

温敏性糖基 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶的 相转变研究

蔡 豪¹ 张仪娜¹ 郑永利¹ 权 静^{1,2*}

(1. 东华大学生态纺织教育部重点实验室, 东华大学化学化工与生物工程学院, 上海 201620;
2. 复旦大学聚合物分子工程国家重点实验室, 上海 200433)

摘 要 结合酶促法和无皂乳液聚合法制备了温敏微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal), 通过红外光谱(FT-IR)和核磁共振氢谱(¹H-NMR)对微凝胶的结构进行确认表征; 变温紫外-可见分光光度计(UV-Vis)测得微凝胶的低临界溶解温度(LCST)值为 33.4℃; 光散射技术(LLS/DLS)和透射电子显微镜(TEM)研究了微凝胶的体积相转变行为。结果表明, 微凝胶为均匀分散的球形, 流体力学半径(R_h)和均方旋转半径(R_g)均随温度的升高而逐渐减小, 说明微凝胶的相转变是个连续变化的过程。

关键词 温敏微凝胶, LCST, 体积相转变

Phase transformation of P (NIPAM-co-OVSGal) thermosensitive carbohydrate-based microgel

Cai Hao¹ Zhang Yina¹ Zheng Yongli¹ Quan Jing^{1,2}

(1. College of Chemistry, Chemical Engineering and Biotechnology, Key Laboratory of Science and Technology of Eco-Textiles, Ministry of Education Donghua University, Shanghai 201620;
2. State Key Laboratory of Polymer Molecular Engineering, Fudan University, Shanghai 200433)

Abstract P(NIPAM-co-OVSGal) thermosensitive microgels were synthesized by combination of enzymatic reaction and soap-free emulsion polymerization. FT-IR and ¹H-NMR were used to analysis the structure and composition of microgels. UV-visible spectroscopy test showed that the low critical solution temperature (LCST) of microgels was 33.4℃. Measurements by light scattering technology (LLS/DLS) and transmission electron microscope (TEM) aimed to researched volume phase transformation behavior and it turned out that microgels were uniformly dispersed sphere, R_h and R_g both decreased as the temperature increased, and process of volume phase transformation was continuous.

Key words thermosensitive microgel, LCST, volume phase transformation

微凝胶是一种内部具有交联网络的胶体颗粒, 以溶胀的形式分散在液体介质中^[1-2], 一般粒径在 50nm~5μm 之间, 最早是由 Beker 等^[3]提出。其中, 环境响应型微凝胶得到极大的关注, 是近些年发展起来的智能材料。这类微凝胶会响应外界条件(例如温度^[4-5]、pH^[6-7]和光^[8]等)改变自身的理化性质, 在药物控释^[9-11]、生物物质分离^[8]和环境保护^[12-13]等方面得到广泛的应用。

温敏微凝胶能响应外界温度产生体积相转变行为, 是因为温敏微凝胶含有亲水和疏水两部分, 当温

度较低时, 亲水部分与水分子间形成强力的氢键作用, 微凝胶充分溶胀并稳定地分散在水中; 随着温度的升高, 亲水部分与水之间的氢键逐渐断裂, 变成疏水状态, 分子链间的疏水相互作用增强, 微凝胶发生相转变行为, 相转变温度也被称为低临界溶解温度^[14-15](LCST)。

本实验通过无皂乳液聚合法结合 N-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)和含半乳糖单体 6-O-乙烯基丁二酸-D-吡喃型半乳糖酯(OVSGal), 以 N,N-亚甲基丙烯酰胺(MBA)为交联剂, 制备了温敏微凝胶

作者简介: 蔡豪(1994-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为酶化学和生物材料。

联系人: 权静, 副教授。

P(NIPAM-co-OVSGal)。通过紫外光谱测得微凝胶的 LCST 为 33.4℃。通过光散射技术测试发现,微凝胶的流体力学半径(R_h)随温度的升高而减小。通过透射电子显微镜观察样品的形貌,发现微凝胶为均匀分散的球形。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

NIPAM、MBA 和过硫酸铵(APS)均为分析纯,来自麦克林生化科技有限公司;丁二酸、乙酸乙酯、半乳糖均,以及其余药品均为分析纯,来自国药集团化学试剂有限公司。

傅里叶变化红外光谱仪(FT-IR, Nicolet 6700),美国 Thermo Fisher 公司;核磁共振波谱仪($^1\text{H-NMR}$, Avance400 型),瑞士 Bruker 公司;紫外分光光度计(UV 3600),日本 Shimadzu 公司;透射电子显微镜(TEM, JEM-2100),日本 JEOL 公司;动态激光光散射仪(BI-200SM),美国 Brookhaven。

1.2 实验方法

1.2.1 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶的合成

经枯草杆菌酶催化的酶促反应制备了含糖单体 OVSGal^[16];称取 0.56g NIPAM、0.0031g MBA 和 0.153g OVSGal,放入 500mL 的三颈烧瓶中;再倒入 47.5mL 去离子水振荡溶解后,放入 2.5mL 的 0.5M 的 APS 溶液;最后放入搅拌子,封口,充入氮气 1h 后,升温至 60℃,反应 4h,整个过程都在氮气中进行;反应结束后,溶液颜色变为乳白色,在去离子水中透析 4d,去除未反应的单体;然后将透析后的产物冷冻干燥,得到乳白色的固体,即为目标产物 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶。具体合成路线如图 1 所示。

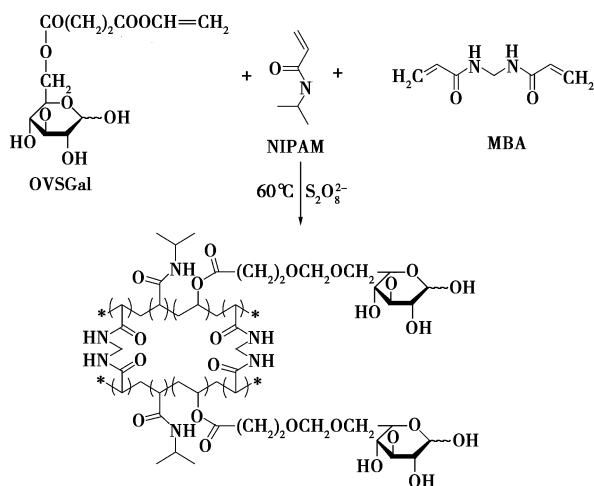


图 1 P(NIPAM-co-OVSGal)的合成路线图

1.2.2 FT-IR 表征

将反应单体 OVSGal、NIPAM 和产物 P(NIPAM-co-OVSGal),通过 FT-IR 进行表征。

1.2.3 $^1\text{H-NMR}$ 表征

分别称取 5mg 反应单体 OVSGal、NIPAM 和产物 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶,分别溶于 D_2O 、 CDCl_3 和二甲亚砜(DMSO)中,通过核磁共振波谱仪(400MHz)进行表征。

1.2.4 LCST 的测定

使用带有温控装置的紫外分光光度计,配制 1mg/mL 的 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶溶液,温度在 20~50℃ 范围内,检测波长为 500nm,测量吸光度强度随温度的变化,升温速率为 0.5℃/min。

1.2.5 动静态光散射测试

将 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶溶解于经 0.22 μm 滤膜纯化后的超纯水中,配制成 0.01mg/mL 的溶液,并加入到干净的样品瓶中。采用动态光散射可以测得微凝胶的 R_h ,测试条件:温度范围为 20~39℃,动态光散射的角度 $\theta = 55^\circ$,波长为 532nm。

1.2.6 TEM 表征

P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶的大小形貌可通过透射电子显微镜观察。取冷冻干燥的微凝胶固体配制成溶液状态,在 10000r/min 的条件下离心 5min,重复 3 次,去除杂质后配置成 0.25mg/mL 的稀溶液;再用 200 μL 的移液枪吸取 200 μL 的溶液滴在 300 目的铜网上,一组放置在室温下晾干,一组放置在 40℃ 下烘干;当液体介质充分挥发后,将得到的样品在透射电子显微镜下观察。

2 结果与讨论

2.1 FT-IR 分析

图 2 为 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶、含糖单体 OVSGal 和温敏单体 NIPAM 的 FT-IR 谱图。由图可见,在 NIPAM 的 FT-IR 谱图中,3282 cm^{-1} 是 N—H 的伸缩振动峰,1655 cm^{-1} 是缔合的 C=O 伸缩振动峰,1620 cm^{-1} 属于 C=C 的伸缩振动峰,1546 cm^{-1} 是 N—H 的面内振动峰。在 OVSGal 的 FT-IR 谱图中,3519 cm^{-1} 属于游离的 O—H 伸缩振动峰,3383 cm^{-1} 是缔合的 O—H 伸缩振动峰,1731 cm^{-1} 属于 C=O 伸缩振动峰,1646 cm^{-1} 属于 C=C 的伸缩振动峰。在 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶的 FT-IR 谱图中,属于 NIPAM 的 C=C 伸

伸缩振动峰 1620cm^{-1} 和属于 OVSGal 的 $\text{C}=\text{C}$ 伸缩振动峰 1646cm^{-1} 消失,而属于 NIPAM 的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰, $\text{N}-\text{H}$ 的伸缩振动峰和属于 OVSGal 的 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰,以及 $\text{O}-\text{H}$ 的伸缩振动峰依然存在,可以证明 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶成功合成。

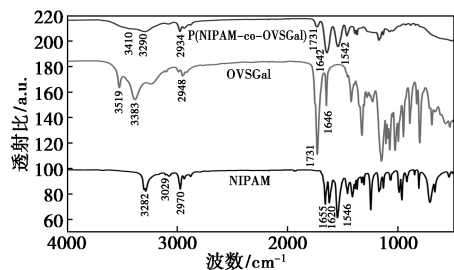


图2 P(NIPAM-co-OVSGal)、OVSGal 和 NIPAM 的 FT-IR 谱图

2.2 ^1H -NMR 分析

图3为含糖单体 OVSGal、温敏单体 NIPAM 和 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶的 ^1H -NMR 谱图。由图可见,在 NIPAM 的 ^1H -NMR 谱图中, $6.20(\text{dd}, 1\text{H}, -\text{CH}=\text{})$ 、 $6.02(\text{dd}, 2\text{H}, \text{CH}_2=)$ 、 $5.56(\text{dd}, 1\text{H}, -\text{NH}-)$ 、 $4.09(\text{m}, 1\text{H}, -\text{CH}-)$ 、 $1.13(\text{d}, 6\text{H}, -\text{CH}_3)$ 。OVSGal 的 ^1H -NMR 谱图中, $7.05(\text{dd}, 1\text{H}, -\text{CH}=\text{})$ 、 $5.12(\text{d}, 0.8\text{H}, 1-\text{H}\alpha)$ 、 $4.88(\text{dd}, 1\text{H}, \text{CH}_2=)$ 、 $4.61(\text{dd}, 1\text{H}, \text{CH}_2=)$ 、 $4.44\sim 3.35(\text{m}, 5\text{H}, \text{环糖的 } \alpha \text{ 和 } \beta \text{ 氢})$ 、 $2.66(\text{m}, 4\text{H}, -\text{CH}_2-\text{C}=\text{O})$ 。P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶的 ^1H -NMR 谱图中, $4.43\sim 3.36(\text{m}, 5\text{H}, \text{环糖的 } \alpha \text{ 和 } \beta \text{ 氢})$ 、 $1.13(\text{d}, 6\text{H}, -\text{CH}_3)$ 、 $2.68(\text{m}, 4\text{H}, -\text{CH}_2-\text{C}=\text{O})$,其中属于 NIPAM 的 $6.20(\text{dd},$

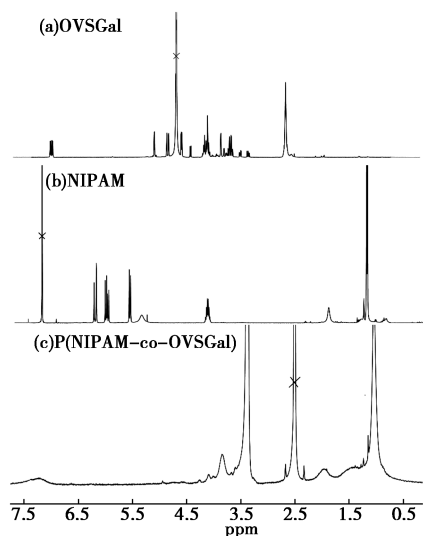


图3 OVSGal(a)、NIPAM(b)和 P(NIPAM-co-OVSGal)(c)的 ^1H -NMR 谱图

$1\text{H}, -\text{CH}=\text{})$ 和 $6.02(\text{dd}, 2\text{H}, \text{CH}_2=)$ 信号峰消失,属于 OVSGal 的 $7.05(\text{dd}, 1\text{H}, -\text{CH}=\text{})$ 、 $4.88(\text{dd}, 1\text{H}, \text{CH}_2=)$ 和 $4.61(\text{dd}, 1\text{H}, \text{CH}_2=)$ 信号峰也消失,可以证明 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶成功合成。

2.3 LCST 测定

通过紫外光谱得到吸光度随温度的变化曲线,定义微凝胶溶液最大透过率的 50% 为 LCST。如图4所示,微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal)的 LCST 值为 33.4°C 。当处于低温状态时,异丙基与溶剂水之间形成强力的分子间氢键,且微凝胶处于溶胀状态,微凝胶水复合体系与体相水之间折射指数差较小。随着温度不断上升,异丙基与溶剂水之间的氢键断裂,高分子链不断收缩,水被挤出凝胶网络,微凝胶由溶胀状态逐渐变为收缩状态,此时微凝胶水复合体系与体相水之间折射指数差增加,浊度变大,溶液的吸光度随之变大,因此微凝胶的 LCST 值与微凝胶的溶胀率有很大关系^[17]。

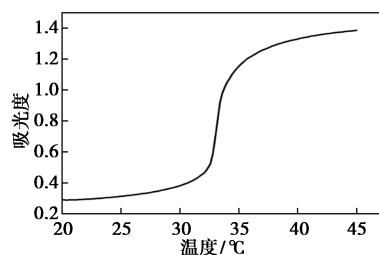


图4 P(NIPAM-co-OVSGal)微凝胶水溶液在 500nm 处吸光度曲线

2.4 动静态光散射测试

图5为微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal)的 R_h 随温度的变化曲线。从图中可以看出,在低温状态下,微凝胶处于溶胀状态, $R_h = 513\text{nm}$;随着温度的升高,微凝胶坍塌,粒径向低尺寸移动, 39°C 时的 $R_h = 200\text{nm}$,粒径在 39°C 达到平衡。

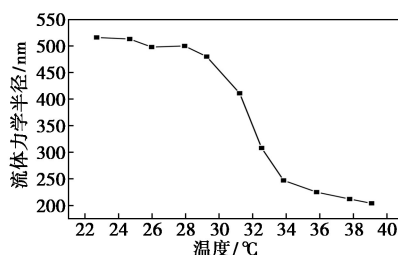


图5 微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal)的 R_h 随温度变化曲线

图6是微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal)的均方

旋转半径(R_g)随温度的变化曲线,由图可见, R_g 随着温度的升高而减小;当温度低于 30°C 时, R_h 随温度的上升略微减小,而 R_g 却大幅度减小(图 5)。这是因为随着温度的升高微凝胶内部缠绕的链出现一定程度的坍塌,导致 R_g 明显变小,而外层悬挂的微凝胶链使得 R_h 略微减小。结合 R_g 和 R_h 随温度变化情况,说明微凝胶具有良好的温度响应性,且相转变是个连续的过程,表现为微凝胶内部脱水。根据 R_g/R_h 的比值,可以判断微凝胶的形貌。在低温条件下, R_g/R_h 值在 0.8 附近,可以判断微凝胶的形貌为实心球;在高温条件下, R_g/R_h 值在 1.0~1.2 之间,可以判断微凝胶的形貌为空心球。

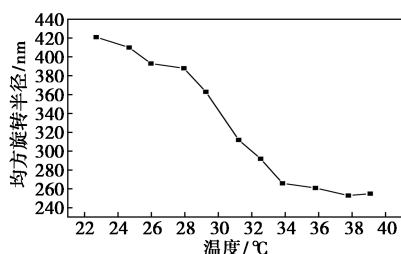


图 6 微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal)的 R_g 随温度的变化曲线

2.5 TEM 测试

图 7 是浓度为 0.2mg/mL 的微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal)溶液的 TEM 图,由图可见,当温度为 25°C 时[图 7(a)],微凝胶处于溶胀状态,粒径在 800nm 左右,且微凝胶的形貌为实心球,比光散射测量的粒径要小。这主要是因为 TEM 制样过程中会有水分蒸发,这与上述光散射测试的结论一致。当温度为 40°C 时[图 7(b)],微凝胶的粒径明显减小,粒径大概为 400nm ,与上述光散射测试的结论基本一致。

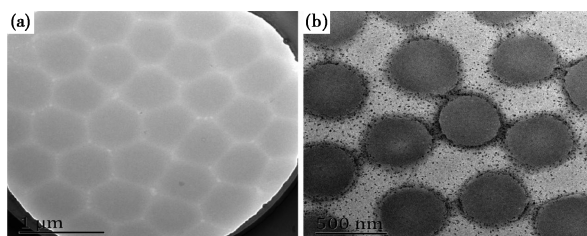


图 7 微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal)的 TEM 图
[(a) 25°C ; (b) 40°C]

3 结论

通过无皂乳液聚合的方法以 MBA 为交联剂,将温敏单体 NIPAM 和含糖单体 OVSGal 控制合成

了温敏微凝胶 P(NIPAM-co-OVSGal)。结果表明,微凝胶具有良好的温敏性,且 LCST 值为 33.4°C ,低温状态时,微凝胶为均匀分散的球形;随着温度的升高,粒径减小,说明微凝胶的相转变是个连续变化的过程。这种温敏含糖微凝胶在药物控释和生物物质分离方面具有潜在的应用价值。

参考文献

- [1] Xing S, Guan Y, Zhang Y. Kinetics of glucose-induced swelling of P(NIPAM-AAPBA) microgels[J]. *Macromolecules*, 2011, 44(11): 4479-4486.
- [2] Hoffman A S. Hydrogels for biomedical applications[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2012, 64: 18-23.
- [3] Baker W O. Microgel, A new macromolecule [J]. *Indeng Chem*, 1949, 41(3): 511-520.
- [4] Wu T Y, Zrimsek A B, Bykov S V, et al. Hydrophobic collapse initiates the poly (n-isopropylacrylamide) volume phase transition reaction coordinate[J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2018, 122(11): 3008-3014.
- [5] Simpson M J, Corbett B, Arezina A, et al. Narrowly dispersed, degradable, and scalable poly (oligoethylene glycol methacrylate)-based nanogels via thermal self-assembly[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2018, 57 (22): 7495-7506.
- [6] Rasib S Z M, Ahmad Z, Khan A, et al. Synthesis and evaluation on pH- and temperature-responsive chitosan-p(MAA-co-NIPAM) hydrogels [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 108: 367-375.
- [7] Raghupathi K, Skinner M, Chang G, et al. Hyaluronic acid microgels as intracellular endosomolysis reagents[J]. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2018, 4(2): 558:565.
- [8] Tamesue S, Abe S, Mitsumata T, et al. Photo-triggered microgel aggregation using o-nitrobenzaldehyde as aggregating power source[J]. *Journal of Polymer Science Part A Polymer Chemistry*, 2016, 54(10): 1317-1322.
- [9] Xu W, Zhang Y, Gao Y, et al. Electrically triggered small molecule release from Poly (N-isopropylacrylamide-co-Acrylic Acid) microgel-modified electrodes[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(15): 13124-13129.
- [10] Wu C H, Sun M K, Shieh J, et al. Ultrasound-responsive NIPAM-based hydrogels with tunable profile of controlled release of large molecules[J]. *Ultrasonics*, 2018, 83: 157-163.
- [11] Rahmani Z, Sahraei R, Ghaemy M. Preparation of spherical porous hydrogel beads based on ion-crosslinked gum tragacanth and graphene oxide; study of drug delivery behavior[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 194: 34-42.

(下转第 148 页)