聚苯乙烯微球以及在微球表面连接上羧基基团需要进行深入的条件优化^[6-7]。将微球用于构建液相芯片的敏感元件, 其性能参数要求较高。而目前国内外的商品化微球存在活化效果欠佳、表面结构性能不清晰或价格较昂贵等缺点。基于构建液相芯片敏感元件载体的目的, 文章通过种子修饰法^[8]优化制备了一种单分散羧基聚苯乙烯微球, 并通过电导滴定法^[9-10]表征羧基微球的表面羧基密度, 通过高倍 SEM 对微球的表面形貌进行直观的观测, 通过粒度分析仪表征其单分散性, 得到表面结构致密、羧基密度较高的单分散性微米级羧基聚苯乙烯微球, 适用于制作液相芯片的敏感元件。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

苯乙烯(St, CP, 汕头市西陇化工厂有限公司); 10%的氢氧化钠洗涤除去阻聚剂, 去离子水洗涤至中性, 无水硫酸镁干燥, 减压蒸馏, 低温保存; 聚乙烯吡咯烷酮(PVP, 进口分装, 国药集团化学试剂有限公司); 偶氮二异丁腈(AIBN, AR, 天津市光复精细化工研究所); 无水乙醇重结晶, 在 P₂O₅ 存在下 30 °C 真空干燥, 低温保存; 二乙烯基苯(DVB, Alfa 公司); 减压蒸馏除去阻聚剂; 甲基丙烯酸(MAA, CP, 广东汕头市西陇化工厂); 减压蒸馏除去阻聚剂; 盐酸; 氢氧化钠。

SXJQ-1 型数显直流机械搅拌机(郑州长城科工贸公司); Nano-ZS&MPT-2 型粒度分析仪(英国 Malvern 公司); S-4800 型扫描电子显微镜(SEM, 日本 HITACHI 公司)。

1.2 聚苯乙烯微球及羧基微球的制备

1.2.1 实验步骤

聚苯乙烯微球的制备: 在装有搅拌器、滴液漏斗、回流冷凝器、及通氮气管的 250 mL 的四颈烧瓶中加入 PVP 的醇水溶液,

充分搅拌形成均相体系, 在氮气的保护下逐滴加入溶有 AIBN 的 St 及 DVB 的混合溶液, 保持通氮气 30 min 后, 升温至 70 °C, 在 100 r/min 的搅拌条件下反应 12 h。

羧基聚苯乙烯微球的制备: 取上述微球混合到一定量的醇水溶液中, 超声混匀加入到四颈烧瓶中, 在保持通氮气的条件下逐滴加入溶有 AIBN 的 St 和 MAA 混合溶液, 保持通氮气 30 min 后, 升温至 70 °C, 反应 24 h。

1.2.2 产物的后处理

得到的聚合物乳液高速离心, 弃去上层清液, 反复用醇水溶液洗涤。在 40 °C 恒温真空干燥箱中干燥至恒重, 于 4 °C 低温下保存。

1.3 测试与表征

1.3.1 微球的平均粒径及单分散性的表征

用 Nano-ZS&MPT-2 粒度分析仪(英国 Malvern 公司)测定微球平均粒径及粒径分布, 评估其单分散性。PDI 为分散系数, 表示微球的单分散性。PDI 值越接近 1, 单分散性越好, 相反, PDI 值越大单分散性越差。

$$D_n = \sum d_i/n, \quad D_w = \sum d_i^3/\sum d_i^2, \quad PDI = D_w/D_n$$

D_n : 微球平均粒径; n : 微球数目; d_i : 测得的第 i 个微球的直径。

1.3.2 微球的表面形貌及粒径大小表征

取少量微球于乙醇中, 形成乳液, 平铺于硅片并干燥, 在其表面喷铂 45 s 后用 S-4800 型扫描电子显微镜观察微球的表面形貌以及粒径大小。

1.3.3 利用电导滴定法测定微球表面的羧基含量

取一定量的羧基微球, 用醇水洗涤后, 加入一定量的 0.01 mol/L 的 NaOH 及少量的去离子水, 中和微球表面羧基, 并调节使其 pH 为 11 左右, 在磁力搅拌下用 0.01 mol/L 的 HCl 返滴定, 直到样品的 pH 为 3 左右结束, 计算公式为:

$$\text{羧基含量 (mmol/mg)} = \frac{C_{\text{NaOH}}V_{\text{NaOH}} - C_{\text{HCl}}V_{\text{HCl}}}{m_{\text{微球}}}$$

2 结果与讨论

2.1 聚苯乙烯微球及羧基微球的 SEM

图 1 中的 a、b 分别为利用分散聚合法合成的聚苯乙烯微球和羧基微球的 SEM 图片, 经过粒度分析仪测出其平均粒径大约为 2.2 μm, 单分散性系数接近于 1(1.02), 单分散性好。

[收稿日期] 2011-07-13

[基金项目] 国家自然科学基金(20775065, 20835005)、教育部高校博士点基金(20070384023)和国家自然科学基金(J1030415)资助

[作者简介] 秦学(1981-), 男, 山东济宁人, 硕士, 工程师, 主要研究方向为基于构建液相芯片的聚苯乙烯微球的合成及应用。

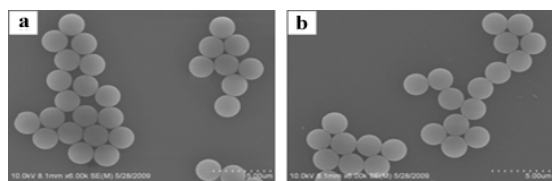


图1 聚苯乙烯微球和羧基微球的SEM

Fig.1 SEM photographs of polymer microspheres and carboxyl microspheres.a

2.2 微球表面羧基含量的测定

微球表面的羧基密度越高,活化的效率越好,有利于生物分子的固定化,提高检测灵敏度,从而构建出高灵敏度、高特异性的微球阵列芯片的敏感元件。

通过电导返滴定法得出如下结果:图2为电导返滴定法的滴定图,计算得到微球表面羧基含量为1.4 mmol/g,高于国内购买到的几家公司的微球平均羧基含量,符合下一步活化应用的需求。

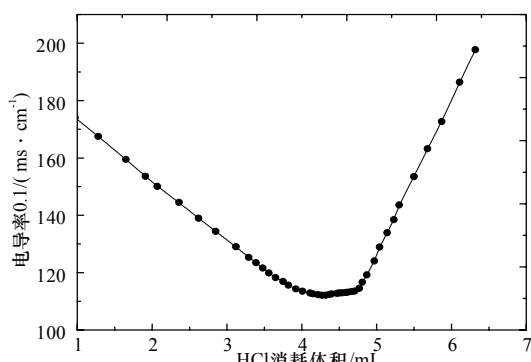
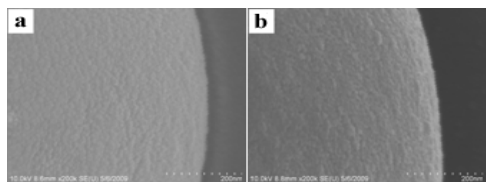


图2 电导滴定法测定羧基含量

Fig.2 Conductometric titration



a 聚苯乙烯微球; b 羧基微球

图3 20万放大倍数下的聚苯乙烯微球和羧基微球的SEM

Fig.3 SEM photographs of polymer microsphere and carboxyl microsphere

2.3 微球表面形貌的表征

利用日本HITACHI公司S-4800型号的扫描电子显微镜来仔细观察微球表面的形貌,以观察是否是疏松多孔的结构。

图3中a、b分别为20万放大倍数下的聚苯乙烯微球和羧基微球。可以看出,合成的微球表面是一种光滑、致密的结构,这样的结构更有利于进行表面基团的化学与生物活化及降低分析样品的非特异性吸附。

3 结论

文章利用种子修饰法,在合成的聚苯乙烯微球表面成功连接上羧基基团,微球表面光滑致密,具有良好的单分散性,并且具有较高的羧基密度,适合下一步在其表面进行化学与生物活化以制备液相芯片的敏感元件。

参考文献

- [1]Zhou L J, Wang K M, Chen Y Q, et al. Quantitative intracellular molecular profiling using a one-dimensional flow system[J]. Analytical Chemistry, 2006, 78(17): 6246-6251.
- [2]Yang G P, Ross D T, Kuang W W, et al. Combining SSH and cDNA microarrays for rapid identification of differentially expressed genes[J]. Nucleic Acids Research, 1999, 27(6): 1517-1523.
- [3]Gutjahr C, Murphy D, Lueking A, et al. Mouse protein arrays from a TH1 cell cDNA library for antibody screening and serum profiling[J]. Genomics, 2005, 85(3): 285-296.
- [4]Hacial J G, Makalowski W, Edgemon I K, et al. Evolutionary sequence comparisons using high-density oligonucleotide arrays[J]. Nature Genetics, 1998, 18(2): 155-158.
- [5]Cogburn L A, Morgan R, Burnside J. Expressed sequence tags, DNA chip technology and gene expression profiling[J]. Poultry Genetics, Breeding and Biotechnology, 2003: 629-645.
- [6]秦学, 周雷激, 陈路. 用于构建液相芯片的单分散性聚苯乙烯微球的合成研究[J]. 厦门大学学报, 2009, 48(6): 854-857.
- [7]曹同玉, 戴兵, 戴俊燕. 单分散大粒径聚合物微球的合成及应用[J]. 高分子通报, 1995, 3: 174-179.
- [8]Zhang H T, Huang H, Sun R, et al. Preparation of micro-size monodispersed PS/P (St/MAA) microspheres by seeded dispersion polymerization[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2006, 99: 3586-3591.
- [9]Hen J. Determination of surface carboxyl in styrene/itaconic acid copolymer latex[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 1974, 49(3): 425-432.
- [10]杨旭, 李欣, 潘复生, 等. 表面含羧基的磁性高分子微球的制备和表征[J]. 化学世界, 2006, 5: 276-280.

(本文文献格式: 秦学, 秦守磊, 周雷激. 羧基聚苯乙烯微球的单分散性制备及表征[J]. 广东化工, 2011, 38(11): 12-13)

(上接第7页)

(2)EMI-2,4 封闭的固化剂能实现低温固化,在40℃下,10h即可固化完全。

(3)EMI-2,4 封闭明显提高多异氰酸酯固化剂与羟基树脂在低温条件下的反应活性,加入10%的固化剂后,聚氨酯涂膜耐水性、耐溶剂性与力学性能均得到明显改善。

参考文献

- [1]史立平,孔志元,何庆迪. 水性双组分聚氨酯木器涂料的研制[J]. 上海涂料, 2008, 46(11): 4-8.
- [2]童身毅. 封闭型异氰酸酯树脂化学[J]. 现代涂料与涂装, 2002, 33(3): 30-34.
- [3]Sharma B, Ubagh S, Keul H, et al. Synthesis and characterization of alternating poly(amide urethanes) from ε-caprolactam, amino alcohols, and diphenyl carbonate[J]. Polymer, 2004, 45: 5427-5440.
- [4]Subramani S, Cheong I W, Kim J H. Chain extension studies of water-borne

polyurethanes from methyl ethyl ketoxime/ε-caprolactam-blocked aromatic isocyanates[J]. Progress in Organic Coatings, 2004, 51: 329-338.

[5]刘玉梅,赵辉,李国平,等. 异氰酸酯(第一版)[M]. 北京:化学工业出版社, 2004.

[6]张海龙,张彪,戴震,等. 封闭型异氰酸酯的反应机理与应用[J]. 涂料技术与文摘, 2009, 2: 14-17.

[7]周静静,刘明星,吕建平. 咪唑封端型水性聚氨酯固化剂的合成及其应用[J]. 合肥工业大学学报, 2010, 33(1): 122-125.

[8]潘鹏举,单国荣,黄志明,等. 2-乙基-4-甲基咪唑固化环氧树脂体系动力学模型[J]. 高分子学报, 2006, 1: 21-25.

[9]熊军,孙芳,杜洪光. 丙酮-二正丁胺滴定法测定聚氨酯中的异氰酸酯基[J]. 分析实验室, 2007, 26(8): 73-76.

(本文文献格式: 李学良,刘华,聂孟云,等. 木器漆用双组分水性聚氨酯固化剂的合成与性能研究[J]. 广东化工, 2011, 38(11): 6-7)