

球形印迹交联壳聚糖聚合物的制备及其对尿素的吸附性能研究

程苑,周玉迪,梁冰

(四川大学化学工程学院,四川成都610065)

摘要:采用乳液聚合法制备了球形尿素-壳聚糖分子印迹聚合物。通过正交试验优化了印迹聚合物的制备条件:在乙酸体积分数为2%,戊二醛用量为1 mL,转速为900 r/min,模板分子用量为3 g的条件下制备的印迹聚合物对尿素的吸附量为7.16 mg/g,非印迹聚合物对尿素的吸附量为3.84 mg/g。聚合物的红外图谱研究表明,戊二醛参与了交联反应且模板分子尿素被印迹在聚合物上,聚合物经洗脱后模板分子被基本除去。分子印迹聚合物表面具有均一选择性的吸附位点,最大表现吸附量为9.69 mg/g。

关键词:尿素;分子印迹聚合物;正交实验;吸附特性

中图分类号:TQ317

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2014)04-0078-03

Preparation of molecular imprinted crosslinked polymers and their adsorption characteristics of urea

CHENG Yuan, ZHOU Yu-di, LIANG Bing

(School of Chemical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: A molecularly imprinted polymer (MIP) material is prepared by emulsification crosslinking method. On the basis of orthogonal design, the best preparation conditions are determined as follows: 2% of acetic acid volume fraction, 1 mL of glutaraldehyde, 900 r/min of rotation speed and 3 g of template molecule. Under the optimum conditions, the molecular imprinted and non-printed polymers show the maximum adsorption capacity of 7.16 mg/g and 3.84 mg/g for urea, respectively. IR analysis confirms the crosslinking reactions and specific adsorption of the MIP. There are homogeneous selectivity adsorption sites on the surface of MIP and its maximum apparent adsorption capacity is 9.69 mg/g.

Key words: urea; molecularly imprinted polymer; orthogonal design; adsorption characteristics

分子印迹聚合物(Molecular Imprinted Polymer, MIP)是通过分子印迹技术制备的空间结构和结合位点上与印迹分子完全匹配的聚合物吸附材料,具有与天然抗体同样的识别性能和与高分子同样的抗腐蚀性能的双重优点,因而广泛应用于生物工程、临床医学、环境监测、食品工业等领域^[1-2]。

尿素是肾功能衰竭和尿毒症患者血液中存积的主要毒性成分,高效地清除尿素一直是生物医药领域中人工肾和口服尿素吸附剂研究的重要课题。目前,常见的除去尿素的方法有:①活性炭吸附法,该方法的缺点是用作人工肾材料时,微碳粒易脱落,有造成人体内栓塞的危险;②利用氧化纤维素、氧化淀粉等高分子吸附剂直接吸附尿素分子,氧化淀粉或氧化纤维素是其分子上的醛基与肠道氮氨结合成为席夫碱刺激肠壁,服药后表现为腹痛、腹泻等副作用^[3];③壳聚糖-Zn、Fe、Mn、Cu等金属配合物作为尿素的吸附剂近年来有较多报道^[4-6],金属配合物对尿素的吸附量较高,但在实际临床血液透析时须在患者血液中形成相应的尿素-金属离子配合物,

局限性较大,且金属元素对人体的毒副作用还有待考查。由于常规的吸附剂存在吸附容量低、选择吸附性差、生物和血液相容性不好等缺点,因此,尿素吸附剂的研究一直未能取得突破性进展。故设计合成出一种具有高吸附性、无毒副作用、生物血液相容性好、选择性高的新型尿素吸附剂是亟待解决的新课题。

壳聚糖(Chitosan, CTS)是一种性能优良的天然高分子材料,具有无毒、杀菌抑菌、增强免疫力等功能^[7-8],其分子中有大量活性的氨基、羟基基团。笔者利用乳液聚合法,以尿素为模板分子,壳聚糖为功能载体,戊二醛为交联剂,液体石蜡为分散介质,司盘-80为乳化剂制备出对尿素具有较强吸附性能性的交联壳聚糖印迹聚合物。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

80-2离心机,上海医疗仪器厂生产;WH-2微型漩涡混合仪,上海泸西分析仪器厂生产;KQ2200

型超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司生产; TU-1901 双光束紫外分光光度计,北京普析通用仪器有限公司生产;傅里叶—红外光谱仪(1700型),美国PE公司生产;DZF-6050 真空干燥箱,上海精宏实验设备公司生产;ALC-210.4 电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司生产;NikonE100 光学显微镜;Canon A650 相机。壳聚糖,脱乙酰度 89%,80 目,广州凯利生物制品厂生产;尿素,AR,成都科龙化工试剂厂生产;对二甲氨基苯甲醛,AR,成都科龙化工试剂厂生产;戊二醛,AR,成都科龙化工试剂厂生产;无水乙醇、乙酸等试剂均为分析纯。

1.2 印迹壳聚糖微球的制备

称取 2 g 壳聚糖溶于 100 mL 体积分数为 2% 的冰醋酸溶液中,配制成质量分数为 2% 的壳聚糖溶液。其次,合成乳化体系,量取 20 mL 壳聚糖溶液,加入一定量模板分子尿素,混合均匀待用;将一定体积比的司盘-80 加入 100 mL 液体石蜡中,搅拌均匀后,将备用壳聚糖溶液缓慢加入其中,在 40℃ 恒温水浴中搅拌 1 h,整个乳化过程搅拌速度保持在 700~1 100 r/min,以使体系均匀。然后,向乳化体系中加入一定量交联剂戊二醛,40℃ 恒温水浴条件下反应 30 min,后升温至 60℃ 充分搅拌反应 1 h。交联反应结束后,静置 3~6 h,待完全分层后除去上层清液,下层物质分别用石油醚和异丙醇洗涤 3 次,然后在 50℃ 烘干箱中烘干 12 h,即得到黄褐色壳聚糖微球。

非印迹微球除不加模板分子尿素外,制备方法同上。

1.3 印迹壳聚糖微球吸附实验

称取一组等量印迹聚合物和空白聚合物颗粒 100 mg,分别置于 5 mL 试管中,依次加入 2 mL 已知质量浓度的尿素水溶液(质量浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL),调节 pH 至 7 左右,密封,于 20℃ 条件下静置 6 h(每 30 min 涡旋 1 次),以确保吸附平衡,然后将此混合物转入离心机中以 3 000 r/min 离心 5 min。移取 1 mL 上清液,紫外测定吸附后溶液中尿素浓度,根据吸附前后溶液中尿素浓度的变化计算聚合物对尿素的吸附量^[9]。

1.4 壳聚糖印迹微球性能表征

1.4.1 形态表征

取少量印迹交联壳聚糖微球置于 10 mL 试管中,加入蒸馏水,漩涡使其充分混合。然后各取 1 滴置于载玻片上,盖上盖玻片,用 Nikon E100 光学显微镜—Canon 摄像系统观察各颗粒的形状。

1.4.2 红外光谱分析

采用 KBr 压片法制样,用红外光谱仪对壳聚糖原料、印迹交联壳聚糖微球、非印迹交联壳聚糖微球及洗脱后的印迹微球进行红外光谱分析。

1.4.3 交联度测试

准确称取一定质量 W_1 微球,置于 50 mL 体积分数为 0.5% 的冰乙酸溶液中 24 h,过滤后将得到的微球烘干至恒重,质量为 W_2 。交联度的计算公式为:

$$C = (W_2/W_1) \times 100\% \quad (1)$$

1.5 正交实验设计

对影响印迹微球制备的因素乙酸体积分数(A)、戊二醛用量(B)、转速(C)、模板分子用量(D)进行正交设计,各因素分别取三个水平,研究上述因素对印迹微球吸附量的影响。

2 结果与讨论

2.1 壳聚糖印迹微球形貌分析

在光学显微下观察合成的 MIP 微球发现,制备的微球粒径分布均匀,分散良好,分布在 50~100 μm 之间。成功地用悬浮聚合法制得球形印迹聚合物。

2.2 红外光谱分析

壳聚糖原料红外谱线中,3 448 cm^{-1} 处是壳聚糖— NH_2 峰,1 066 cm^{-1} 处是伯醇和仲醇 O—C 伸缩振动峰,900 cm^{-1} 附近是典型的 β -D-吡喃苷的特征峰。壳聚糖印迹微球除保留了壳聚糖原有的特征吸收峰外,在 1 637 cm^{-1} 附近处出现了 Schiff 键的—C=N—伸缩振动峰,说明戊二醛参与了交联反应。印迹聚合物谱图中,3 500 cm^{-1} 附近为尿素分子中 N—H 伸缩振动峰,而原料壳聚糖与空白聚合物谱图均无此峰,验证了模板分子尿素被成功印迹在聚合物上。洗脱后的印迹聚合物与非印迹聚合物的峰型及强度基本一致,说明印迹聚合物中的模板分子尿素已被基本除去。

2.3 交联度测试

壳聚糖的化学交联反应主要是在分子间发生,也可在分子内发生;可发生在同一直链的不同链节之间,也可发生在不同直链间。壳聚糖的化学交联通常是在双官能团的醛或酸酐等交联剂的作用下进行,主要是醛基与氨基生成席夫碱结构,反应可在均相或非均相条件下,在较宽的 pH 范围内迅速进行,交联化产物性质稳定,一般具有较强的耐酸碱性。

将正交择优条件下制备的印迹微球进行交联度

测试。平行测定 3 次,印迹微球的交联度均值为 88.4%,表明对壳聚糖的交联改性较为成功,改善了壳聚糖不耐酸碱的特点,应用价值得到了提高。

2.4 正交试验结果

正交试验结果如表 1 所示。

表 1 正交试验结果与分析

| 试验号 | 乙酸体积 分数 (A)/% | 戊二醛 用量 (B)/mL | 转速(C)/ (r·min ⁻¹) | 模板分子 用量 (D)/g | 吸附量/ (mg·g ⁻¹) |
|----------------|---|---------------------|----------------------------------|---------------------|-------------------------------|
| 1 | 1 | 1.5 | 700 | 2 | 3.07 |
| 2 | 1 | 2 | 900 | 2.5 | 6.38 |
| 3 | 1 | 2.5 | 1100 | 3 | 6.57 |
| 4 | 2 | 1.5 | 900 | 3 | 6.66 |
| 5 | 2 | 2 | 1100 | 2 | 5.03 |
| 6 | 2 | 2.5 | 700 | 2.5 | 5.21 |
| 7 | 3 | 1.5 | 1100 | 2.5 | 3.47 |
| 8 | 3 | 2 | 700 | 3 | 3.36 |
| 9 | 3 | 2.5 | 900 | 2 | 4.63 |
| K ₁ | 5.34 | 4.39 | 3.88 | 4.25 | |
| K ₂ | 5.63 | 4.93 | 5.89 | 5.02 | |
| K ₃ | 3.82 | 5.47 | 5.02 | 5.53 | |
| 极差 R | 1.81 | 1.07 | 2.01 | 1.28 | |
| 因素主→次 | CADB | | | | |
| 优方案 | C ₂ A ₂ D ₃ B ₃ | | | | |

通过表 1 的极差分析与因素指标可以看出,4 个因素对吸附量的影响的主次是 C > A > D > B,即转速对吸附量的影响最为显著,其后依次为乙酸体积分数、模板分子用量、交联剂用量。最佳工艺条件为:C₂A₂D₃B₃,即冰乙酸体积分数为 2%,戊二醛用量 2.5 mL,转速为 900 r/min,模板分子用量为 3 g。在最佳条件下制备的印迹微球对尿素的吸附量为 7.16 mg/g,非印迹微球对尿素的吸附量为 3.84 mg/g。

2.5 尿素初始质量浓度对吸附的影响

尿素初始质量浓度对吸附的影响如图 1 所示。

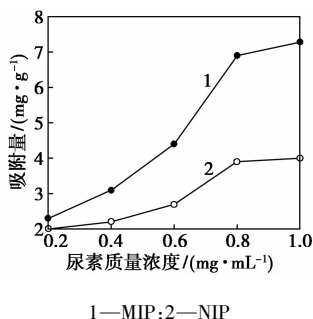


图 1 尿素初始质量浓度对吸附的影响

由图 1 可知,随着尿素初始质量浓度的增加,聚合物对模板分子尿素的吸附量也随之增加。印迹聚合物较非印迹聚合物的吸附量增加更为显著,也验证了印迹聚合物对模板分子的特异性吸附能力。

2.6 尿素溶液 pH 对吸附的影响

吸附时溶液 pH 对吸附的影响如图 2 所示。由图 2 可知,随着 pH 的增大,聚合物的吸附量增大,当 pH 为 6~7 左右时,聚合物对尿素的吸附量达到最大。此后随着 pH 的增大,聚合物对尿素的吸附量减小。

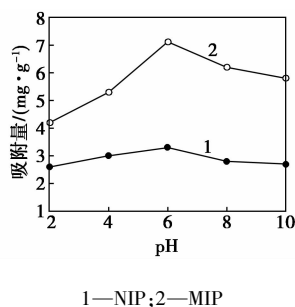


图 2 尿素溶液 pH 对吸附量的影响

2.7 Scatchard 模型分析

对 MIP 的实验数据进行 Scatchard 分析,以 Q/C 对 Q 作图如图 5 所示, $Q/C = 47.97.27 - 4.95Q$, $R^2 = 0.958$ 为一线性方程,说明 MIP 表面具有均一选择性的吸附位点。根据斜率和截距可以求得吸附位点的平衡解离常数 $K_d = 0.202$ mg/mL,最大表观吸附量 $Q_{\max} = 9.69$ mg/g。

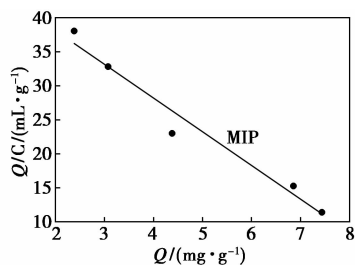


图 3 评价 MIP 亲和特性的 Scatchard 图

3 结论

采用乳液聚合法制备了球形尿素-壳聚糖分子印迹聚合物。以尿素为模板分子,壳聚糖为功能载体,戊二醛为交联剂,液体石蜡为分散介质,司盘-80 为乳化剂制备了印迹交联壳聚糖微球。对壳聚糖印迹微球性能进行了表征,优化了印迹微球的制备与吸附条件。提出了一种生物相容性及血液相容性好、吸附性较强的尿素吸附材料的制备方法。

(下转第 82 页)

FeCl₃·6H₂O, AR, 西安三浦精细化工厂生产; NaOH, AR, 西安化学试剂厂生产; 油酸, AR, 天津市北辰方正化工试剂厂生产; 罗丹明 B (RhB), AR, 上海试剂三厂生产; 明胶, CR, 郑州超凡化工产品有限公司生产; 丙酮, AR, 天津市科密欧化学试剂有限公司生产; 次甲基蓝, AR, 天津科密欧化学试剂有限公司生产; 二乙烯基苯 (DVB), CR, 百灵威科技有限公司生产; 正庚烷, AR, 天津福晨化工试剂厂生产; 过氧化苯甲酰 (BPO), AR, 上海山浦化工有限公司生产; 实验过程所用水均为艾科浦公司 AJY-2002-U 型超纯水机制取的超纯水。

1.2 实验方法

1.2.1 亲油性 Fe₃O₄ 纳米粒子的制备

亲油性 Fe₃O₄ 纳米粒子采用油酸同步修饰共沉淀法制备^[12], 具体过程如下: 称取 6.5 g 的 FeSO₄·7H₂O 和 9 g 的 FeCl₃·6H₂O, 充分溶于 150 mL 的水中, 并加入到 500 mL 的三口瓶中, 加热至 60℃; 然后将 6.0 g 的 NaOH 溶解在 80 mL 水中加入到体系中, 高速搅拌并加入 6.0 g 的油酸, 保温 30 min, 升温至 90℃ 保温熟化 45 min。冷却至室温后, 油酸修饰的磁性纳米粒子用正庚烷分散出来, 调节固含量为 10%, 密封储存备用。

1.2.2 Fe₃O₄/PDVB 磁性复合微球的制备

悬浮聚合制备 Fe₃O₄/PDVB 磁性复合微球的过程如下^[13]: 向 1 L 的三口瓶中加入 400 mL 质量分数为 1.5% 的明胶水溶液, 并向其中加入 4 mL 质量分数为 1% 的次甲基蓝水溶液配成水相; 称取 0.25 g 的 BPO 溶解于 100 g DVB 中, 再向其中加入 15.00 g 油酸修饰的 Fe₃O₄ 纳米粒子, 并使其均匀分散, 将混合均匀的油相加入三口瓶中, 开启搅拌, 转速为 350 r/min, 升温到 85℃ 后反应 8 h, 磁分离得到复合微球。该微球经热水洗、干燥后得到 Fe₃O₄/PDVB 磁性复合微球。

1.2.3 Fe₃O₄/C 磁性复合微球的制备

将制备得到的 Fe₃O₄/DVB 磁性复合微球装在石英舟中, 放入马弗炉并以 4℃/min 的升温速度加热到 500℃, 保温反应 4 h, 反应结束后, 随炉冷却至室温, 即得 Fe₃O₄/C 磁性复合微球, 煅烧及冷却过程均在氮气氛围下进行。

1.2.4 Fe₃O₄/C 磁性复合微球对 RhB 的吸附

称取 150 mg 的 Fe₃O₄/C 磁性复合微球加入到 50 mL 的 RhB 溶液 (0.028 mmol, 测得其最大吸收波长 λ_{max} = 551 nm) 中, 一定时间间隔取悬浮液磁分离去除 Fe₃O₄/C 磁性复合微球的上清液进行吸光度测量。吸附率:

$$\xi(\%) = [(A_0 - A)/A_0] \times 100\%$$

其中, A₀ 为初始溶液吸光度值, A 为降解后溶液吸光度值。

1.3 表征

热失重分析 (TGA) 在 Q50 热分析仪 (美国 TA 公司生产) 上测定, 升温速率为 10℃/min, 氧气氛围下进行; 磁性能测试 (VSM) 在 LakeShore 7307 型振动样品磁强计 (美国 LakeShore 公司生产) 上进行, 于 -10 ~ 10 KOe 之间室温下测定; 扫描电子显微镜测试在日本电子株式会社生产的 JSM-6700F 型扫描电镜上进行; XRD-6000 型 X 射线衍射仪, 日本岛津公司生产; 紫外光谱及吸光度数据由北京莱伯泰科仪器有限公司生产的 BlueStar 紫外可见光谱仪 (检测波长 λ 范围: 190 ~ 1100 nm, 双光路, 六联池) 测得。

2 结果与讨论

2.1 Fe₃O₄/C 磁性复合微球的形貌表征

油酸修饰 Fe₃O₄ 纳米粒子、Fe₃O₄/DVB 磁性复合微球、Fe₃O₄/C 磁性复合微球的电镜照片如图 1 所示。由图 1(a) 可以看出, 所制备的 Fe₃O₄ 纳米粒

(上接第 80 页)

参考文献

- [1] 姜忠义, 吴洪. 分子印迹技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 1-117.
- [2] Vlatakis G, Andersson L I, Muller R, et al. Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting [J]. Biosensors & Bioelectronics, 1993, 361: 645-647.
- [3] 虞頌庭, 翁铭庆. 生物医学工程的基础与临床 [M]. 天津: 天津科学技术出版社, 1988: 271.
- [4] 何炳林, 赵晓斌. 高分子金属络合物配位吸附尿素分子的研究

[J]. 中国科学, 1993, 23(6): 567-574.

- [5] Li Y, Chen X G, Liu N, et al. Physicochemical characterization and antibacterial property of chitosan acetates [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, (67): 227-232.
- [6] Lang H P, Zhang X J. Synthesis of complexes of different molecular weights chitosan-Fe and their sorption capability of urea [J]. Food Science, 2005, (3): 31-34.
- [7] 陈天, 张晓红, 郭荣. 壳聚糖的表面活性和聚集 [J]. 物理化学学报, 2000, 11(16): 1039-1042.
- [8] 付秀娟, 壳聚糖应用近况 [J]. 食品与药品, 2005, 7(8A): 67-69.
- [9] 吴章, 孔凡玲. 深度水解液中微量尿素的测定 [J]. 四川化工, 2004, 7(5): 3. ■