

聚 N-烷基丙烯酰胺类凝胶及其温敏特性*

金曼蓉 吴长发 张桂英 刘培毅 侯薇

(天津医科大学药系 天津 300203)

摘 要 研制成功 5 种聚 N-烷基丙烯酰胺类温敏凝胶: 聚 N-异丙基丙烯酰胺 (PNIPA), 聚 N-异丙基丙烯酰胺 + 甲基丙烯酰胺 (PNIPA/MAA), 聚 N,N-二乙基丙烯酰胺 (PNDEA), 聚 N-正丙基丙烯酰胺 (PNNPA), 聚 N,N-二乙基丙烯酰胺 + N-叔丁基丙烯酰胺 (PNDEA/NTBA), 并系统研究了这些凝胶的温敏相变特性。以聚 N-异丙基丙烯酰胺 (PNIPA) 凝胶相变特性为基础的凝胶萃取过程对牛血清白蛋白和兰葡聚糖溶液的浓缩实验表明, 凝胶萃取对于浓缩和制备贵重生化制品是很有效的。

关键词 聚 N-烷基丙烯酰胺凝胶, 温敏性, 凝胶萃取分离, 相变温度

近年来人们发现, 聚 N-烷基丙烯酰胺类凝胶聚合物在吸收数倍于自身重量的水后所形成的亲水凝胶具有温度敏感性^[1], 即这种凝胶的溶胀与收缩强烈地依赖于温度, 在低温下溶胀度高, 在相对较高温度下溶胀度低。然而溶胀度随温度的变化并不是连续的, 在某一温度下凝胶体积会发生突然收缩与膨胀。我们将该温度称为相变温度, 这一温度具有聚合物溶液的下临界温度 (LCST) 性质^[2,3]。温敏性亲水聚合物的这一特殊性质, 我们已用于大分子稀溶液(如蛋白质和多糖)的浓缩和分离。在低于相变温度时, 在大分子溶液中的凝胶大量吸收水份使溶液得以浓缩; 将溶胀的凝胶与浓缩液分开, 并升温至相变温度时, 凝胶又重新释水收缩, 从而可重复使用^[4]。此外, 作为智能高分子材料^[5], 还可制成功能膜, 用于温控药物酶的包埋与固定化酶促反应等。

1 实验部分

1.1 凝胶制备

聚合物单体: N-异丙基丙烯酰胺 ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONHCH}(\text{CH}_3)_2$, NIPA), N,N-二乙基丙烯酰胺 ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CON}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$, NDEA), N-叔丁基丙烯酰胺 ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONHC}(\text{CH}_3)_3$, NTBA), N-正丙基丙烯酰胺 ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, NNPA) 和甲基丙烯酰胺 ($\text{CH}_2=\text{C}(\text{CH}_3)\text{CONH}_2$, MAA)。其中, 甲基丙烯酰胺为化学纯经重结晶提纯, 其余均为自制^[6,7]。

交联剂: N,N-亚甲基双丙烯酰胺 (Bis)。

引发剂与加速剂: 过硫酸铵 (AP), 偶氮二异丁腈和焦亚硫酸钠。

聚合过程均属自由基反应, 在室温及氮气保护和搅拌下进行。通过链引发、链增长和链终止以及交联反应, 形成复杂的空间网络结构。PNIPA 凝胶的详细制备过程和聚合条

* 1993-07-26 日收稿; 国家自然科学基金资助项目

件的讨论已于文献[1]中报道。PNNPA 和 PNDEA 凝胶与 PNIPA 相同,只是聚合温度控制在 5℃左右。P(NDEA/NTBA) 凝胶的制备,因 NTBA 难溶于水,故溶剂采用二甲亚砜,引发剂为偶氮二异丁腈,交联剂为 Bis,温度为 70℃。所得凝胶经制粒、纯化和干燥,以备实验使用。

1.2 凝胶溶胀能力和相变温度的测定

凝胶的溶胀能力可用聚合物的体积分数 ν 或溶胀度 q 表示。其意义是:

$$\nu = 1 + \left(\frac{W_d}{W_s} - 1 \right) \frac{\rho}{\rho_s}$$

式中 W_d 、 W_s 分别为干聚合物及溶胀凝胶的重量, ρ 、 ρ_s 分别为溶剂(水)及溶胀凝胶的密度,由于溶胀比通常高达数十倍,则 $\rho \approx \rho_s \approx 1$,故 $\nu \cong \frac{W_d}{W_s}$,即聚合物在凝胶中的体积分数与质量分数在数值上几乎相等。由于质量易于测定,故可通过测定质量分数来反映体积分数。

凝胶的溶胀度(溶胀比) q 是凝胶与干聚物的重量比, $q = \frac{W_s}{W_d} = \frac{1}{\nu}$ 。

凝胶中聚合物的体积分数 ν 的测定方法是先将干聚合物称量后装入尼龙网袋中,在不同温度下的水或蛋白质水溶液中溶胀,平衡后离心分离,去除表面的水分,称重。溶胀实验在超级恒温槽中进行。

相变温度按下述方法确定。测定凝胶在不同温度下在纯水中的溶胀度,算出聚合物体积分数 ν ,作出曲线如图 1 所示。从图中可见,聚合物体积分数 ν 随温度升高而增加,当温度达到某一数值时,凝胶突然收缩,即体积分数 ν 突然增大数倍,而曲线出现水平,则该温度即为相变温度。如图 1 中 PNIPA 8 × 1 的相变温度为 37℃。反之,收缩后的凝胶,随温度降低而溶胀,当温度降至相变温度时,凝胶突然溶胀, ν 即突然减小。这类凝胶,其溶胀、收缩过程对温度的强烈依赖性,即为凝胶的温敏性。

非离子型凝胶的组成以聚合物凝胶名与总单体浓度 C_T 和交联剂浓度 C_B 表示,如 PNIPA $C_T \times C_B$, 其中

$$C_T = \frac{\text{单体重量} + \text{交联剂重量}}{\text{单体重量} + \text{交联剂重量} + \text{水重量}} \times 100$$

$$C_B = \frac{\text{交联剂重量}}{\text{交联剂重量} + \text{单体重量}} \times 100$$

2 结果与讨论

2.1 单体和交联剂浓度对 PNIPA 凝胶相变温度的影响

PNIPA 凝胶和 P(NIPA/MAA) 凝胶的相变特性示于图 1,可见所示的各凝胶都有一个明显的相变温度。在相变温度以下,温度降低凝胶急剧膨胀;而在此温度以上,急剧收缩。

图列曲线表明,凝胶的相变温度随总单体浓度的增加而略有提高,而相变区则随总单体浓度的增加而缩小,这显然是由于 C_T 和 C_B 的增加,聚合物交联密度增大,分子间作用力增强,线团结构弹性减弱所致。因而我们可以按使用的要求通过改变 C_T 和 C_B 以

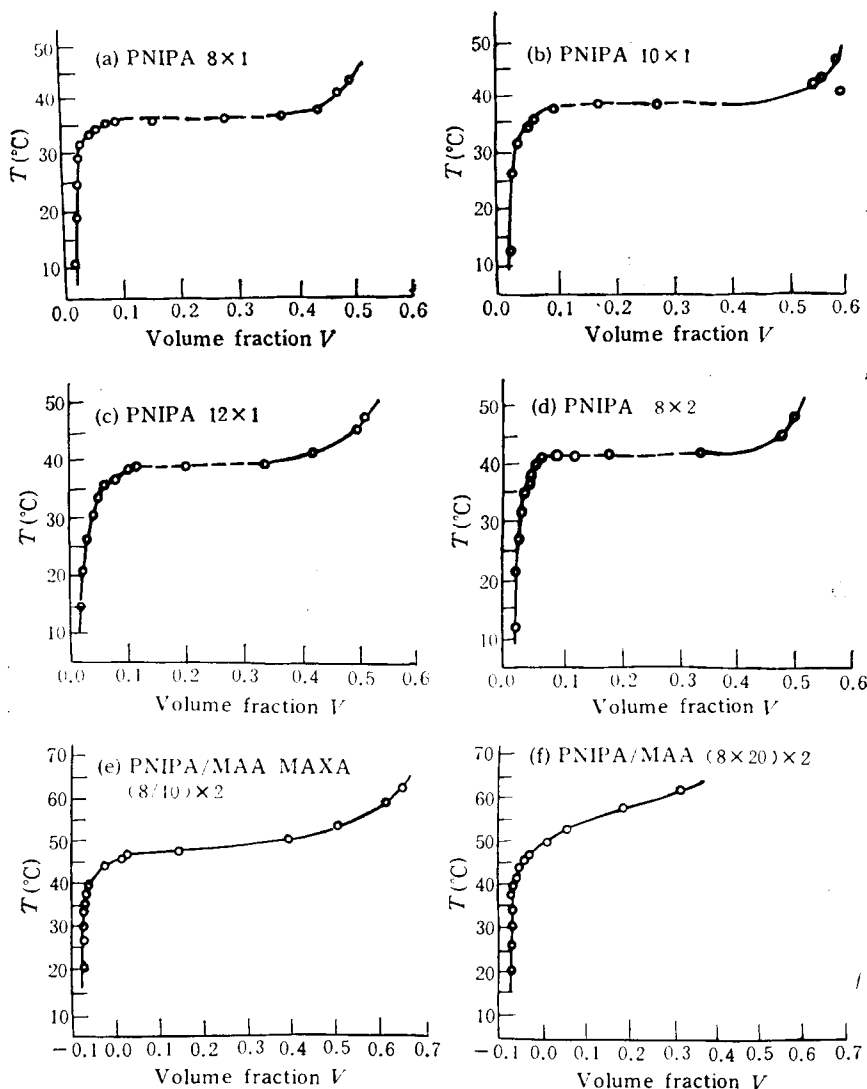


Fig. 1 Equilibrium swelling of PNIPA and P(NIPA/MAA) gels

调节凝胶的性能。

P(NIPA/MAA) 凝胶因 MAA 的存在,相变温度有所提高,增加 MAA 在共聚物中的用量,其相变温度进一步提高,但对温度的敏感性减小。

2.2 交联剂浓度对 PNDEA 凝胶相变行为的影响

图 2 所示,在 NDEA 单体浓度基本相同的情况下,PNDEA 凝胶溶胀特性随 C_B 有所改变,PNDEA 8×1 的相变温度在 12—15°C 之间,最大溶胀度达到 100; 而 PNDEA 8×3.5 、PNDEA 8×4.5 和 PNDEA 8.5×6 , 由于 C_B 依次高出几倍,则相变温度亦依次增高,且变得不明显,溶胀度仍随温度降低而增加。但在低温下,各曲线都出现弯曲,即凝胶反而有收缩倾向,这是由低温下分子网络内能降低弹性减弱所致。

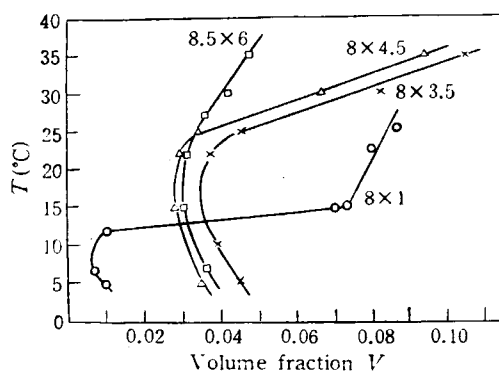


Fig. 2 Equilibrium swelling of PNDEA gels with various crosslinking concentrations

2.3 P(NDEA/NTBA) 凝胶的共聚组成对相变温度的影响

表 1 示出 P(NDEA/NTBA) 共聚凝胶与 PNNPA 凝胶的溶胀特性, 各凝胶 $C_B = 4$, 溶胀度为 23—25。其中 P(NDEA/NTBA) 共聚凝胶 C_T 为定值 ($C_T = 10$), 但调整两种单体的比例相变温度亦随之变化。

Tab. 1 The swelling characteristics of P (NDEA/NTBA) and PNNPA gels

Gel $C_T \times C_B$	LCST ($^{\circ}\text{C}$)	$q(20^{\circ}\text{C})$
P(NDEA/NTBA) $(5 + 5) \times 4$	17	23
P(NDEA/NTBA) $(7.5 + 2.5) \times 4$	23	23
P(NDEA/NTBA) $(8.8 + 1.2) \times 4$	24	23
PNNPA 8×4	25	25

实验观察与文献表明, 单体分子中 N 原子上的烷基数量和体积直接影响凝胶的相变温度^[9]。这不仅是由于存在大分子间的范德华力, 而且在 N 原子上由于其孤对电子与水分子形成氢键, 因而以密集的网络为骨架形成水凝胶。在低温下氢键较稳定, 而在高温下则易断裂。因此, 聚 N-烷基系列凝胶往往具有很好的低温溶胀稳定性, 而在高温下氢键断裂致使体积突然收缩。

2.4 相变特性与凝胶萃取

温敏凝胶具有多种潜在的用途, 目前开发尚少, 在此仅就凝胶萃取进行研究。凝胶在常温(或低温)下吸收溶剂(水)而溶胀, 使大分子溶质得以浓缩。分出溶胀凝胶后略加升温, 凝胶收缩, 洗涤后重复使用。

凝胶分离效果用分离率表示如下:

$$\eta = \frac{\text{实际过程浓度改变}}{\text{理想的最大浓度改变}} = \frac{C_g - C_F}{C_{\max} - C_F}$$

C_F 为原料浓度, C_R 为浓缩液浓度, $C_{\max}$ 为凝胶完全排斥大分子情况下所得浓缩液浓度, 由于实际过程中仍然有部分大分子进入凝胶相, 故一般 $C_R < C_{\max}$ 。这一现象将体现为分离效率有一定的降低, 选择适当交联度的凝胶或经某种改性处理, 可使这种影响降到最低限度。实际上任何分离方法, 其分离效率都是有一定限度的, 不可能达到百分之百。

萃取所用的实验溶质为牛血清白蛋白 (BSA 电泳纯,分子量 M 为 69000)和兰葡聚糖 (BD 分子量为 2000000)。均用 53WUV/VIS 紫外可见光分析仪测定浓度。

对不同种类的凝胶和不同的 BSA 浓度及 BD 浓度的溶液分别进行实验,结果列于表 2 和表 3。从表中可知,对 BD 溶液,由于 BD 分子量高,分离效率都非常高。而对 BAS 溶液则因仍有少量溶质被表面吸附,故效率相对较低。

Tab. 2 Separation efficiency of PNIPA gels for concentrating BSA solution by gelextraction

Gels BSA(%)	PNIPA 10 × 1	PNIPA 10 × 2	PNIPA 10 × 3	PNIPA 10 × 5
0.1	86.4	92.2	88.6	87.5
0.03	85.0	92.9	95.9	69.5

Tab. 3 Separation efficiency of PNIPA gels for concentrating BD solution by gelextraction

Gels BD(%)	PNIPA 8 × 1	PNIPA 8 × 2	PNIPA 8 × 4	PNIPA 8 × 6	PNIPA 10 × 1	PNIPA 10 × 3
0.0208	98.4	99.7	98.7	98	98	98

凝胶萃取对于浓度很低的贵重蛋白质和高级生物药物的小批量制备和生化检测十分有效而方便,特别是这种分离条件温和,因而尤其有利于保持被处理药物的生物活性。

参 考 文 献

[1] 金曼蓉,吴长发,王世昌. 化学工程, 1991,19(2): 13
[2] Freitas RFS, Cussler EL. Private Communication, 1986
[3] Ilvasky M, Hrouz T, Ulbrich K. Polym Bull, 1982, 7: 107
[4] 金曼蓉,刘培毅,吴长发等. 水处理技术, 1991,17(6): 361
[5] Tanaka T. Sci Am, 1981, 224: 110
[6] Ulbrich K, Kopecek J. J Polym Sci, Polym Symp, 1979, 66:209
[7] 张桂英,沈洁利,金曼蓉. 天津第二医学院学报, 1991,7(1): 37
[8] 余锡胜,佟水心,孙以实. 高分子学报, 1989,4: 488

N-ALKYL ACRYLAMIDE GELS AND THEIR TEMPERATURE-SENSITIVE PROPERTIES

JIN Manrong, ZHANG Guiying, WU Changfa, LIU Peiyi, HOU Wei

(*Department of Pharmacy, Tianjin Second Medical College, Tianjin 300203*)

Abstract Poly-N-Alkyl acrylamide temperature-sensitive hydrogels (poly-N-isopropylamide, poly-N-isopropylacrylamide/methylacrylamide copolymer, poly-N, N-diethylacrylamide, poly-N,N-diethylacrylamide/N-tert-butylacrylamide copolymer and poly-N-n-propylamide) have been prepared. The temperature sensibilities, phase-transition as well as swelling-collapsing properties of the gels are discussed. Based on the performances of poly-N-isopropylacrylamide, the gel-extraction separation is examined to be an effective process for concentration of protein solutions.

Key words Poly-N-Alkyl acrylamide gels, Temperature sensibility, Phase-transition, Gel-extraction separation