

PS-TEPA 和 PS-g-PEG 树脂合成及 吸附蛋白性质比较

梁力曼, 王 峰, 崔正刚

(江南大学化学与材料工程学院, 无锡 214122)

摘 要: 本文以吸附水溶液中蛋白质为目的, 考察 PS-TEPA 和 PS-g-PEG 两种带聚离子型长链聚苯乙烯树脂的合成条件和吸附牛血清蛋白能力。结果发现, 当反应温度为 85 °C, 四乙烯五胺的投料量为 16 mL, 反应时间为 12 h 时, 产物 PS-g-TEPA 型树脂的增重率和蛋白质的吸附率最好; 当反应温度为 35 °C, 聚乙二醇投料量为 5 mL, 反应时间为 7 h 时, 产物 PS-g-PEG 型树脂的增重率和蛋白吸附率最大。

关键词: 树脂吸附; PS-TEPA 树脂; PS-g-PEG 树脂; 牛血清蛋白

中图分类号: 150.2070 文献标识码: A 文章编号: 1673-7180(2007)12-0920-5

Studies on the synthesis of PS-TEPA and PS-g-PEG and their ability of absorption of bovine serum albumin

LIANG Liman, WANG Feng, CUI Zhenggang

(School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122)

Abstract: For adsorption of protein in aqueous solution, two new kinds of resin, polystyrene tetraethylenepentamine (PS-TEPA) and polystyrene-g-poly (ethylene glycol) (PS-g-PEG), are prepared and investigated of their capacities of adsorbing bovine serum albumin. It is found that the maximal value of adsorption of bovine serum albumin is obtained when the synthetic conditions for PS-TEPA are 85 °C, 12h, 16 mL tetraethylenepentamine and 35 °C, 7h, 5 mL polyethylene glycol for PS-g-PEG.

Key words: adsorption by resin; PS-TEPA; PS-g-PEG; bovine serum albumin

0 引言

功能高分子材料具有成本低、比表面积大、分散性好、粒径可控、多种形态、易于制备等优点, 已被广泛应用于标准计量、食品化工、医药学、生物工程、信息工程和微电子技术等领域^[1]。蛋白在聚合物载体上的吸附在生物医学领域如生物传感器^[2]、

人造器官、检验、免疫技术、细胞学等方面研究价值很高, 受到了广泛的关注。

据报道, 用来吸附蛋白的聚合物载体主要有 PE、PTFE、CA、PVDF 和 PS 等, 其中, PS 在国内外研究的较多。由于聚苯乙烯微球在溶液中吸附蛋白主要是靠其分子间的疏水相互作用, 而载体表面的强疏水性易使蛋白分子的构象发生改变, 使蛋白质变

性,因此需要对载体表面进行修饰,提高其亲水性^[3-5]。本研究以在聚苯乙烯树脂上接枝四乙烯五胺和聚乙二醇等亲水离子链的方法来提高树脂载体自水溶液中吸附蛋白的吸附能力。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

牛血清蛋白、聚苯乙烯树脂、四乙烯五胺、1,4-二氧六环、三氯化铝:国药集团上海化学试剂有限公司,均为分析纯。聚乙二醇(PEG₆₀₀):中国医药(集团)上海化学试剂公司,分析纯。氯乙酰氯:上海金山亭新化工试剂厂,分析纯。

HZ-D 循环真空泵:河南郑州长城供贸有限公司。ZK-82B 电热真空干燥箱:上海实验仪器总厂。JB-90-B 磁力搅拌器:上海天平仪器厂。TU-1901 型双光束紫外-可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司。MB104 红外光谱仪(KBr 压片):美国 BOMEN 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 增重的测定

当功能化试剂与具有一定交联度的聚苯乙烯树脂反应后,可使聚苯乙烯的质量增加,故可用增重率(g/100g)来初步表征此类反应的进行程度。

$$\text{公式为: } \Delta W\% = (W_2 - W_1) / W_1 \times 100\%$$

其中: $\Delta W\%$ 为功能化聚苯乙烯树脂的增重率; W_2 为反应后功能化聚苯乙烯树脂的质量(g); W_1 为反应前功能化聚苯乙烯树脂的质量(g)。

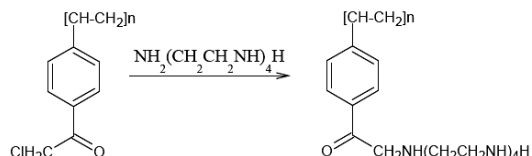
1.2.2 载体的合成

(1) 聚苯乙烯树脂的预处理^[6]:筛分之后的聚苯乙烯树脂(PS)于砂芯漏斗中,用二氯甲烷(DCM)溶胀,洗滤两次,再用四氢呋喃(THF)洗滤2次后,然后用冷的蒸馏水各洗滤10次,以除去PS中的单体、低分子物和分散剂,最后用无水乙醇和甲醇各洗滤2次,50℃真空干燥至恒重备用。

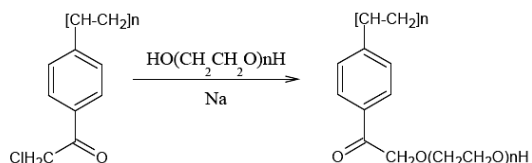
(2) 氯乙酰氯树脂合成^[6]:称取10g聚苯乙烯树脂置于三口瓶中,加入120mL的二氯甲烷溶胀一小时。加入1.0mL氯乙酰氯,在通氮气和室温下加入适量的AlCl₃作为催化剂,磁力搅拌反应4h。将合成的氯乙酰氯树脂用二氯甲烷转移,依次用四氢呋喃、去离子水洗涤,50℃下真空干燥至恒重。

(3) 聚苯乙烯四乙烯五胺树脂(PS-TEPA)的合成:称取0.5g氯乙酰氯树脂置烧瓶中,加入10mL的N,N-二甲基甲酰胺溶胀8h。加入16mL四乙烯五胺,并加热到80℃,磁力搅拌反应2h。将胺化后的

树脂用去离子水洗涤至中性,并用质量分数为1%的硝酸银溶液检测至无氯离子存在。用甲醇洗涤后50℃下真空干燥至恒重。方程式为:



(4) 聚苯乙烯-g-聚乙二醇树脂(PS-g-PEG)的合成:称取2g氯乙酰氯树脂置锥形瓶中,用300mL吡啶溶胀2h,加入2mL聚乙二醇和钠,室温下搅拌反应4h。树脂用吡啶和水清洗抽干,50℃真空干燥至恒重。方程式为:



1.2.3 树脂对牛血清蛋白(BSA)的吸附

取不同反应条件下得到的PS-TEPA和PS-g-PEG树脂,分别加入20mL质量浓度为2.0mg/mL的BSA溶液中密闭,25℃,140r/min恒温振荡一定时间,静置取上层清液于1cm石英比色皿中,用紫外分光光度法测定280nm波长处的吸光度,计算BSA的吸附率。

1.2.4 红外光谱分析:KBr压片法。

将干燥至恒重的等测树脂样品1~2mg加入100~120mg的KBr中,混合均匀,压片后用红外光谱扫描得样品红外图谱。

2 结果与讨论

2.1 树脂的红外光谱谱图

图1所示为氯乙酰化聚苯乙烯树脂、PS-g-PEG和PS-TEPA树脂的红外光谱图。

如图1a所示,氯乙酰化树脂的羰基吸收峰出现在1662cm⁻¹。一般情况下,羰基吸收峰通常出现在1725~1705cm⁻¹,芳酮会降低20~40cm⁻¹, α -卤代会升高20cm⁻¹。谱图中出现羰基峰位低移的原因可能是受烯醇互变(1640cm⁻¹~1580cm⁻¹)的影响。在830cm⁻¹则出现芳环1,4-双取代的C-H弯曲振动峰;与羰基相连的-CH₂-在1417cm⁻¹有弱的不对称伸缩振动吸收峰。表明氯乙酰基已接到聚苯乙烯微球上。

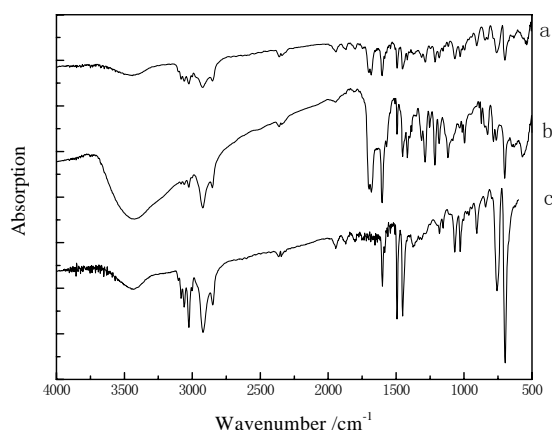


图1 树脂的红外光谱图

Fig.1 IR spectrum of resin

a: Chloroacetylated polystyrene resin;
b: PS-g-PEG; c: PS-TEPA

图1b为PS-g-PEG的红外光谱图。由图中可见，在 3426 cm^{-1} 是羟基吸收峰， 1682 cm^{-1} 为羰基吸收峰， 1217 cm^{-1} 为聚乙二醇醚键的吸收峰。正常醚键的吸收峰为 $1000\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ ，但由于醚键旁边存在 $\text{C}=\text{O}$ ，使得醚键的吸收峰偏离。

图1c所示为PS-TEPA的红外光谱图。对比氯乙酰基树脂的谱图可知：(1)c谱的 2922 cm^{-1} 处碳氢振动吸收峰强于a谱，说明经过胺化反应后，由于三乙烯四胺中 $-\text{CH}_2-$ 的加入，使 $-\text{CH}_2-$ 的吸收峰加强；(2)c谱在 $3200\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ 处出现的宽吸收峰带应是仲胺(3300 cm^{-1})和伯胺(3270 cm^{-1} 和 3370 cm^{-1})重叠造成的。

2.2 PS-TEPA 树脂合成条件的选择

2.2.1 温度对树脂增重及牛血清蛋白吸附的影响

温度对合成PS-TEPA树脂的增重率和树脂吸附牛血清蛋白吸附率的影响结果如图2。

由图2可知，随反应温度的升高，树脂的增重率先增大后缓慢地减小；树脂的蛋白吸附率开始变化不大， $80\text{ }^\circ\text{C}$ 以后吸附率急剧增大。可以看出，在 $80\sim 85\text{ }^\circ\text{C}$ 是树脂增重率最大且吸附蛋白较高的温度范围，因此该温度范围是树脂合成的最佳温度范围。温度过低不利于树脂链接新键的形成，而温度过高促使副反应产生，使得树脂合成和蛋白吸附的效率较低。

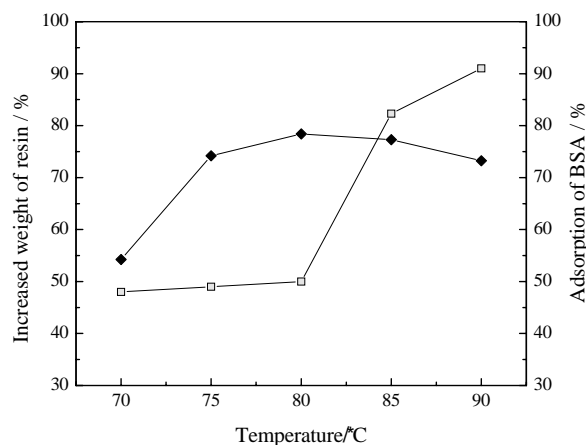


图2 温度对增重和吸附的影响

Fig.2 Effects of temperature on the increased weight and adsorption

□ Rate of increased weight; ◆ Adsorption of BS

2.2.2 胺用量的影响

从图3中可以看出，随着合成中胺用量的增加，树脂增重率先急剧增加后增加缓慢，而树脂对蛋白的吸附率在胺用量为 16 mL 时达到最大。原因是当胺的加入量较小时，四乙烯五胺几乎都参加了反应，且形成的空间位阻较小，比较容易吸附牛血清蛋白，且增重率上升较快。当四乙烯五胺加入量增加时，树脂表面的氯乙酰基被逐渐完全反应，使得增重率增长速度下降。蛋白质的吸附量下降的原因可能与树脂表面氨基链增多对表面电荷产生影响有关。

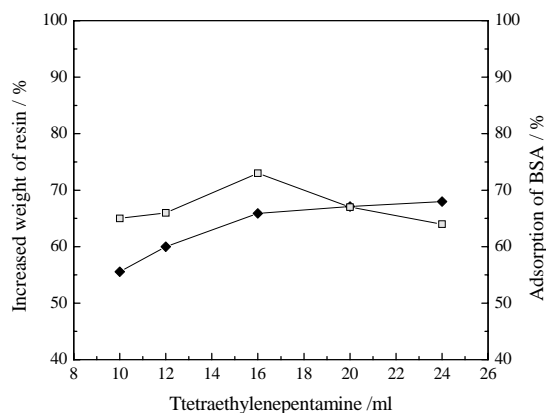


图3 胺用量对增重和吸附的影响

Fig.3 Effects of amount of tetraethylenepentamine on the increased weight and adsorption

□ Rate of increased weight; ◆ Adsorption of BS

2.2.3 反应时间的影响

由图4可知, 随合成反应和吸附作用时间延长, 树脂增重率和 PS-TEPA 树脂的蛋白吸附率都在增加, 当超过 12 h 后, 两者都达到最大值。原因可能是短时间内, 牛血清蛋白吸附在树脂的表面, 树脂的表面积足够大, 所以吸附速率较快, 随着时间的延长, 表面的牛血清蛋白越来越多。由于空间阻碍, 使得吸附量达到平衡。

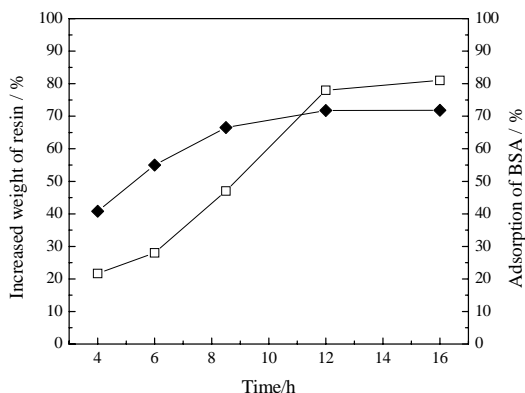


图4 反应时间对增重和吸附的影响

Fig.4 Effects of time on the increased weight and adsorption

□Rate of increased weight; ◆Adsorption of BSA

2.3 PS-g-PEG 树脂合成条件的选择

2.3.1 温度对增重及吸附牛血清蛋白的影响

从图5中可以看出, 随着温度的升高, 树脂的增重率和吸附率都是先增大后减小。树脂的最合成温度为 35℃。可能是因为聚乙二醇的亲水性和氢键作用使得吸附反应在温度较低的条件有利。

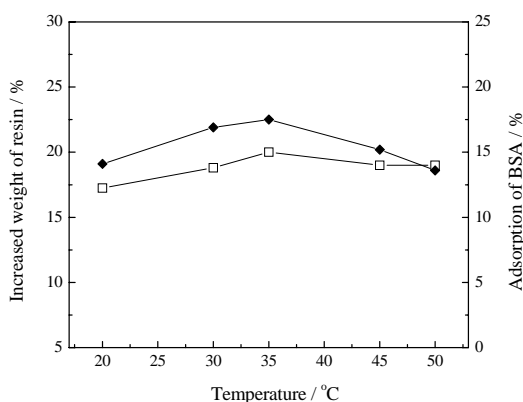


图5 温度对增重和吸附的影响

Fig.5 Effects of temperature on the increased weight and adsorption

□Rate of increased weight; ◆Adsorption of BSA

2.3.2 聚乙二醇用量的影响

由图6可知, 树脂增重率和吸附率曲线的变化趋势是一致的。当聚乙二醇的加入量为 5 mL 时, 增重率和吸附率分别达到最大。因此, 改善树脂表面的亲水性质能够增加其对蛋白质的吸附能力。

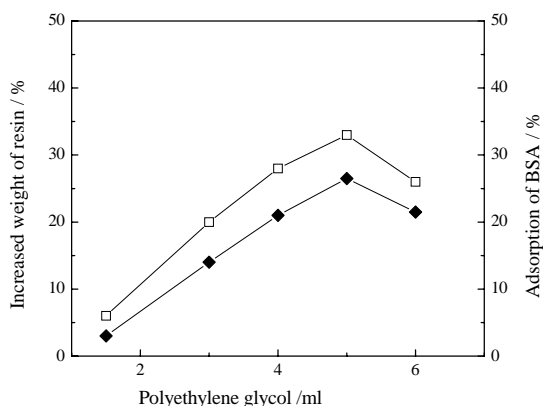


图6 醇用量对增重和吸附的影响

Fig.6 Effects of amount of polyethylene glycol on the increased weight and adsorption

□Rate of increased weight; ◆Adsorption of BSA

2.3.3 反应时间的影响

从图7可以看出, 随着合成和吸附作用时间的延长, 增重率和吸附率都是先增大后减小。原因可能是, 树脂接枝的聚乙二醇链分子在氢键作用下会在表面形成聚集, 从而形成较大的空间阻碍, 使得能够作用的实际羟基数目下降, 蛋白质的吸附率降低。

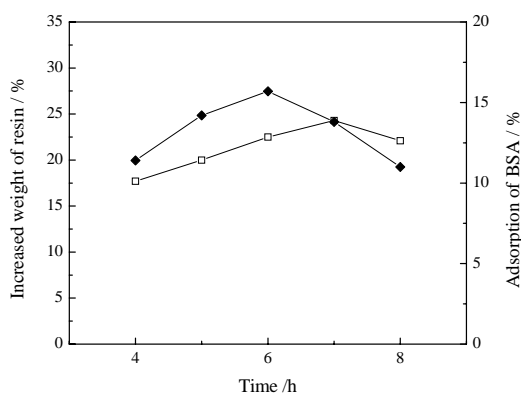


图7 反应时间对增重和吸附的影响

Fig.7 Effects of time on the increased weight and adsorption

□Rate of increased weight; ◆Adsorption of BSA

从以上结果可以看出,树脂在接枝四乙烯五胺后对蛋白质的吸附率提高最大,而接枝的聚乙二醇链的 PS-g-PEG 树脂对蛋白吸附率相对较小。这可能是因为:接枝的聚乙二醇链只能与蛋白质分子发生水合或极性作用吸附蛋白,而接枝的四乙烯五胺不仅能改善树脂表面的亲水性而且在解离后可通过电荷作用吸附蛋白。

[参考文献]

- [1] 张冰杰,杨文彬,雷刚. 聚苯乙烯微球的研究进展[J]. 材料导论网刊, 2006, 8(4): 37~39.
- [2] Lu B, Charles J H, Campbell T, et al. Protein contact printing for a surface plasmon resonance biosensor with on-chip referencing[J]. *Sensors and Actuators B*, 2001, (74): 91~99.
- [3] 胡杰,李松军,刘白玲. 牛血清蛋白在聚甲基丙烯酸甲酯微球表面的吸附[J]. *高分子学报*, 2004, 10(5): 763~765.
- [4] 匡科. 吸附树脂的制备及吸附蛋白质的研究[J]. *广东化工*, 2003, (3): 12~13.
- [5] 贺锐,王阳,曹光群,等. 能微球的制备及其对牛血清蛋白的吸附[J]. *石油化工*, 2007, 36(7): 731~734.
- [6] 魏荣卿,王强,刘晓宁,等. 乙酰化聚苯乙烯型固相载体的制备[J]. *离子交换与吸附*, 2005, 21(4): 289~296.