

基于聚合物修饰的温度敏感金纳米通道阵列膜

羊小海 吴迎奔 王青 王柯敏* 王胜锋

(湖南大学 生物医学工程中心; 化学生物传感与计量学国家重点实验室; 化学化工学院; 生物纳米与分子工程湖南省重点实验室, 长沙 410082. * 联系人, E-mail: kmwang@hnu.cn)

摘要 通过在金纳米通道阵列膜上修饰聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAm)分子, 发展了一种温度敏感的纳米通道阵列膜. 以荧光素钠和水溶性量子点为探针, 考察了这种膜在不同温度下的渗透性. 结果表明, 该 PNIPAm 分子修饰的膜能够可逆地响应外界温度的变化, 使纳米通道的孔径大小被改变, 进而影响膜的渗透性. 当温度为 25 ($<$ 低临界溶液温度, LCST)时, 荧光探针的渗透较慢, 甚至基本上被阻止, 这是因为 PNIPAm 分子呈现膨胀构象使通道尺寸变小所致; 而当温度为 40 ($>$ LCST)时, 荧光探针的渗透明显加快, 这是因为 PNIPAm 分子呈现紧缩构象使通道尺寸变大所致. 这种温度敏感的金纳米通道阵列膜的渗透性可以被可逆地调控, 有望用于纳米级阀门等装置.

关键词 金纳米通道阵列膜 温度敏感 聚 *N*-异丙基丙烯酰胺

近年来, 可控功能化表面的研究得到了越来越多的关注, 这种功能化的表面能响应外界条件的变化, 具有“开关性”和“可逆性”的特点, 又被称为“smart”表面^[1-3]. 用于表面性质可逆调控的外界条件包括: 光线^[4]、pH^[5]、电场^[6]、温度^[7]以及周围的溶剂环境^[8]等. 已有人在二维平面基底上通过各种方法制备了不同类型的可控功能化表面, 并对各种表面性质进行了考察, 如表面的浸润性^[9]、附着特性^[10]等. 随着膜技术和纳米技术的发展, 可控功能化表面已逐步被应用于通道阵列膜. 例如 Liu 等人^[11]将偶氮苯分子修饰在硅纳米通道上, 实现了物质流通量的光可逆调控; Ito 等人^[12]在 26 μm 孔径的聚碳酸酯膜上接枝聚甲基丙烯酸(PMAA), 制备了 pH 响应的通道阵列膜, 考察了不同 pH 时水分子的渗透性; Kuo 等人^[13]发展的用于物质流量控制的纳米毛细管阵列膜, 采用电场实现了通道开关的控制; Harrell 等人^[14]利用电场控制锥形金纳米通道阵列膜内修饰的 DNA 分子, 实现了离子迁移的可逆调控; Chu 等人^[15]将聚 *N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAm)连接在 2.8 μm 孔径的聚乙烯膜上, 研究了不同温度下小分子在膜内的扩散行为.

PNIPAm 是一种具有温度敏感特性的聚合物^[16]. Heskins 等人^[17]最早报道了 PNIPAm 接近 32 时, 在水相中可以发生显著的体积改变. Tanaka 等人^[18]阐述

了 PNIPAm 的不连续相转变性质, 且这种变化是可逆的. 本文将 PNIPAm 固定在金纳米通道阵列膜上, 并以荧光素钠和量子点为荧光探针考察了不同温度下膜的渗透性. 结果表明, 该 PNIPAm 修饰的膜能够可逆地响应外界温度的变化, 使纳米通道的孔径大小被改变, 是一种温度敏感的纳米通道阵列膜. 该纳米通道阵列膜有望用于纳米级阀门等装置, 在控制释放、分离等许多领域具有潜在的应用价值.

1 实验

() 试剂. *N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAm, 97%, Aldrich), 聚碳酸酯膜(50 nm, Osmonics), 亚硫酸金钠(江苏常州化工研究所), 4,4'-偶氮二(4-氰基戊酸)(ACPA, Aldrich), 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳化二亚胺盐酸盐(EDAC, Across), *N*-羟基丁二酰亚胺(NHS, Aldrich), 脲胺盐酸盐(98%, Aldrich), 水溶性量子点(50 $\mu\text{mol/L}$ ^[19], 实验室自制^[20], 平均粒径(7 ± 2) nm), 高纯氮(N_2 , 99.999%). 其他试剂均为分析纯, 实验用水均为二次蒸馏水.

() 仪器. F-2500 型荧光分光光度计(日本日立), DSA100 型视频光学接触角测量仪(德国 KRÜSS), JCP-350 型磁控溅射镀膜机(北京泰科诺科技有限公司), 1515-2414 型凝胶渗透色谱仪(美国 Waters).

() 羧基化 PNIPAm 的合成与纯化. 采用自由基聚合法合成羧基化 PNIPAm^[21]. 以 1:1(体积比)的

2007-08-01 收稿, 2007-10-31 接受

国家重点基础研究发展计划(批准号: 2002CB513110)、科技部国际合作重点项目(批准号: 2003DF000039)和国家自然科学基金(批准号: 90606003, 20475015)资助

甲苯和正己烷混合溶剂将单体 NIPAm 重结晶, 减压干燥($<25^{\circ}\text{C}$)得到白色晶体. 将 1.13 g(0.01 mol)结晶 NIPAm 溶于 10 mL 的无水乙醇. 并将溶液保持在冰水浴中, 接着加入 0.056 g(0.2 mmol)ACPA, 通氮 0.5 h 后, 转移到 70°C 油浴中, 回流 20 h. 将反应粗产物在旋转蒸发仪中浓缩后, 再溶解于 5 mL 丙酮中, 加 20 mL 无水乙醚进行沉淀, 离心分离(8000 r/min, 10 min), 重复 2 次, 最后将白色产物在 45°C 下真空干燥 48 h 即可. 经凝胶渗透色谱分析, 该羧基化 PNIPAm 的 $M_n = 11393$, $PDI = 1.59$ (以聚苯乙烯为标样, 四氢呋喃为溶剂), 与文献[21]报道的接近.

() PNIPAm 修饰的金表面的浸润性考察. 利用磁控溅射镀膜机在洗净的载玻片[22]表面依次镀 10 nm 铬层和 100 nm 金层. 将金膜置于 0.02 mol/L 的胍胺溶液中, 在 4°C 条件下反应 4 h 后, 用水反复清洗干净, 即可获得氨基化金膜表面. 在 PBS 中, 将 0.15 mmol/L 羧基化的 PNIPAm 用 100 mmol/L EDAC 和 100 mmol/L NHS 活化 10 min, 缓慢滴加于氨基化的金膜表面, 室温反应 15 min, 得到 PNIPAm 修饰的金表面. 利用视频接触角测量仪测定其不同温度下的接触角.

() 金纳米通道阵列膜的制备. 孔径 50 nm 的聚碳酸酯膜依次用 0.025 mol/L 氯化亚锡溶液、0.07 mol/L 三氟乙酸溶液和 0.029 mol/L 氨化的硝酸银溶液活化. 然后将膜置于 20 mL 镀金液[23]中, 4°C 下沉积金. 金纳米通道的孔径与沉积时间成反比[23-25]. 沉积金后的膜在 25% 的硝酸中浸泡 12 h, 即得金纳米通道阵列膜, 洗净晾干后备用. 这里分别用 50 nm-8 h, 50 nm-16 h 和 50 nm-24 h 表示 50 nm 聚碳酸酯膜沉积金 8, 16 和 24 h 后得到的膜.

() PNIPAm 修饰的金纳米通道阵列膜的制备. 将金纳米通道阵列膜固定在 U 型流通池[26]上, 首先在膜的一侧加入 0.02 mol/L 的胍胺溶液, 另一侧采用滤纸吸引, 使膜的两侧都修饰上氨基. 用水清洗后, 在膜的一侧加入 EDAC/NHS 活化的羧基化 PNIPAm 溶液, 另一侧采用滤纸吸引, 使膜的两侧都修饰上 PNIPAm. 按照这一方法在上述 3 种金纳米通道阵列膜上修饰了 PNIPAm, 分别表示为: 50 nm-8 h+PNIPAm, 50 nm-16 h+PNIPAm 和 50 nm-24 h+PNIPAm.

() 金纳米通道阵列膜渗透性的考察. 将膜固定在 U 型流通池上, 在不同温度($25, 29, 33, 40^{\circ}\text{C}$)下,

流通池两侧分别加入 2 mL 荧光探针溶液(进样池)和 2 mL 的 PBS 缓冲液(渗透池), 每隔 10 min 测定渗透池中溶液的荧光强度, 考察 60 min 内渗透池中溶液的荧光强度变化.

() PNIPAm 修饰的金纳米通道阵列膜的温度可逆性考察. 将膜固定在 U 型流通池上, 在 25°C 下, 分别在进样池和渗透池中加入 2 mL 荧光探针溶液和 2 mL 的 PBS 缓冲液, 每隔 4 min 检测渗透池中溶液的荧光强度, 时间持续 16 min. 然后迅速将进样池的溶液更换为 40°C 荧光探针溶液并保持此温度 16 min, 每隔 4 min 检测渗透池中溶液的荧光强度. 以上即为一个循环, 如此循环 3 次.

2 结果与讨论

2.1 PNIPAm 修饰的金纳米通道阵列膜对温度响应的原理

如图 1 所示, 利用 PNIPAm 对温度的响应特性, 即可调控金纳米通道阵列膜的孔径, 从而改变其渗透性. PNIPAm 的低临界溶液温度(lower critical solution temperature, LCST)约为 32°C [27], 当外界温度低于 LCST 时, 纳米通道内 PNIPAm 分子链呈膨胀构象而使纳米通道的孔径变小, 物质的渗透随之减慢; 当外界温度高于 LCST 时, 纳米通道内 PNIPAm 分子链呈紧缩构象而使纳米通道的孔径变大, 物质的渗透也随之加快.

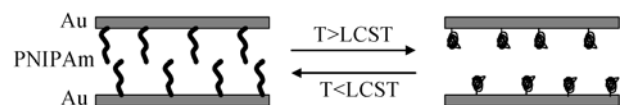


图 1 温度调节金纳米通道阵列膜孔径的原理

2.2 PNIPAm 修饰的金膜表面对温度的响应

裸金膜表面接触角为 $84^{\circ}\pm 3^{\circ}$ (图 2(a)曲线 1), 其表面自由能为 $32.5\text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$ (图 2(b)曲线 1), 在 $21\sim 45^{\circ}\text{C}$ 之间不随温度的变化而变化. 在金膜表面修饰胍胺分子, 得到了更亲水性的氨基化表面, 接触角为 $64^{\circ}\pm 2^{\circ}$ (图 2(a)曲线 2), 表面自由能为 $45.2\text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$ (图 2(b)曲线 2), 也不随温度变化.

图 2(a)曲线 3 和图 2(b)曲线 3 分别显示了 PNIPAm 修饰后金膜表面接触角和表面自由能对温度的响应. 在 $30\sim 33^{\circ}\text{C}$ 之间, 固定了 PNIPAm 分子的金膜的接触角有 6.5° 的突跃, 表面自由能变小 $4.1\text{ J}\cdot\text{m}^{-2}$. 这是由于在 LCST 左右, PNIPAm 分子发生构型变化[20,21].

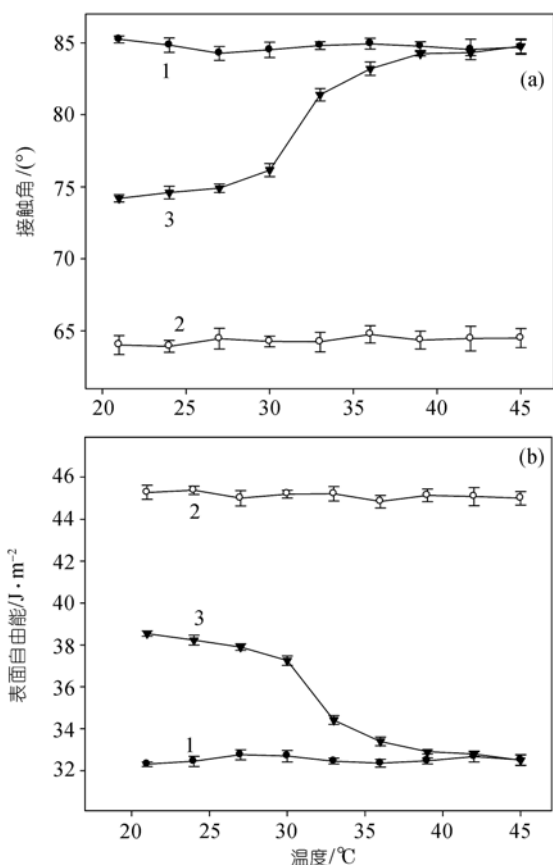


图 2 不同金膜表面的接触角(a)和表面自由能(b)随温度的变化

1, 裸金膜; 2, 氨基化金膜; 3, PNIPAm 修饰的金膜

PNIPAm 分子在低于 LCST 时, 其亲水片段与水分子可以形成氢键, PNIPAm 分子呈现膨胀的状态; 而在高于 LCST 时, 氢键变得十分脆弱, PNIPAm 分子与水分子的相互作用被破坏, 使得 PNIPAm 分子之间的疏水相互作用占主导而将结合的水分子排斥出去, 引起了其体积急剧变小, 表现为接触角增大, 表面自由能减小.

2.3 不同温度下 PNIPAm 修饰的金纳米通道阵列膜的渗透性

在不同温度下, 以荧光素钠为探针, 考察了不同孔径金纳米通道阵列膜的渗透性的变化(图 3(a)~(c)). 图 3(a)为 60 min 内 50 nm-8 h 和 50 nm-8 h+PNIPAm 两种膜的渗透性随温度变化的情况. 可以看出, 50 nm-8 h+PNIPAm 膜对荧光素钠的渗透随温度升高而加快, 且在 29~33 °C 之间, 其渗透速率有一个突跃. 作为对照, 还考察了荧光素钠在 50 nm-8 h 膜中的渗透情况. 发现 25 和 40 °C 条件下, 荧光素钠在 50 nm-

8 h 膜内的渗透速率变化较小, 未发现突跃现象. 这说明只有修饰了 PNIPAm 分子的金纳米通道阵列膜才对温度敏感. 这是由于 PNIPAm 分子在 25 °C 时呈现膨胀的分子构象 [16,18], 使得金纳米通道的孔径变小, 减缓了荧光素钠的渗透; 而当温度为 40 °C 时, PNIPAm 分子呈现紧缩构象, 使得金纳米通道的孔径变大, 荧光素钠的渗透明显加快.

50 nm-16 h+PNIPAm 膜和 50 nm-24 h+PNIPAm 膜也具有与 50 nm-8 h+PNIPAm 膜相类似的现象(图 3(b)~(c)), 但是在同样的温度条件下, 渗透速率依次减小. 这是由于随着在聚碳酸酯膜上沉积金的时间延长, 金纳米通道的孔径变小所致.

当增加荧光素钠溶液浓度至 2.5 μmol/L 时, 50 nm-16 h+PNIPAm 膜对荧光素钠的渗透性与图 3(b)的情况类似, 但是在同样的温度条件下, 渗透速率有一定程度的增加, 这是由于荧光素钠溶液的浓度变大所致(图 3(d)).

从图 3 还可以看出, 无论是哪种膜, 荧光素钠在 25 °C 下均有一定程度的渗透, 这可能是由于合成的 PNIPAm 分子链不够长, 即使是处于膨胀构象, 也未能将金纳米通道的孔完全封闭, 留下了空隙.

还选择了尺寸较大的水溶性量子点作为探针, 考察了 50 nm-8 h+PNIPAm 和 50 nm-16 h+PNIPAm 两种膜在不同温度下对量子点的渗透性(图 4): 25 °C 时, 两种膜对量子点的渗透均很慢; 40 °C 时, 50 nm-8 h+PNIPAm 膜对量子点的渗透明显加快, 而 50 nm-16 h+PNIPAm 膜对量子点的渗透仍然很慢. 由此可见, 金纳米通道本身越小, 留下的空隙也越小:

对于 50 nm-8 h+PNIPAm 膜而言, PNIPAm 分子处于膨胀构象时, 留下的空隙才小于量子点的尺寸, 因此表现出温度敏感特性; 对于 50 nm-16 h+PNIPAm 膜而言, 金纳米通道本身就比较小, 修饰 PNIPAm 分子后留下的空隙更小, 在不同温度下均小于量子点的尺寸, 因此没有表现出温度敏感特性. 另外, 比较图 3(b)和图 4 还可发现: 在 40 °C 时, 50 nm-16 h+PNIPAm 膜对荧光素钠(图 3(b))的渗透速率较大, 而对量子点(图 4)而言却很小. 这说明, 不同温度下膜渗透性的变化确实是由于纳米通道的尺寸变化所致.

2.4 PNIPAm 修饰的金纳米通道阵列膜对温度的可逆性

以荧光素钠为探针考察了 50 nm-16 h+PNIPAm 膜对温度的可逆性. 从图 5(a)可见, 在 0~16 min 内,

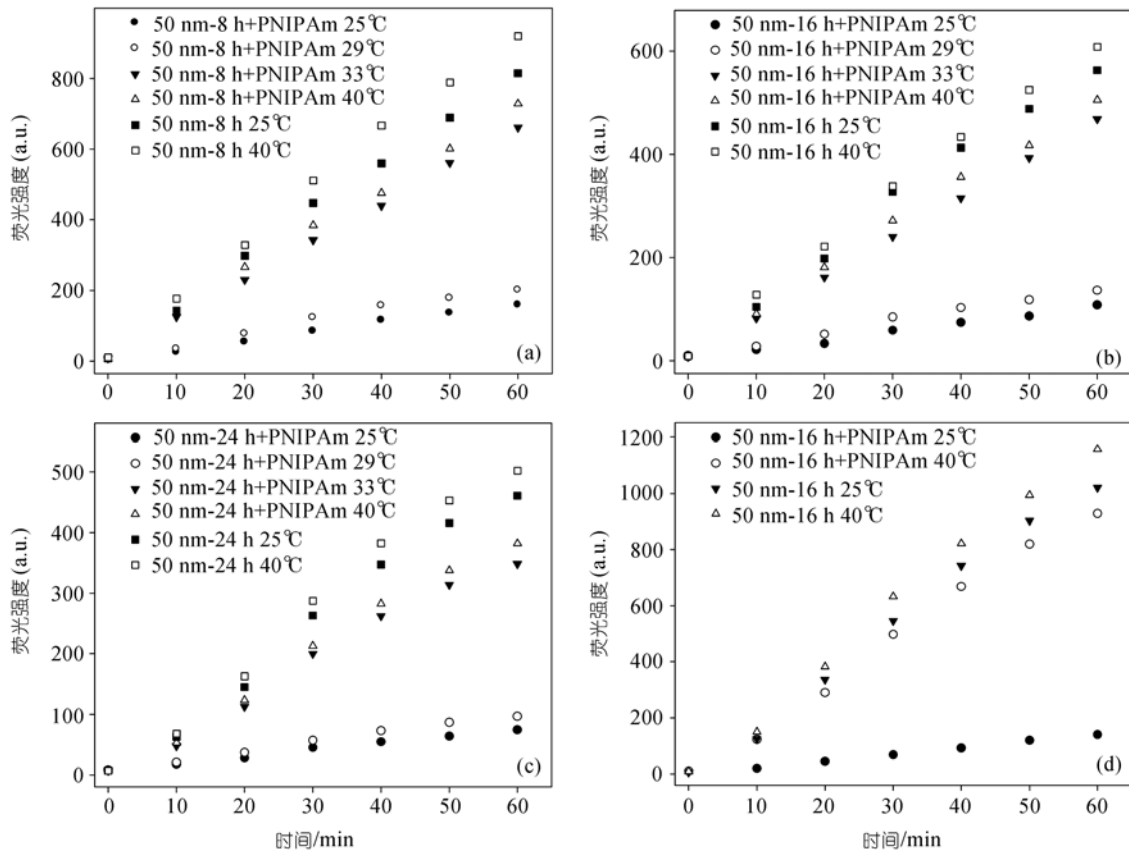


图3 以荧光素钠为探针考察不同温度下金纳米通道阵列膜的渗透性

(a)~(c)分别表示 50 nm-8 h+PNIPAm 膜、50 nm-16 h+PNIPAm 膜和 50 nm-24 h+PNIPAm 膜对 1 μmol/L 荧光素钠的渗透性；
(d) 表示 50 nm-16 h+PNIPAm 膜对 2.5 μmol/L 荧光素钠的渗透性

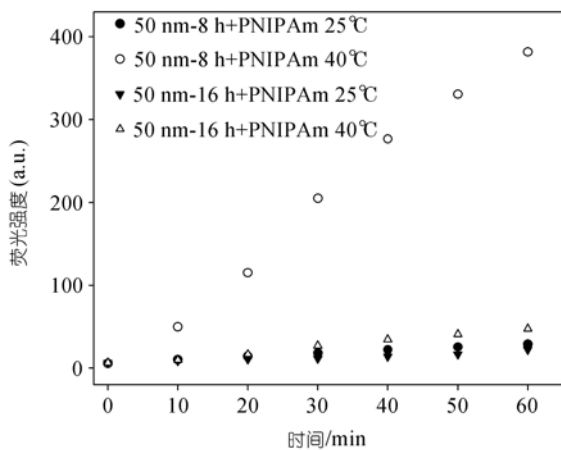


图4 50 nm-8 h+PNIPAm 和 50 nm-16 h+PNIPAm 膜对 10 μmol/L 量子点的渗透性

25 °C 下荧光素钠在渗透池内的荧光强度增加了 34.12, 在 16~32 min 内, 40 °C 下荧光素钠在渗透池内的荧光强度增加了 271.1, 渗透速度明显加快. 这是因为修饰了 PNIPAm 的金纳米通道在不同温度下的孔径变

化所致. 再次降温和升温, 上述现象可以重复出现.

将荧光素钠替换为量子点, 在 50 nm-8 h+PNIPAm 膜上观察到了类似的现象. 从图 5(b)可见, 温度从 25 °C 升至 40 °C 后, 量子点在渗透池内的荧光强度增幅明显升高. 再次降温和升温, 上述现象可以重复出现. 以上结果均表明, PNIPAm 修饰的金纳米通道阵列膜对温度的响应是可逆的.

3 结论

本文通过在金纳米通道阵列膜上修饰 PNIPAm 分子, 得到了一种温度敏感的纳米通道阵列膜. 以荧光素钠和水溶性量子点为探针, 考察了不同温度条件下该纳米通道阵列膜的渗透性. 结果表明: () 该膜的渗透性随温度的变化而变化, 温度越高, 荧光探针的渗透速率越快, 且在 29~33 °C 之间存在突跃现象; () 对同样的膜而言, 其渗透性对不同尺寸的探针不同, 表明上述突跃现象确实是由于纳米通道的尺寸变化所致; () 通过对膜进行反复升温和降温, 表明

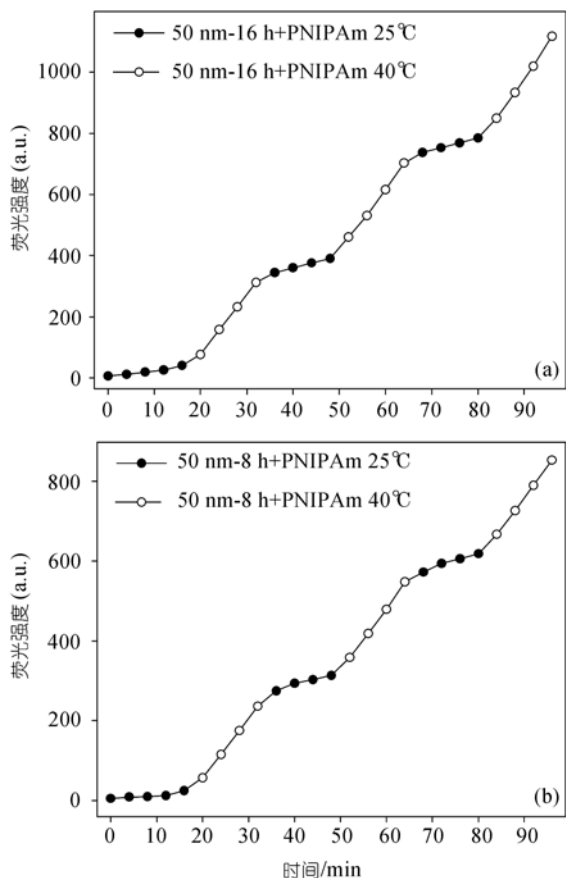


图 5 PNIPAm 修饰的金纳米通道阵列膜对温度的可逆性
 (a) 50 nm-16 h+PNIPAm 膜, 以 2.5 μmol/L 荧光素钠为探针;
 (b) 50 nm-8 h+PNIPAm 膜, 以 10 μmol/L 量子点为探针

其对温度的响应是可逆的。该温度敏感的纳米通道阵列膜有望制成纳米级的阀门, 用于物质的控制释放、分离等方面。

参 考 文 献

- 1 Russell T P. Surface-responsive materials. *Science*, 2002, 297(5583): 964—967 [DOI]
- 2 Liu Y, Mu L, Liu B, et al. Controlled switchable surface. *Chem Eur J*, 2005, 11(9): 2622—2631 [DOI]
- 3 孙亚斌, 丁小斌, 郑朝晖, 等. 智能表面. *化学通报*, 2006, 69(4): 252—260
- 4 Lim H S, Kwak D, Lee D Y, et al. UV-driven reversible switching of a rose-like vanadium oxide film between superhydrophobicity and superhydrophilicity. *J Am Chem Soc*, 2007, 129(14): 4128—4129 [DOI]
- 5 Matthews J R, Tuncel D, Jacobs R M J, et al. Surfaces designed for charge reversal. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(21): 6428—6433 [DOI]
- 6 Lahann J, Mitragotri S, Tran T N, et al. A reversibly switching surface. *Science*, 2003, 299(5605): 371—374 [DOI]
- 7 Sun T, Wang G, Feng L, et al. Reversible switching between superhydrophilicity and superhydrophobicity. *Angew Chem Int Ed*, 2004, 43(3): 357—360 [DOI]

- 8 Minko S, Muller M, Motornov M, et al. Two-level structured self-adaptive surfaces with reversibly tunable properties. *J Am Chem Soc*, 2003, 125(13): 3896—3900 [DOI]
- 9 Chaudhury M K, Whitesides G M. How to make water run uphill. *Science*, 1992, 256(5063): 1539—1541 [DOI]
- 10 Ruths M, Johannsmann D, Rühle J, et al. Repulsive forces and relaxation on compression of entangled, polydisperse polystyrene brushes. *Macromolecules*, 2000, 33(10): 3860—3870 [DOI]
- 11 Liu N G, Dunphy D R, Atanassov P, et al. Photoregulation of mass transport through a photoresponsive azobenzene-modified nanoporous membrane. *Nano Lett*, 2004, 4(4): 551—554 [DOI]
- 12 Ito Y, Inaba M, Chung D J, et al. Control of water permeation by pH and ionic strength through a porous membrane having poly(carboxylic acid) surface grafted. *Macromolecules*, 1992, 25(26): 7313—7316 [DOI]
- 13 Kuo T C, Cannon D M, Bohn P W, et al. Nanocapillary array interconnects for gated analyte injections and electrophoretic separations in multilayer microfluidic architectures. *Anal Chem*, 2003, 75(10): 2224—2230 [DOI]
- 14 Harrell C C, Kohli P, Siwy Z, et al. DNA-nanotube artificial ion channels. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(48): 15646—15647 [DOI]
- 15 Chu L Y, Niitsuma T, Yamaguchi T, et al. Thermoresponsive transport through porous membranes with grafted PNIPAM gates. *AIChE J*, 2003, 49(4): 896—909 [DOI]
- 16 Csetneki I, Filipcsei G, Zrinyi M. Smart nanocomposite polymer membranes with on/off switching control. *Macromolecules*, 2006, 39(5): 1939—1942 [DOI]
- 17 Heskins M, Guillet J E. Solution properties of poly(*N*-isopropylacrylamide). *J Macromol Sci*, 1968, 2(8): 1441—1455 [DOI]
- 18 Hirokawa Y, Tanaka T. Volume phase transition in a non-ionic gel. *J Chem Phys*, 1984, 81(12): 6379—6380 [DOI]
- 19 Yu W W, Qu L H, Guo W Z, et al. Experimental determination of the extinction coefficient of CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals. *Chem Mater*, 2003, 15(14): 2854—2860 [DOI]
- 20 Li Z H, Wang K M, Tan W H, et al. Immunofluorescent labeling of cancer cells with quantum dots synthesized in aqueous solution. *Anal Biochem*, 2006, 354(2): 169—174 [DOI]
- 21 Shan J, Nuopponen M, Jiang H. Preparation of poly(*N*-isopropylacrylamide)-monolayer-protected gold clusters: Synthesis methods, core size, and thickness of monolayer. *Macromolecules*, 2003, 36(12): 4526—4533 [DOI]
- 22 胡瑞省, 刘善堂, 朱梓华, 等. 金纳米粒子在平整硅基表面上的组装. *物理化学学报*, 2000, 16(3): 202—206
- 23 黄杉生, 尹志芳, 羊小海, 等. 基于金纳米通道膜检测脱氧核糖核酸的研究. *分析化学*, 2006, 34(11): 1515—1518
- 24 Menon V, Martin C. Fabrication and evaluation of nanoelectrode ensembles. *Anal Chem*, 1995, 67(13): 1920—1928 [DOI]
- 25 Jirage K, Hulteen J, Martin C. Effect of thiol chemisorption on the transport properties of gold nanotubule membranes. *Anal Chem*, 1999, 71(21): 4913—4918 [DOI]
- 26 黄杉生, 许光明, 何晓晓, 等. 金纳米通道用于免疫球蛋白白测试的研究. *科学通报*, 2004, 49(14): 1368—1370
- 27 Wu C, Zhou S. Thermodynamically stable globule state of a single poly(*N*-isopropylacrylamide) chain in water. *Macromolecules*, 1995, 28(15): 5388—5390 [DOI]