

·研究简报·

接枝有抗菌与温度敏感共聚物的聚乙烯薄膜制备 及抗菌性能初探^{*}

邢晓东^{1**} 王晓工²

(¹ 南京理工大学化工学院 南京 210094) (² 清华大学化工系高分子研究所 北京 100084)

摘 要 通过紫外光引发表面共接枝的方法,在聚乙烯薄膜表面引入了具有杀菌功能和温度敏感共聚物,聚(甲基丙烯酰氧乙基苄基二甲基氯化铵-*co*-*N*-异丙基丙烯酰胺)(P(DMAE-BC-*co*-NIPAAm)).利用红外光谱(IR)和表面接触角(CA)对共接枝膜的化学结构与表面性能进行了表征.研究了因温度改变引起共接枝膜表面疏水性改变,而导致接枝膜对大肠杆菌(*E. coli*)吸附作用和菌体内膜破裂作用的改变.大肠杆菌被抗菌膜吸附后,在1 mol/L的NaCl浓盐溶液中只有部分被洗脱,在膜表面疏水情况下,可洗脱菌体比例降低. β -半乳糖苷酶活性测定结果表明,因温度升高而引起接枝膜表面疏水性增强时,会使抗菌膜对大肠杆菌菌体的破裂作用增强.

关键词 紫外光接枝,季铵盐,抗菌,温度敏感,疏水性

近年来,固相接触高分子抗菌材料的研究受到越来越多的关注^[1~3].固相高分子抗菌材料是将抗菌基团结合在不溶性载体上,不仅能够有效避免小分子抗菌剂使用时的二次污染问题,而且可以重复利用,由于杀菌基团集中在载体表面且浓度高,也使得消毒时间缩短^[4~6].通过紫外光表面接枝的方法,可以将抗菌单体引入到普通聚合物表面,抗菌单体覆盖在材料表面并与基材化学键连接.与其它接枝方法如化学接枝,辐射接枝等相比,紫外光接枝聚合具有设备成本低,容易控制接枝层的厚度和反应深度等特点^[7,8].

抗菌单体在聚合物膜表面的光接枝已见报道^[9~11].在作者早先的研究工作中^[12],以高压汞灯为紫外光源在聚乙烯薄膜上接枝了季铵盐单体甲基丙烯酰氧乙基-苄基-二甲基氯化铵(DMAE-BC).一般认为季铵盐抗菌材料利用季铵盐基团 N^+ 正电荷的静电作用吸附表面带有负电荷的微生物,然后疏水的长烷基链或苄基链破坏细胞膜导致细胞破裂死亡^[1,13].聚*N*-异丙基丙烯酰胺(PNIPAAm)是研究最广泛的温度响应性聚合物,其最低临界溶解温度(LCST)32℃,本课题组已有在聚丙烯薄膜上表面光接枝PNIPAAm的研究^[14,15].

本文采用紫外光接枝的方法,在聚乙烯薄膜上共接枝季铵盐单体DMAE-BC和温敏单体

NIPAAm.扫描电镜观察和接触角测试考察了接枝膜的表面形貌和表面亲疏水性变化,并考察了温度变化导致材料亲疏水性改变,而对细菌吸附以及破裂杀灭能力等抗菌性能的影响.报道了该研究的初步成果.

1 接枝膜的制备

丙烯酸(AA),北京益利精细化学品有限责任公司,化学纯,减压蒸馏提纯.二苯甲酮(BP),中国医药(集团)上海化学试剂公司,化学纯,乙醇重结晶两次.甲基丙烯酰氧乙基-苄基-二甲基氯化铵(DMAE-BC),自制^[1].*N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAAm),自制^[16].PE膜,北京市塑料公司.邻硝基苯酚- β -D-半乳糖苷(*O*-nitraphenyl β -D-galactopyranoside, ONPG, Aldrich).磷酸盐缓冲液(PBS),自行配制.菌体*E. coli* JM105,液体LB培养基培养18 h;LB培养基含有酪氨酸(Oxoid, UK)、酵母浸膏(Oxoid, UK)和NaCl(北京精细化工厂).

在两片待接枝的PE膜中间,注入适量的丙烯酸(AA)和二苯甲酮的丙酮溶液(AA, 2 mol/L; BP, 0.2 mol/L),压紧后置于紫外灯下照射6 min后,将两片PE膜分开,以丙酮漂洗除去粘在膜上的聚丙烯酸均聚物,于室温下晾干待用^[17].

将上述预接枝膜置于设定浓度的混合单体(DMAE-BC:NIPAAm = 1:1,摩尔比)水溶液中,通

氮 10 min 后,开启紫外光源(1 kW 高压汞灯,主要工作波长 365 nm),氮气保护下紫外光照射 20 min.反应完毕,取出膜,以清水洗净后置于去离子水中搅拌 12 h,之后再以丙酮抽提 12 h,以充分除去均聚物.烘干,称重.

接枝率(GY)由下式计算:

$$GY = (W_1 - W_0)/S(\text{mg}/\text{cm}^2)$$

其中 W_0 、 W_1 和 S 分别为接枝反应前后 PE 膜的重量以及接枝前膜面积.

本文对紫外光辐照 6 min 制备的休眠基膜进行共接枝反应,紫外光辐照 20 min,接枝率为 0.86 (mg/cm^2).接枝膜 FTIR 分析由 Nicolet MAGNA-IR 560 红外光谱仪完成.通过 HITACHI SEM450 扫描电子显微镜观察样品的表面形貌.接枝膜的接触角(CA)测定在 Data Physics 公司的 OCA-20 Contact Angle System 上进行.采用动态连续跟踪测量模式,变温 CA 测定时利用该仪器的温度控制单元进行恒温控制.

2 接枝膜的红外表征

如图 1 所示,与空白 PE 膜的红外谱图相比,在 DMAE-BC 与 NIPAAm 共接枝 PE 膜的红外光谱图上明显的出现了 1650 cm^{-1} 和 1540 cm^{-1} 附近的酰胺 I 代和 II 代的吸收峰,以及 1740 cm^{-1} 的羰基吸收峰.这说明在聚乙烯膜的表面已经成功地共接枝聚合了 DMAE-BC 和 NIPAAm,形成了具有抗菌与温度敏感性能的接枝共聚物.

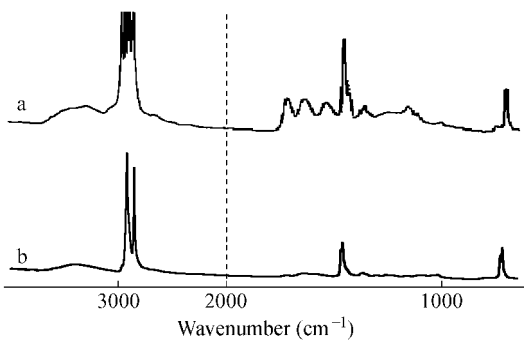


Fig. 1 FTIR spectra of films
a) Grafted film; b) Blank film

3 接枝膜的接触角

表面接触角的测定,可以直观地看出表面性能的变化.对于温度敏感性的 PNIPAAm 的接枝膜,在 LCST 的前后存在着跟水分子相互作用的巨大变化,因此接枝膜的接触角存在变化.

从图 2 中可以看到,共接枝膜接触角变化从快到慢,最后趋向某一稳定值.导致接触角变小有

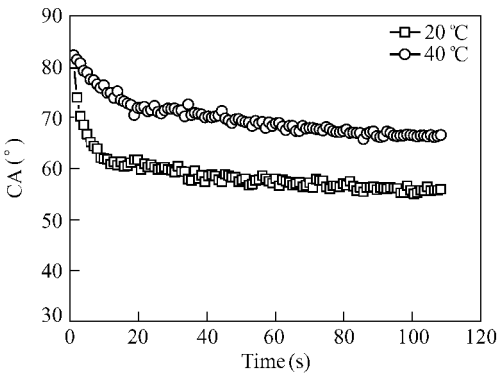


Fig. 2 The change of surface contact angles of grafted film

两个因素,(1)水滴到干燥的接枝层表面时,水浸润 PNIPAAm 是一个比较慢的过程,水滴与接枝层的相互作用达到平衡状态需要一段时间;(2)水的蒸发.由于共接枝聚合了季铵盐单体,温度变化导致共接枝膜接触角的变化没有单一接枝聚合异丙基丙烯酰胺时明显^[16].但总体而言,温度升高导致共接枝膜的疏水性增加.

4 抗菌膜的静态脱附

为了研究抗菌膜对大肠杆菌的吸附强度,使用 1 mol/L 的 NaCl 对膜进行静态的洗脱实验.实验时首先将 0.1 g 不同种类的抗菌膜和 OD₆₆₀ 一定的 10 mL 大肠杆菌菌液混和 30 min,滤去菌液.然后再将膜与 10 mL,1 mol/L 的 NaCl 溶液混和接触 60 min,检测上清液 OD₆₆₀,计算洗脱下细菌的比例,结果如表 1 所示.

Table 1 The adsorption ability of grafted films

Grafted films	Desorption rate of <i>E. coli</i> cells
P(DMAE-BC) 20°C	30.82%
P(DMAE-BC-co-NIPAAm) 20°C	32.36%
P(DMAE-BC-co-NIPAAm) 40°C	23.33%

1 mol/L 的 NaCl 溶液的洗脱结果表明,在接枝抗菌膜表面吸附大肠杆菌后,即使在浓盐溶液中被屏蔽膜表面的正电荷,大部分大肠杆菌仍然保持未被洗脱.共接枝膜在 20°C 亲水,在 40°C 疏水.在膜表面疏水情况下,可洗脱菌体比例降低,说明疏水相互作用是接枝膜对菌体重要的一种吸附作用.

5 菌体内膜渗透性

细菌细胞膜内具有 β -半乳糖苷酶,若细胞发生破裂,则 β -半乳糖苷酶会释放到溶液中,催化 ONPG 发生水解反应,产生邻硝基苯酚(ONP)^[1].把这种用于水溶性抗菌剂抗菌性能测试的方法应

用在固相接触抗菌材料研究中.以 ONPG 为底物,测定 β -半乳糖苷酶催化 ONPG 水解成产物 ONP 的反应情况,从而来判断大肠杆菌内膜的破坏程度,测定抗菌剂破裂菌体的能力.

在 2.2 mL PBS 缓冲溶液中 (pH = 7.4),同时加入一定量菌液和 300 μ L 底物 25 mmol/L ONPG,培养 15 min 后,用缓冲液将总体积调成 4 mL,使 OD₆₀₀ = 0.5. 分别加入抗菌接枝膜和共接枝膜 0.05 g,置于水平摇床中以 150 r/min 的速度混和,在不同时间 10000 r/min 离心,测清液在 400 nm 处吸光度值随时间的变化,如图 3 所示.

从图 3 中看到,温度升高,所有抗菌膜对菌体内膜破裂作用都增强,但共接枝抗菌膜的变化显然比单一接枝 DMAE-BC 的抗菌膜的变化更为显著,疏水性的变化是其原因.在表面分子结构和接枝率都不变的情况下,仅因温度变化引起接枝膜表面的疏水性增强,可以增强抗菌膜对大肠杆菌菌体的破裂作用.

6 结论

以紫外光接枝的方法,在聚乙烯薄膜上同时

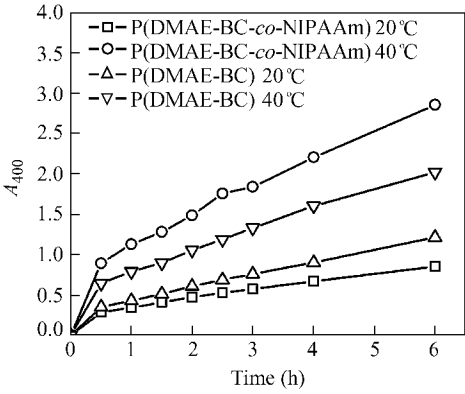


Fig. 3 Change of permeability in inner membrane at the action of grafted films

引入具有杀菌功能和温度敏感共聚物 P(DMAE-BC-co-NIPAAm) 扫描电镜观察接枝膜的表面呈现出突起起伏的形貌,接触角测试表明接枝膜表面疏水性随温度升高而增加,而温度升高导致材料疏水性增强,使得接枝膜对大肠杆菌菌体的吸附强度增加,对菌体内膜的破裂能力增强.

REFERENCES

1 Lu Diannan(卢滇楠),Zhou Xuanrong(周轩榕),Xing Xiaodong(邢晓东),Wang Xiaogong(王晓工),Liu Zheng(刘铮). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2004,(1) :107 ~ 113

2 Huang J Y,Murata H,Koepsel R R,Russell A J,Matyjaszewski K. Biomacromolecules,2007,8 :1396 ~ 1399

3 Kenawy E R,Abdel-Hay F I,El-Magdi A A,Mahmoud Y. React Funct Polym,2006,66 :419 ~ 429

4 Shi W X,Xu X J,Sun G. J Appl Polym Sci,1999,71 :1841 ~ 1850

5 Syafiuiddin T,Hisamitsu H,Toko T,Igarashi T,Goto N,Fujishima A,Miyazaki T. Biomaterials,1997,(18) :1051 ~ 1057

6 Yoshida K,Tanagawa M,Atsuta M. J Biomed Mater Res 1999,(47) :516 ~ 522

7 Xu Ling(许零),Lee W,Takanobu S,Keizo M. Journal of Radiation Research and Radiation Processing(辐射研究与辐射工艺学报),1999,17(4) : 231 ~ 239

8 Wang Y X,Yang W T. Langmuir,2004,20 :6225 ~ 6231

9 Shi Z L,Neoh K G,Kang E T. Langmuir,2004,20 :6847 ~ 6852

10 Cen L,Neoh K G,Kang E T. Langmuir,2003,19 :10295 ~ 10300

11 Chauhan G S,Singh B,Dhiman S K. J Appl Polym Sci,2004,91 :2454 ~ 2464

12 Xing Xiaodong(邢晓东),Wang Xiaogong(王晓工). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2005,25(1) :157 ~ 160

13 Lu G Q,Wu D C,Fu R W. React Funct Polym,2007,67 :355 ~ 366

14 Li Bin(李斌),Chen Wenguang(陈文广),Wang Xiaogong(王晓工),Zhou Qixiang(周其库). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2002,(6) : 780 ~ 785

15 Li Bin(李斌),Chen Wenguang(陈文广),Wang Xiaogong(王晓工),Zhou Qixiang(周其库). Acta Polymerica Sinica(高分子学报),2003,(1) : 7 ~ 12

16 Song Jiangli(宋江莉),Wang Xiufen(王秀芬). Journal of Chemical Industry and Engineering(化工学报),2003,(12) :1787 ~ 1789

17 Yang W,Ranby B. Macromolecules,1996,29 :3308 ~ 3310

PREPARATION AND ANTIBACTERIAL FUNCTION OF PE FILMS CO-GRAFTED WITH DMAE-BC AND NIPAAm

XING Xiaodong¹, WANG Xiaogong²

(¹ School of Chemical Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094)

(² Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract Surface contact disinfecting technique is a newly developed method for water sterilization. To prepare the antibacterial material having special ability and deeply study the antibacterial process and mechanism of surface contact disinfectant containing quaternary ammonium salts, the antibacterial and temperature responsive functional copolymer (poly(DMAE-BC-co-NIPAAm)) was introduced onto the surface of polyethylene (PE) films by UV-induced photo-grafting method. IR showed that the copolymer of DMAE-BC and NIPAAm were successfully grafted onto the film. The surface of photo-grafted films was investigated through water contact angle (CA) measurements. It was found that the hydrophobicity of the co-grafted film increased with the temperature increasing from 20°C to 40°C. The antibacterial properties of the co-grafted film were mainly investigated using *Escherichia coli* (*E. coli*), a kind of gram-negative bacteria, as model bacterium. First, the desorption of bacteria cells adsorbed on the surface co-grafted films was measured. In the 1 mol/L NaCl solution, lower than 35% bacteria cells was rinsed out from grafted films because the positive change on the antibacterial film surface was shielded, and the desorption rate of *E. coli* cells decreased with increasing temperature from 20°C to 40°C. The cell-lysis action to bacteria cell was further investigated by measuring the activity of β -galactosidase. The antibacterial film was put into the cell suspension containing *O*-nitrophenyl β -D-galactopyranoside (ONPG), and the changes of absorption at 400 nm with time were measured. The fact indicated that the co-grafted film disrupted the cell inner membrane, and the destroying action to the cell increased with increasing temperature from 20°C to 40°C. The co-grafted film was believed to have both the antibacterial ability and temperature sensitivity, and the antibacterial ability changed with the temperature. The experimental results clearly showed the hydrophobic action played an important effect in both the desorption and cell-lysis steps.

Keywords UV-induced photo-grafting, Quaternary ammonium salts (QAS), Antibacterial, Temperature responsive, Hydrophobicity