

载玻片表面修饰胺基聚合物的合成及表征

肖凌寒 崔庆实 刘旭东 周 钰

(长春工业大学化学与生命科学学院, 长春 130012)

摘 要 聚丙烯酰胺(PAM)经三步反应被很好地接枝到载玻片上,又特别针对反应体系中水对产物形貌的影响做了研究。通过使用 X 射线光电子能谱(XPS)、原子力显微镜(AFM)和扫描电镜(SEM)等手段对成功接枝 PAM 后的玻片进行测试。结果表明:反应体系中水的存在与否,会导致两种差异很大的结构和组成成分,水存在时,载玻片上生成了形貌结构为两层的胺基聚合物,且上层胺基密度不一。水不存在时,其表面生成了单层分子结构的胺基聚合物,同时其密度更加均一。

关键词 载玻片,聚丙烯酰胺,胺基聚合物,水,结构

Synthesis and characterization of PAM onto the glass slide surface

Xiao Linghan Cui Qingshi Liu Xvdong Zhou Yu

(School of Chemistry and Life Science, Changchun University of Technology, Changchun 130012)

Abstract Poly acrylamide(PAM) was successfully grafted onto the glass slide surface by three steps reaction. Especially the effect of water on the surface structure of the product was investigated. X-ray photo electron spectroscopy (XPS), atomic force microscope (AFM) and scanning electron microscopy (SEM) were utilized to characterize the surface composition and morphology of the surface. As a result, there were two completely different structures and surface compositions under anhydrous and anhydrous conditions. Consequently, the amino polymer formed on the surface of the glass slide was divided into two layers in the presence of water, and upper amine group density was different. While the amino polymer formed on the glass slide surface formed a mono-layer structure without water, as the same time the amine group density was more uniform.

Key words glass slide, poly acrylamide, amino polymer, water, structure

目前,基于烷基氯硅烷或烷氧基羟基硅烷单分子层的自模版法修饰载玻片是最为普遍的方法^[1],这种方法可以利用活性基团如胺基、硫醇、环氧等基团修饰载玻片表面^[2-3]。硅烷化方法相对容易操作而且廉价,但是在高灵敏蛋白质检测过程中,它的载荷能力低,容易吸收非特定蛋白质,限制了其应用范围^[4-6]。当前,载玻片的表面修饰是多种多样的,将纳米粒子接枝到载玻片上是比较传统的做法,例如接枝团簇组装的 TiO₂ 纳米粒子和 SiO₂ 纳米粒子在蛋白质固定化方面具有十分广阔的应用前景,并已取得一定程度的应用^[7]。

随着生命科学以及材料学的发展,胺基修饰载玻片在免疫生物检测^[8]、高分子涂层材料等方面展现了巨大的潜力。通常生物分子的固定采用的载玻片是用硅烷偶联剂处理^[9],而这种方法处理过的载玻片往往无法满足实验对胺基数量的需要^[10]。因此,本实验采用一种新的路线在载玻片表面来合成

高密度的胺基聚合物。随着实验条件的变化,例如反应温度、反应时间、丙烯酰胺的浓度和催化剂等这些因素都可能影响载玻片表面生成胺基聚合物的数量、表面形态以及厚度。其中决定载玻片表面胺基密度和表面形态的一个主要因素是反应体系中是否有水的存在^[11-13]。本研究先采用一种新路线,在载玻片上聚合胺基聚合物,然后通过 X 射线光电子能谱(XPS)、原子力显微镜(AFM)和扫描电镜(SEM)等表征手段来研究载玻片表面形态结构、胺基聚合物层的薄厚、胺基密度以及价键结构等信息。这为进一步探索利用聚合物修饰载玻片提供了一个可靠的依据。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

丙烯酰胺、氯化亚砷,天津光复化工研究所;四氢呋喃,上海化学试剂厂;硝酸铈铵,西域有限责任

基金项目:国家自然科学基金(51603020);吉林省教育厅(JJKH20170555KJ)

作者简介:肖凌寒(1981-),男,博士,副教授,博士研究生导师,主要研究高分子抗菌材料。

公司;盐酸、过氧化氢溶液,国药集团化学试剂有限公司;无水乙醇、乙二胺、氨水,北京化工厂。

X 射线光电子能谱仪(XPS, PHI-5000CESCA 型),美国 PHI 公司;扫描电子显微镜(SEM, JSM-5600 型),日本 JEOL 公司;用型多重原子力显微镜(AFM, Nanoscope-III 型),美国 VEECO 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 过氧化氢溶液预处理

根据实验需要,载玻片被制成大小为 $1.0\text{cm} \times 1.0\text{cm}$ 的样片。将制好的载玻片置于肥皂水中进行 30min 超声,然后置于蒸馏水中进行 30min 超声。之后对载玻片进行以下操作:第一步,30%过氧化氢、30%氨水和蒸馏水以 1:1:5 的体积比混合,然后对载玻片在 80°C 下浸泡处理 5min,之后用过氧化氢溶液进行洗涤;第二步,30%过氧化氢溶液、1mol 盐酸新溶液和蒸馏水以 1:1:5 的体积比进行混合,同样对载玻片在 80°C 下处理 5min,之后用过氧化氢溶液进行洗涤;第三步,再采用乙醇、乙醚和二氯甲烷对载玻片进行清洗。最后置于真空干燥箱烘干,温度设置为 120°C 。

1.2.2 接枝乙二胺

将上述制备好的玻片与 50mL 氯化亚砷混合,在 70°C 下搅拌 24h,进行酰氯化反应,过量的试剂通过减压蒸馏除去,处理后的玻片,用四氢呋喃(THF)清洗 3 次,用真空干燥箱干燥 5h,温度为室温。之后往干燥好的玻片加入乙二胺 50mL,进行加热搅拌,温度设置为 100°C 摄氏度,时间为 48h,反应完后冷却到室温,采用无水乙醇进行清洗,除去残留的乙二胺。然后,用真空干燥箱进行干燥,室温即可。

1.2.3 接枝聚丙烯酰胺(PAM)

接枝乙二胺的载玻片干燥后,将其浸泡在蒸馏水中 30min。然后向其中添加摩尔质量分数为 1mol/L 丙烯酰胺溶液。在氮气气氛中,逐滴滴加摩尔质量分数为 0.2mol/L 的硝酸铈铵溶液作为反应的引发剂。Graczyk 等^[14]针对搅拌速率在聚合反应体系中的作用做了研究,要防止搅拌速率对聚合反应产生影响,设置搅拌速率保持恒定。聚合温度设置在 30°C ,最终得到接枝胺基聚合物的载玻片。为研究水在体系中起到的作用,进行了对比实验,即用水乙醇替换体系中的水。

2 结果与讨论

2.1 元素组成分析

图 1 为经氯化亚砷在有水和无水条件下处理后

的载玻片 Cl 2p XPS 谱图。由图 1(a)可见,Cl 2p Si—Cl 的特征峰出现在 198.8eV 和 200.3eV 处。表明当有水存在时,载玻片表面成功被氯化,而且生成了 Si—Cl 键。同样由图 1(b)可见,Cl 2p Si—Cl 的特征峰出现在 198.6eV 和 200.2eV 处。表明当水不存在时,载玻片表面也成功被氯化,生成 Si—Cl 键。所以,无论水存在与否,载玻片都会被氯化。

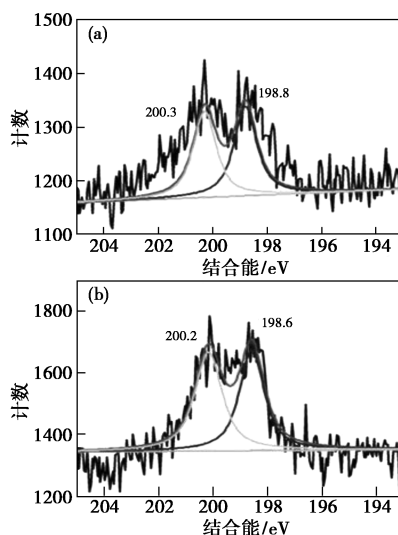


图 1 经氯化亚砷在有水(a)和无水(b)条件下处理后的载玻片 Cl 2p XPS 谱图

图 2 为经乙二胺在有水和无水条件下处理后的载玻片 N 1s XPS 谱图。由图可见,399.7eV 和 400.9eV 处的吸收峰分别对应 H—N—H 键和 Si—N 键。其峰值高于其他文献中的数据(399.7eV、399.3eV),这是因为氨基同其他基团如硅醇官能团产生了相互影响。400.9eV 处的 N 1s 吸收峰略高

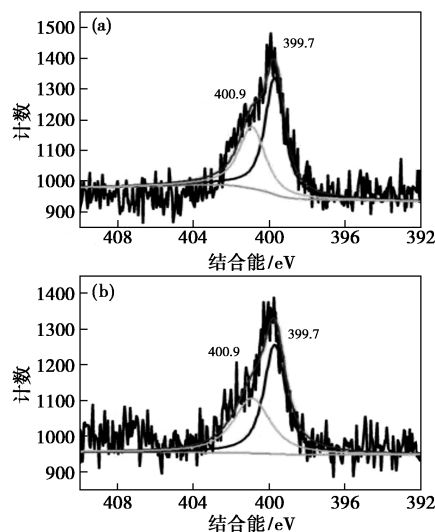


图 2 经乙二胺在有水(a)和无水(b)条件下处理后的载玻片 N 1s XPS 谱图

于 Si—N(400.3 eV) 的特征峰,证实了一种新的 N 元素存在形式,即 Si—N 键被质子化。

图 3 为经 PAM 在有水(a)和无水(b)条件下处理后的载玻片 N 1s XPS 谱图。由图 3(a)可见,N1s 在 407.2 eV 处出现了一个新的吸收峰,查询到其相应结构是—NO₂,即体系有水时,部分—NH₂ 被转化为—NO₂。图 3(b)表明当体系没水的时候,仅有少许—NH₂ 被转变为—NO₂,这就造成有水条件下,—NH₂ 转化为—NO₂ 的量更大,导致表面活性性能降低。

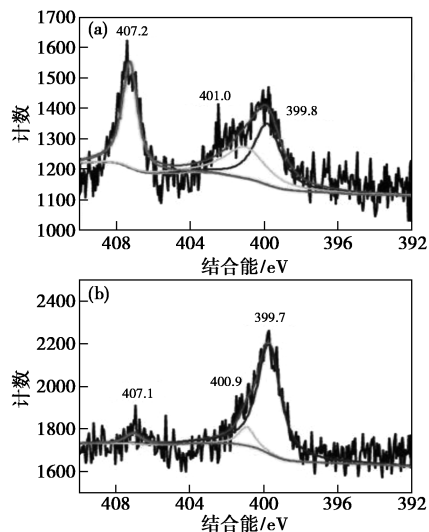


图 3 经 PAM 在有水(a)和无水(b)条件下处理后的载玻片 N 1s XPS 谱图

2.2 SEM 分析

图 4 为经 PAM 在有水和无水条件下处理后的载玻片 SEM 图。从图 4(a)可以看到,载玻片表面是比较粗糙的,存在许多不规则的小结块,同时还有一层聚合物分布在小结块的下面。其形成原因可能是体系发生了水解反应,导致载玻片生成不均一的双分子层结构。另外,从图 4(b)中能观察到有些颗粒状和棒状的物质。两图都证明了 PAM 被接枝到载玻片表面,只是形态不同。

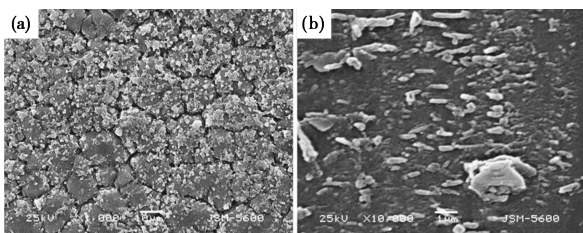


图 4 经 PAM 在有水(a)和无水(b)条件下处理后的载玻片 SEM 图

2.3 AFM 分析

经 PAM 在有水条件下处理后的载玻片 AFM

图见图 5。由图可见,载玻片表面存在许多沟壑,且聚合物为双层结构。而且 AFM 对载玻片表面形貌的表征与 SEM 结果相吻合。

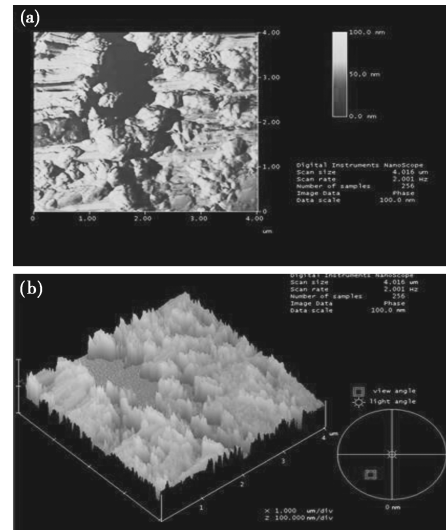


图 5 经 PAM 在有水条件下处理后的载玻片 AFM 图
[(a)载玻片表面聚合物的形貌;(b)载玻片表面聚合物厚度]

图 6 为经 PAM 在无水条件下处理后的载玻片 AFM 图。由图可见,载玻片的表面比较平滑,但也存在圆形和椭圆状的小块,且为单层结构。

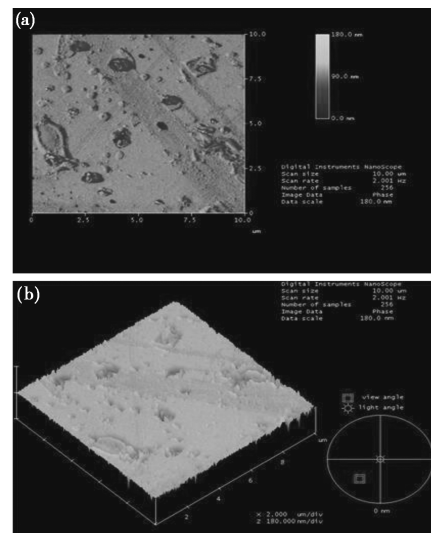


图 6 经 PAM 在无水条件下处理后的载玻片 AFM 图
[(a)载玻片表面聚合物形貌;(b)载玻片表面聚合物厚度]

综上所述,体系有水时聚合物比没水时生成的量更大,表面更加粗糙。粗糙的表面使一些小极性分子如水得以吸附,从而导致水解反应,形成双层结构,其反应过程难以控制,重复性差。当体系没水时,生成的聚合物表面相对平滑,密度均一,可控性和重复性好,很方便研究 PAM 在载玻片表面的聚合机理。

3 结论

PAM 经三步反应被很好地接枝到载玻片上, 特别针对反应体系中水对产物形貌的影响做了研究。通过使用 XPS、AFM 和 SEM 等手段对成功接枝 PAM 后的玻片进行了测试。结果发现, 反应体系中水的存在与否, 会导致两种差异很大的结构和组成成分, 水存在时, 载玻片上生成了形貌结构为两层的聚合物, 且胺基密度不一。水不存在时, 其表面生成了单层分子结构的聚合物, 同时其密度更加均一。这使无水条件成为研究 PAM 改性载玻片反应机理的一个理想条件。此外, 可为制备满足不同要求的载玻片提供了良好的参考价值。

参考文献

- [1] 相森. 玻璃表面修饰的基底材料对细胞粘附研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2012.
- [2] 付先利, 支月莹, 郑芳, 等. 四种制作多聚赖氨酸免疫组化黏附载玻片方法的比较[J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(17): 347-348.
- [3] Tsougeni K, Ellinas K, Koukouvinos G, et al. Three-dimensional (3D) plasma micro-nanotextured slides for high performance biomolecule microarrays: comparison with epoxy-silane coated glass slides[J]. Colloids & Surfaces B Biointerfaces, 2018, 165: 270-277.
- [4] 赵平英, 苗伟俊, 刘峰, 等. 金属表面硅烷化技术概述[J]. 化工

新型材料, 2014, 42(4): 36-37, 46.

- [5] 郑建华, 张晓凯, 卢慧粉. 特定条件下的定向 ZnO 纳米棒的制备及表征[J]. 化学学报, 2011, 69(20): 2434-2438.
- [6] 马菲, 周林, 王薇, 等. 二氧化硅纳米粒载体固定血红蛋白的制备及性能研究[C]. 厦门: 中国化学会第 27 届学术年会第 03 分会场, 2010.
- [7] Lan S D, Cheng C C, Huang C H, et al. Synthesis of sub-10nm VO₂ nanoparticles films with plasma-treated glass slides by aqueous sol-gel method[J]. Applied Surface Science, 2015, 357(21): 2069-2076.
- [8] 朱滨, 景奉香, 赵建龙, 等. 用氨基修饰的载玻片制作 cDNA 微阵列[J]. 生物化学与生物物理进展, 2001, 28(1): 121-124.
- [9] 唐娜. 化学合成光控蛋白探针用于研究免疫细胞信号传导机制[D]. 北京: 清华大学, 2016.
- [10] Manzoor O, Soleja N, Mohsin M. Nanoscale gizmos-the novel fluorescent probes for monitoring protein activity [J]. Biochemical Engineering Journal, 2018, 133(3): 83-95.
- [11] 王普红, 余建华, 李志军, 等. 基于液晶取向变化检测有机胺化合物的方法[J]. 分析化学, 2012, 40(5): 796-800.
- [12] 费嘉, 马文丽, 吴清华, 等. 介质表面修饰对蛋白质芯片固定率和反应性的影响[J]. 生命科学研究, 2005, 9(4): 341-345.
- [13] 赵剑英, 李玉邯, 郭海全, 等. 生物芯片表面氨基密度检测及稳定性研究[J]. 分析化学, 2006, 34(9): 1235-1238.
- [14] Graczyk T, Hornof V. Effect of stirring on cellulose graft copolymerization[J]. J Appl Polym Sci, 1983, 28(16): 1371-1378.

收稿日期: 2018-09-27

(上接第 84 页)

- [19] Mattson E C, Pande K, Cui S, et al. Exploring adsorption and reactivity of NH₃ on reduced graphene oxide[J]. The Journal of Physical Chemistry C, 2013, 117(20): 10698-10707.
- [20] Mao S, Cui S, Lu G, et al. Tuning gas-sensing properties of reduced graphene oxide using tin oxide nanocrystals[J]. Journal of Materials Chemistry, 2012, 22(22): 11009-11013.
- [21] Hu T, Chu X F, Dong Y P, et al. Acetone sensing properties of reduced graphene oxide-CdFe₂O₄ composites prepared by hydrothermal method[J]. Materials Science in Semiconductor Processing, 2015, 34: 146-153.
- [22] Kumar A, Dash P, Barik B, et al. Reduced graphene oxide-CuFe₂O₄ nanocomposite: a highly sensitive room temperature NH₃ gas sensor[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 272: 100-109.
- [23] Park S, An J, Piner R D, et al. Aqueous suspension and characterization of chemically modified graphene sheets[J]. Chemistry of Materials, 2008, 20(21): 6592-6594.
- [24] An X Q, Yu J C, Wang Y, et al. WO₃ nanorods/graphene

nanocomposites for high-efficiency visible-light-driven photocatalysis and NO₂ gas sensing[J]. Journal of Materials Chemistry, 2012, 22(17): 8525-8531.

- [25] Cai D Y, Song M. Preparation of fully exfoliated graphite oxide nanoplatelets in organic solvents [J]. Journal of Materials Chemistry, 2007, 17(35): 3678-3680.
- [26] Gadkari A B, Shinde T J, Vasambekar P N. Ferrite gas sensors [J]. IEEE Sensors Journal, 2011, 11(4): 849-861.
- [27] Yang S, Song X, Zhang P, et al. Self-assembled α-Fe₂O₃ mesocrystals/graphene nanohybrid for enhanced electrochemical capacitors[J]. Small, 2014, 10(11): 2270-2279.
- [28] Msomi J Z, Ndlovu B, Moyo T, et al. Mössbauer and magnetic properties of annealed Ni_xCo_{1-x}Fe₂O₄ nanoparticles[J]. Journal of Alloy and Compounds, 2016, 68: 149-156.
- [29] Tian B, Li Z, Zhen W, et al. Uniformly sized (112) facet Co₂P on graphene for highly effective photocatalytic hydrogen evolution[J]. Journal of Physical Chemistry C, 2016, 120(12): 6409-6415.

收稿日期: 2019-07-05