

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫 成果報告
 期中進度報告

溫度感應型磁性免疫乳膠顆粒之製造及其實際應用之研究

計畫類別： 個別型計畫 整合型計畫

計畫編號：NSC 91 - 2216 - E - 041 - 002 -

執行期間： 91 年 8 月 1 日至 92 年 7 月 31 日

計畫主持人：李佳芬

共同主持人：

計畫參與人員：周玉蕙

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告 完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

- 赴國外出差或研習心得報告一份
- 赴大陸地區出差或研習心得報告一份
- 出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份
- 國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年 二年後可公開查詢

執行單位：嘉南藥理科技大學化妝品應用與管理系

中華民國 92 年 10 月 27 日

溫度感應型磁性免疫乳膠顆粒之製造及其實際應用之研究

計劃編號：91-2216-E-041-002-

執行期限：91 年 8 月 1 日至 92 年 7 月 31 日

計劃主持人：李佳芬 嘉南藥理科技大學化妝品應用管理系

計劃參與人員：周玉蕙 國立台灣大學化學工程研究所

Abstract

In this study, the magnetic polymer latex with the property of temperature sensitivity was synthesized by the method of two-step soapless seeded emulsion polymerization. First, stable ferrofluid with Fe_3O_4 nanoparticle was synthesized by using PAA oligomer combined traditional co-precipitation method, and to discuss the synthesis mechanism and its structure. In order to solve the problem that the ferrofluid, NIPAAM and MAA can't create stable particles, styrene was added into the ferrofluid and then initiator was added to synthesize the first shell of the magnetic polymer latex. Then the temperature-sensitivity NIPAAM, and the functional group donor MAA are used as monomers; Fe_3O_4 /PS nanoparticles are used as magnetic powders, and KPS is used as initiator to synthesize the temperature sensitive magnetic latex by the method of two-step seeded emulsion polymerization. The effect of the PAA content in the ferrofluid, the pH value of the ferrofluid, the ratio of the monomers, the concentration of the monomers, and other reaction conditions of the structure, size, uniformity, reaction rate are studied.

摘要

本研究主要是以兩步驟無乳化劑乳化聚合反應合成具溫度感應性之磁性乳膠顆粒。

首先以 PAA 寡聚物結合傳統的共沈法合成具有 Fe_3O_4 奈米微粒的穩定磁性流體，探討磁性流體的合成機構及其結構。第一步先加入苯烯酸(styrene)於磁性流體懸浮液中，而後加入起始劑進行乳化聚合反應合成磁性乳膠微粒，進行磁性流體的第一層包覆，解決磁性流體無法穩定與氮-異丙基丙烯醯胺(N-isopropylacrylamide)- 甲基丙醯酸(methacrylic acid)共聚物進行包覆的問題，接下來使用具有溫度感應性的 NIPAAM 及具有 -COOH 官能基的 MAA 為單體，使用陰離子型起始劑 KPS (potassium persulfate)，以無乳化劑乳化聚合的方法合成 poly (NIPAAM-MAA) 的共聚物包覆在 Fe_3O_4 /PS 微粒之外，形成具有溫度感應性的磁性乳膠微粒。在這裡我們要探討 PAA 含量對磁性流體的影響、磁性流體的 pH 值、單體比例、單體濃度、各種反應條件對於乳膠微粒顆粒型態大小、包覆均勻性、單體反應速率的影響，並且以 TEM 的觀察結果驗證所得結論。

1、前言

利用磁性與溫度感應性乳膠微粒來進行分離在近年來應用的越來越廣泛，不論是在生物技術上細胞及特定蛋白質的純化，甚至在分離各種重金屬或有毒溶劑上。在磁性利用方面，先將具有超順磁性的 Fe_3O_4 奈米微粒以高分子包覆增加其穩定性之後，續包覆具有特殊官能基的聚合物形成具有超順磁性的乳膠顆粒，當其與待分離樣品混合之後，這些乳膠微粒藉由特殊官能基與污染物（如

重金屬、有毒溶劑)或特定細胞及蛋白質結合,進一步將此混合物通入磁場,則包覆磁性材料的乳膠顆粒會被磁場吸助而達到分離的效果。至於在溫度敏感性分面,所使用的材料是以溫度感應性的單體與具有特定官能基單體形成高分子共聚物,利用此共聚物在 LCST (Lower Critical Solution Temperature) 溫度之下會呈現親水狀態,可以將待分離物質抓住,而利用共聚物在 LCST 溫度以上呈疏水狀態且會聚集的特性將其分離。

因此若將這兩種分離方法加以結合,預測將得到更理想的分離效率。然而由於傳統的有機/無機複合材料都是以機械揉混的方式將有機材料跟無機材料混合在一起,藉由這種方法製造出來的複合材料,其內部所含有的有機材料跟無機材料的介面結合力較差,且揉混的均勻度也不高。為了改善這樣的問題,本實驗計畫以乳化聚合的方法,以有機的聚合物包覆無機材料,而製造有機/無機複合材料,由於這種方式是直接在無機粉末的表面上進行聚合反應,因此聚合物與無機粉末間的結合力較強,並且由於乳化聚合反應所合成的乳膠微粒粒徑很小,因此內部包覆的磁性材料 domain 更小,當這些內部包覆無機粉末的乳膠料歷經加工形成複合材料之後,此複合材料內部的磁性材料將可以均勻分散,更重要的是能使具有磁性與溫度感應性兩種材料加以結合,而得到一種新的複合材料。

2、實驗

2.1 藥品

聚丙烯酸 PAA oligomer(poly acrylic acid) 分子量 2000、 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、氨水(28%)、苯乙烯(styrene)、*N*-異丙基丙烯醯胺(*N*-isopropylacrylamide, NIPAAAM)、甲基丙醯酸(methacrylic acid, MAA)、起始劑 potassium persulfate(KPS)。

2.2 Fe_3O_4 微粒製備

本實驗室利用共沉法來合成穩定懸浮之 Fe_3O_4 奈米微粒,稱為磁性流體。取 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 0.86g, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2.35g, 以及不同比例的 PAA 寡聚物加入 40ml 的去離子水中,於 60°C 水浴中通氮氣預熱 6 分鐘後,加入 10ml 的 28% 的氨水,在 60°C、300 rpm 轉數下攪拌 30 分鐘。

2.3 磁性流體型態觀察

將磁性流體稀釋後,以 JEOL JSM-1200 EX II Transmission Electron Microscope 穿透式電子顯微鏡觀察磁性流體型態。

2.4 熱重量損失分析儀(TGA)的分析

將磁性流體烘乾後以 Perkin-Elmer TGA-7 進行分析,升溫速率均為 10°C/min。

2.5 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}/\text{P}(\text{NIPAAAM}-\text{MAA})$ 複合膠體之合成

第一步:取去離子水,加入苯乙烯,再加入磁性流體,以 300rpm 轉速攪拌,當溫度達反應溫度 80°C 時,加入起始劑(KPS)進行反應,以合成 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}$ 複合乳膠微粒。

第二步:以第一步反應所獲得的複合乳膠為種子,再加入不同比例的 *N*-異丙基丙烯醯胺(NIPAAAM)、甲基丙醯酸(MAA)單體,以 300rpm 的轉速攪拌,當到達反應溫度,加入起始劑進行反應。

2.6 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}/\text{P}(\text{NIPAAAM}-\text{MAA})$ 複合膠體之型態及粒徑觀察

以 JEOL JSM-1200 EX II Transmission Electron Microscope 穿透式電子顯微鏡觀察具有 PS 層及再包覆 P(NIPAAAM-MAA)層之乳膠顆粒的差異,並觀察其粒徑。其中固定 NIPAAAM 和 MAA 的比例,控制 styrene 和 NIPAAAM 的量來控制反應條件,styrene : NIPAAAM=1 : 1 表示 styrene 和 NIPAAAM 的重量比為 1 : 1。

2.7 Fe₃O₄/PS/P(NIPAAAM-MAA)複合膠體之性質分析

將乳液樣品烘乾後以 TA2000 差式掃描熱量分析儀 DSC 分析進行分析，升溫速率均為 10°C/min。

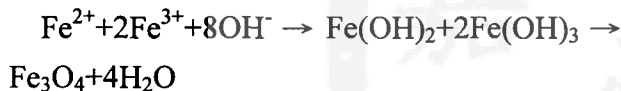
2.8 Fe₃O₄/PS/P(NIPAAAM-MAA)複合膠體受溫度影響之粒徑觀察

將合成之後磁性乳膠微粒樣品稀釋後，以 Malvern Zeta Sizer2000 於不同溫度下進行 Light Scattering 粒徑分析。

3、結果與討論

3.1 Fe₃O₄ 微粒製備

本實驗利用共沉法來製備 Fe₃O₄ 奈米微粒，其反應式如下：



由反應式我們可以計算出若要形成 Fe₃O₄ 奈米微粒，[Fe²⁺]：[Fe³⁺]=1：2，反應環境的 pH 值應該大於 7，維持在鹼性的環境下可以增加磁性流體的穩定性，經由量測我們的磁性流體 pH 值約在 8.8~9.2 之間，完全符合上述計算結果。

但是由於所形成的奈米微粒會因為減少表面自由能而發生聚集的現象，所以我們在合成的同時加入 PAA 寡聚物，利用 PAA oligomer 上具有-COOH 的官能基，在鐵離子價加入後會形成-COOFe²⁺ 及-COOFe³⁺ 之鍵結，故當氨水參與反應時，Fe₃O₄ 奈米微粒會以 in-situ 的方式形成，並且由於這些-COOH 官能基的存在，使得磁性微粒的成長受到一定程度的限制，因而所形成的微粒較傳統共沉法所得到之微粒粒徑要小，同時官能基在氨水的作用下易形成-COO⁻，故能使其鍊段上鍵結的 Fe₃O₄ 奈米微粒能穩定的懸浮在水中。

3.2 磁性流體型態觀察

由圖 1.(a)我們可以看到若於合成 Fe₃O₄ 奈米微粒時沒經過處理，則這些微粒將會為了要減少顆粒的表面自由能而發生嚴重的聚集現象。但由圖 1.(b)可以發現在合成時若有 PAA oligomer 參與作用，則將以 PAA oligomer 上的-COOH 官能基為 template 形成大小約 5~10 nm 的微粒，並能均勻的分散在溶劑中。

3.3 熱重量損失分析儀(TGA)的分析

改變不同的 PAA 含量來處理磁性流體，而後將處理過的 Fe₃O₄ 的磁性流體以烘箱乾燥後以 TGA 測試結果如圖 2 所示。可以觀察到 TGA 圖形有一階段的下降，此下降的溫度發生在，此時所代表的是鍵結至 Fe₃O₄ 微粒上的 PAA 裂解，而由於 PAA 的含量不同，所以我們得到 weight loss 的高度亦不同，亦即鍵結在 Fe₃O₄ 上的 PAA 量不同。

3.4 Fe₃O₄/PS/P(NIPAAAM-MAA)複合膠體之合成

在乳膠微粒的合成上，我們採用陰離子型的起始劑 KPS，由於磁性流體的存在會影響 KPS 的解離度，進一步影響乳膠微粒的轉化率，所以在第一步反應中改變不同的反應環境，得到的動力曲線有明顯的差別。

在圖 3.的動力曲線上我們發現，當我們以原始和 PAA oligomer 合成的磁性流體進行反應時，所得的轉化率在 50%左右，而當我們將此磁性流體在 buffer 溶液(pH=9)中反應時，轉化率可以提高到 60%左右，若進一步將磁性流體經過透析的步驟後再進行反應，則轉化率可以達到幾近 100%，由此可知，溶液的酸鹼性及磁性流體中離子的含量都會對我們的轉化率有所影響，由於我們使用的起始劑是陰離子型的起始劑，這一類的起始劑在酸性的環境下自由基的分解會受到抑制，因此當我們提高溶液的 pH 值成為偏鹼的系統時，轉化率會因此而有小部分的提高，但是仍無法完全反應，原因是由於合成

的磁性流體中含有部分未反應的 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 離子，這兩種離子的存在會嚴重的抑制起始劑的反應，造成轉化率無法提高。為了改善這一類的情形，我們將合成的磁性流體經過透析的步驟，置於去離子水中經過一天一夜後透析出殘餘的 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 離子及氨水，得到透析後的磁性流體仍然維持穩定的狀態，而此一產品可以使我們的轉化率達到 100%，由此可驗證 Fe^{2+} 和 Fe^{3+} 離子的存在會影響轉化率。

在進行第二步驟的反應時，我們可以分成兩種不同的方法來進行，根據所得到的動力曲線，選擇在不同的時間加入 NIPAAM 和 MAA 單體及起始劑，會有不同的成核機制。當我們在 PS 的轉化達到 100% 加入 NIPAAM 和 MAA 單體反應，則 NIPAAM 和 MAA 容易自成核形成 P(NIPAAM-MAA) 的共聚物，而不易包覆在 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}$ 乳膠微粒上形成第二層殼層，但如果我們在轉化率約為 40~60% 時加入 NIPAAM 和 MAA 單體反應，則可以減少 P(NIPAAM-MAA) 自成核的現象，可以得到中心為 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}$ 乳膠微粒而外層包覆 P(NIPAAM-MAA) 的乳膠微粒。

3.5 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}/\text{P}(\text{NIPAAM-MAA})$ 複合膠體之型態及粒徑觀察

藉由 TEM 來觀察所製成的乳膠顆粒型態如圖 4. 所示，其中(a)(b)是透析後的磁性流體和 styrene 反應兩小時再加入 NIPAAM 及 MAA 反應兩小時所得的產物；(c)(d)(e)(f)(g)(h) 都是未透析磁性流體在去離子水中和 styrene 反應兩個小時之後再加入 NIPAAM 及 MAA 反應兩小時所得的產物。

由圖 4.(a)(b)的照片可以看出，當我們使用透析後的磁性流體進行反應，在反應兩個小時之後，由動力曲線(圖 3.)可以得知此時的轉化率已達 100%，當我們加入 NIPAAM 和 MAA 單體(此時 styrene : NIPAAM=1 : 1)繼續反應時容易自成核而形成 P(NIPAAM-MAA) 的共聚物，即圖 4.(a)中顏

色較淺的顆粒部分，也有部分的 P(NIPAAM-MAA) 是包覆在 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}$ 形成第二層的殼層，如圖 4.(b)中所看到的顆粒(顆粒的外層顏色較淺，即為 P(NIPAAM-MAA) 共聚物)，必須特別注意的是當我們用 PAA 當作懸浮劑時， Fe_3O_4 微粒(TEM 照片中顏色較深的黑色小點)會存在於 PS 及 P(NIPAAM-MAA) 之間，形成類似夾心的構造，這是由於 PS 是疏水的聚合物，而我們合成的磁性流體是利用 PAA oligomer 上的 -COOH 官能基為 template 來穩定的懸浮於水中，所以當 PS 合成時，親水的 PAA 會被推擠到較外層，連帶的鐵粉也被推擠到外層的，而在進行第二層包覆時，加入可溶於水的 NIPAAM 及 MAA 單體，所以可以包覆在合成的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}$ 之外，形成穩定的乳膠顆粒。

為了減少 P(NIPAAM-MAA) 共聚物自成核的現象，我們選擇在轉化率未達到 100% 的系統中，同樣的反應時間、同樣的反應條件下加入同樣量單體及起始劑，所得的結果如圖 4.(c)(d)所示，因為系統中存在未反應的 styrene 單體，而起始劑的加入可以促進這些單體參與 P(NIPAAM-MAA) 共聚物的反應，使反應容易在 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}$ 微粒上進行，可以減少自成核的現象，由圖 4.(c)(d)中可以看出第二層 P(NIPAAM-MAA) 的共聚物較(a)(b)中的厚

在圖 4.(e)(f)中我們增加 NIPAAM 及 MAA 單體的量(styrene : NIPAAM=1 : 2)，可以看出第二層殼層比(c)(d)來得厚，所以當我們加入的單體增加，所得到的乳膠微粒粒徑亦會隨之增加，但當比例達到 1 : 4 時，則會因為顆粒過大而發生聚集的現象，使我們的膠體溶液不穩定。

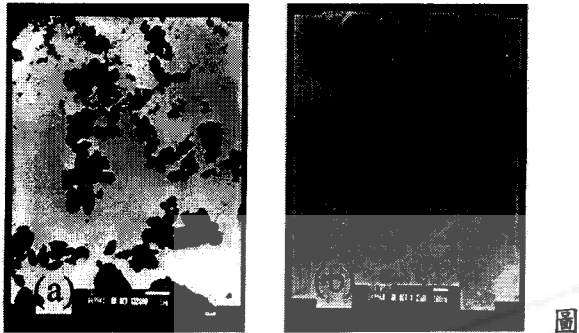
3.6 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}/\text{P}(\text{NIPAAM-MAA})$ 複合膠體之性質分析

不同組成試樣的 DSC 如圖 5. 及圖 6. 所示。由圖 5. 可看出第一步反應的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{PS}$ 微粒的 T_g 應該在 95°C 附近(文獻中查出 PS 的

9. 國科會專題計畫 NSC 89-2216-E-041-004

10. 國科會專題計畫 91-2216-E-041-002-

6、圖表



1. TEM (a)未經處理的磁性流體聚集的情形 (b)經 PAA oligomer 處理後的磁性流體

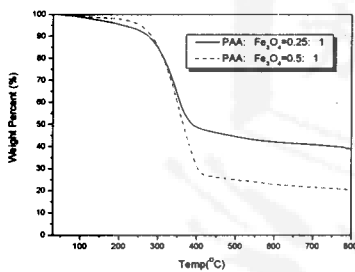
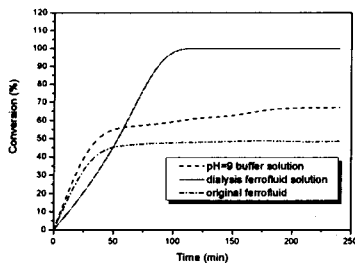


圖 2. Fe₃O₄ 奈米微粒經表面處理後的 TGA 分析圖譜



3. 改變不同的反應條件所得到的動力曲線圖

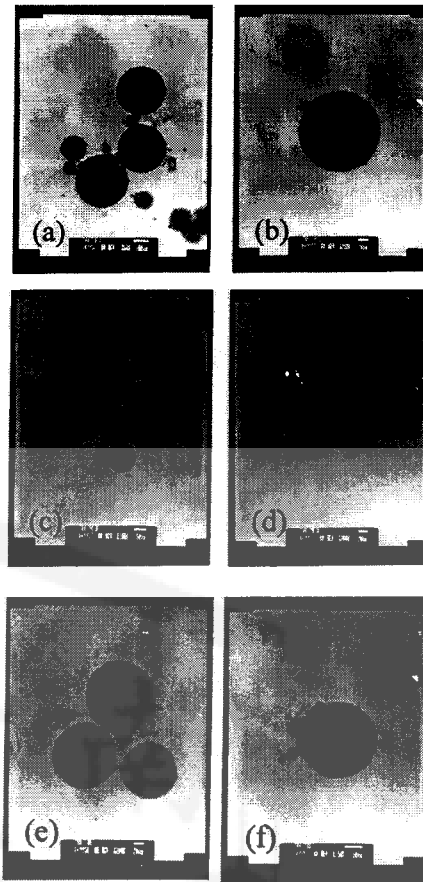


圖 4.(a)styrene : NIPAAm=1 : 1, 磁性流體經過透析(b) styrene : NIPAAm=1 : 1, 磁性流體經過透析, 微粒放大圖(c) styrene : NIPAAm=1 : 1, 磁性流體未經過透析(d) styrene : NIPAAm=1 : 1, 磁性流體未經過透析, 微粒放大圖(e) styrene : NIPAAm=1 : 2, 磁性流體未經過透析(f) styrene : NIPAAm=1 : 2, 磁性流體未經過透析, 微粒放大圖

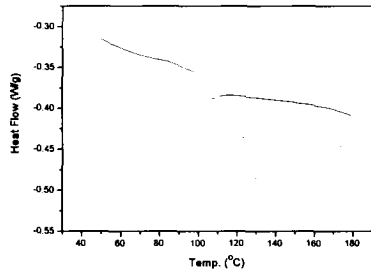


圖 5.PS 的 DSC 測試結果

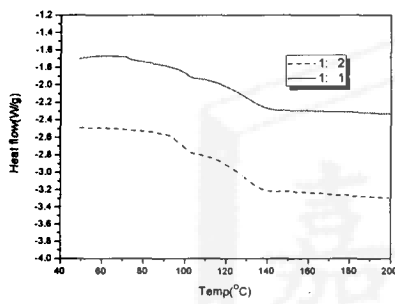


圖 6. $Fe_3O_4/PS/P(NIPAAM-MAA)$ 複合膠體，
圖中的比例為 styrene : NIPAAM

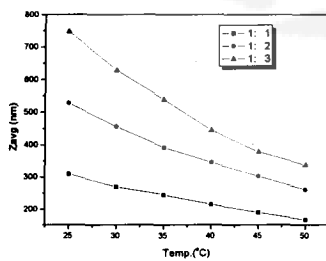


圖 7. 不同殼層厚度平均粒徑與溫度的關係，
其中的比例是指 styrene:NIPAAM 單體量比。