

三甲胺修饰戊二醛交联壳聚糖树脂的制备及其吸附性能

白林山¹ 冯长根¹ 任启生²

(1. 北京理工大学新医药开发研究中心, 北京 100081; 2. 北京江中药物研究所, 北京 100050)

摘要:用水相均匀交联法制备戊二醛交联壳聚糖树脂,以三聚氰氨为活化剂,合成了三甲胺修饰戊二醛交联壳聚糖树脂,研究了该树脂的红外光谱特征及吸附性能。该树脂对铜(II)和牛血清白蛋白(BSA)的吸附容量分别为 37 mg/g 和 460 mg/g(以折合干重计),其吸附行为符合 Freundlich 等温吸附模型。该树脂制备工艺简单,可作为蛋白质分离纯化的吸附剂。

关键词:壳聚糖;戊二醛;三甲胺;三聚氰氨;吸附作用;红外光谱

中图分类号:O636.1

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2003)08-0028-04

Preparation and properties of trimethylamine modified glutaraldehyde-crosslinked chitosan resin activated with cyanuric chloride

BAI Lin-shan¹, FENG Chang-gen¹, REN Qi-sheng²

(1. Center of Research and Development for New Pharmaceuticals, Beijing Institute of Technology, Beijing 100081, China;

2. Beijing Jiangzhong Institute of Pharmaceuticals, Beijing 100050, China)

Abstract: The preparation and characterization of trimethylamine modified glutaraldehyde-crosslinked chitosan resin activated with cyanuric chloride, and its infrared spectral properties were studied. The adsorption capacity of the modified crosslinked chitosan resin to copper (II) and bovine serum albumin (BSA) was 37 mg/g (dry weight) and 460 mg/g (dry weight), respectively. The adsorptive were correlated by the Freundlich isotherm equation. The resin has good mechanical strength, and can be used for the separation and purification of proteins.

Key words: chitosan; glutaraldehyde; trimethylamine; cyanuric chloride; adsorption; infrared spectroscopy

蛋白质分离纯化常用的琼脂糖、葡聚糖等填料,价格昂贵,且制备时须使用溴化氰等剧毒试剂。壳聚糖资源丰富,分子中含有大量易于衍生化的氨基和羟基,可与戊二醛、环氧氯丙烷等反应,制得具有各种不同吸附性能的多孔性材料,可用于蛋白质的分离纯化^[1-2]。季铵化改性壳聚糖的研究曾有报道^[3]。三聚氰氨分子中有 3 个活泼氯原子,可通过控制反应温度进行分步亲核取代反应,曾用于酶的固定化^[4]和色谱填料的修饰^[5-6]。笔者采用水相均匀交联法^[7]制备戊二醛交联壳聚糖树脂,以三聚氰氨为活化剂,合成了三甲胺改性戊二醛交联壳聚糖树脂,研究了该树脂的红外光谱特征及其对铜(II)和牛血清白蛋白(BSA)的吸附作用。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

壳聚糖,医药级,脱乙酰度 90.23%,黏度 55 mPa·s,相对分子质量约 95 万,浙江玉环县海洋生物化学有限公司。戊二醛,质量分数 50%水溶液,AR,北通化工厂进口分装;三聚氰氨,纯度 99%,营口三征有机化工有限公司;三甲胺,质量分数 33%水溶液,AR,北京金龙化学试剂有限公司。双环己酮草酰二脲(BCO),AR,军事医学科学院药材供应站,称取 0.5 g BCO 溶于 100 mL 乙醇和 200 mL 热水中,以水稀释至 1 L;牛血清白蛋白,华美生物工程公司,4 mg/mL 水溶液。其他试剂均为分析纯。

收稿日期:2003-05-07

作者简介:白林山(1963-),男,博士,副教授,主要从事应用化学和药物化学方面的研究;冯长根(1953-),男,博士,教授,博导,主要从事物理化学方面的研究,通讯联系人,010-68912764, cefeng@95777.com。

FTIR 光谱仪, Spectrum One 型, 美国 Perkin Elmer; 紫外可见分光光度计, Cintra 10 型, 澳大利亚 GBC Scientific Instruments。

1.2 实验方法

1.2.1 交联壳聚糖的制备、活化及修饰

称取 10 g 壳聚糖于 1 L 烧杯中, 加入 500 mL 质量分数 1% 的 HAc, 搅拌溶解。加入 100 mL 质量分数 1% 的戊二醛溶液(用时配制), 搅拌至凝胶析出, 室温反应 6 h。加入约 110 mL 质量分数 4% 的 NaOH 溶液, 调节至 pH 值 8~10, 使凝胶沉淀, 用高速组织捣碎机捣碎 1 min, 置于 50℃ 水浴加热 2 h。过滤、洗涤至中性。

移入 500 mL 锥形瓶中, 加入 50 mL 蒸馏水, 冷却至 0~5℃, 加入 100 mL 已冷却至 0~5℃ 的质量分数 3% 的三聚氯氰丙酮溶液(用时配制), 加入 2 g NaHCO₃, 搅拌溶解, 0~5℃ 下反应活化 1 h, 用冰水过滤、洗涤至中性。加入 100 mL 蒸馏水, 10 mL 质量分数 33% 三甲胺溶液, 搅拌均匀, 置于 40℃ 水浴中反应 16 h, 56℃ 水浴中反应 5 h。抽滤、洗涤至中性。

1.2.2 产品测试

红外光谱分析在 Spectrum One 型 FTIR 光谱仪上进行测试, KBr 压片法, 样品于 55℃ 烘干, 置于干燥器中冷却至室温。

称取 3 g 湿态三甲胺修饰交联壳聚糖树脂, 于 55℃ 烘干至恒重, 计算树脂含水量。

Cu(II) 吸附性的测定用改进的 BCO 光度法^[8]。

1.2.3 三甲胺修饰交联壳聚糖对铜(II)吸附实验

称取 0.1 g 湿态三甲胺修饰交联壳聚糖(交联度 10%, 含水率 87.24%) 于 100 mL 聚乙烯瓶中, 加入含 0~12 mL 铜(II)溶液(0.5 mg/mL), 加水至 20 mL, 密封, 置于 25℃ 恒温振荡器中, 120 r/min 振

12 h。过滤, 滤液稀至 100 mL, 分取 1~10 mL 滤液于 20 mL 比色管中, 用 BCO 光度法测定 Cu(II) 吸附量(Q_{Cu} , 以折合干重计)。

1.2.4 三甲胺修饰交联壳聚糖对 BSA 吸附实验

称取 0.1 g 湿态三甲胺修饰交联壳聚糖于 100 mL 聚乙烯瓶中, 加入 4 mL BSA 溶液(4 mg/mL), 加水至 20 mL, 密封, 置于 25℃ 恒温振荡器中, 120 r/min 振摇 12 h, 静置或离心分离, 取清液, 用 1 cm 石英比色皿于 280 nm 波长处测定吸光度^[5], 计算 BSA 吸附量(Q_{BSA} , 以折合干重计)。

2 结果与讨论

2.1 交联壳聚糖的制备、活化及修饰

壳聚糖的非均相交联反应主要在凝胶表面进行, 交联不均匀, 产物机械性能较差, 吸附量较低^[7]。反相悬液交联法^[9]可获得吸附性能较好的大孔微球形交联壳聚糖, 但因使用有机溶剂, 后处理较繁琐。笔者选用 HAc(质量分数 1% 的溶液)溶解壳聚糖, 用戊二醛稀溶液(质量分数 1.0%~1.5%)进行较均匀的交联。实验表明, 随着交联度提高, 产物对金属离子和 BSA 的吸附能力逐渐降低, 当交联度在 20% 以上时, 产物基本无吸附能力。交联度低于 10% 时, 产物机械性能较差。该实验选择交联度为 10%~15%。

按文献^[5]方法, 在 0~5℃ 冰浴条件下, 加入质量分数 3% 的三聚氯氰丙酮溶液于交联壳聚糖中, 活化 1 h, 用冰水抽滤、洗涤至中性。加入 10 mL 质量分数 33% 的三甲胺溶液, 置于 40℃ 水浴反应 16 h, 56℃ 水浴反应 5 h, 抽滤、洗涤得成品。实验发现, 若温度高于 58℃, 活化产物中的三聚氯氰可使壳聚糖树脂产生进一步交联, 使产物吸附容量降低。试验控制温度在 56℃ 以下。主要反应过程为:

(上接第 27 页)

[5] 宋谋道, 余艺华, 张邦华, 等. [J]. 离子交换与吸附, 1995, 11(3): 245-252.

[6] Ajioka M, Suizu C, Higuchi C, et al. [J]. Polymer Degradation and Stability, 1998, 59: 137-143.

[7] Wang N, Wu X S, Lujan-Upton, H, et al. [J]. Polymeric Materials Science and Engineering, 1997, 76: 373-374.

[8] 汪朝阳, 赵耀明, 麦杭珍, 等. [J]. 合成纤维, 2002, 31(2): 11-13.

[9] 汪朝阳, 赵耀明, 麦杭珍, 等. [J]. 材料科学与工程, 2002, 20(3): 403-406.

[10] 汪朝阳, 赵耀明, 王浚, 等. [J]. 功能高分子学报, 2002, 15(4): 377-382.

[11] 赵耀明, 黄俊豪, 陈军武, 等. [J]. 合成纤维工业, 1997, 20(4): 1-4.

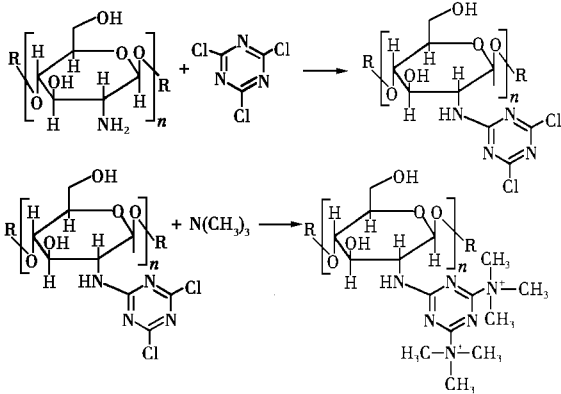
[12] 麦杭珍, 汪朝阳, 赵耀明, 等. [J]. 化学研究与应用, 2002, 14(5): 534-536.

[13] Moon S I, Lee C W, Miyamoto M, et al. [J]. Polym Sci, Part A: Polym Chem, 2000, 38(9): 1673-1679.

[14] Gilding D K, Reed A M. [J]. Polymer, 1979, 20: 1459-1464.

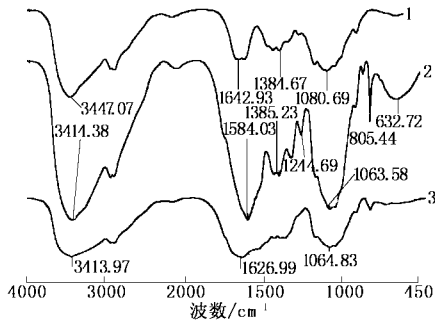
[15] Wang N, Wu X S. [J]. Polymer Preprints, 1997, 38(2): 568-569.

[16] Li J K, Wang N, Wu X S. [J]. Polymer Preprints, 1997, 38(2): 604-605. ■



2.2 三甲胺修饰交联壳聚糖的红外光谱

由图 1 可知,戊二醛交联壳聚糖在 $3\ 447\ \text{cm}^{-1}$ 附近出现较宽的 O—H 和 N—H 伸缩振动吸收峰。在 $2\ 930$ 和 $2\ 873\ \text{cm}^{-1}$ 出现 C—H 伸缩振动吸收峰,在 $1\ 390$ 和 $1\ 384\ \text{cm}^{-1}$ 出现 C—H 弯曲振动吸收峰。在 $1\ 659$ 、 $1\ 580$ 和 $1\ 310\ \text{cm}^{-1}$ 分别出现酰胺 I、II、III 吸收峰。在 $1\ 642\ \text{cm}^{-1}$ 出现 Schiff 碱 C=N 伸缩振动吸收峰。在 $1\ 155\ \text{cm}^{-1}$ 出现糖苷键 C—O—C 伸缩振动吸收峰。在 $1\ 038$ 和 $1\ 080\ \text{cm}^{-1}$ 分别出现 C—OH 伸缩振动吸收峰^[10]。



1—交联壳聚糖;2—三聚氯氨活化交联壳聚糖;
3—三甲胺修饰交联壳聚糖

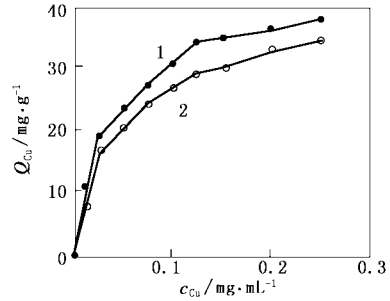
图 1 壳聚糖衍生物的红外光谱

三聚氯氨活化交联壳聚糖在 805 和 $1\ 584\ \text{cm}^{-1}$ 分别出现均三嗪环骨架振动吸收峰。三甲胺修饰交联壳聚糖在 $1\ 400 \sim 1\ 530\ \text{cm}^{-1}$ 出现一组 C—N 伸缩振动和 C—H 弯曲振动吸收带,在 $1\ 627\ \text{cm}^{-1}$ 出现 C—N 伸缩振动和均三嗪环骨架振动迭加吸收峰。

2.3 三甲胺修饰交联壳聚糖对铜(II)的吸附性能

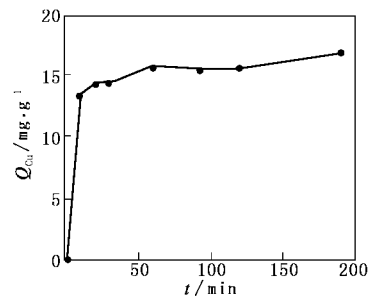
壳聚糖分子中含大量氨基和羟基,具有离子交换及螯合作用,可作为金属离子吸附剂。经过交联和修饰后,三甲胺修饰交联壳聚糖分子中仍存在大量配位基团,对 Cu(II)仍具有一定吸附能力,且随 Cu(II)浓度增加而增大,并趋于饱和吸附量 $37\ \text{mg/g}$ (见图 2)。该树脂对 Cu(II)吸附量随时间增加而逐

渐增大,当吸附时间在 $30\ \text{min}$ 以上时,吸附量趋于最大(见图 3)。



1—交联度 10%;2—交联度 15%

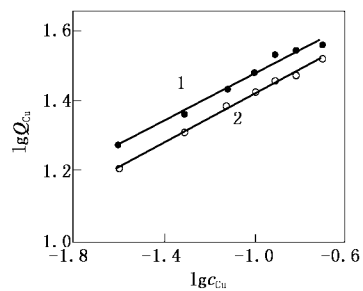
图 2 铜浓度对吸附量影响



交联度 10%, $c_{\text{Cu}} = 0.15\ \text{mg/mL}$

图 3 吸附时间对吸附量的影响

由图 4 可知,其吸附行为符合 Freundlich 等温吸附模型 $Q = kc^n$, 式中 Q 为吸附量(mg/g), k 为常数, c 为浓度(mg/mL)。当交联度为 10% 时, $\lg Q_{\text{Cu}} = 0.3346 \lg c_{\text{Cu}} + 1.8076$, $r = 0.9922$ 。



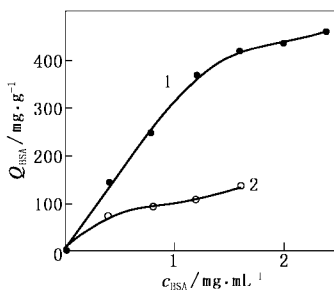
1—交联度 10%;2—交联度 15%

图 4 铜(II)吸附等温线(25°C)

2.4 三甲胺修饰交联壳聚糖树脂对 BSA 的吸附性能

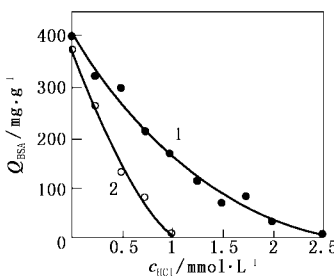
由图 5 可知,随着 BSA 浓度增加,三甲胺修饰交联壳聚糖对 BSA 吸附量逐渐增大;交联度增大,BSA 吸附量降低,当交联度为 10% 时,最大吸附量约为 $460\ \text{mg/g}$ 。随着酸度或碱性增大,BSA 吸附量均降低(见图 6)。其吸附量随时间增加而逐渐增大,当吸附时间在 $7\ \text{h}$ 以上时,吸附量趋于最大(见

图 7)。在酸性条件下,三甲胺修饰交联壳聚糖和 BSA(等电点为 4.9)均带正电荷,互相排斥,而在碱性条件下,由于 OH⁻ 的竞争反应,均使 BSA 吸附量降低。其吸附行为符合 Freundlich 等温吸附模型^[9],当交联度为 10% 时,lg Q_{BSA} = 0.7166 lg c_{BSA} + 2.463 (见图 8)。



1—交联度 10%; 2—交联度 15%

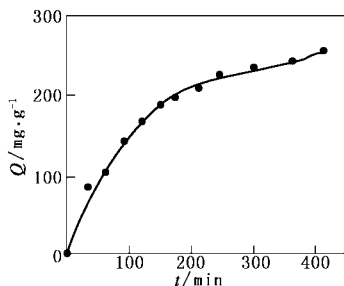
图 5 BSA 浓度对吸附量的影响



1—c(HCl); 2—c(NaOH)

交联度 10%, c_{BSA} = 0.8 mg/mL

图 6 酸度对 BSA 吸附量影响

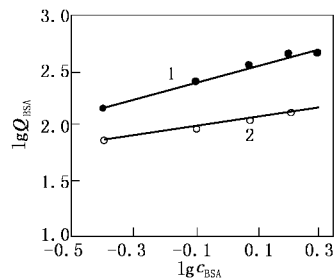


交联度 10%, c_{BSA} = 0.8 mg/mL

图 7 BSA 吸附动力学曲线

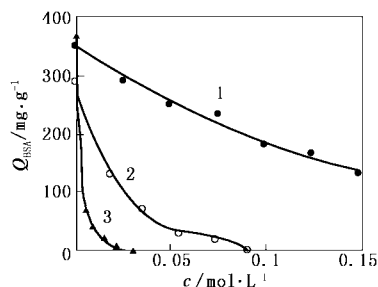
2.5 无机盐对 BSA 吸附量的影响

随着 NaCl、(NH₄)₂SO₄ 及磷酸盐缓冲溶液浓度增大,BSA 吸附量逐渐降低(见图 9),表明三甲胺修饰交联壳聚糖树脂对 BSA 的吸附作用主要通过静电作用进行。离子强度增大,无机离子的竞争反应增强,使 BSA 吸附量降低。NaCl、(NH₄)₂SO₄ 及磷酸盐缓冲溶液可用作吸附洗脱剂。



1—交联度 10%; 2—交联度 15%

图 8 BSA 吸附等温线(25℃)



1—NaCl; 2—(NH₄)₂SO₄; 3—pH 7.2 缓冲溶液

交联度 10%, c_{BSA} = 0.8 mg/mL

图 9 无机盐对 BSA 吸附量的影响

3 结语

使用水相均匀交联法制备了三甲胺修饰交联壳聚糖树脂,产物吸附性能较好,对 Cu(II)和 BSA 吸附容量分别为 37 mg/g 和 460 mg/g。酸度提高,Cu(II)及 BSA 吸附量降低。离子强度提高及磷酸盐缓冲溶液浓度的增大,BSA 吸附量均降低。Cu(II)和 BSA 的吸附行为符合 Freundlich 等温吸附方程。

参考文献

[1] Agarwal R, Gupta M N. [J]. Anal Chim Acta, 1995, 313(3): 253 - 257.
 [2] Shi Y C, Jiang Y M, Sui D X, et al. [J]. J Chromatogr A, 1996, 742 (1-2): 107 - 112.
 [3] 许晨, 卢灿辉. [J]. 应用化学, 1996, 13(5): 94 - 96.
 [4] Horak D, Rittich B, Safar J, et al. [J]. Biotechnol Prog, 2001, 17(3): 447 - 452.
 [5] McCreath G E, Owen R O, Nash D C, et al. [J]. J Chromatogr A, 1997, 773(1-2): 73 - 83.
 [6] Arnostova H, Kucerova Z, Tislerova I, et al. [J]. J Chromatogr A, 2001, 911(2): 211 - 216.
 [7] Oyrton A C, Monteiro Jr, Airolidi C. [J]. Int J Biol Macromol, 1999, 26 (2-3): 119 - 128.
 [8] 黄业初, 毕蓉. [J]. 冶金分析, 2002, 22(1): 46 - 48.
 [9] Yu Yi hua, He Bing lin. [J]. React Funct Polym, 1996, 31(3): 195 - 200.
 [10] 董炎明, 王勉, 吴玉松, 等. [J]. 纤维素科学与技术, 2001, 9(2): 42 - 56. ■