

Mn²⁺对聚 *N*-异丙基丙烯酰胺的性能影响

郭绍芬^{1,3} 陈明清² 陆天虹^{3,4} 周 青¹ 黄晓华^{*,2,3}

(¹ 江南大学工业生物技术教育部重点实验室, 无锡 214036)

(² 江南大学化学与材料工程学院, 无锡 214036)

(³ 南京师范大学化学与环境科学学院, 南京 210097)

(⁴ 中国科学院长春应用化学研究所, 长春 130022)

摘要: 合成了聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)与 Mn²⁺的配合物,并用荧光光谱、UV-Vis、FTIR、XPS 进行了初步表征。说明 Mn²⁺与 PNIPAM 侧链羰基氧或亚氨基氮原子发生了配位作用。由于 Mn²⁺的发射光谱与 PNIPAM 激发光谱部分重叠以及 Mn²⁺位于 561 nm 的发射峰在 Mn²⁺-PNIPAM 体系发射光谱中消失,说明发生了较好的 Förster 能量传递。因此,在 307 nm 紫外区荧光强度比 PNIPAM 增强了 314%,使该配合物表现出较好的抑菌效果,而此时少量 Mn²⁺对其低临界溶解温度(LCST)影响不大。

关键词: 聚 *N*-异丙基丙烯酰胺; Mn²⁺; 能量传递; 低临界溶解温度; 抑菌性

中图分类号: O614.7+11

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2005)05-0633-05

Effect of Mn²⁺ on Property of Poly *N*-isopropylacrylamide

GUO Shao-Fen^{1,3} CHEN Ming-Qing² LU Tian-Hong^{3,4} ZHOU Qing¹ HUANG Xiao-Hua^{*,2,3}

(¹The Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036)

(²School of Chemical and Materials engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036)

(³School of Chemistry and Environmental Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210009)

(⁴Changchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022)

Abstract: The property changes due to the interaction of poly *N*-isopropylacrylamide (PNIPAM) with Mn²⁺ were studied using UV-Vis, FTIR, XPS and fluorescence spectroscopy techniques. The results indicated that Mn²⁺ could bind to carbonyl oxygen or nitrogen atom in PNIPAM and form Mn²⁺-PNIPAM complex. It was found that there was efficient Förster energy transfer from Mn²⁺ to PNIPAM according to overlapping of the emission spectra of Mn²⁺ and the excitation spectra of PNIPAM as well as the disappearance of the emission peak of Mn²⁺ at 561 nm in Mn²⁺-PNIPAM complex. Therefore, the fluorescence intensity at 307 nm was increased by 314% and the antibacterial activity was presented in Mn²⁺-PNIPAM complex, while the lower critical solution temperature of PNIPAM was not changed.

Key words: poly *N*-isopropylacrylamide; Mn²⁺; energy transfer; lower critical solution temperature; antibacterial activity

0 引 言

聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAM)是一种生理相容性好的热敏性高分子,在水溶液中(32 ℃左右)发

生相转变^[1]。PNIPAM 因其具有相分离等特性,使它在药物缓释^[2]、物质分离提纯、活性酶包埋等方面有广泛的应用前景。近年来,人们对 PNIPAM 温敏性微观现象和应用做了大量的研究工作,但对其荧光

收稿日期:2004-09-20。收修改稿日期:2005-01-10。

国家自然科学基金(No.20471030)、国家发改委稀土专项基金(No.GFZ040628)。

*通讯联系人。E-mail: xiaohuang@citiz.net

第一作者:郭绍芬,女,32岁,硕士研究生;研究方向:稀土化学。

性质的研究还未见文献报导。 Mn^{2+} 是生命系统中的微量元素之一,具有 $3d^5$ 电子层结构并于可见光区 585 nm 存在(${}^4T_1 \rightarrow {}^6A_1$)特征宽带发射,是制备具有特异功能高分子材料的理想添加剂(掺杂^[3]、敏化或激活作用),如 $\text{ZnS}:\text{Mn}^{2+}$ -高分子复合材料具有独特的发光性能^[4]。本文选择具有热敏性的高分子 PNIPAM 与生物微量元素 Mn^{2+} 的相互作用,渴望得到性能更佳的医用高分子载体(材料)。我们的实验结果表明:在 PNIPAM 中加入微量 Mn^{2+} 后,其荧光光谱在 307 nm 附近有较强紫外线 UV-B(生物学上具有抑、杀细菌的射线)波段发射且强度比 PNIPAM 高 314%。紫外、红外、XPS 光谱研究也表明, Mn^{2+} 可能与 PNIPAM 中羰基氧或亚氨基氮发生配位键合作用。因此,生物微量元素 Mn^{2+} 与 PNIPAM 的相互作用,有助于改善 PNIPAM 的特性及其应用性能。现将有关实验结果报道如下。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(由日本 Kagoshima University Akashi 提供),在 Agilent 1100 series 凝胶色谱仪测得其数均摩尔质量为 $2.41 \times 10^4 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$,分子量分布为 1.625;所用培养基为常用的细菌培养基,菌种为 DH10B 型大肠杆菌;其余均为分析纯试剂。

UV-Vis 吸收光谱用 Lambda17 型紫外-可见分光光度计(美国 Perkin-Elmer 公司)进行测定。FTIR 光谱用 Nexus-670 型 FTIR 光谱仪(美国 Nicolet 公司)测量,扫描范围 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$,荧光光谱用 Perkin-Elmer Ls50B(美国 Perkin-Elmer 公司)荧光光度计在室温下测定(以 Mn^{2+} 的特征发射波长 585 nm 测定配合物的激发光谱,再以最强激发峰波长 262 nm 为激发波长测定 MnCl_2 乙醇溶液、PNIPAM 乙醇溶液及不同质量分数 Mn^{2+} 的 Mn^{2+} -PNIPAM 体系的荧光发射光谱)。X 射线光电子能谱采用 ESCALab MK II X 射线光电子能谱仪(VG Scientific, UK)测定,辐射源为 $\text{Mg K}\alpha$ (1 253.6 eV)。聚合物和配合物样品溶液滴在 $0.8 \times 0.5 \text{ cm}^2$ 显微载玻片上,真空干燥过夜。所有结合能以 C1s 结合能 284.6 eV 为标准。抑菌性实验用相同石英四通比色皿,接种等量大肠杆菌,在自然光下培养 36 h,测定其 600 nm 波长处的 OD(Optical Density)值,所用仪器为 WFJ7200 可见分光光度计(尤尼卡上海仪器有限公司)。

1.2 Mn^{2+} -聚 *N*-异丙基丙烯酰胺高分子体系的合成

按文献^[5]方法合成。

2 结果与讨论

2.1 Mn^{2+} -PNIPAM 体系的荧光光谱

图 1 为 Mn^{2+} (a)、PNIPAM(b)及其 Mn^{2+} -PNIPAM 体系(c)的激发光谱。由图 1 可知, Mn^{2+} -PNIPAM 体系的吸收曲线形状与 PNIPAM 相似,但吸收强度显著增强,而 Mn^{2+} 在紫外区有较弱的吸收。因此,在 Mn^{2+} -PNIPAM 复合体系中主要表现为高分子 PNIPAM 的吸收。图 2 是 Mn^{2+} (a)、PNIPAM(b)及其 Mn^{2+} -PNI-

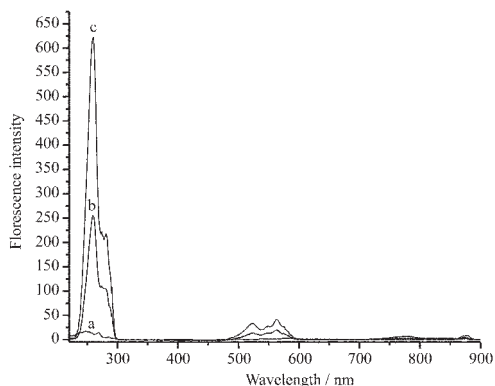


图 1 Mn^{2+} (a)、PNIPAM(b)与 Mn^{2+} 质量分数为 0.000 5% 的 Mn^{2+} -PNIPAM(c) 的激发光谱

Fig.1 Fluorescence excitation spectra of Mn^{2+} (a), PNIPAM (b) and Mn^{2+} -PNIPAM at the weight ratio of 0.000 5% Mn^{2+} (c) ($E_m=585 \text{ nm}$; split width a: 5/5; b, c: 3/5)

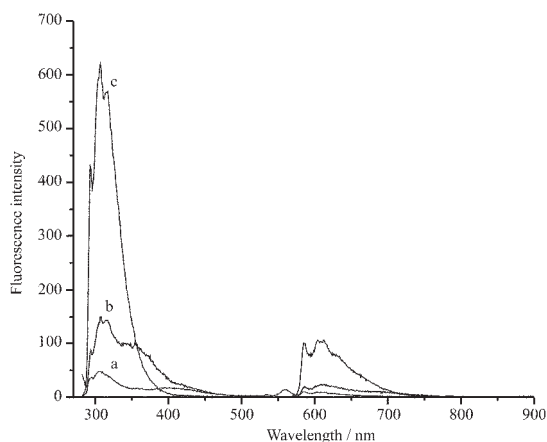


图 2 Mn^{2+} (a)、PNIPAM(b)与 Mn^{2+} 含量为 0.000 5% 的 Mn^{2+} -PNIPAM(c) 的发射光谱

Fig.2 Fluorescence emission spectra of Mn^{2+} (a), PNIPAM (b) and Mn^{2+} -PNIPAM at the weight ratio of 0.000 5% Mn^{2+} (c) (split width a: 5/5; b, c: 1.5/3)

PAM体系(c)的发射光谱。从图2可以获知,(1) Mn^{2+} 在紫外可见光区 561 nm, 585 nm 的较弱发射光谱, 分别对应于 Mn^{2+} 的 ${}^4\text{T}_2 \rightarrow {}^6\text{A}_1$, ${}^4\text{T}_1 \rightarrow {}^6\text{A}_1$ 跃迁。(2) Mn^{2+} -PNIPAM 具有与 PNIPAM 相似的发射光谱, 其中, Mn^{2+} 位于 561 nm 的发射峰消失, 可能存在中心离子微扰的配体发光^[6]。这一现象与许多金属离子-高分子体系发光现象不同, 它们大都发射金属离子的特征荧光。(3) Mn^{2+} -PNIPAM 体系在 307 nm 附近的荧光强度高于 PNIPAM 的 314%。

比较图1和图2可以看出, PNIPAM 的激发光谱及 Mn^{2+} 的发射光谱在紫外区及可见光区均存在部分重叠, 说明 Mn^{2+} -PNIPAM 体系荧光增强是由于 Mn^{2+} 吸收紫外光并向 PNIPAM 进行有效的能量传递^[7]。此外, Mn^{2+} 位于 561 nm 的发射峰在 Mn^{2+} -

PNIPAM 体系的发射光谱中消失, 进一步证明存在这种能量传递, 并且是通过 Förster 能量传递方式实现从 Mn^{2+} 到 PNIPAM 的能量传递^[8], 从而使其荧光发射大大增强。

为了考察 Mn^{2+} 含量对 Mn^{2+} -PNIPAM 体系荧光强度的影响, 实验中同步测定了不同质量比 Mn^{2+} -PNIPAM 体系在紫外光区 307 nm 处荧光强度, 其实验结果列于表1。由表1可见, PNIPAM 的荧光强度不及 Mn^{2+} 质量分数为 0.000 5% 的 Mn^{2+} -PNIPAM 体系荧光强度的 1/4, 即微量的 Mn^{2+} 就能使体系的荧光强度大大增强。而继续增加 Mn^{2+} 质量分数直到 1%, 对体系的荧光强度影响不大。所以可将 0.000 5% 的 Mn^{2+} 视为实现体系荧光增强的临界用量。

表1 不同质量分数的 Mn^{2+} -PNIPAM 荧光强度

Table 1 Fluorescence intensity of Mn^{2+} -PNIPAM with different weight ratios (split width 1.5/3)

Weight ratio of Mn^{2+} / %	0	0.000 5	0.005	0.3	1
Fluorescence intensity of Mn^{2+} -PNIPAM	150	621	573	617	601

2.2 Mn^{2+} -PNIPAM 体系的紫外可见光谱(UV-Vis)

图3是 Mn^{2+} (a)、PNIPAM(b)、 Mn^{2+} -PNIPAM 体系(c)的紫外吸收光谱。从图中可看出: Mn^{2+} 在紫外区呈现一弱的吸收, PNIPAM 在 208 nm 处的紫外吸收峰在 Mn^{2+} -PNIPAM 体系中红移至 213 nm 处, 对应于羰基的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁^[7], 与此同时, Mn^{2+} -PNIPAM 体系在 280 nm 处出现肩峰, 对应于 C=O 的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁, 说明可能形成了 Mn^{2+} -PNIPAM 配合物而发生相应的能级重组, 使 $n \rightarrow \pi^*$ 禁阻跃迁得以实现。 Mn^{2+} -PNIPAM 复合体系在紫外吸收区其峰位发生了 5

nm 的红移, 说明 π 和 π^* 之间的能级差较小及其发生 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁所需的能量较低, 由此推测 Mn^{2+} 与 PNIPAM 之间可能形成了共价键。此外, Mn^{2+} -PNIPAM 体系的紫外吸收强度有很大增强, 可能是形成配合物后导致发生跃迁的几率增大而吸收的光量子数增多。这一实验现象与上述荧光测定结果相一致。

2.3 Mn^{2+} -PNIPAM 体系红外光谱(FTIR)

图4是 PNIPAM(a)、 Mn^{2+} -PNIPAM(b) 体系的红外光谱曲线。二者相比, 酰胺 I 带发生了明显红移, 从 PNIPAM 中 1 647 cm^{-1} 红移至配合物 1 641 cm^{-1} 。进

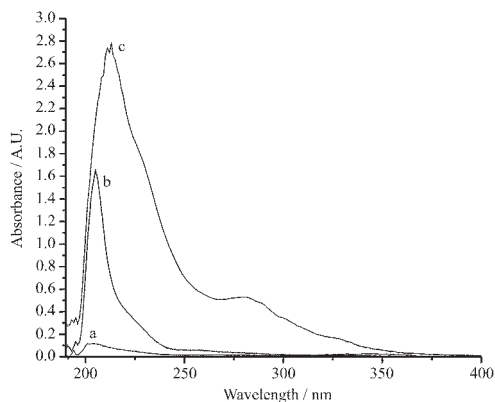


图3 Mn^{2+} (a)、PNIPAM(b)与 Mn^{2+} -PNIPAM(c)的紫外可见光谱

Fig.3 UV-Vis absorption spectra of Mn^{2+} (a), PNIPAM (b) and Mn^{2+} -PNIPAM (c)

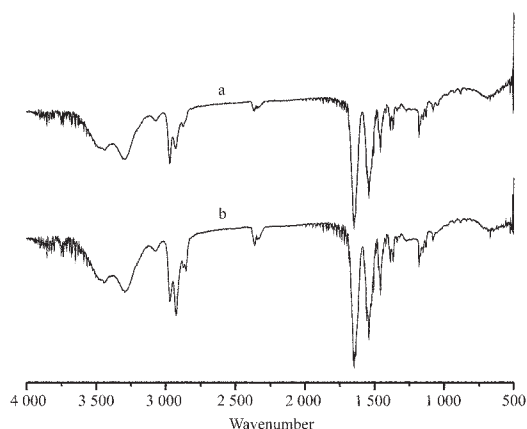


图4 PNIPAM(a)与 Mn^{2+} -PNIPAM(b)的红外光谱
Fig.4 FTIR spectra of PNIPAM (a) and Mn^{2+} -PNIPAM (b)

一步说明 Mn^{2+} 与 PNIPAM 羰基的相互作用。配位后部分电荷从 $\text{C}=\text{O}$ 双键转向 $\text{Mn}-\text{O}$ 键。使得 $\text{C}=\text{O}$ 双键被削弱, $\text{C}=\text{O}$ 的键级下降, 最终导致酰胺 I 带发生红移^[8]。

2.4 Mn^{2+} -PNIPAM 体系 X-射线光电子能谱(XPS)

图 5 是 PNIPAM 与 Mn^{2+} -PNIPAM 的 X-射线光电子能谱, 实验数据列于表 2。由表 2 可以看出, MnCl_2 中 Mn^{2+} 的 $2p$ 电子结合能为 644.2 eV, 而 Mn^{2+} -PNIPAM 中 Mn^{2+} 的电子结合能向低能端位移至 642 eV, 化学位移了 2.2 eV。 Mn^{2+} -PNIPAM 中的 $\text{O}1s$ 及 $\text{N}1s$ 电子结合能与 PNIPAM 相比, 分别从 530.95 eV 和 399.5 eV 向高能端位移至 531.75 eV 和 400.15 eV, 分别化学位移了 0.8 eV 和 0.65 eV。由此可获知, 配合物侧链中羰基氧和亚氨基氮的部分电子已转移到 Mn^{2+} 的外层空轨道上, 使其外层电荷密度增加, 内层电子结合能下降, 导致 $\text{O} \rightarrow \text{Mn}^{2+}$, $\text{N} \rightarrow \text{Mn}^{2+}$ 配位键的形成。

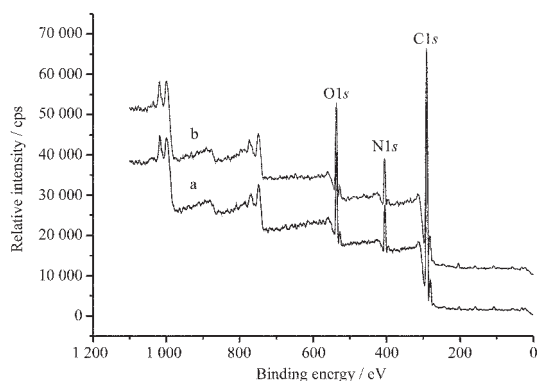


图 5 PNIPAM(a)与 Mn^{2+} -PNIPAM (b)的 X-射线光电子能谱

Fig.5 X-ray photoelectron spectra of PNIPAM (a) and Mn^{2+} -PNIPAM (b)

表 2 PNIPAM, Mn^{2+} 及 Mn^{2+} -PNIPAM 的结合能数据

Table 2 Binding energies for PNIPAM, Mn^{2+} , Mn^{2+} -PNIPAM (eV)

	$\text{Mn}(2p)$	$\text{N}(1s)$	$\text{O}(1s)$
PNIPAM	—	399.5	530.95
Mn^{2+}	644.2	—	—
Mn^{2+} -PNIPAM	642	400.15	531.75

C(1s) standard: 284.6 eV.

表 3 不同培养条件下的 OD 值

Table 3 OD value of samples under different culture conditions

Condition	OD value	
	Sample with Mn^{2+} -PNIPAM	Sample without Mn^{2+} -PNIPAM
Ambient radiation	0.503	0.690

2.5 Mn^{2+} -PNIPAM 体系的 LCST 行为

本文用荧光激发光谱来测定体系的低临界溶解温度(LCST), 把吸光度发生突跃时的温度作为体系的 LCST 值^[10]。PNIPAM 和 Mn^{2+} -PNIPAM 的 LCST 示于图 6。从图 6 可看出: 在发生相转变之前, 体系荧光强度随温度升高保持不变, 在 LCST 之后荧光强度随温度升高而剧烈增加, 43 °C 左右趋于平缓, 这是由于发生相转变后, 体系对紫外光的吸收增大。4 条曲线的斜率均在 32.5 °C 时存在突跃, 由此可认为 32.5 °C 即为体系的 LCST 值, 说明少量 Mn^{2+} 的加入对 PNIPAM 的热敏性影响很小, PNIPAM 与 Mn^{2+} -PNIPAM 配合物的 LCST 基本相同, 均在 32.5 °C 时发生相转变。

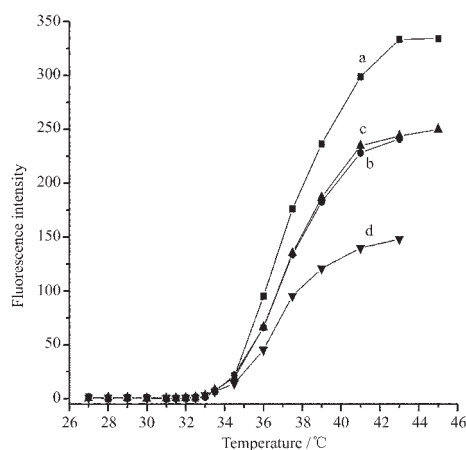


图 6 Mn^{2+} -PNIPAM 体系的 LCST

Fig.6 Lower critical solution temperature of Mn^{2+} -PNIPAM with different weight ratio of Mn^{2+} and PNIPAM (a: 0; b: 0.5%; c: 1%; d: 2%)

2.6 Mn^{2+} -PNIPAM 抑菌性

用液体培养法, 测定不同培养条件下的细菌浓度来确定样品的抑菌效果, 测得 OD 值如表 3 所示。由表 3 可知, 加入 Mn^{2+} -PNIPAM 后 OD 值明显低于未加 Mn^{2+} -PNIPAM 的 OD 值。生物研究表明: OD 值越高, 细菌浓度越大, 说明这种 Mn^{2+} -PNIPAM 高分子有较好抑菌作用。由荧光研究可知其抑菌机理来自于该配合物能吸收自然光中的紫外光, 在 307 nm 波段强发射所致。

3 结 论

通过荧光、UV-Vis、FTIR 及 XPS 光谱实验研究表明:在 PNIPAM 中加入微量 Mn^{2+} 后,由于 Mn^{2+} 与羰基氧或亚氨基氮发生配位键合作用,导致具有热敏性高分子 PNIPAM 兼具良好光敏性和较好的抑菌性。 Mn^{2+} -PNIPAM 体系,在 307 nm 附近其荧光发射强度比 PNIPAM 高 314%。 Mn^{2+} 位于 561 nm 的发射峰在 Mn^{2+} -PNIPAM 体系中消失,PNIPAM 的激发光谱与 Mn^{2+} 的发射峰在紫外区及可见光区的部分重叠,说明二者之间存在 Förster 能量传递。

参考文献:

- [1] Ganapathy S, Rajamohanan P R, Badiger M V, et al. *Polymer*, **2000**,**41**:4543~4547
- [2] Kopecek J. *Europ. J. Pharm. Sci.*, **2003**,**20**(1):1~16
- [3] GUO Xiu-Ying(郭秀盈), YAN Xiu-Ru(颜秀茹), CUI Xiao-Liang(崔晓亮), et al. *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chem.)*, **2004**,**20**(8):910~914
- [4] Toyoda T, Cruz A B. *Thin Solid Films*, **2003**,**438~439**:132~136
- [5] CAI Yan(蔡彦), CHEN Ming-Qing(陈明清), JI Hong-Nian(吉红念), et al. *Gaofenzi Xuebao(Acta Polymerica Sinica)*, **2003**,**4**:599~602
- [6] XUE Wei-Xing(薛卫星), LI Jian-Yu(李建宇). *Jingxi Huagong (Fine Chemicals)*, **2002**,**19**(1):22~24
- [7] TAO Dong-Liang(陶栋梁), HUANG Bao-Gui(黄保贵), XU Yi-Zhuang(徐怡庄), et al. *Guangpuxue Yu Guangpu Fenxi (Spectroscopy and Spectral Analysis)*, **2001**,**21**(6):740~744
- [8] Okamoto Y, Ueba Y, Dzhaniybekov N F, et al. *Macromolecules*, **1981**,**14**:17~22
- [9] HUANG Bao-Gui(黄保贵), TAO Dong-Liang(陶栋梁), XU Yi-Zhuang(徐怡庄), et al. *Guangpuxue Yu Guangpu Fenxi (Spectroscopy and Spectral Analysis)*, **2003**,**23**(3):506~508
- [10] Boutris C, Chatzi E G, Kiparissides C. *Polymer*, **1997**,**38**(10):2567~2570
- [11] Liu W, Zhang B, Lu W W, et al. *Biomaterials*, **2004**,**25**(15):3005~3012