

## 聚乳酸接枝丙烯酰胺制备抗菌材料

李建忠<sup>1</sup>, 万晓波<sup>2</sup>

(1. 青岛农业大学化学与药学院, 山东 青岛 266109;

2. 中国科学院青岛生物能源与过程研究所, 山东 青岛 266101)

**摘要:** 采用自由基接枝聚合法, 以过氧化苯甲酰为引发剂, 制备聚乳酸接枝丙烯酰胺共聚物; 对接枝共聚物进行氯化, 制备表面含卤胺基团的抗菌聚乳酸高分子材料。考察了丙烯酰胺含量、引发剂浓度、聚合温度、聚合时间等对接枝率的影响。采用核磁共振氢谱、红外光谱等对接枝聚合物的分子结构进行了表征; 利用溶液浇铸法, 制备抗菌聚乳酸薄膜, 并对薄膜的抗菌性能等进行了研究。结果表明: 实验获得的卤胺接枝聚乳酸对大肠杆菌抗菌性能明显。

**关键词:** 丙烯酰胺; 抗菌; 聚乳酸; 卤胺

**中图分类号:** O63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1008-9357(2013)01-0099-05

## Preparation of Antimicrobial Materials via Graft Polymerization of Poly(lactic Acid) with Acrylamide

LI Jian-zhong<sup>1</sup>, WAN Xiao-bo<sup>2</sup>

(1. College of Chemistry and Pharmaceutical Science, Qingdao Agricultural University,

Qingdao 266109, Shandong, China; 2. Qingdao Institute of Bioprocess Technology,

Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266101, Shandong, China)

**Abstract:** Poly(lactic acid)-*g*-polyacrylamide (PLA-*g*-PAM) was synthesized via graft polymerization of poly(lactic acid) with acrylamide using benzoyl peroxide (BPO) as initiator, and the medium polymer was treated with sodium hypochlorite to obtain acyclic *N*-halamines polymer. Influences of polymerization condition on the graft polymerization were investigated. Molecular structures were characterized via <sup>1</sup>H-NMR and FT-IR. PLA films were prepared using solution-casting method. Results show that the acyclic *N*-halamines PLA film can provide potent antimicrobial functions against *Escherichia coli*.

**Key words:** acrylamide; antibacterial; poly(lactic acid); *N*-halamine

在当前聚烯烃“白色污染”日益严重的情况下, 聚乳酸(PLA)作为一种可完全生物降解的塑料受到广泛的关注<sup>[1-3]</sup>。随着塑料制品的广泛使用, 人们对抗菌塑料的需求日益增长<sup>[4-6]</sup>, 聚乳酸和一些抗菌剂如纳米银粒子<sup>[4]</sup>、四环素<sup>[5]</sup>等直接混合可制成具有抗菌性能的材料, 其用途主要集中在医药和包装领域。然而该类抗菌聚合物的抗菌效果随时间延长会下降, 且难于再生。卤胺化合物抗菌剂是一种新型的有机抗菌剂, 其杀菌速率快、稳定、长效、效率高、抗菌功能可再生且对人体安全, 不会生成有毒副产物, 对环境无污染, 是一种绿色的广谱抗菌剂<sup>[7]</sup>, 在塑料抗菌领域引起了人们的广泛兴趣<sup>[8-11]</sup>。随着石化资源的紧缺以及聚乳酸可降解塑料技术的成熟, 抗菌聚乳酸在纺织纤维、食品包装等领域具有广泛的潜在应用价值, 而目前关于制备卤胺抗菌聚乳酸的研究尚鲜见报道。

本文利用卤胺对聚乳酸进行改性, 制备抗菌聚乳酸功能高分子材料。用本体聚合法制备聚乳酸, 并对其

收稿日期: 2012-10-30

基金项目: 山东省博士基金(BS2009CL026); 青岛农业大学人才启动基金(631222)

作者简介: 李建忠(1980-), 男, 山东青岛人, 博士, 讲师, 主要研究方向为生物基高分子材料功能化。E-mail: jzhlee@163.com

进行化学接枝改性。以过氧化苯甲酰为引发剂、丙烯酰胺(AM)为接枝单体,研究了聚合条件对 PLA 接枝 AM 接枝率的影响,获得了具有较高接枝率的接枝共聚物,最后制备卤胺抗菌聚乳酸高分子材料,并对其抗菌性能进行了初步研究。

## 1 实验部分

### 1.1 实验试剂及仪器

辛酸亚锡( $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ ):化学纯,国药集团化学品有限公司;二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、乙醇:分析纯,天津化学试剂有限公司;丙烯酰胺:分析纯,汕头市光华化学厂;引发剂过氧化苯甲酰(BPO):分析纯,上海山蒲化学有限公司;丙交酯参照文献[12]制备,用乙酸乙酯重结晶 2 次,真空干燥 48 h。

核磁共振氢谱( $^1\text{H-NMR}$ ):美国 BRUKER 公司 AVANCE 600 型核磁共振波谱仪,测试温度为  $25\text{ }^\circ\text{C}$ ,溶剂为  $\text{CDCl}_3$ ;聚合物分子量及分子量分布:美国 Agilent 1100 凝胶色谱(GPC)仪,THF 为流动相;红外光谱(FT-IR):美国 Nicolet iN10 型红外光谱仪,采用反射吸收法检测;特性黏数:乌氏黏度计,溶剂为氯仿,测试温度为  $30\text{ }^\circ\text{C}$ ,以一点法求得聚乳酸的特性黏数<sup>[13]</sup>。

### 1.2 抗菌聚乳酸的制备

称取丙交酯(2.16 g, 15.0 mmol)和  $\text{Sn}(\text{Oct})_2$  (30.4 mg, 0.075 mmol)于安瓿瓶中,真空脱氧 30 min 后真空封管。在  $140\text{ }^\circ\text{C}$ 下聚合 16 h,冷却至室温,用少量二氯甲烷溶解粗产物,在无水乙醇中沉淀,往复 2 次。所得产物在真空烘箱中  $40\text{ }^\circ\text{C}$ 烘干至恒重,得到白色纤维状固体聚乳酸(PLA)。

将 4.0 g PLA 溶于 50 mL THF,搅拌溶解,氮气保护下加入单体 AM 和引发剂 BPO,继续充氮气 20 min 后,将反应瓶浸入油浴中,控制反应时间进行聚合反应。反应完成后,将聚合物溶液缓慢滴加到不断搅拌的蒸馏水中,得到白色纤维状固体产物,然后用大量去离子水以及乙醚洗涤。真空干燥至恒重得 PLA-g-PAM 共聚物,精确称重后按下式计算接枝率(Y):

$$Y = (m_1 - m_0) / m_0 \times 100\%$$

其中: $m_0$  为接枝前试样干重; $m_1$  为接枝后试样干重。

将共聚物溶于 THF 中,滴入质量分数为 0.03%的次氯酸钠溶液中,调节 pH 至 7,室温下搅拌反应 20 min,得到卤胺类化合物,产物通过去离子水反复冲洗除去游离氯,真空干燥至恒重得抗菌聚乳酸<sup>[10-11]</sup>。

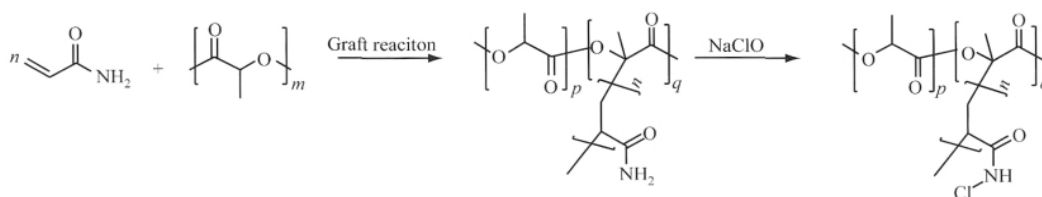


图 1 抗菌聚乳酸的制备路线

Fig. 1 Synthesis route of antibacterial polylactic acid

### 1.3 溶液浇铸薄膜的制备

称取 0.1 g 聚乳酸,溶解于 20 mL 三氯甲烷中,倒入玻璃铸模容器中,室温干燥 6 h 后,真空干燥 24 h,脱模后得到聚乳酸可降解薄膜。

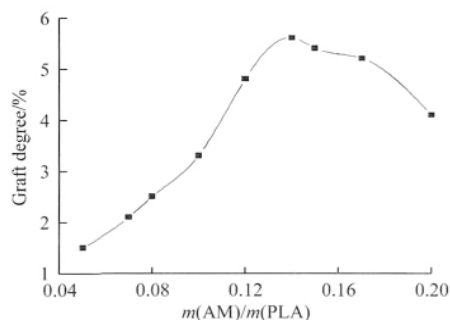
### 1.4 抑菌圈法测材料抗菌性能

将试验菌种加入已灭菌的培养皿中,大肠杆菌液浓度约为  $3 \times 10^8$  CFU/mL,然后将溶化后的琼脂培养基冷却至  $50\text{ }^\circ\text{C}$ 左右,以无菌操作倾注入培养皿中,每个内径 9 cm 的平皿倾注 15 mL,混合均匀后,取直径 8 mm 的聚乳酸薄膜置于培养基平板上,细菌于  $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养 16~18 h,用显微镜观测薄膜抑菌圈以及周围菌群的生长情况。

## 2 结果与讨论

### 2.1 聚合物接枝率的影响因素

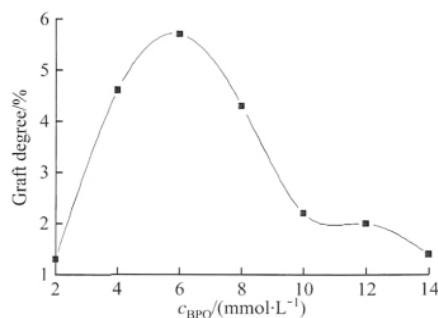
图 2 为 AM 含量对聚合物接枝率的影响,研究表明:随着 AM 含量的增加,接枝率增加,当  $m(\text{AM})/m(\text{PLA})=0.14$  时,聚合物的接枝率最大(5.8%)。随着 AM 含量的进一步增加,接枝率下降,原因可能为大量的 AM 发生均聚,未共价键连接到高分子聚乳酸主链上。BPO 浓度对接枝率的影响表明,当 BPO 浓度为 6 mmol/L 时,接枝率达到最大值。



$t=10\text{ h}; T=70\text{ }^{\circ}\text{C}; c_{\text{BPO}}=6\text{ mmol/L}$

图 2 AM 含量对接枝率的影响

Fig. 2 Influence of the AM content on graft degree of PLA

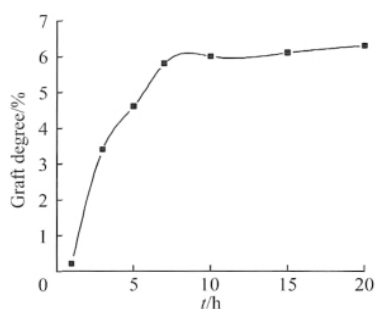


$T=70\text{ }^{\circ}\text{C}; t=10\text{ h}; m(\text{AM})/m(\text{PLA})=0.14$

图 3 BPO 浓度对接枝率的影响

Fig. 3 Influence of the BPO concentration on graft degree of PLA

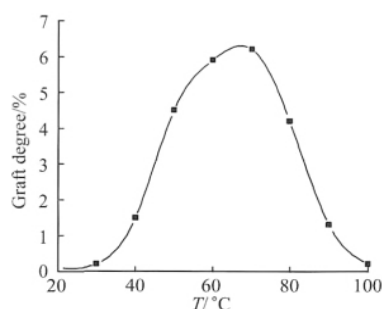
聚合反应时间对接枝率的影响(图 4)表明:随着聚合反应的进行,接枝率逐渐增加;当聚合 7 h 时,接枝率达到 6.0% 左右,进一步延长聚合时间,接枝率趋于恒定。聚合反应温度对聚合反应接枝率的影响(图 5)表明,随着聚合温度的增加,接枝率先增加后降低,在 60~70 °C 达到最大值。温度过高,接枝率降低,这是由于过高的温度,导致大量 BPO 迅速分解,不利于接枝聚合进行。



$T=70\text{ }^{\circ}\text{C}; m(\text{AM})/m(\text{PLA})=0.14; c_{\text{BPO}}=6\text{ mmol/L}$

图 4 聚合时间对接枝聚合的影响

Fig. 4 Influence of polymerization time on graft degree of PLA



$t=10\text{ h}; m(\text{AM})/m(\text{PLA})=0.14; c_{\text{BPO}}=6\text{ mmol/L}$

图 5 聚合温度对接枝聚合的影响

Fig. 5 Influence of temperature on graft degree of PLA

综上所述,当 AM 为 PLA 质量的 14%,引发剂浓度为 6 mmol/L,反应时间为 6~7 h,温度为 60~70 °C 时,能够获得较高接枝率(6.0%)的 PLA-g-PAM 共聚物。

### 2.2 聚合物的结构表征

由 PLA-g-PAM 的  $^1\text{H-NMR}$  谱图(图 6)可知:在化学位移为 1.59 和 5.16 处出现的峰对应为聚乳酸链结构中的  $\text{CH}_3$  和  $\text{CH}$ ,在 2.36 处为 PAM 主链  $\text{CH}$  的位移峰。由图 7 聚乳酸的红外光谱可以看出,PLA-g-PAM 在  $3\ 203\text{ cm}^{-1}$  处有一宽共振峰,对应 PAM 链上的酰胺基  $\text{N-H}$  伸缩振动谱带; $1\ 660\text{ cm}^{-1}$  处对应酰胺羰基的共振谱带,这与  $^1\text{H-NMR}$  谱证实形成接枝聚合物的结果相吻合。尽管未检测到明显的

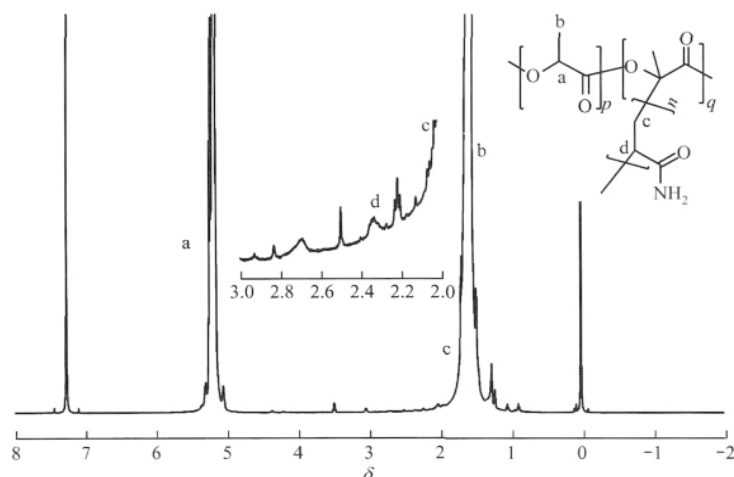


图 6 PLA-g-PAM 共聚物的核磁共振谱图

Fig. 6  $^1\text{H-NMR}$  spectra of PLA-g-PAM

O=C—NHCl 羰基振动谱带(原因可能为  $1\,710\text{ cm}^{-1}$  谱带与聚乳酸酯羰基强吸收谱带叠加)<sup>[10]</sup>, 氯化后接枝共聚物的酰胺羰基( $1\,660\text{ cm}^{-1}$ )以及 N—H 吸收峰消失, 充分证实形成了卤胺化合物<sup>[10]</sup>。利用间接碘滴定法测定该卤胺接枝共聚物的氯值, 接枝率为 5.8% 的共聚物, 其有效氯质量分数为 0.39%, 进一步证实了卤胺化合物的形成。

表 1 为改性前后聚乳酸的特性黏数和分子量, 由表可以看出, PLA 在  $60\text{ }^\circ\text{C}$  THF 中回流 10 h, 其分子量几乎不变, 表明该温度下聚乳酸几乎没有降解。当 PLA 接枝 AM 后, 聚合物特性黏数变化很小, 同时 PLA 的分子量几乎不变, 说明改性对聚乳酸分子量影响较小。

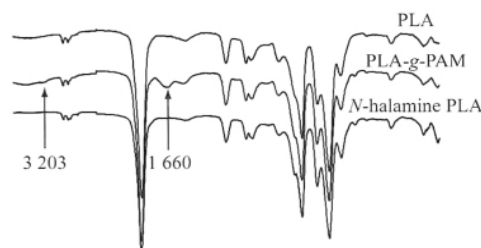


图 7 样品的红外光谱图

Fig. 7 FT-IR spectra of samples

表 1 聚乳酸改性前后特性黏数与分子量

Table 1 Intrinsic viscosity and molecular weight of PLA, PAM-g-PLA and N-halamine PLA

Sample	$[\eta]$	$M_v^1$	$M_n$	PDI
PLA	1.33	150.6	92.8	1.51
PLA <sup>2)</sup>	1.32	149.0		
PLA-g-PAM <sup>3)</sup>	1.38	158.4	97.4	1.60
N-halamine PLA <sup>4)</sup>	1.35	153.7	94.6	1.55

1) Calculated according to equation  $[\eta] = 2.21 \times 10^{-4} M_v^{0.73}$ ; 2) PLA obtained in refluxing THF solution for about 10 h; 3)  $t = 10\text{ h}$ ,  $m(\text{AM})/m(\text{PLA}) = 0.14$ ,  $c_{\text{BPO}} = 6\text{ mmol/L}$ ,  $T = 65\text{ }^\circ\text{C}$ ; 4) Chlorination condition:  $T = 25\text{ }^\circ\text{C}$

### 2.3 抗菌聚乳酸的生物活性

图 8 是大肠杆菌在聚合物薄膜中的生长照片。比较图中测试结果可以得出, 未氯化的接枝物薄膜边缘以及下部有大片菌群, 而氯化后聚合物薄膜周边菌群密度显著降低, 未形成明显的抑菌圈, 但薄膜下方没有菌群生长。初步研究表明, 接枝卤胺后, 聚合物薄膜对大肠杆菌有显著的抑制作用。

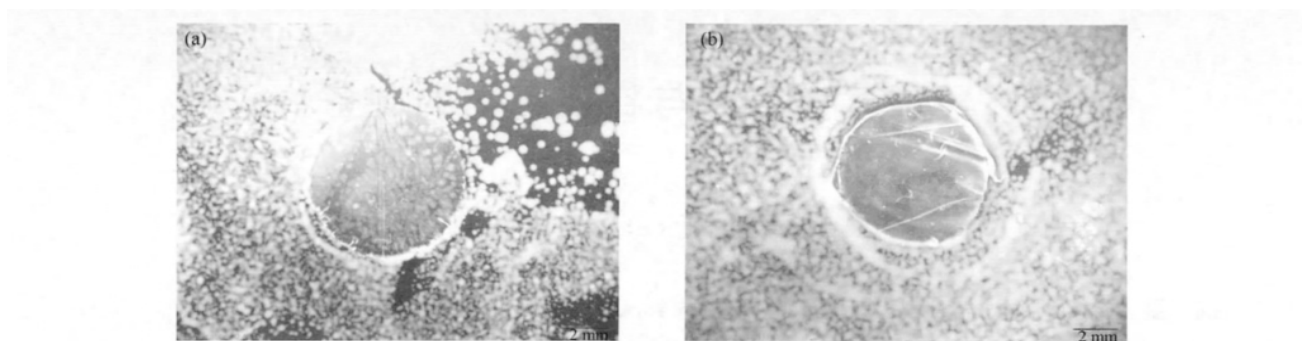


图 8 聚乳酸(a)和抗菌聚乳酸薄膜(b)的显微照片

Fig. 8 SEM pictures of polylactic acid (a) and *N*-halamines poly(lactic acid) film (b)

### 3 结 论

(1)用化学接枝改性法,制备了聚乳酸接枝聚丙烯酰胺共聚物,并制备了含卤胺抗菌基团的抗菌聚乳酸高分子材料。接枝反应的最佳实验条件为:AM 为 PLA 质量的 14%,BPO 浓度为 6 mmol/L,反应时间为 6~7 h,温度为 60~70 °C。

(2)卤胺接枝聚乳酸对大肠杆菌具有明显的抗菌效果。

#### 参考文献:

- [1] Hsu S H, Chan S H, Chiang C M, *et al.* Peripheral nerve regeneration using a microporous polylactic acid asymmetric conduit in a rabbit long-gap sciatic nerve transection model [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(15): 3764-3775.
- [2] Tokiwa Y, Jareerat A. Biodegradation of poly(*L*-lactide) [J]. *Biotech Lett*, 2004, 26(10): 771-777.
- [3] Garlot ta D. A literature review of poly(lactic acid) [J]. *J Polym Environ*, 2001, 9(2): 63-84.
- [4] Xu Xiaoyi, Yang Qingbiao, Wang Yongzhi, *et al.* Biodegradable electrospun poly(*L*-lactide) fibers containing antibacterial silver nanoparticles [J]. *Eur Polym J*, 2006, 42(9): 2081-2087.
- [5] Buschle-Diller G, Cooper J, Xie Z, *et al.* Release of antibiotics from electrospun bicomponent fibers[J]. *Cellulose*, 2007, 14(6): 553-562.
- [6] Liu L S, Finkenstadt V L, Liu C K, *et al.* Preparation of poly(lactic acid) and pectin composite films intended for applications in antimicrobial packaging[J]. *J Appl Polym Sci*, 2007, 106(2): 801-810.
- [7] 王留阳, 顾利霞. 卤胺化合物在制备抗菌纤维中的应用[J]. *上海纺织科技*, 2005, 33(1): 25-26.
- [8] Badrossamay M R, Sun G. Acyclic halamine polypropylene polymer: Effect of monomer structure on grafting efficiency, stability and biocidal activities [J]. *React Funct Polym*, 2008, 68(12): 1636-1645.
- [9] Ren Xuehong, Kocer H B, Kou L, *et al.* Antimicrobial polyester[J]. *J Appl Polym Sci*, 2008, 109(5): 2756-2761.
- [10] Liu Song, Sun Gang. Durable and regenerable biocidal polymers: Acyclic *N*-halamine cotton cellulose[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2006, 45(19): 6477-6482.
- [11] Chen Zhaobin, Sun Yuyu. *N*-Halamine-based antimicrobial additives for polymers: Preparation, characterization, and antimicrobial activity [J]. *Ind Eng Chem Res*, 2006, 45(8): 2634-2640.
- [12] 刘立柱, 冯松, 马红杰. *D, L*-丙交酯的合成[J]. *哈尔滨理工大学学报*, 2007, 12(1): 126-132.
- [13] 蔡晴, 贝建中, 王身国. 聚乳酸接枝葡聚糖共聚物的合成及其体外降解行为的研究[J]. *高分子学报*, 2004(5): 719-725.