

·研究简报·

N*-异丙基丙烯酰胺在超细硅胶表面接枝聚合 及其在 HPLC 上的应用

朱 毅 倪才华** 邵 丹 蒋 翔

(江南大学化学与材料工程学院 无锡 214036)

摘 要 通过硅烷偶联剂(γ -甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷)的作用,将 *N*-异丙基丙烯酰胺在超细硅胶表面接枝聚合,制备了以聚 *N*-异丙基丙烯酰胺为壳,硅胶粒子为核的具有温度敏感性复合粒子.研究了反应条件对接枝率的影响,对复合粒子的结构进行了表征.将制备的复合粒子用作高效液相色谱固定相,通过控制柱温对蔡的 3 种衍生物进行分离,表现了良好的分离性能.这种温控分离主要是由于硅胶表面的 PNIPAM 在经历相变温度时的极性变化所致.

关键词 *N*-异丙基丙烯酰胺, 温敏性, 分离, HPLC

聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)是一种典型的温敏性聚合物,其低临界溶解温度(LCST)约为 32℃.当温度上升到其 LCST 时,PNIPAM 分子链段构象会发生变化,聚合物链会发生从亲水状态到疏水状态的转变.利用这一性质,近年来这类温敏性聚合物凝胶已在药物控制释放、物质的分离、固定化酶等领域显示出广阔的应用前景^[1~5].

有关温敏性聚合物和无机物如复合材料的合成及性能研究已有文献报道,但所用无机物多为蒙脱土、无机盐或纳米无机材料^[6~8].硅胶是目前应用最为广泛的高效液相色谱固定相.这是由于硅胶除了具有良好的机械强度、容易控制的孔结构和比表面积、较好的化学稳定性和热稳定性以及专一的表面化学反应等优点以外,还有一个突出的优点就是其表面含有丰富的硅羟基,这是硅胶可以进行表面化学键合或改性的基础.有关在硅胶表面接枝改性已经有了一些研究^[9~16].但是将热敏性水凝胶接枝到超细硅胶表面,进行蔡的衍生物的分离,尚鲜见报道.本文利用硅胶表面的硅羟基与硅烷偶联剂反应,在 SiO₂ 粒子的表面引入双键功能基团,然后在 H₂O/环己醇的混合溶剂中使之与 *N*-异丙基丙烯酰胺接枝共聚,合成了具有温敏性的 PNIPAM/SiO₂ 复合颗粒.以该复合粒子作为高效液相色谱固定相的填料,通过粒子表面的 PNIPAM 对温度响应所产生的极性变化,从而可以通过柱温的控制来实现对有机混合物的有

效地分离.

1 原料

超细二氧化硅,粒径 3 μm (青岛美高化工有限公司); γ -甲基丙烯酰氧基丙基三甲氧基硅烷(MPT)(天津市圣滨化工有限公司);*N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)(日本和光公司),经正己烷重结晶提纯;偶氮二异丁腈(AIBN)(日本和光公司),经乙醇重结晶提纯; α -蔡乙酸, α -蔡胺, α -蔡酚均为分析纯(国药集团化学试剂有限公司);聚乙烯醇(PVA,聚合度 500);二甲苯,无水乙醇,均为分析纯(中国医药集团上海化学试剂有限公司).

2 二氧化硅表面接枝聚合反应

称取 2.0 g 超细二氧化硅加入到 30 mL 的二甲苯溶液.在 35℃ 下充分溶胀 3 h.后,加入 0.6 g 的硅烷偶联剂(MPT).升温至 80℃,在回流条件下反应 6 h.过滤,用甲醇抽提产物 24 h 后在室温下真空干燥.将上述偶联剂改性后的硅胶加入到环己醇和水的混合溶剂中,添加一定量 PVA 作为稳定剂,混合均匀.再加入 NIPAM 和少量 AIBN 引发剂.将上述混合物在氮气保护下先在室温下搅拌 12 h,然后将反应体系加热到 75℃ 再反应 24 h.将产物离心沉降,得到的复合粒子以去离子水反复抽提,去除未能接枝的 PNIPAM 均聚物,再依次用甲醇和超纯水进行清洗.将产物在室温下真空干燥.

3 分析和表征

用傅立叶红外光谱仪 (FTIR, FTLA 2000-104)、差示扫描量热仪 (DSC822[°]) 以及扫描电子显微镜 (SEM, Quanta-200) 对改性前后的硅胶粒子的温敏性、表面形貌进行表征, 用热重分析仪 (TG, URT-3P) 对 Silica-MPT 和 Silica-PNIPAM 做热重分析, 分别测定复合粒子在 200 ~ 650℃ 温度范围内偶联剂和 PNIPAM 的失重, 按式 (1) 计算偶联剂在硅胶的表面覆盖率 (CR, %), 按式 (2) 计算 NIPAM 在硅胶表面的接枝率 (GR, %).

CR (%) = 100 × W₁ / W_g (1)

GR (%) = 100 × (W₂ - W₁) / W_g (2)

W₁ 为接在硅胶上偶联剂重量, W₂ 为接在硅胶上偶联剂与 PNIPAM 重量之和, W_g 为剩余硅胶质量.

4 萘衍生物的色谱分离

将表面改性后的硅胶在 350 kg/cm² 的压力下, 以甲醇和水的混和溶剂 (1:1) 为匀浆剂灌装到不锈钢柱中 (150 mm × 4.6 mm), 再以去离子水平衡 4 h, 将制备的色谱柱与高效液相色谱仪 (HPLC) 体系相连 (Waters 1525 Binany HPLC Pump, Waters 2996 Potodiode Array Detector, Waters 717 Plus Autosampler), 对 3 种萘衍生物进行色谱分离. 3 种萘衍生物的浓度分别为萘乙酸 4 mg/mL; 萘胺 6 mg/mL; 萘酚 5.7 mg/mL. 在 UV 215 nm 处检测, 控制不同的温度, 观测 3 种物质的洗脱行为. 温度通过柱温箱控制, 其温度波动为 ± 0.1℃.

5 影响接枝率的一些因素

选择合适的配方, 进行了一系列接枝聚合实验, 结果见表 1. 分别添加聚乙烯吡咯烷酮 (PVP) 和聚乙烯醇 (PVA) 作为表面活性剂进行接枝聚合实验, 发现以 PVA 为表面活性剂时, 粒子表面接

Table 1 Results of grafting polymerization of NIPAM onto silica surface^a

Sample I. D.	Silica-MPT (g)	PVA (wt%)	Cyclohexanol (wt%)	GR (%)
SN-1	2.0(9.5) ^b	c	5.0	8.4
SN-2	2.0(9.5) ^b	5.0	2.0	22.7
SN-3	2.0(9.5) ^b	5.0	3.0	23.4
SN-4	2.0(9.5) ^b	5.0	4.0	25.5
SN-5	2.0(9.5) ^b	5.0	5.0	27.7
SN-6	2.0(9.5) ^b	5.0	6.0	23.8
SN-7	2.0(9.5) ^b	5.0	8.0	15.7

^a Water content was 50 mL; the weight of NIPAM was 4.7 g; the weight percentages of PVA and cyclohexanol are with respect to water; AIBN: 0.9% of NIPAM; ^b Surface coverage (%) of silica-MPT; ^c PVP (2 g) was used instead of PVA.

枝的均匀性和接枝率都明显优于以 PVP 为表面活性剂时的结果. 在反应体系中添加环己醇有利于反应, 从表 1 中样品 SN-2 到 SN-7 的结果可以看出, 适当的增加环己醇的量有利于接枝率的提高, 当环己醇用量为 5.0 wt% 时 (SN-5) 接枝率达到最大值.

6 Silica-NIPAM 复合粒子的表征

6.1 红外光谱表征 复合粒子的红外图中出现 1710 cm⁻¹ 酯键的 C=O 伸缩特征峰, 以及 2990 cm⁻¹ 和 2857 cm⁻¹ 处 -CH₃ 和 -CH₂ 的伸缩振动峰, 此外还出现了较强的酰胺键上羰基伸缩振动峰 (1655 cm⁻¹) 和 N-H 键的弯曲振动峰 (1546 cm⁻¹), 这些特征峰都表明 NIPAM 已经通过偶联剂以化学键的方式接枝到硅胶的表面.

6.2 DSC 分析 图 1 为复合粒子的 DSC 图. 聚 N-异丙基丙烯酰胺是温敏性聚合物, 它们的水溶液在 LCST 时发生相转变, 纯的聚 N-异丙基丙烯酰胺水溶液的 LCST 一般为 32℃ 左右 (曲线 c), 本实验将 NIPAM 引入硅胶表面, 并将接枝后的粒子在去离子水中溶胀平衡后测得 DSC 图 (曲线 b); 与经过 MPT 偶联后的硅胶 (曲线 a) 相比, PNIPAM 接枝后粒子的 DSC 图有一条明显的吸热峰, 最大吸热点的温度为 33.7℃, 这比纯的聚 N-异丙基丙烯酰胺水溶液的 LCST 稍高. 由于相转变是 PNIPAM 链段构象的变化, 可能是因为 PNIPAM 接枝在硅胶微粒上, 位置被硅胶颗粒所固定, 发生链段构象变化时受阻, 因此相变温度略为滞后.

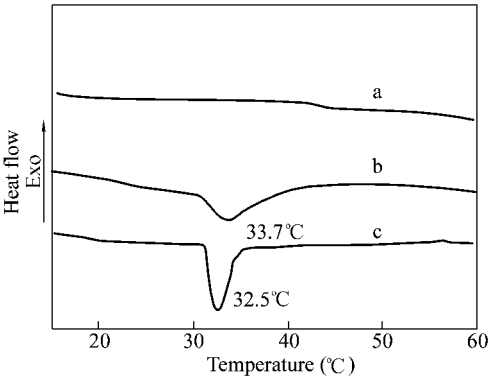


Fig. 1 DSC thermograms of silica-MPT (a), silica-PNIPAM (b) and pure PNIPAM (c) Heating rate 5 K/min

6.3 扫描电镜观察 用扫描电镜对接枝改性前后硅胶粒子的表面形态进行了观察. 图 2(a) 是未接枝时的硅胶, 表面比较光滑. 图 2(b) 和图 2

(c)的粒子形貌都发生了明显的变化.图 2(b) 是 MPT 改性后的硅胶,与改性前的二氧化硅粒子相比,复合粒子的表面明显比较粗糙,由于 MPT 是小分子,它只能在硅胶的表面形成一层薄薄的阴影.图 2(c)是 PNIPAM 接枝在硅胶上的形态.聚

N-异丙基丙烯酰胺在硅胶表面形成长链聚合物,在干燥的状态下大分子变得卷曲坍塌,在硅胶表面形成凹凸不平的覆盖层,使得硅胶表面的形态发生较大的改变.

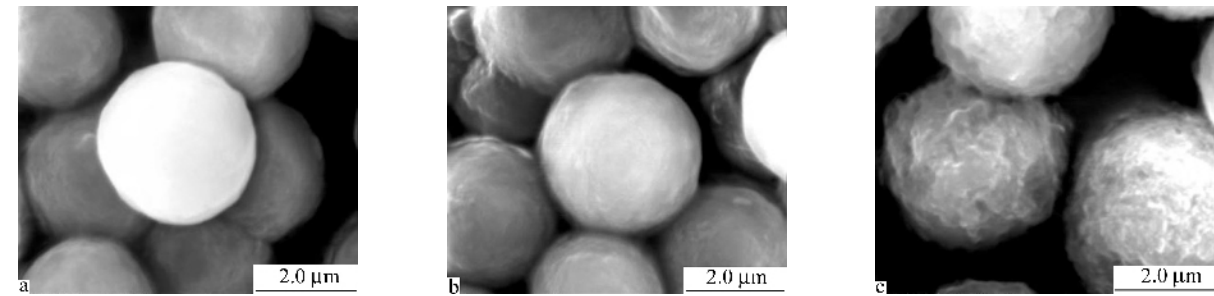


Fig. 2 SEM images of pure silica (a) , silica-MPT (b) and silica-PNIPAM (c)

7 在萘衍生物的混合物分离中的应用

图 3 显示萘的 3 种衍生物的纯物质在以 Silica-PNIPAM 为固定相的色谱柱中的滞留时间随温度的变化曲线.从图中可以看出随着温度的升高,3 种物质的流出时间都明显有所增加.当温度从 10℃增加到 50℃ 时,萘乙酸、萘胺、萘酚的滞留时间分别增加了 2.1、4.0 和 5.5 min.这是因为在低温时,硅胶表明呈极性,Silica-PNIPAM 与 3 种萘衍生物的分子的作用力以诱导力(较弱)为主,当温度上升到 LCST 之后,硅胶表面的 PNIPAM 分子发生从亲水状态到当升高疏水状态的转变,硅胶表面发生由极性到非极性的变化,这样极性较弱的溶质分子与固定相之间的色散力作用就会增强,使得滞留时间变长.由于 3 种物质的极性不同,所以作用力增加的强度不一致,延长的时间也不一样.

图 4(A),(B) 显示分别以 Silica-MPT 和 Silica-PNIPAM 为固定相,对萘的 3 种衍生物的色谱分离图.从图 4(B)中可以看出,当温度为 20℃时,物质 1 和 2 的峰有部分重叠,说明几种组分难以完全分开.随着温度的升高,峰逐渐分开,当温度升高到 40℃时,达到了较好的分离效果.这与图 3 中的滞留时间随温度的变化有着一致性.随着温度的升高,硅胶表面发生了由极性到非极性的转变,由于 3 种物质存在极性上的差异,与固定相之间作用力增加强度不一样,因而流出时间差变大,表现为出峰时间差的变大,即物质得到了较好的分离效果.而这种分离效果是以 Silica-MPT 为固定相所不具备的(见图 4A),因为纯硅胶和 MPT 均无温敏性,没有温度响应效果.

综上所述,本文将 NIPAM 通过偶联剂与超细硅胶粒子接枝聚合,制备了具有温敏性的核-壳结构的复合粒子.以该复合粒子作为液相色谱柱的固定相填料,并以此色谱柱对 3 种萘的衍生物进行分离,通过控温达到较好的分离效果.因为流动相以水为主,因此该方法具有污染小,成本低,容易控制,分离效率高等优点.如果该体系用于多肽及蛋白质的分离,还有利于保持被分离物质的生物活性.

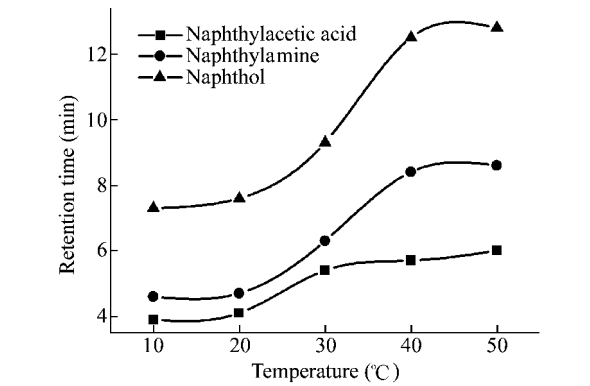


Fig. 3 Dependence of retention time in HPLC on temperature for naphthalene derivatives
Mobile phase,water: methanol = 9:1 (V/V) Flow rate 1.0 mL/min

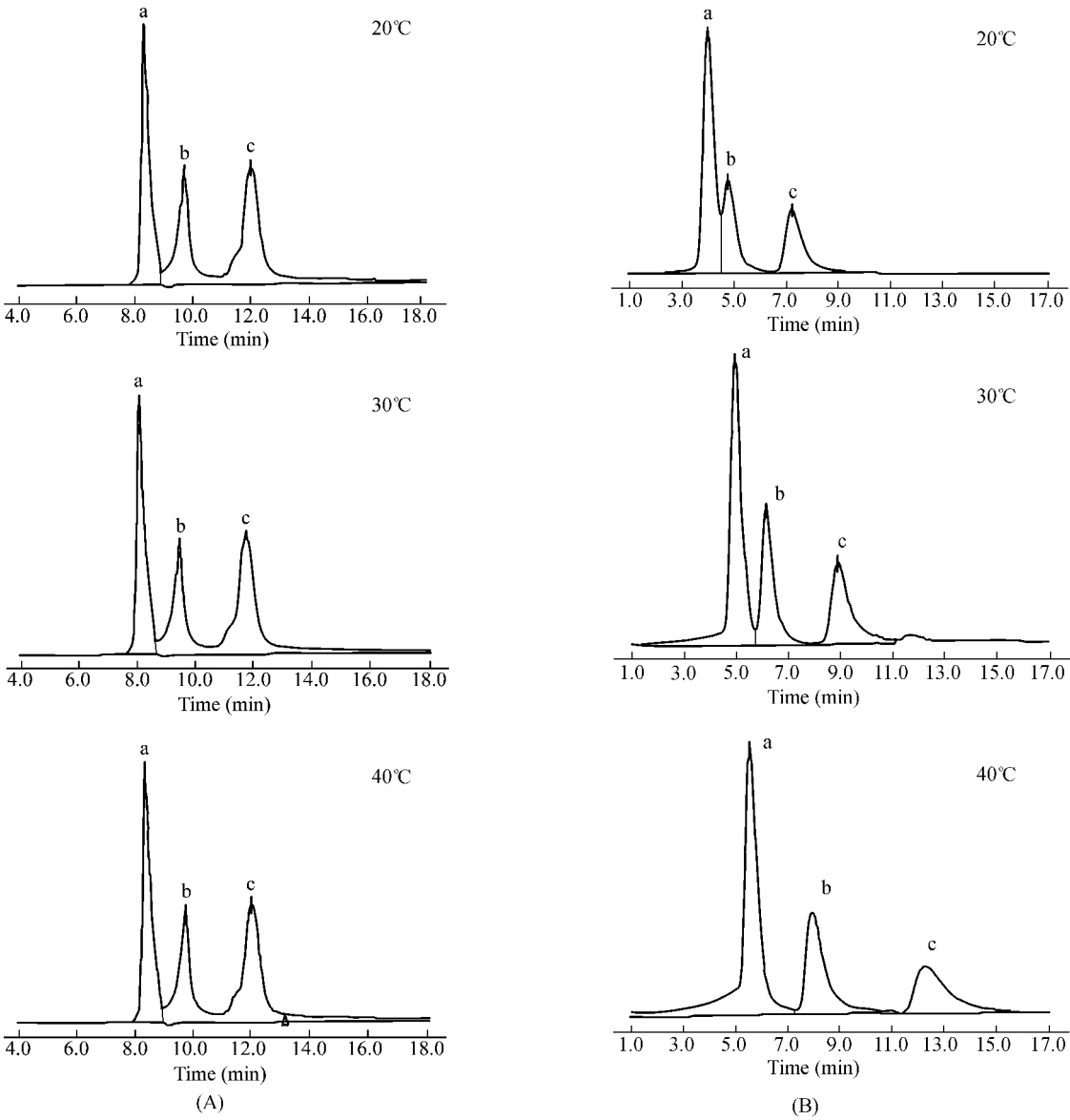


Fig. 4 Separation of naphthalene derivatives of α -naphthylacetic acid (a), α -naphthylamine (b) and α -naphthol (c) at different temperature Mobile phase, water: methanol = 9:1 (V/V) ; Flow rate 1.0 mL/min

REFERENCES

1 Schild H G. Polym Sci,1992,17 163 ~ 249

2 Lu Diannan(卢滇楠),Liu Zheng(刘铮). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2004,(4) 573 ~ 579

3 Liu Feng(刘锋),Zhuo Renxi(卓仁禧). Polymer Materials Science & Engineering(高分子材料科学与工程),1998,14(2) 54 ~ 62

4 Li S K,Takeshi Y,D Emanuele A.J Control Release,2001,75 55 ~ 67

5 Zhang J T,Huang S W,Xue Y N,Liu J,Zhuo R X.Chinese J Polym Sci,2005,23(5) 513 ~ 519

6 Xia X H,Yih J,D Souza N A,Hu Z B.Polymer,2003,44 3389 ~ 3393

7 Liang L,Liu J,Xia Y G.Langmuir,2000,25 9895 ~ 9899

8 Huang Zhongbing(黄忠兵),Tang Fangqiong(唐芳琼). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2004,(6) 835 ~ 838

9 Hosoya K,Kimata K,Araki T,Tanaka N. Anal Chem,1995,67 1907 ~ 1911

10 Wang Yunpu(王云普),Yuan Kun(袁昆),Pei Xiaowei(裴小维). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2005,(4) 584 ~ 588

11 Kanazawa H,Kashiwase Y,Yamamoto K,Matsushima Y,Kikuchi A,Sakurai Y,Okana O. Anal Chem,1997,69 823 ~ 830

12 Yakushiji T,Sakai K. Anal Chem,1997,71 1125 ~ 1130

13 Kanazawa H,Sunamoto T,Matsushima Y. Anal Chem,2000,72 5961 ~ 5966

- 14 Jun K, Akihiko K, Kiyotaka S. *Anal Chem*, 2003, 75 : 3244 ~ 3249
- 15 Xu F J, Zhong S P, Yung L Y L, Tong Y W, Kang E T, Neoh K G. *Biomaterials*, 2006, 27 : 1236 ~ 1245
- 16 Wu Wei(母伟), Chen Jianfeng(陈建峰), Qu Yixin(屈一新). *Journal of the Chinese Ceramic Society(硅酸盐学报)*, 2004, 32(5) : 570 ~ 575

THE GRAFTING POLYMERIZATION OF *N*-ISOPROPYLACRYLAMIDE ON THE SURFACE OF ULTRA FINE SILICA AND ITS APPLICATION IN CHROMATOGRAPHY SEPARATION

ZHU Yi, NI Caihua, SHAO Dan, JIANG Xiang

(*School of Chemical and Material Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036*)

Abstract Thermosensitive core-shell particles were synthesized through grafting copolymerization of *N*-isopropylacrylamide (NIPAM) with [3-(methacryloyloxy) propyl] trimethoxysilane (MPT) coupled on the surface of ultra fine silica dioxide beads. The grafting copolymerization was carried out at the present of polyvinyl alcohol as a surfactant, H₂O/cyclohexanol as mixed solvents, and 2,2'-azobis(isobutyronitrile) as an initiator. The effect of surfactant concentration and the composition of mixed solvents on the grafting rate was investigated. The infrared spectrum has confirmed the structure of the modified silica. Differential scanning calorimetry (DSC) has indicated the thermosensitivity of the particles. The thermosensitive particles were used as packing materials of high-performance liquid chromatography (HPLC) for separating naphthalin derivatives. The results revealed that satisfactory separation was attained by controlling temperature of the column. As a comparison the packing material of silica-MPT has no such separating efficiency due to absence of thermosensitivity. The mechanism for the temperature-controlled separation is attributed to the polarity change of the PNIPAM on silica surface when PNIPAM undergoes volume phase transition.

Key words *N*-isopropylacrylamide, Thermosensitivity, Separation, HPLC