

羧基功能化聚苯乙烯荧光微球的制备及表征

周凤珍 王文静 詹一丰 郭惠玲*

(湖北工业大学生物工程与食品学院,发酵工程重点实验室(教育部),湖北工业微生物学重点实验室,
湖北工业大学细胞调控与分子药物学科创新引智基地,武汉 430068)

摘 要 以苯乙烯、丙烯酸为单体,引入疏水性荧光染料罗丹明 6G(Rh6G),采用微乳聚合法制备羧基聚苯乙烯荧光微球,并分析了表面活性剂、引发剂、丙烯酸用量对产物粒径分布的影响,考察了羧基聚苯乙烯荧光微球的浓度对荧光强度的影响。通过粒度分析仪、扫描电子显微镜、红外光谱仪、紫外吸收光谱以及荧光光谱仪对样品的纳米特性、形貌、结构和荧光性能进行了表征。结果表明,用微乳聚合法制备出 50~250nm 的羧基聚苯乙烯荧光微球,粒径均一且呈单分散性。紫外光谱图测试表明,在 533nm 左右有吸收峰。荧光光谱测试表明,羧基功能化的荧光聚苯乙烯微球浓度 $\leq 0.01\%$,其荧光最大激发峰为 527nm,最大发射峰在 555nm 处;浓度高于 0.01%时,荧光光谱出现红移,且荧光强度减弱。

关键词 羧基聚苯乙烯荧光微球,罗丹明 6G,粒径,单分散,微乳聚合法

Preparation and characterization of carboxylate-modified PS fluorescent microsphere

Zhou Fengzhen Wang Wenjing Zhan Yifeng Guo Huiling

(Institute of Bioengineering and Food, Hubei University of Technology, Key Lab of Fermentation Engineering (Ministry of Education), Key Lab of Industrial Microbiology in Hubei Province, Innovation and Introduction Base of Cell Regulation and Molecular Medicine(Hubei University of Technology), Wuhan 430068)

Abstract Carboxylate-modified polystyrene(PS) fluorescent microspheres were synthesised by microemulsion polymerization using rhodamine 6G (Rh6G) as hydrophobic fluorescent dye, acrylic acid and styrene as monomer. The effects of surfactant, initiator and acrylic acid monomer on the particle size distribution were analyzed. The structure, morphology and performance of carboxylate-modified PS fluorescent microspheres were characterized by DLS, SEM, FT-IR, UV and fluorescence spectrum. The microspheres with the size from 50nm to 250nm were obtained. The absorption peak was around 533nm by UV spectrogram. Fluorescence spectra results showed that the concentration of the microspheres had an important effect on the fluorescence intensity. When the concentration was no more than 0.01%, the maximum fluorescence excitation peak was 527nm, and the maximum emission peak was 555nm. When the concentration was above 0.01%, the fluorescence spectrum was redshift, and the fluorescence intensity was decreased.

Key words carboxylate-modified PS fluorescent microsphere, rhodamine 6G, particle size, monodisperse, microemulsion polymerization

羧基聚苯乙烯微球具有分散性好、比表面积大、吸附性强、凝集作用大,机械性能好和生物不可降解性,已经广泛应用于酶固定、色谱分离、药物传递和生物传感等诸多领域^[1-5]。羧基聚苯乙烯微球由于表面富含羧基,易与氨基结合,从而在生物医疗和诊断领域受到广泛关注。将荧光分子引入羧基聚苯乙烯微球,可应用于 DNA 检测^[6]、高通量药物筛

选^[7]、荧光探针^[8-9]、临床快速诊断等领域^[10-12]。目前,制备羧基聚苯乙烯荧光微球的传统方法是溶胀法^[13-14],即采用甲苯、氯仿作为溶胀剂将荧光分子引入微球中,但这种方法制得的荧光微球荧光较弱,容易造成种子微球溶解粘连,并且制备过程中对环境污染大。此外,还会造成聚苯乙烯微球出现多孔,荧光分子容易泄露,从而限制了其应用。目前国内荧

基金项目:国家自然科学基金项目(21401051);湖北省自然科学基金(2014CFB595)

作者简介:周凤珍(1991-),女,硕士研究生,主要研究纳米材料在生物医药中的应用。

联系人:郭惠玲(1980-),女,博士,副教授,主要研究磁性纳米材料的分离和应用以及靶向纳米药物。

光微球的研究多局限于专利层面,且存在荧光不稳定、易脱落、泄露、荧光效率不高等缺陷^[15-19]。因此,如何在保持羧基聚苯乙烯荧光微球粒径可控的同时,保证其荧光效率成为当前生物检测的关键^[20]。

微乳液聚合是由水、表面活性剂及助表面活性剂形成的外观透明、热力学稳定的油水分散体系。微乳液法制备纳米粒子具有步骤简单、分散性好、粒度可控等诸多优点。其中乳化剂的种类和用量是影响乳液稳定性、粒径大小和聚合速率等的重要因素^[21]。罗丹明类荧光染料具有摩尔吸光系数高、光稳定性好、对 pH 不敏感、较宽的波长范围及可延伸到可见光区的吸收和较高的量子点产率等荧光特性^[22-23],并且罗丹明 6G(Rh6G)价格较低廉。所以本研究引入 Rh6G,通过微乳聚合一步合成单分散的羧基聚苯乙烯荧光微球,通过改变表面活性剂、羧基、引发剂浓度来调控聚苯乙烯荧光微球的粒径,并对其纳米特性、形貌、化学结构和光谱性能进行了表征。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

苯乙烯、2,2-偶氮二异丁腈(AIBN)、丙烯酸,均为分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;十六烷、Rh6G、十二烷基硫酸钠(SDS),均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;超纯水由实验室提供。

集热式恒温加热磁力搅拌器(DF-101S 型),巩义市予华仪器有限责任公司;电子天平(AL104 型),梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;超声波细胞破碎机(SCIENTZ-II D 型),宁波新芝生物科技股份有限公司;激光粒度分析仪(Zetasizer-Nano ZS 型),英国马尔文仪器有限公司;傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR, Nicilet6700 型),美国赛默飞公司;扫描电子显微镜(SEM,日立 SU 8000 型),日本日立公司;紫外-可见光分光光度计(UV-Vis, UV-1800 型),岛津企业管理(中国)有限公司。

1.2 羧基聚苯乙烯荧光微球的制备

称取 1g 苯乙烯置于 50mL 三口烧瓶中,再加入 0.05g 十六烷、4mg Rh6G、20 μ L 丙烯酸,充分混匀成油相,置于 30mL 玻璃样品瓶中;再将 14.4mg SDS 加入到 5mL 去离子水中形成水相;将油相混合物逐滴加入水相中,冰浴,用动物细胞破碎机超声破碎 4min(2s 关,2s 开,振幅为 60%),通氮气 30min,再加入 20mg AIBN,在 72℃下避光搅拌 8h;然后将

产物用透析袋置于含 15%乙醇的去离子水中透析 3~7d,即得到羧基聚苯乙烯荧光微球(以下简称 PS 微球),再将其在 50℃下真空干燥后,避光保存。

分别改变表面活性剂 SDS、丙烯酸和引发剂 AIBN 用量,研究这些因素对 PS 微球粒径的影响。

1.3 表征与测试

采用激光粒度分析仪对制备的 PS 微球的水合粒径和 Zeta 电位进行测定;在其表面均匀喷金后,利用扫描电镜观察形貌;采用 FT-IR 测定其化学结构;采用紫外-可见光光度计对其光谱性能进行表征;利用荧光分光光度计测定其荧光强度。

2 结果与讨论

2.1 不同实验条件下 PS 微球的粒径分析

表 1 是分别改变引发剂、表面活性剂和丙烯酸的用量所制备的 PS 微球的粒径和多分散指数(PDI),图 1 为 PS 微球的粒径变化图。由表 1 和图 1 可以看出,随着表面活性剂 SDS 用量的增大,PS 微球的粒径减少[图 1(a),表 1 中实验序号 1—9];随着丙烯酸量的增大,PS 微球粒径无明显变化[图 1(b),表 1 中实验序号 10—18];随着引发剂 AIBN 用量的增大,微球粒径相应增大[图 1(c),表 1 中实验序号 19—27]。

表 1 不同试剂用量下制备的 PS 微球的粒径与 PDI

实验 序号	试剂用量				AIBN/ mg	Rh6G/ mg	H ₂ O/ mL	SDS/ mg	粒径/ nm	PDI
	苯乙 烯/ mL	丙 烯 酸/ μ L	十六 烷/ μ L							
1	1	4.5	50		20	4	5	3.6	246.30	0.157
2	1	4.5	50		20	4	5	5.0	199.10	0.096
3	1	4.5	50		20	4	5	7.2	142.10	0.056
4	1	4.5	50		20	4	5	10.8	116.40	0.071
5	1	4.5	50		20	4	5	14.4	109.50	0.005
6	1	4.5	50		20	4	5	20.0	83.11	0.127
7	1	4.5	50		20	4	5	30.0	67.35	0.097
8	1	4.5	50		20	4	5	60.0	63.28	0.070
9	1	4.5	50		20	4	5	80.0	57.85	0.087
10	1	0	50		20	4	5	1.8	99.94	0.031
11	1	4.5	50		20	4	5	0	107.4	0.069
12	1	10.0	50		20	4	5	14.4	95.72	0.059
13	1	20.0	50		20	4	5	14.4	89.00	0.066
14	1	30.0	50		20	4	5	14.4	95.77	0.051
15	1	40.0	50		20	4	5	14.4	97.54	0.041
16	1	50.0	50		20	4	5	14.4	96.99	0.065
17	1	200.0	50		20	4	5	14.4	101.80	0.031

实验 序号	苯乙 烯/ mL	丙 烯 酸/ μL	十六 烷/ μL	试剂用量					粒径/ nm	PDI
				AIBN/ mg	Rh6G/ mg	H ₂ O/ mL	SDS/ mg			
18	1	300.0	50	20	4	5	14.4	118.20	0.034	
19	1	4.5	50	5	4	5	14.4	96.99	0.065	
20	1	4.5	50	10	4	5	14.4	105.50	0.061	
21	1	4.5	50	15	4	5	14.4	109.50	0.005	
22	1	4.5	50	20	4	5	14.4	119.10	0.089	
23	1	4.5	50	25	4	5	14.4	130.30	0.022	
24	1	4.5	50	30	4	5	14.4	133.50	0.030	
25	1	4.5	50	40	4	5	14.4	138.00	0.070	
26	1	4.5	50	50	4	5	14.4	141.80	0.089	
27	1	4.5	50	80	4	5	14.4	143.80	0.058	

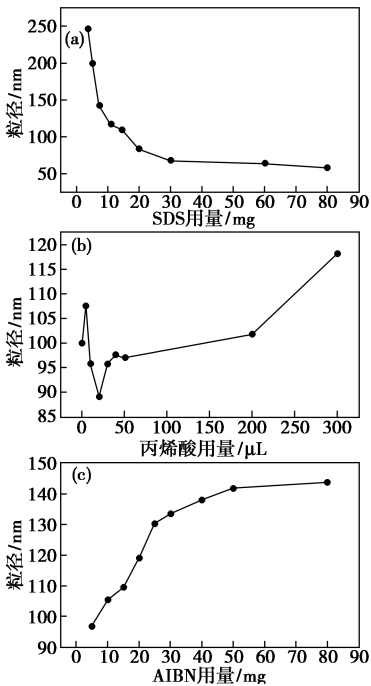


图 1 不同试剂用量对 PS 微球粒径的影响
[(a)SDS;(b)丙烯酸;(c)AIBN]

2.2 SEM 分析

其他实验条件不变,改变表面活性剂 SDS 含量时所制备 PS 微球的 SEM 测试结果见图 2,由图可知,每个工艺条件下所制备的 PS 微球均为单分散状态,且粒度均一。当 SDS 含量为 3.6mg 时[图 2(a)],PS 微球的粒径约为 180nm;当 SDS 含量为 7.2mg 时[图 2(b)],PS 微球的粒径约为 150nm;当 SDS 含量为 30.0mg 时[图 2(c)],PS 微球粒径约为 50nm。以上结果表明,PS 微球的粒径随着 SDS 用量的增加而降低,这主要是因为随着 SDS 用量的增

大,PS 微球在分散介质中的溶解度降低,从而使得成核粒子数目增多,粒径减小。

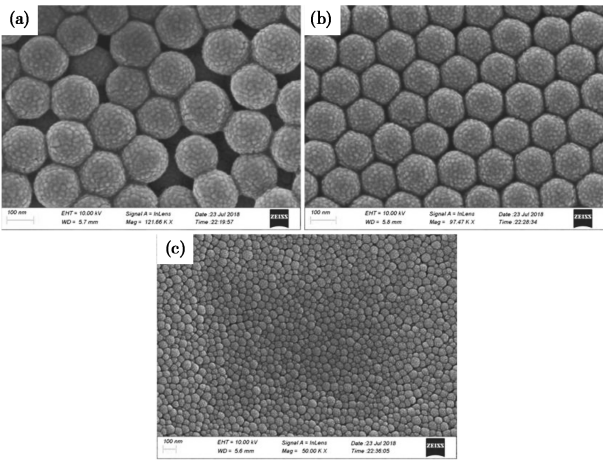


图 2 不同 SDS 含量时所制备 PS 微球的 SEM 图
[(a)3.6mg;(b)7.2mg;(c)30.0mg]

2.3 FT-IR 分析

图 3 为所制备 PS 微球样品的 FT-IR 谱图,由图可见,吸收峰在 1718cm⁻¹处为 C=O 羧基的伸缩振动峰,3448cm⁻¹处为羧酸中—OH 的伸缩振动峰,说明微球表面存在羧基;1495cm⁻¹和 1452cm⁻¹处为苯环上 C—C 的伸缩振动峰;吸收峰 700cm⁻¹和 758cm⁻¹为 C—H 的外弯曲振动峰;3030、2922、1452、758 和 700cm⁻¹为芳香烃的伸缩振动峰;1606cm⁻¹和 1452cm⁻¹处为苯环的伸缩振动峰;758cm⁻¹和 700cm⁻¹处为=C—H 的伸缩振动峰。上述 FT-IR 谱图可以证明成功地制备了 PS 微球。由于荧光染料含量少,FT-IR 不能表征荧光染料的特征峰。

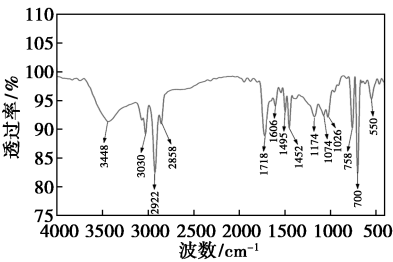


图 3 PS 微球样品的 FT-IR 谱图

2.4 PS 微球的 UV-Vis 吸收光谱分析

图 4 为所制备的 PS 微球样品在去离子水中的 UV-Vis 吸收光谱,由图可见,在 533nm 处有强吸收峰,因此选定 533nm 作为测定 PS 微球浓度的紫外吸收波长。根据文献报道,Rh6G 吸收峰在 530nm 左右^[22],由此说明荧光染料成功包埋在了 PS 微球中。

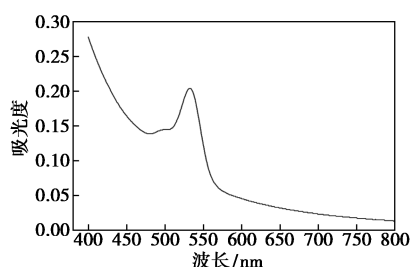


图 4 PS 微球样品的 UV-Vis 吸收谱图

2.5 PS 微球在不同浓度下的荧光强度测试

图 5 为不同浓度 PS 微球的荧光强度,由图可见,PS 微球浓度的变化引起其荧光光谱的变化。随着 PS 微球浓度的增大,其荧光强度呈现先增加后降低的趋势;当浓度为 0.01% 时,荧光强度最强,其最大激发波长在 527nm,最大发射波长在 555nm 处;之后,随浓度的增大,其荧光光谱发生红移。这是因为随着分子量的增加,分子间的碰撞增加,会使得吸收能量的微球发生内迁,因而能量减弱。此外,浓度增大,也会引起荧光分子发生聚合反应形成二聚体甚至多聚体,使得吸收光谱和荧光光谱发生红移。

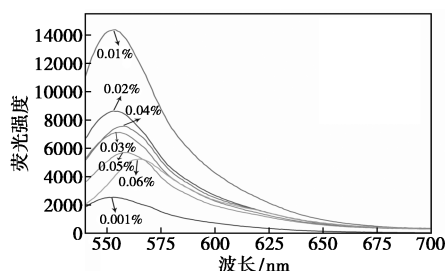


图 5 不同浓度 PS 微球的荧光强度

3 结论

(1) 采用微乳聚合法制备 50~250nm 的 PS 微球,粒径均匀,单分散性好,荧光发光效率较高且性能稳定。

(2) 不同试剂用量对 PS 微球粒径具有一定的影响。其中,引发剂用量增大时,微球粒径增大;表面活性剂量用量增大时,微球粒径反而减少;丙烯酸用量则对微球粒径的影响不明显。

(3) PS 微球浓度的变化引起其荧光光谱的变化,随着浓度的增大,荧光强度呈现先增加后降低的趋势;当 PS 微球浓度为 0.01% 时,其荧光强度最强,最大激发波长在 527nm,最大发射波长在 555nm 处;之后,随浓度的增大,其荧光光谱发生红移。

参考文献

[1] Rubio-Rios A, Aguilar-Castillo B A, Flores-Gallardo S, et al. Effect of synthesis variables on the fluorescence properties of

CdSe-polystyrene latexes[J]. Journal of Polymer Research, 2012, 19(3): 9833.

[2] 熊大伟,姚金水,陈淑祥,等.连续法制备单分散聚苯乙烯微球及粒径影响因素的研究[J].塑料工业,2011,39(11):24-27.

[3] 聂微,王颜红,张红,等.聚苯乙烯荧光微球的制备及性能考察[J].沈阳药科大学学报,2013,35(5):329-334.

[4] Chen R, Li H, Zhang, H, et al. Development of a lateral flow fluorescent microsphere immunoassay for the determination of sulfamethazine in milk[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2013, 405(21): 6783-6789.

[5] 张小燕,周齐洋.彩色羧基荧光微球的制备[J].中国医疗器械信息,2017,23(9):45-48.

[6] Leng L, Li Y, Liu Y Y, et al. Fluorescent determination of mercury(II) using rhodamine B immobilized on polystyrene microspheres[J]. Analytical Letters, 2017, 50(18): 2944-2958.

[7] 刘清浩,郭金春,段鹏,等.一步制备羧基聚苯乙烯共聚荧光微球及其表征[J].化学与黏合,2015,37(6):429-433.

[8] Zhao Y, Chen W, Peng C F, et al. Facile preparation of fluorescence-encoded microspheres based on microfluidic system[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2010, 353(2): 337-342.

[9] Qu J B, Li S H, Xu Y L, et al. Inherently fluorescent polystyrene microspheres as a fluorescent probe for highly sensitive determination of chromium(VI) and mercury(II) ions[J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2018, 27: 127-134.

[10] 赵春山,毛娇,张鸿林,等.苯乙烯共聚荧光微球的制备[J].化学与黏合,2014,36(2):115-117.

[11] Li J, Li X, Wang C, et al. Preparation and properties of Cs-VO₃/polymer composite material[J]. Journal of Functional Materials, 2014, 45(3): 106-109.

[12] Tang B, Li H. Separation and quantitation of isomeric caffeoylquinic acids in honeysuckle products by low-pH microemulsion electrokinetic chromatography using tartrate as a chiral selector[J]. Analytical Methods, 2016, 8: 189-196.

[13] 汪雨,刘丹丹,张洁洁,等.羧基聚苯乙烯荧光微球的制备及其溶胀机制[J].功能材料,2017,6(48):06193-06198.

[14] 朱佳媚.一种荧光共聚物微球及其制备方法:中国, CN201711449333.2[P]. 2017-12-28.

[15] 盛扬,段宗权,张嵘.一种纳米荧光微球的制备方法:中国, CN201711380012.1[P]. 2016-12-13.

[16] 陈苏,朱亮亮,王彩凤.聚合物荧光微球的制备方法:中国, CN201310219573.9[P]. 2013-06-03.

[17] 朱雯.单分散聚苯乙烯微球的制备与表征[J].江苏技术师范学院学报,2012,18(2):55-58.

[18] 郭金春,刘清浩,孟越,等.功能化聚苯乙烯共聚荧光微球的制备与表征[J].高分子材料科学与工程,2013,29(4):145-151.

[19] 于娜,刘崇举,单妍,等.尺寸可控的单分散聚苯乙烯微球的制备[J].青岛科技大学学报(自然科学版),2010,31(4):351-360.

[20] Liand Z, Almeida E. Paper based point-of-care testing disc for multiplex whole cell bacteria analysis[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011, 26: 4342-4348.

[21] Verena H, Katharina L. Preparation of fluorescent carboxyl and amino functionalized polystyrene particles by miniemulsion polymerization as markers for cells[J]. Macromolecular Chemistry Physics, 2005, 206: 2440-2449.

[22] 何锡文,史长虹,张贵珠,等.罗丹明 6G 的溶液状态和荧光特性的研究[J].分析化学,1993,21(9):1008-1012.

[23] 张瑞华,崔建升,孟素英,罗丹明 6G 荧光特性及其在荧光淬灭法中的应用[J].河北工业科技,2014,31(3):252-261.

收稿日期:2018-10-17