

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

C08F261/04



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 96123527.6

[43]公开日 1998年7月1日

[11] 公开号 CN 1186082A

[22]申请日 96.12.25

[71]申请人 中国科学院长春应用化学研究所

地址 130022吉林省长春市人民大街159号

[72]发明人 李 彬 寇文朋 董绍俊

权利要求书 1 页 说明书 3.0 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 聚乙烯醇接枝4-乙烯基吡啶的制备方法

[57]摘要

本发明属于聚乙烯醇接枝4-乙烯基吡啶的制备方法。

本发明以聚乙烯醇为起始物，经硝酸铈铵引发，在酸性水溶液中接枝聚合4-乙烯基吡啶，再经甲酰胺沉淀和真空干燥得到接枝产物。按照本发明所述方法制备聚乙烯醇接枝接枝4-乙烯基吡啶固定化酶载体，其原材料容易获得且成本低廉，制备过程简单安全；接枝产物分子有利于酶的固定化；接枝产物的含酶水溶液可直接滴涂于电极表面制备生物传感器。

(BJ)第 1456 号

权利要求书

1. 一种聚乙烯醇接枝 4-乙烯基吡啶的制备方法，其特征在于用 2 ~ 10% 分子量为 30,000 ~ 115,000 的聚乙烯醇作起始物，经 $1.0 \sim 30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硝酸铈铵引发，接枝聚合 0.2 ~ 1.5% 的 4-乙烯基吡啶单体，体系的 pH 值为 1 ~ 3，反应时，先抽气除氧 50 ~ 80 分钟，然后在 20 ~ 40 °C 反应 2.5 ~ 3.5 小时，再向反应体系中加入 3 ~ 6 倍体积的甲醇来沉淀接枝产物，沉淀用甲醇洗涤三次以除去未反应的 4-乙烯基吡啶单体、自聚物及其它杂质，再经真空干燥得聚乙烯醇的 4-乙烯基吡啶接枝产物。

说明书

聚乙烯醇接枝 4-乙烯基吡啶的制备方法

本发明属于聚乙烯醇接枝 4-乙烯基吡啶的制备方法。

已知接枝反应是对高分子材料进行改性的一种有效方法，在亲水高分子链上接枝聚合疏水单体所得的接枝产物中同时含有亲水支链和疏水支链，能分别与酶的亲水区和疏水区相互作用，有利于酶的固定化。德国 D. Muller-Schulte 在 *Journal of Chromatography* 1990, 510, 115-121 中用钴 γ -射线照射引发聚乙烯醇与多种丙烯酰胺类物质的接枝反应，得到可用于分离酶和蛋白质的高载量色谱填料，但放射性同位素的使用有潜在危险。美国专利 U. S. Pat. Appl. US104, 899 公开了一种用 H_2O_2/Fe^{2+} 或 Ce^{4+} 引发，在多糖分子上接枝丙烯腈的技术，其接枝产物作载体能得到高活力的固定化酶，可作为生物反应器的填料，但此接枝产物难以修饰到电极表面。事实上，上述工作及该领域的其它工作虽然利用接枝反应制备了多种不同用途的固定化酶载体，但尚无一种方法能综合考虑接枝反应的起始物、引发剂和接枝物等相关因素，以制备适用于生物传感器的固定化酶载体。

本发明的目的是提供一种适用于生物传感器的新型固定化酶载体的制备方法，即以聚乙烯醇为起始物，经硝酸铈铵引发，在酸性水溶液中接枝聚合 4-乙烯基吡啶，再经甲醇沉淀和真空干燥得到接枝产物。

亲水的聚乙烯醇是一种人工合成的多羟基聚合物，具有良好的生物相容性和生物稳定性，能通过自身物理交联成胶并同时包埋酶，在本发明中被选作接枝反应的起始物。聚乙烯醇的分子量和浓度会影响溶液的粘度进而影响接枝效果，本发明的方法可采用任何商业来源的聚乙烯醇。硝酸铈铵作为引发剂的优点是能够有效地降低接枝体系中的自聚副反应。疏水的 4-乙烯基吡啶在石墨、玻碳、铂等多种电极表面均有很强的吸附能力、且有一定的导电性、在本发明中被选作接枝反应的接枝物。

本发明用 2 ~ 10% 分子量为 30,000 ~ 115,000 的聚乙烯醇作起始物，经 $1.0 \sim 30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硝酸铈铵引发，接枝聚合 0.2 ~ 1.5% 的 4-乙烯基吡啶单体，体系的 pH 值为 1 ~ 3，反应时，先抽气除氧 50 ~ 80 分钟，

然后在 20 ~ 40 °C 反应 2.5 ~ 3.5 小时，再向反应体系中加入 3 ~ 6 倍体积的甲醇来沉淀接枝产物，沉淀用甲醇洗涤三次以除去未反应的 4-乙烯基吡啶单体、自聚物及其它杂质，再经真空干燥得聚乙烯醇的 4-乙烯基吡啶接枝产物。

接枝产物用傅立叶变换红外光谱进行表征，作为起始物的聚乙烯醇在 1650 cm^{-1} 附近无吸收峰，而接枝产物在此处有吡啶环的伸缩振动峰；另外，接枝产物用元素分析表征，起始物聚乙烯醇中不含氮元素，而接枝产物中含氮。

按照本发明所述方法制备聚乙烯醇接枝接枝 4-乙烯基吡啶固定化酶载体，其原材料容易获得且成本低廉，制备过程简单安全；接枝产物分子内含有亲水支链和疏水支链，能分别与酶分子表面的亲水区和疏水区相互作用，有利于酶的固定化；将接枝产物配成浓度为 2 ~ 15% 的含酶水溶液，直接滴涂于电极表面，室温或低温自然干燥后即能自身物理交联成胶并同时包埋酶，且此含酶胶膜能牢固粘附于石墨、玻碳、铂等多种电极表面，而得到有良好安培响应的生物传感器。

本发明提供的实施例如下：

实施例 1：5% 的分子量为 84,000 的聚乙烯醇水溶液 20ml，加入 1NHNO_3 5ml，混匀，水泵抽气除氧 60 分钟后，加入最终浓度为 $1\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硝酸铈铵，然后加入最终浓度为 1.5% 的 4-乙烯基吡啶，该体系的 pH 值为 1.0，在室温下电磁搅拌 2.5 小时，加入 80ml 甲醇，振荡，3000 转/分钟离心 20 分钟，沉淀分别用 30ml 甲醇充分洗涤并离心 3 次，最后所得接枝物沉淀室温真空干燥即得产物。

实施例 2：10% 的分子量为 30,000 的聚乙烯醇水溶液 10ml，加入 1NHNO_3 3ml，混匀，水泵抽气除氧 50 分钟后，加入最终浓度为 $10\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硝酸铈铵，随后加入最终浓度为 0.8% 的 4-乙烯基吡啶，该体系的 pH 值为 1.8，在 20 °C 恒温下振荡水浴反应 3.5 小时，加入 90ml 甲醇，振荡，水泵抽滤，沉淀分别用 30ml 甲醇充分洗涤后抽滤分离 3 次，最后所得接枝物沉淀室温真空干燥即得产物。

实施例 3：2% 的分子量为 110,000 的聚乙烯醇水溶液 12.5ml，加入 1NHNO_3 2ml，混匀，水泵抽气除氧 80 分钟后，加入最终浓度为 0.2% 的

4-乙烯基吡啶，随后加入最终浓度为 $30\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硝酸铈铵，该体系的 pH 值为 3.0，在 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温下振荡水浴反应 3 小时，加入 100ml 甲醇，振荡，水泵抽滤，沉淀分别用 30ml 甲醇充分洗涤后抽滤分离 3 次，最后所得接枝物沉淀室温真空干燥即得产物。