

一种新型氨基磁性微球的制备及表征

吴文兵^{1,2}, 杨婉身¹, 王显祥¹

(1. 四川农业大学生命科学与理学院, 四川 雅安 625014;

2. 喀什师范学院生命与环境科学系, 新疆 喀什 844000)

摘 要: 采用化学共沉淀法制备油酸包被的 Fe_3O_4 纳米粒子, 以此 Fe_3O_4 纳米粒子为核, 采用分散聚合法合成了表面带有氨基功能基团的磁性微球。利用透射电镜(TEM)、X 射线衍射仪(XRD)、振动样品磁强计(VSM)和傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR)对两种磁性微球进行了表征, 并采用电位滴定法测定了微球表面的氨基含量。结果表明, 微球粒径均匀, 为 10 nm 左右, 具有超顺磁性, 饱和磁化强度约为 50 emu/g, 氨基基团含量达 486 $\mu\text{mol/g}$ 。

关键词: 氨基磁性微球; 化学共沉淀法; 分散聚合法

中图分类号: Q599 **文献标志码:** A **文章编号:** 1008-9357(2010)03-0312-05

Preparation and Characterization of a Novel Amino Magnetic Microsphere

WU Wen-bing^{1,2}, YANG Wan-shen¹, WANG Xian-xiang¹

(1. College of Life and Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China;

2. Department of Life and Environmental Science, Kashgar Teachers College, Kashgar 844000, Xinjiang, China)

Abstract: The oleic acid coated Fe_3O_4 nanoparticles were prepared by chemical coprecipitation method, and then amino magnetic microspheres were synthesized based on the former nanoparticles by dispersion polymerization. Both of the nanoparticles and magnetic microspheres were characterized by means of transmission electron microscope (TEM), X-ray diffractometer (XRD), vibrating sample magnetometer (VSM) and Fourier transform infrared spectrometer (FT-IR). Electrometric titration was applied to determine the contents of surface amino group. The results showed that the diameter of microspheres was about 10 nm, saturation magnetization was 50 emu/g approximately, and the surface amino group contents reached 486 $\mu\text{mol/g}$. The amino magnetic microspheres possessed uniform diameter and superparamagnetism, which could be applied on many domains, such as biomedicine, environmental protection and so on.

Key words: amino magnetic microsphere; chemical coprecipitation method; dispersion polymerization

磁性微球是指高分子化合物与磁性金属或金属氧化物复合而成的复合型磁性高分子微球, 一般以磁性物质为核, 表面包被上高分子为壳层。磁性微球外部可携带多种反应性功能基团, 如 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CHO}$ 等, 可直接或间接地与生物大分子、细胞、药物、金属离子及有机物等进行偶联, 在磁场作用下, 可对此类目标物质进行有效富集、分离、回收和再利用^[1-2]。因此, 磁性微球在生物医学、环保、生物工程、材

收稿日期: 2010-06-23

基金项目: 四川省教育厅应用基础项目(2005A033)

作者简介: 吴文兵(1980-), 男, 四川资阳人, 讲师, 研究生, 主要从事磁性微球制备及其生物学应用研究。E-mail: duguyuxiao1@sina.com

通讯联系人: 杨婉身, E-mail: wansheny@sicau.edu.cn

科学等领域有着广泛的应用前景^[3-4]。

目前,商业化的磁性微球虽然品质能得到保证,但因制备工艺复杂,成品价格昂贵,其大范围推广应用仍需时日。国内外用于实验的磁性微球多由实验室自制获得,但自制微球普遍存在微球粒径分布不均匀、饱和磁化强度低、分散性差、表面功能基团含量低等缺点。因此,如何制备粒径均匀、表面功能基团含量较高的磁性微球便成为研究的热点。前人制备磁性微球通常采用带有功能基团如 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CHO}$ 等的单体,在引发剂、反应介质存在的条件下进行高分子聚合反应制得^[5-6]。此法虽然可一步制得带有表面功能基团的磁性微球,但功能基团也容易在聚合反应过程中被埋入微球内部而非伸向微球外部,造成有效功能基团量的减少。

本研究对分散聚合法进行了改进,先制备环氧基团包被的磁性微球,再对环氧基团进行后氨基化处理,得到氨基磁性微球。同时,利用透射电镜(TEM)、X射线衍射仪(XRD)、振动样品磁强计(VSM)和傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR)对磁性微球进行了表征。通过氨化法对环氧基团化的磁性微球进行了氨基活性功能基团修饰,并用电位滴定法对微球表面的氨基含量进行了测定。制备得到的氨基功能磁性微球表面氨基基团含量较高,可作为生物相容性载体用于生物大分子的分离纯化及固定化等诸多领域。

1 实验部分

1.1 原料及试剂

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、油酸、浓氨水、无水乙醇、甲基丙烯酸缩水甘油酯(GMA)、羟乙基甲基丙烯酸酯(HEMA)、过氧化苯甲酰(BPO)、醋酸丁酸纤维素(CAB)、甲苯、异丁醇等均为分析纯;磷酸双-(甲基丙烯酸-2-羟乙酯)为工业级;实验用水为超纯水。

1.2 油酸包被的 Fe_3O_4 纳米磁性粒子的制备^[7]

称取 24.32 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 12.51 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 溶于 50 mL 超纯水, 加入带有冷凝管、分液漏斗及氮气入口的四颈烧瓶, 通氮气, 控制搅拌速率为 300 r/min。加入 50 mL 浓氨水(控制在 20~30 min 内滴完)。水浴加热到 90 °C, 加入 5 mL 油酸, 继续反应 6.5 h。自然冷却, 用超纯水多次洗涤并磁分离以除去多余的离子。将产物于真空干燥箱里干燥至恒重, 即得油酸包被的 Fe_3O_4 纳米磁性粒子。

1.3 分散聚合法制备磁性微球^[8]

称取 1 g 油酸包被的纳米 Fe_3O_4 , 加入到 37.8 mL 异丁醇中, 超声分散 2 h。称取 1.6 g CAB, 加入 30.2 mL 甲苯, 加热使其溶解。混合上述两种液体, 超声 30 min, 转入带搅拌桨、氮气入口及冷凝管的四颈烧瓶搅拌, 70 °C 水浴, 通氮, 调节转速至 500 r/min。加入 0.12 g 引发剂 BPO, 3 mL 单体 HEMA, 1 mL GMA, 0.3 mL 交联剂磷酸双-(甲基丙烯酸-2-羟乙酯)的混合物, 继续反应 17 h, 得磁性 P(HEMA-GMA)微球。用 70 °C 预热的同上体积的甲苯异丁醇混合溶液洗涤数次并磁分离, 倾掉上层液。加入无水乙醇, 洗涤并磁分离, 逐渐减少乙醇的量, 加入超纯水, 最后将磁性粒子自有机相转入水相。磁吸去上层清液, 加入足量浓氨水, 水浴加热至 50 °C, 500 r/min 搅拌反应 5 h, 磁吸, 去上层清液, 用超纯水洗涤数次, 即得氨基包被的磁性微球。

1.4 磁性微球的表征

用荷兰飞利浦 X'Pert Pro 型 X 射线衍射仪对合成的微球晶型及粒径进行分析测定; 用 NICOLET 5700 型显微红外光谱仪测定油酸包被的 Fe_3O_4 和磁性微球的表面基团; 用 LDJ9600 型振动样品磁强计测定纳米 Fe_3O_4 粒子的磁滞回线; 用 JEM-100CXII 型透射电子显微镜观察油酸包被的纳米 Fe_3O_4 粒子和氨基磁性微球, 测定磁性微球的平均粒径及包覆前后微球粒径的变化。

1.5 磁性微球的氨基含量测定

线性电位滴定是 20 世纪 70 年代发展起来的一种测定氨基的方法^[8], 用该法测定微球表面氨基含量。

微球固含量测定过程如下: 取一支 EP 管, 称量并记录为 m_1 (g)。取 1 mL 氨基磁性微球于 EP 管, 磁吸, 倾去上层清液。将 EP 管置于真空干燥箱干燥至恒重, 称量并记录为 m_2 (g), 由下式求出微球固含量(g/L):

$$\text{固含量} = (m_2 - m_1) / 0.001$$

微球氨基含量测定过程如下: 取 10 mL 氨基磁性微球, 加入 20 mL 经标定的 HCl 标准溶液, 搅拌均匀迅速在自动电位滴定仪上滴定, 记录碱标准溶液体积(V)随 pH 变化的数据, 对所得数据进行处理求出消耗

碱的物质的量,由下式求出微球的氨基含量:

$$\text{微球的氨基含量}(\text{mol/g}) = (\text{总酸的物质的量} - \text{消耗酸的物质的量}) / \text{固体物的质量}$$

2 结果与讨论

2.1 油酸包被的 Fe_3O_4 纳米磁性粒子的制备

化学共沉淀法制备 Fe_3O_4 纳米粒子的反应方程式如下:



由于铵根离子在纳米粒子表面形成双电层,其静电作用使 Fe_3O_4 纳米粒子能稳定分散在水中。加入的油酸可通过羧基与铁离子进行配位而吸附在磁粒子表面,而油酸的长链脂肪烃链有利于后续的磁性粒子高分子在有机相里进行反应,并呈稳定悬浮的状态而不致聚沉^[9]。

图 1a 是油酸包被 Fe_3O_4 磁性粒子的透射电镜照片。从图中可以看出,合成的磁性微球粒径为 5 nm 左右,呈近似球形,粒度分布比较均匀,分散性较好。



图 1 油酸包被的 Fe_3O_4 纳米粒子(a)与氨基磁性微球(b)的电镜图

Fig. 1 TEM images of oleic acid coated Fe_3O_4 nanoparticles (a) and amino magnetic microspheres (b)

图 2a 是油酸包被 Fe_3O_4 磁性粒子的 XRD 图谱。由图可知,磁性粒子 6 个主要衍射峰的衍射角和相对强度与标准 Fe_3O_4 晶体一致,依次对应于 Fe_3O_4 的网面。其对应的各晶面间距也与 Fe_3O_4 标准图谱相对应,说明产物为具有立方晶系结构的 Fe_3O_4 。图中无其他的杂质晶相衍射峰存在,说明产物具有比较好的纯度和结晶度^[10]。借助 JADE 5.0 软件处理包被前 Fe_3O_4 磁性粒子衍射数据并计算其平均晶粒尺寸约为 4.8 nm,比电镜照片所得结果偏小。这是由于根据 XRD 图谱只能估算出晶粒尺寸,而很多晶粒组成一个颗粒,因此晶粒尺寸值只能作为粒子大小的一个参照^[11]。

图 3a 是油酸包被 Fe_3O_4 磁性粒子的磁滞回线。从图中可以看出,纳米 Fe_3O_4 粒子具有较高的饱和磁化强度,可以达到 55 emu/g。纳米 Fe_3O_4 粒子的剩余磁化强度和矫顽力都为 0,说明 Fe_3O_4 粒子具有超顺磁性。

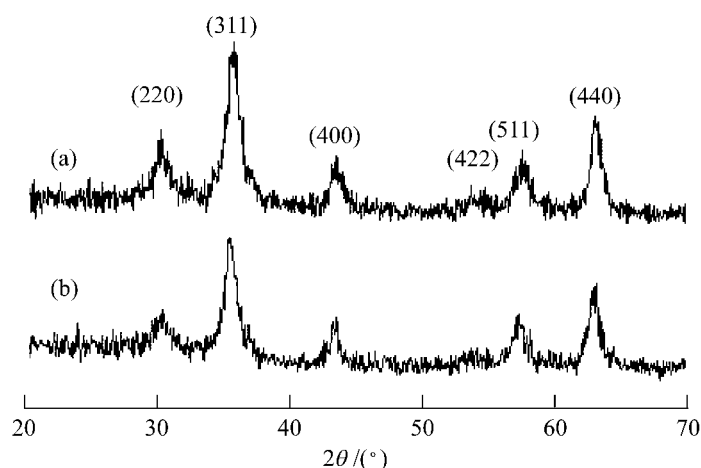


图 2 油酸包被 Fe_3O_4 纳米粒子(a)与氨基磁性微球(b)的 X 射线衍射图谱

Fig. 2 XRD spectra of oleic acid coated Fe_3O_4 nanoparticles (a) and amino magnetic microspheres (b)

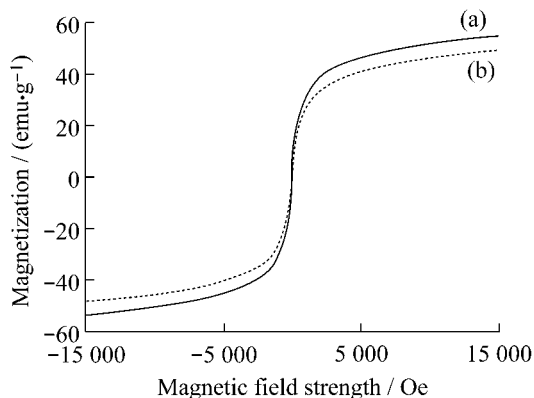
图3 油酸包被 Fe_3O_4 纳米粒子(a)与氨基磁性微球(b)的磁滞回线Fig. 3 Hysteresis loop of oleic acid coated Fe_3O_4 nanoparticles (a) and amino magnetic microspheres (b)

图4a是油酸包被纳米磁性粒子的FT-IR图谱。 583 cm^{-1} 的特征吸收对应于 Fe_3O_4 纳米微粒的特征吸收。 2921 cm^{-1} 和 2851 cm^{-1} 的特征吸收对应于油酸分子中的C—H伸缩振动吸收峰。 1429 cm^{-1} 左右出现的2个峰是羧酸盐的特征峰,其中一处是C=O对称伸缩振动峰,另一处是C=O反对称伸缩振动峰,这是由于表面活性剂油酸分子与磁粒子产生键合引起的^[12]。以上特征吸收峰说明 Fe_3O_4 的生成及油酸的成功包被。

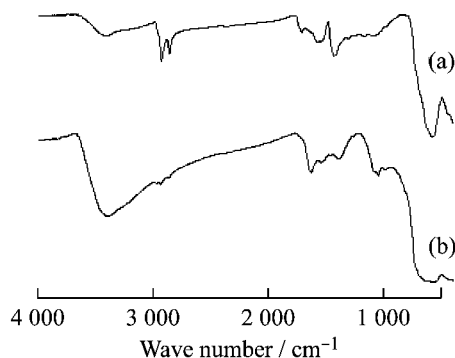
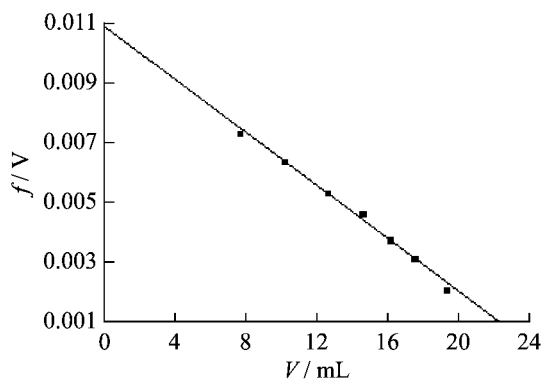
图4 油酸包被 Fe_3O_4 纳米粒子(a)与氨基磁性微球(b)红外谱图Fig. 4 FT-IR spectra of oleic acid coated Fe_3O_4 nanoparticles (a) and amino magnetic microspheres (b)

图5 微球氨基滴定曲线

Fig. 5 Titration curve of $-\text{NH}_2$ amino groups

2.2 分散聚合法制备氨基磁性微球

分散聚合反应一般速率较快,整个体系为低黏度小颗粒的均匀分散体系,具有良好的散热性,特别在有回流的条件下,散热性更好。通常,对于许多单体而言,分散聚合反应均比在其他溶液中进行的聚合反应快,是制备磁性微球的理想方法^[13]。不同于单纯的高分子微球制备,由于纳米磁性粒子表面是亲水的,而单体是疏水的,在纳米磁性粒子表面进行分散或乳液聚合反应普遍存在微球包被不完全、粒径不均匀及易团聚等问题。因此用油酸对磁性粒子进行表面疏水改性可增加磁性粒子的表面疏水区,对单体进行有效增溶^[14]。

图1b为高分子包被后的氨基磁性微球透射电镜图,其粒径为10 nm左右,说明分散聚合所得磁性微球也呈纳米分布。

图2b是高分子包被后的氨基磁性微球的XRD图谱。对比油酸包被 Fe_3O_4 纳米粒子(图2a)可以看到,氨基磁性微球的6个主要衍射峰对应的衍射角(2θ)和相对强度几乎无异,说明分散聚合长达17 h的反应过程并未导致粒子晶型的显著变化。

图3b是氨基磁性微球的磁滞回线图。与油酸包被 Fe_3O_4 纳米粒子相比,其饱和磁化强度有所降低,约为50 emu/g,说明分散聚合导致了粒子磁性的降低,这与聚合反应导致粒子粒径增大及磁核相对含量减少有关。

图4b是磁性微球的FT-IR图谱, 3379 cm^{-1} 和 1261 cm^{-1} 的特征吸收对应氨基的N—H强伸缩振动吸

收和 C—N 伸缩振动吸收,这说明分散聚合反应后磁性粒子表面生成了氨基功能基团。 $1\ 630\ \text{cm}^{-1}$ 为酯类 C=O 伸缩振动吸收峰,说明在粒子表面有效地进行了分散聚合反应,但其峰值向低波数移动,这可能是因为 Fe_3O_4 与单体间形成了新化学键所致^[15]。

2.3 磁性微球的氨基含量 $f(V)$ 测定

根据公式^[16]
$$f(V) = \frac{V_0 + V}{C_{\text{NaOH}}} = (c_{\text{H}^+} + c_{\text{OH}^-})$$

求出 $f(V)$ 随 V 变化的曲线,曲线与 V 轴的交点即为实际消耗碱的体积 V_e ,如图 5。其中, V_0 为盐酸标准溶液体积, V 为 NaOH 标准溶液体积。

计算所得磁性微球固含量为 $8.9\ \text{g/L}$, V_e 为 $24.3\ \text{mL}$,计算得到微球的氨基含量为 $486\ \mu\text{mol/g}$,与文献[14]报道的硅烷化磁性微球氨基含量相当。

3 结 论

应用化学共沉淀法合成了具有超顺磁性的油酸包被 Fe_3O_4 纳米粒子。通过分散聚合法制备了环氧基团化磁性高分子微球,经过氨化处理,得到具有丰富氨基活性功能基团的磁性氨基微球。合成的磁性纳米粒子磁响应性强、粒度小、分布窄,微球表面氨基基团含量可达 $486\ \mu\text{mol/g}$ 。

参考文献:

- [1] Madeline Torres-Lugo, Nicholas A Peppas. Preparation and characterization of P(MAA-g-EG) nanospheres for protein delivery applications[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2002, 4(1-2): 73-81.
- [2] Carsten Suhr Jacobsen. Microscale detection of specific bacterial DNA in soil with a magnetic capture-hybridization and PCR amplification assay[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(9): 3347-3352.
- [3] 任翊,高彦芳,朱学骏. 纳米磁性微粒合成制备方法及在酶连免疫吸附试验中的初步应用[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2003, 23(3): 231-234.
- [4] 吴文兵,杨婉身. 免疫微球及其在生物化学领域中的应用[J]. 生命的化学, 2006, 26(5): 457-459.
- [5] Daniel Horák, Nataliya Semenyuk, František Lednický. Effect of the reaction parameters on the particle size in the dispersion polymerization of 2-hydroxyethyl and glycidyl methacrylate in the presence of a ferrofluid [J]. Journal of Polymer Science: Part A. Polymer Chemistry, 2003, 41(12): 1848-1863.
- [6] 王艳君,刘江峰,姚兆玲. 磁性聚甲基丙烯酸甲酯微球的制备与研究[J]. 天津大学学报, 2001, 34(1): 64-68.
- [7] Reimers G W, Khalafalla S E. Production of magnetic fluids by peptization techniques: US, 3843540[P]. 1974-10-22.
- [8] 柯火仲,陈庆绸. 线性法电位滴定壳聚糖[J]. 化学通报, 1990(10): 44-46.
- [9] Wilson K S, Harris L A, Goff J D, *et al.* A generalized method for magnetite nanoparticle steric stabilization utilizing block copolymers containing carboxylic acids[J]. European Cells Materials, 2002, 3(Suppl. 2): 206-209.
- [10] 施卫贤,杨俊. 磁性 Fe_3O_4 微粒表面有机改性[J]. 物理化学学报, 2001, 17(6): 507-510.
- [11] 戚绍祺,胡萍春. 晶粒大小的测定[J]. 广州化学, 2000, 25(3): 33-39.
- [12] Shafi K V P M, Wize S, Prozorov T, *et al.* The use of ultrasound radiation for the preparation of magnetic fluids[J]. Thin Solid Films, 1998, 318(1): 38-41.
- [13] 张凯,曾敏,雷毅. 分散聚合反应[J]. 化学通报, 2002, 65(85): 1-5.
- [14] Daniel Horák. Magnetic polyglycidylmethacrylate microspheres by dispersion polymerization[J]. Journal of Polymer Science: Part A. Polymer Chemistry, 2001, 39(21): 3707-3715.
- [15] 刘雪奇,曾红梅,赖琼钰,等. 含羧基磁性高分子微球的合成与表征[J]. 无机化学学报, 2005, 21(4): 490-494.
- [16] 严向阳,刘瑞,崔亚丽. 功能化磁性微球的合成与表征[J]. 陕西师范大学学报, 2005, 33(2): 69-73.