

蓖麻油基泡沫塑料生物降解分子机制初探*

胡静¹ 容腾² 容敏智^{1**} 章明秋¹

(¹ 聚合物复合材料及功能材料教育部重点实验室 中山大学化学与化工学院材料科学研究所 广州 510275)

(² 广州市质量监督检测研究院 广州 510725)

摘要 综合运用实验室模拟土埋、缸法埋置、微生物培养和脂肪酶催化水解等方法,对蓖麻油基泡沫塑料及其树脂材料的生物降解性能开展了系统研究,试图揭示此类材料生物降解过程的分子机制.土埋降解实验前后的分子结构表征初步证明了在此过程中微生物攻击的主要位点是酯基;而缸埋法测量 CO_2 放出量的实验表明,土埋降解的最终产物主要为 CO_2 .进一步利用培养黑曲霉的实验,证明微生物主要选择植物油分子作为其生长的碳源.在脂肪酶的作用下,蓖麻油、马来酸化蓖麻油酯及其泡沫塑料均可发生水解反应,产生脂肪酸.以上几种方法得到的结论较为吻合,不但从不同角度证实了蓖麻油基泡沫塑料具备生物降解性能,而且还初步揭示了这类材料生物降解过程的分子机制.

关键词 蓖麻油, 泡沫塑料, 生物降解, 分子机制

目前大部分合成高分子材料采用属不可再生资源的石油为原料,其废弃物难以自然降解,已给环境带来严重的负担.如何减少对石油的依赖,更多地利用可再生资源制备可生物降解高分子材料,解决日益严重的能源和环境危机已经引起了人们的普遍重视^[1,2].植物油具有来源广泛、可再生、易于加工、可生物降解、对传统高分子材料加工工艺适应性好、以及最终材料性能优良等优点,因此制备植物油基塑料具有良好的发展前景^[3-5].

近年来这方面的研究主要集中在利用植物油制备热固性树脂、植物纤维增强复合材料、橡胶和黏合剂等方面^[6-9].人们利用改性植物油基多元醇,部分或完全替代石油基多元醇制备聚氨酯弹性体或泡沫塑料^[10-13].由于聚氨酯泡沫塑料不利于降低产品成本,也不利于泡沫塑料的生物降解性,我们将植物油改性为类似不饱和聚酯树脂,利用自由基聚合,制备出丙烯酸化环氧大豆油(AESO)泡沫塑料^[14,15],以及马来酸化蓖麻油(MACO)泡沫塑料^[16,17].然而,目前研究多关注植物油基泡沫塑料的制备方法和材料性能,关于其生物降解性的研究,尤其是不饱和植物油基泡沫塑料生物降解性的研究则比较少见.研究植物

油基聚合物生物降解性能的方法多采用室内土埋、自然土埋等简单的评价方法^[18],缺乏对生物降解过程分子机制的了解.鉴此,本工作选取改性蓖麻油基树脂和泡沫塑料为研究对象,系统运用不同的评价方法(包括室内土埋、微生物培养降解、脂肪酶降解等)研究相关材料的生物降解性,结合各种测试手段(如失重法、红外光谱、热失重、元素分析、形态观察等),试图揭示植物油基泡沫塑料生物降解过程与其分子结构的关系.

1 实验部分

1.1 主要原料

蓖麻油(CO),CP,天津市元立化工有限公司;马来酸酐(MA),AR,天津市大茂化学试剂厂;N,N-二甲基苯胺,AR,汕头光华化学试剂厂;苯乙烯(St),AR,天津市大茂化学试剂厂;过氧化苯甲酰(BPO),AR,广州化学试剂厂;碳酸氢钠(NaHCO_3),AR,广州化学试剂厂;脂肪酶,AY-30(来源于假丝酵母),日本天野酶 Amano 公司.

1.2 马来酸化蓖麻油酯(MACO)的制备

按马来酸酐:蓖麻油 = 2.5:1(摩尔比)称取一定量的马来酸酐和蓖麻油加入装有温度计、机械搅拌和回流冷凝管的四口瓶中,油浴加热,反应

* 2013-09-30 收稿,2013-10-28 修稿;广东省高等学校科技创新重点项目(项目号 cxzd1001)资助.

** 通讯联系人,E-mail:cesrmz@mail.sysu.edu.cn

体系升温至 120 ℃ 开始计时,定时取样测酸值,当体系酸值降低到 120 mg KOH/g 以下时停止反应,反应产物直接用来制备泡沫塑料(MACO 每摩尔甘油三酯结构上接入了 2.08 mol 可反应双键,既含有 MACO 单分子结构,也含有 MACO 的二聚体和多聚体,它们的比例分别为 64%,16% 和 20%,参见文献[16])。

1.3 MACO 泡沫塑料和不发泡固化树脂的制备

称取计量的 MACO(分别为 95、90、80、70 和 60 g)、稀释单体 St(分别为:5、10、20、30 和 40 g)、引发剂 BPO(3.0 g)、发泡剂 NaHCO_3 (8.4 g)、泡沫稳定剂 OP-10(0.3 g)加入到塑料烧杯中搅拌均匀后,加入促进剂 *N,N*-二甲基苯胺(0.3 g),放到 65 ℃ 的水浴搅拌约 4 min 后,加入 4% 水,在高速搅拌下搅至发白后,迅速倒入经预热至 65 ℃ 的开口模具中自由发泡,当泡沫上升结束后,放入 100 ℃ 烘箱中后固化 2 h,即可制得由改性蓖麻油树脂交联网络构成的泡沫塑料。不发泡 MACO 固化树脂的制备与泡沫塑料制备的配方、工艺相同,但不加发泡剂和泡沫稳定剂。

1.4 土壤微生物降解实验

将泡沫样品切成厚约 5 mm 的薄片,烘至恒重后,贴标签标记。每种样品重复 3 个。按样品 1 g、土壤 72 g、有机肥料 8 g、营养土 24 g、水 50 g 的比例,把土壤、有机肥料、营养土和水搅拌均匀,并放入 1 L 广口瓶中,盖上带两通玻璃管的橡胶塞,通湿氧气。反应装置放在 30 ℃ 的烘箱恒温。定期取样洗净烘干称重。以上试验的步骤和所涉及各物质的组成均符合 ASTM D 5988-03 的规定。

1.5 微生物培养降解

察氏培养基的配制是参照 ASTM 标准 G21-96(2002),准确称取 KH_2PO_4 1 g、 MgSO_4 0.7 g、 NH_4Cl 1 g、 NaCl 0.5 g、 FeSO_4 0.02 g、 ZnSO_4 0.02 g、 MnSO_4 0.05 g、琼脂 18 g、蔗糖 30 g(无碳源察氏培养基则不加此项)及水 1000 g,加入广口瓶内,用棉花塞塞紧,外扎牛皮纸,120 ℃ 高压灭菌 20 min(103.4 kPa 蒸气压),用 NaOH 水溶液把培养基的 pH 调到 6.3,然后分装到各培养皿,自然冷却凝固。

孢子悬浮液的配制是将把黑曲霉接种在察氏培养基上,于 28 ℃ 恒温培养一周,用蒸馏水冲洗生长成熟的霉菌培养基并离心,重复操作 3 次,收集冲洗液,用干重法称量孢子悬液浓度,用蒸馏水稀释到黑曲霉浓度 1.0×10^6 个/mL。

降解试验^[19]是将把不发泡的 MACO 固化树脂薄膜(40 μm),在装有无碳源的察氏培养基的培养皿上铺成 5 cm × 5 cm 的正方形;或者把不发泡的 MACO 固化树脂薄片(0.3 mm)剪成 2.5 cm × 2.5 cm 尺寸,装在无碳源的察氏培养基的培养皿上。用喷瓶把 0.2 mL 的黑曲霉悬液均匀喷在无碳源的察氏培养基的表面,28 ℃ 恒温培养,定期取样,在体视显微镜下观察其生长情况。每个样品重复 3 个,以不放 MACO 塑料的无碳源的察氏培养基为空白样品,以 PP 塑料为空白对照。

1.6 酶降解实验

1.6.1 配制酶溶液

称约 0.05 g AY-30 酶粉,溶解在冰冻的重蒸馏水中,定容至 100 mL,保存在冰箱里(1 ~ 6 ℃),一般即配即用。

1.6.2 蓖麻油及其衍生物酶解实验

配制底液取 4% PVA 水溶液 50 mL,加 5 mL 蓖麻油或马来酸化蓖麻油 MACO,用高速均质机搅拌 6 min,即成乳白色的蓖麻油或 MACO 乳化液,保存在冰箱里备用。

碱滴定酶解液^[20]取 100 mL 三角烧瓶,分别加入蓖麻油或 MACO 乳化液 4 mL 和 pH = 7 的磷酸缓冲液 5 mL,置于 45 ℃ 振荡水浴箱中,预热 5 ~ 10 min,加入酶溶液 1 mL,立即计时。每隔一段时间取出后立即用 0.05 mol/L 氢氧化钠标准溶液滴定,测定滴定到中性的耗碱量。空白样品为不加脂肪酶的样品。

1.6.3 泡沫塑料酶解实验

泡沫塑料样品预处理是将 MACO 泡沫塑料磨成 20 目粉末,用水浸泡,除去未反应的酸和发泡用的 NaHCO_3 ,过滤,在真空干燥机中除去水份(80 ℃,24 h)。

酶降解方法是依次在 150 mL 三角烧瓶中加入样品 0.5 g,缓冲溶液 15 mL,表面活性剂,放置于恒温 45 ℃ 摇床,预热 10 min 后,按比例加入 0.5% 脂肪酶溶液 6 mL,每隔 24 h 加一次脂肪酶,反应若干天。空白对照实验方法同前,除了在整个过程中不加脂肪酶。每个样品重复 3 个,反应后过滤得样品,在真空干燥机中除去水份(80 ℃,24 h),干燥至恒重。

1.7 性能测试与表征

用美国 Bruker 公司 BRUKER EQUINOX 55 型傅立叶转换红外光谱仪测定降解前后泡沫塑料的红外光谱图,把样品粉末干燥后,研磨至 150

目, KBr 压片透射测试, 测试条件为扫描 64 次, 分辨率为 2 cm^{-1} . 样品的 TGA 曲线在 NETZSCH TG209 的热重分析仪获得, 所用的气氛为流量是 40 mL/min 的氮气, 升温速率为 20 K/min , 测试温度范围为 $35\sim700\text{ }^{\circ}\text{C}$. 采用德国 Elementar 公司 Vario EL 元素分析仪分析材料的碳氢含量. 用 pH 计测量酶降解反应液的 pH 值, 用 0.05 mol/L NaOH 标准溶液滴定至脂肪酶的最佳 pH 值 (7.5), 记录所用的 NaOH 标准溶液的用量. 采用 PHILIP XL30 FEG 型扫描电子显微镜, 样品抽真空喷金后, 观察泡沫塑料样品和未发泡树脂表面的微观形态, 考察样品降解前后的微观形态变化. 生物制样方法: 用 0.1 mol/L Pbs 磷酸缓冲液清洗样品 3 次, 用 2.5% 戊二醛溶液固定 4 h , 用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液清洗 6 次 (每 20 min 一次); 用酒精分级脱水; 用乙酸异戊酯置换 2 次, 每次 $10\sim15\text{ min}$; 临界点干燥 3 h .

2 结果与讨论

2.1 MACO 泡沫塑料的实验室模拟土壤降解

实验室模拟土壤实验是采集特定混合制成的土壤, 在温度、湿度可控的容器中, 避光进行微生物分解试验. 通过比较实验前后样品的化学和物理性质的变化, 分析其生物降解性能. 该法克服了户外土埋法重复性差的缺点. 结果表明, MACO/St 系列泡沫塑料经过模拟自然环境的实验土埋后, 样品的失重量逐渐增加. 如图 1 所示, 不同 MACO/苯乙烯配比制备的泡沫塑料表现出相同的失重趋势. 每条失重曲线在第一个月的斜率最大, 然后斜率慢慢减小, 说明在土埋试验中, MACO/苯乙烯泡沫塑料的生物降解过程在初期较为明显. 继续降解, 泡沫塑料变成碎片, 难以评价其失重情况.

为考察 MACO/苯乙烯泡沫塑料土埋生物降解过程对其分子结构的影响, 以 MACO/苯乙烯 ($9/1$) 泡沫塑料为例, 测试了经过实验室土埋试验 3 个月的材料的热失重曲线, 并与未经过土埋的空白样品进行对比分析 (图 2). 在测试温度范围内, 土埋后样品的热失重比空白样品的热失重明显增大, 说明土埋生物降解过程产生了小分子, 它们在低温下分解失重. 从 DTG 曲线中看到, 土埋后样品的最大失重温度降低约 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 同样反映出土埋会造成大分子网络结构破坏和分子断链, 因而热稳定性下降. 另外, 土埋后样品在温度

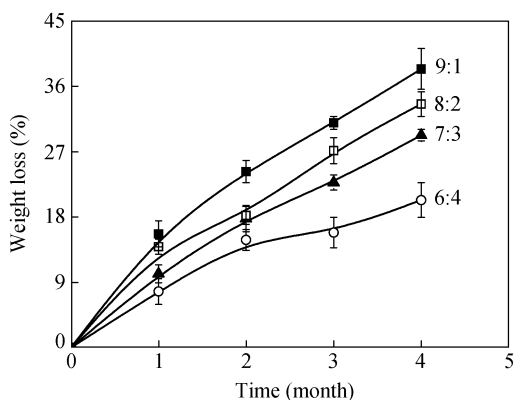


Fig. 1 Time dependence of soil burial biodegradation (pH = 7) induced weight loss of MACO foams with different MACO/St weight ratios (density: 0.200 g/cm^3)

$430\text{ }^{\circ}\text{C}$ 附近出现了第二个失重微分峰, 而空白样品只有一个失重微分峰, 在高温处有一个很不明显的肩峰. 有可能是材料降解过程, 导致这个肩峰变成明显的失重峰, 并且峰温降低. 另外一个明显的变化是热失重实验后, 土埋降解样品的残余质量较空白样品增加. 估计在土壤微生物降解过程中, 样品经历了矿化过程, 即材料中部分有机物被微生物转化为无机化合物的过程^[21], 而空白样品则不存在矿化过程, 所以它的热失重剩余质量较低.

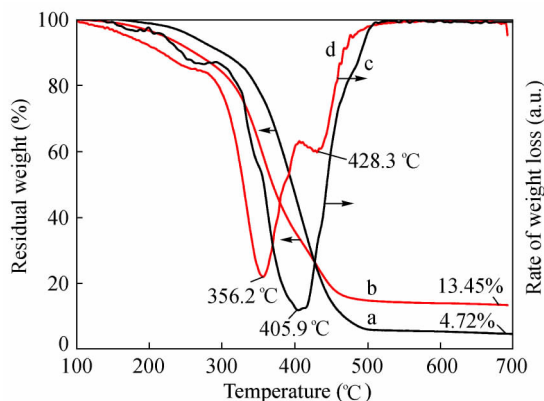


Fig. 2 TG and DTG curves of MACO/St ($9/1$) foams before (a, c) and after (b, d) soil burial biodegradation

图 3 展示了对 MACO/苯乙烯 ($9/1$) 泡沫塑料降解前后样品进行红外测试的结果. 因为聚酯结构经生物降解后一般变成羧酸和酮, 所以羰基 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动峰 ($ca. 1740\text{ cm}^{-1}$) 的位置基本没有变化, 但 OH 吸收峰 ($ca. 3450\text{ cm}^{-1}$) 逐渐变得明显, 并且 $\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动的吸收峰的强度 ($ca. 1170\text{ cm}^{-1}$) 逐渐减弱, 说明部分酯键 $\text{C}-\text{O}$ 被降解变成了酮. 虽然上述特征峰的变化不是十分明显, 但仍足以反映出泡沫塑料分子结构的变

化趋势.

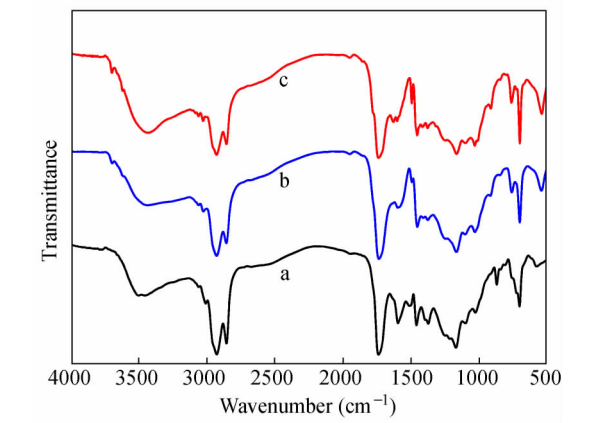


Fig. 3 FTIR spectra of MACO/St (9/1) foams before (a) and after (b, c) soil burial biodegradation of two and three months, respectively

为了进一步分析实验室土埋前后 MACO 泡沫塑料化学组成的变化,对 MACO/苯乙烯 (9/1) 泡沫塑料土埋前后的样品进行了元素分析测试 (表 1). 发现随着实验室土埋降解时间的增加,MACO 泡沫塑料中的 C、H 元素含量均逐渐减少,说明在实验室土埋降解过程中,土壤里的微生物确实在消耗 MACO 泡沫塑料中的 C 和 H,即微生物通过分解 MACO 中的有机物,将有机碳转化成微生物生长所需的能量,碳含量因而随之减少.

Table 1 Carbon and hydrogen contents of MACO/St (9/1) foam before and after soil burial biodegradation

Specimens	Content of carbon (%)	Content of hydrogen (%)
Before soil burial	67.14	9.26
Two months after soil burial	66.74	8.61
Three months after soil burial	65.91	8.40
Four months after soil burial	64.19	8.10

考虑到如果含有聚酯结构的泡沫塑料经生物降解后变成羧酸和酮,则土壤 pH 值会对该生物降解性能有影响. 为此,将土壤的 pH 值由 7 调节到 8.5,考察 MACO/苯乙烯 (9/1 和 8/2) 泡沫塑料的生物降解性的变化 (图 4). 结果表明,提高土壤的 pH 值,MACO 泡沫塑料的失重率增加,即生物降解程度提高. 另一方面,MACO 比例较高的泡沫塑料失重更明显,并且对 pH 值的上升更为敏感. 我们认为其原因在于,降解过程中,微生物的新陈代谢活动会导致乳酸、二氧化碳和水的释放,这些都会增加土壤的酸度,从而抑制微生物的降解活动. 所以,提高土壤 pH 值有利于生物降解过

程. 元素分析的实验结果也表明,在较高 pH 值土壤中降解 2 个月后,MACO/苯乙烯 (9/1) 泡沫塑料的碳元素含量 (61.13%) 和氢元素含量 (7.91%) 下降程度均大于在 pH = 7.0 土壤环境中降解的 MACO 泡沫塑料 (对比表 1).

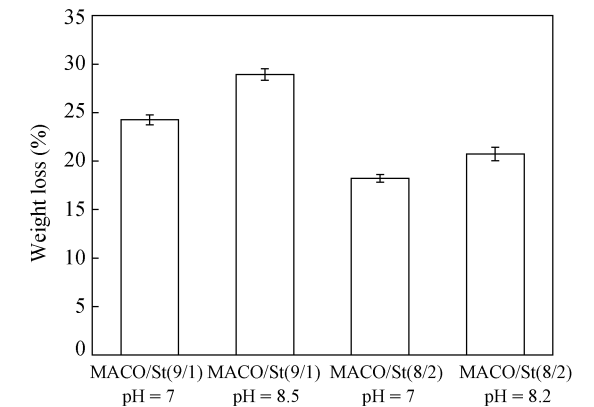


Fig. 4 Weight loss of MACO foams after soil burial biodegradation for two months at different pH values of the soil

上述实验室模拟土埋证明了 MACO 泡沫塑料能够发生生物降解,为了进一步跟踪降解产物,我们用缸埋法测量 CO₂ 的放出量. 实验过程与前述实验室土埋一致,只是在土壤表面放置 CO₂ 吸收装置 (小烧杯),里边盛放 2.0 mol/L 的 NaOH 溶液,密闭容器,定期取出溶液,用标定过的 HCl 溶液滴定,根据 HCl 溶液的消耗量来表征 CO₂ 的释放量;同时做空白试验,然后根据试验中 CO₂ 释放量减去空白试验中 CO₂ 释放量来计算试样的降解程度 R:

$$R = \frac{100M_{\text{F}_x}}{M_t} \times 100\% \quad (1)$$

式中 M_{F_x} 为试样分解释放的 CO₂ 摩尔量, M_t 是高聚物完全降解时放出的 CO₂ 的摩尔量 ($M_t = M_x \cdot C/44$, M_x 是聚合物的质量, C 是聚合物的含碳量).

从图 5 可知,MACO 泡沫塑料缸法埋置后确实能释放出最终产物 CO₂,并且随着缸埋时间的延长,CO₂ 的释放量增大,表明试样降解程度增加. 减小泡沫塑料的体积,在同等缸埋时间内,试样降解率要大. 与图 1 相比较,缸埋法测得的生物降解程度略低于实验室土埋的重量损失,表明降解过程除了生成 CO₂ 外,还生成了一些其它物质,可能是水、乳酸或其它矿物质.

2.2 MACO 树脂的微生物培养降解

在实验室土埋证明了 MACO 泡沫塑料具有

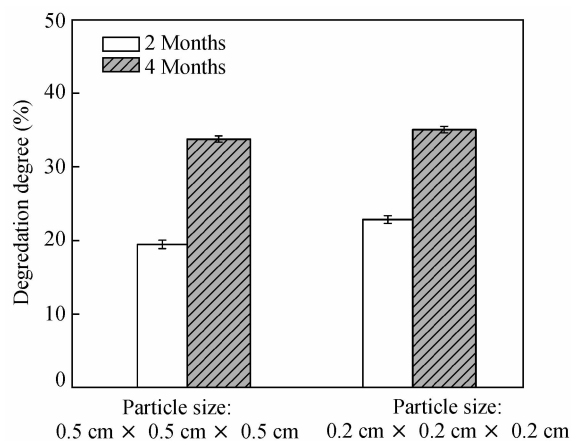


Fig. 5 Degree of soil burial biodegradation of MACO/St (9/1) foams calculated from Eq. (1)

生物降解性的基础上,进而采用黑曲霉作为降解实验的真菌,以了解微生物在不发泡的 MACO 固化树脂表面的生长情况.在微生物降解实验中,由于 MACO 树脂固化物是微生物培养实验中的唯一碳源,即黑曲霉生长只能依靠降解 MACO 树脂得到碳源,所以通过观察 MACO 树脂表面微生物的生长,以及降解前后的质量损失、表面的形态变化,就可以直观地考察其生物降解性与材料分子结构的关系.从图 6(a)中可见,黑曲霉在不发泡的 MACO 固化树脂薄膜表面的生长丰度呈较好的规律性,前十天的生长速率较大,后面几天变得缓慢,说明黑曲霉对 MACO 塑料薄膜的侵蚀较快.也许由于样品厚度较薄,黑曲霉在开始几天降解了能提供能量的可生物降解部分,之后由于能提供能量的部分减少,而减慢了生长.微生物对 MACO 树脂的生物降解受 MACO/苯乙烯的配比的影响,MACO 的含量比例越大,微生物的生长程度越高.

微生物对不发泡的 MACO 固化树脂薄片的降解性与 MACO 树脂薄膜相似,随着时间的增长,微生物的生长程度加深(图 6(b)).黑曲霉在 MACO 薄片的生长速率几乎呈直线,说明其生长具有持续性.该行为与图 6(a)所示黑曲霉在不发泡的 MACO 固化树脂薄膜上的生长情况不同,原因在于不发泡的 MACO 固化树脂薄片的厚度(0.3 mm)比薄膜的厚度(40 μm)大得多,所以薄片能提供给微生物降解的能量也更多,致使黑曲霉在一定的降解时间内保持了几乎恒定的生长速率.值得注意的是,在相同时间内厚度较大的 MACO 树脂薄片表面的黑曲霉生长面积不如薄

膜,经过 25 天,即使是 MACO 含量高达 95% 的薄片其微生物生长丰度也只有 80%.这是因为微生物是从样品的边缘向中间生长,而薄片的可生物降解部分较多,微生物在样品边缘部分侵蚀的时间便延长了,所以微生物在薄片表面的面积扩张不如在薄膜表面时快.

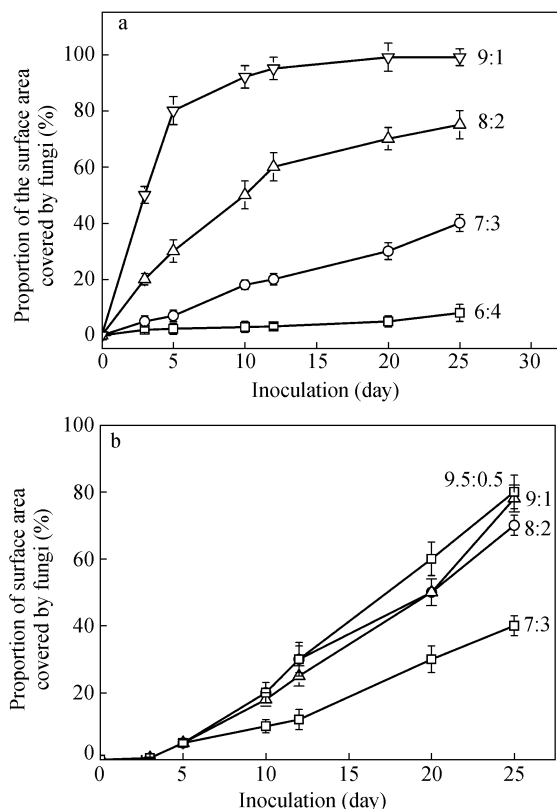


Fig. 6 Proportion of the surface area of MACO/St (a) films (40 μm thick) and (b) sheets (0.3 mm thick) with different MACO/St weight ratios covered by fungi

不发泡的 MACO 固化树脂薄片经过微生物降解的失重与实验室土埋结果类似,含有 MACO 比例越大的树脂,其生物降解性能越好(图 7),并且用培养微生物的方式去降解 MACO 树脂,其降解效果比土埋实验更加快速.以 MACO/苯乙烯(9.5/0.5)树脂为例,当把树脂薄片放在实验室土埋条件下降解,经过 1 个月(30 天)的失重百分比为 6.12%,而把树脂用黑曲霉培养的方法去降解,经过 16 天的失重百分比已达到 25.67%.可见,对于树脂薄片来说,培养微生物的方法其降解效率远高于土埋实验.但是,微生物培养方法的降解过程受众多因素影响,如样品的分子结构、样品尺寸、微生物的种类、培养条件等.实际上,MACO 泡沫塑料的实验室土埋降解速率与 MACO 树脂薄片的微生物降解速率相差不大,可能与泡沫塑

料的松散结构有关.

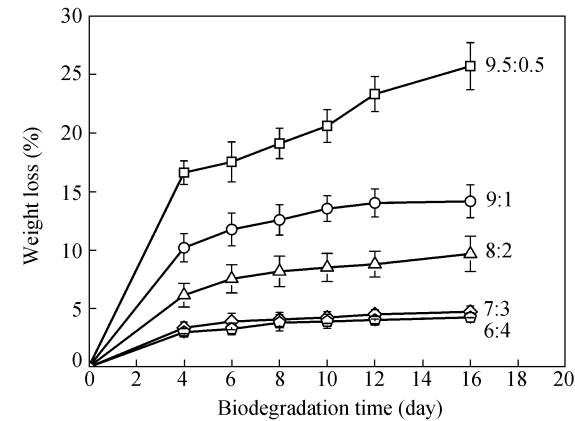


Fig. 7 Microorganism biodegradation induced weight loss of MACO/St sheets with different MACO/St weight ratios

为进一步考察微生物在 MACO 树脂薄片表面的生长情况,我们微生物降解 15 天后表面长有黑曲霉的样品经过生物制样处理,进行 SEM 扫描电镜观察,同时把表面黑曲霉除去的样品和空白样品进行对比考察(图 8).从照片上可清晰看到,黑曲霉生长在塑料的表面上,其孢子和根茎在塑料表面上相互缠绕,说明 MACO 作为黑曲霉的唯一能量来源,而黑曲霉的生长繁殖则直接证明了 MACO 树脂具有很好的生物降解性能.在除去黑曲霉后,材料表面破坏程度明显,与降解前的树脂对比,表面形态变化很大,说明黑曲霉确实是通过侵蚀树脂的表面来进行其生长繁殖,从而形成生

物降解.

图 8 显示出 MACO 比例越高的树脂,其黑曲霉的孢子越成熟,孢子体积越大;黑曲霉孢子的根茎越密且相互缠绕;霉粒密度越大,覆盖树脂的面积越多.如 MACO 含量为 90% 的树脂,表面基本看不到原来的树脂,全部被黑曲霉的孢子、孢子根茎和霉粒所覆盖,而 MACO 含量为 60% 的树脂,表面生长的黑曲霉孢子较少,其根茎和霉粒较为稀疏.除去黑曲霉后,前者表面破坏严重,与原来的表面形态相差甚远,可以直观地看出黑曲霉在此表面生长扎根的痕迹,而后的表面虽然也呈现出明显的侵蚀破坏痕迹,但材料原来的表面纹路还能够辨认,说明此树脂被微生物的降解程度不高.由此看来,尽管 MACO 与苯乙烯已经聚合形成了交联网络结构,微生物主要还是选择植物油分子作为其生长的碳源.生物降解经常与微生物的生长联系在一起.生物降解的过程是有机物发生转化的过程,同时也是微生物呼吸与同化的过程.在呼吸过程,微生物利用有机物作为能源提供动力;在同化过程,微生物利用有机物中的碳和呼吸产生的能量构建细胞自身,结果表现为微生物的生长.对比图 8 所示 2 种 MACO 树脂降解后形貌的差别表明,自然界的微生物降解植物油比人工合成的聚苯乙烯容易得多,这是由于人工合成的有机物与天然有机化合物在化学结构上的差异所造成的.

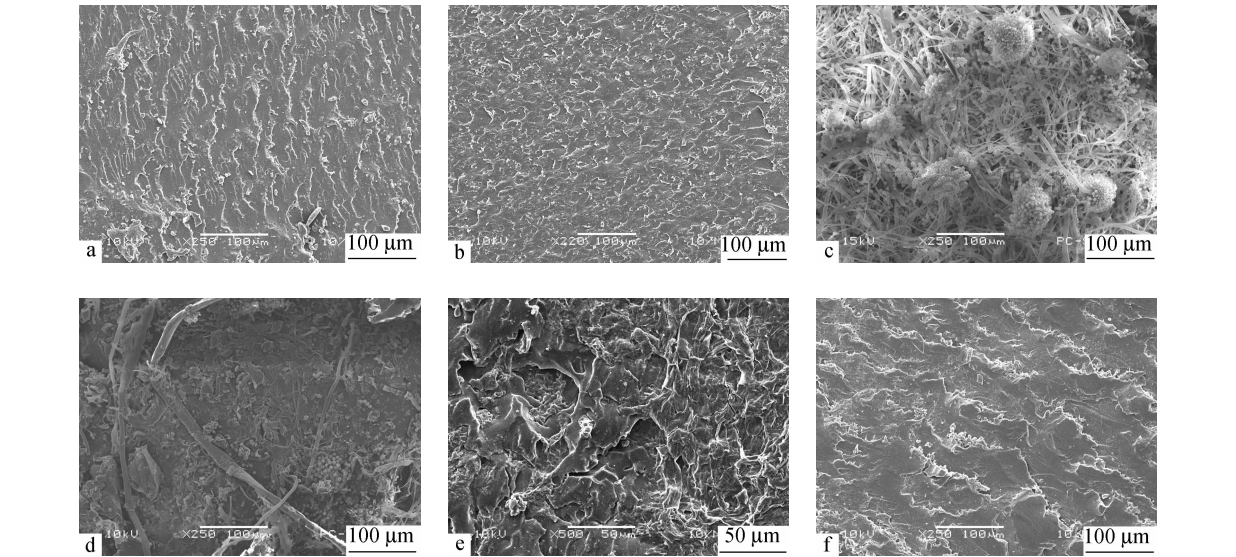


Fig. 8 SEM micrographs of surfaces of MACO/St sheets before (a, b) and after (c, d) inoculation of aspergillus niger for 15 days and (e, f) sheets inoculated for 15 days and then cleaned out to remove the fungi
MACO/St weight ratios: (a, c, e) 9/1, and (b, d, f) 6/4

2.3 蓖麻油、蓖麻油改性单体及其泡沫塑料的酶降解

上述土埋和微生物培养实验均证明了 MACO 泡沫塑料的生物降解性,主要来源于植物油的脂肪酸酯结构.为了考察马来酸酐改性对蓖麻油降解性的影响,本工作采用脂肪酶对蓖麻油、MACO 及其泡沫塑料进行水解,探索这些分子生物降解的机理.我们选择日本天野酶(Amano)公司的脂肪酶 AY-30 作为试验用酶,它发挥活性的最适温度为 45 ℃,最适宜的 pH 值为 7.0, pH 值稳定范围为 3.0~8.0,它能在甘油三酯的 1、2 和 3 号位引发其水解.由于酶解后有脂肪酸产生,因此可以用标准碱液滴定,测定体系的耗碱量来表征蓖麻油、MACO 在脂肪酶作用下的水解情况.与空白样品相比,加入脂肪酶的蓖麻油降解液的耗碱量随着时间延长而增加(图 9a),说明在所用脂肪酶的作用下蓖麻油发生了水解反应,有脂肪酸不断生成,脂肪酶 AY-30 对蓖麻油有较好的活性.

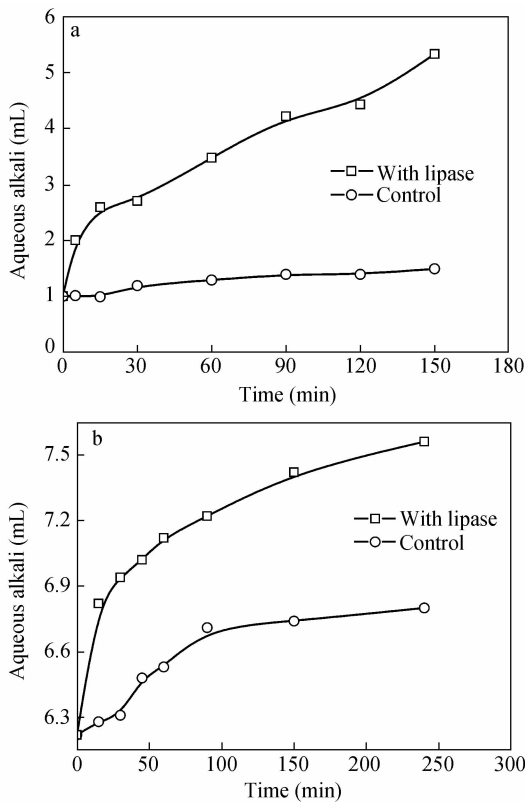


Fig. 9 Time dependence of aqueous alkali consumption (0.05 mol/L NaOH) due to enzymolysis of castor oil (a) and MACO resin (b)

马来酸酐改性蓖麻油(MACO)是在脂肪酸长链上接入了马来酸半酯基团,与蓖麻油相比,MACO 分子上的酯键数量增加,因此增加了可供

脂肪酶进行水解的基团,有利于脂肪酶作用下的降解反应,但 MACO 分子结构中存在羧酸基团,改变了水解反应的平衡,有碍酶解反应生成脂肪酸,因此不利于脂肪酶作用下的降解反应,这两种因素的共同作用影响着 MACO 单体的酶降解反应.由于脂肪酶 AY-30 在弱酸环境下也可使用,因此可用它来降解 MACO,MACO 酶降解反应的耗碱量曲线如图 9(b)所示.与空白样品相比,加入脂肪酶的 MACO 降解液,其耗碱量同样随着时间延长而增加,而且碱液消耗量大于空白样品,说明有脂肪酸不断生成.由于 MACO 本身含有羧酸结构,其空白样的耗碱量比蓖麻油的大,但 CO 与 MACO 的结构不同,酯键的数量也不同,它们之间的耗碱量不能直接对比.尽管如此,通过它们酶解过程中的碱滴定曲线,我们还是可以初步判断脂肪酶对它们具有催化水解活性.换言之,利用马来酸酐改性蓖麻油,并没有降低其酶解活性.

为了分析由 MACO 单体聚合后得到的泡沫塑料的酶降解性能,选择 MACO/St (9/1) 泡沫塑料,将其磨成粉末(20 目)后进行酶解反应,通过测试 MACO 泡沫塑料粉末酶水解前后重量变化来判断其酶降解性能. MACO 泡沫塑料粉末随酶解时间的失重曲线如图 10 所示,可见不加入脂肪酶处理的空白样品在 15 天内只有大约 1% 的失重.加入脂肪酶的水解液中,泡沫塑料酶解失重在前 6 天几乎呈线性增加,后期放缓.酶解 15 天后,失重可达到 9% 以上.说明经脂肪酶的作用,MACO 泡沫塑料发生了降解反应,部分 MACO 聚合物水解后,释出小分子,导致样品失重.由此可以推测,MACO 泡沫塑料在能产生脂肪酶微生物的环境中,在微生物产生的脂肪酶作用下发生水

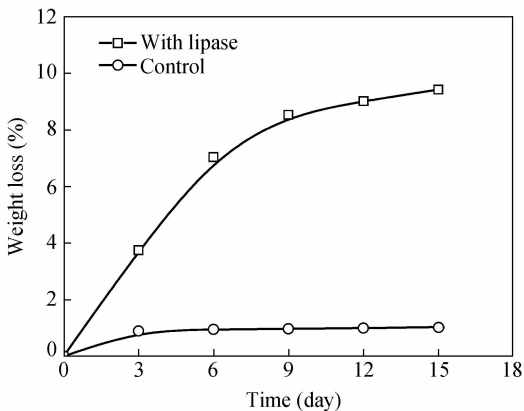


Fig. 10 Time dependence of weight loss of MACO/St (9/1) foam due to enzymolysis

解、分子断裂等过程。

酶降解前后样品的红外谱图如图 11 所示,因为在 MACO 泡沫塑料酶降解过程中,脂肪酶水解造成聚合物网络中 MACO 的结构单元的变化,即酯水解形成脂肪酸或使马来酸酯结构单元破坏,在脂肪酸侧链上产生羟基,形成马来酸-苯乙烯-马来酸的共聚物分子链段从聚合物网络中释放出来,并分散于水中. 由于在残留的不溶物结构单元中,依然含有较多羰基,所以在 1740 cm^{-1} 处的 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动位置和强度基本没有变化. 降解前样品在 3500 cm^{-1} 附近的宽吸收峰是由 MACO 结构单元中羧酸上的缔合态羟基和醇羟基共同产生的^[22],随着酶解时间延长,样品在 3500 cm^{-1} 附近缔合态羟基吸收峰相对减弱,这是由于酶解使马来酸半酯减少所至,尽管在残留的聚合物网络中可能出现由于甘油三酯结构水解产生的羧酸,但它不足以弥补 MACO 中马来酸半酯离开减少的损失,因而强度减弱. 图中 1575 cm^{-1} 处为苯环的特征吸收峰,从图中可见随酶解时间延长,此处的峰强度逐渐减弱,这说明酶解过程中,含有苯乙烯单元分子链段(马来酸-苯乙烯-马来酸低聚物链段)有可能优先从聚合物中释放出来,从而使苯环强度降低.

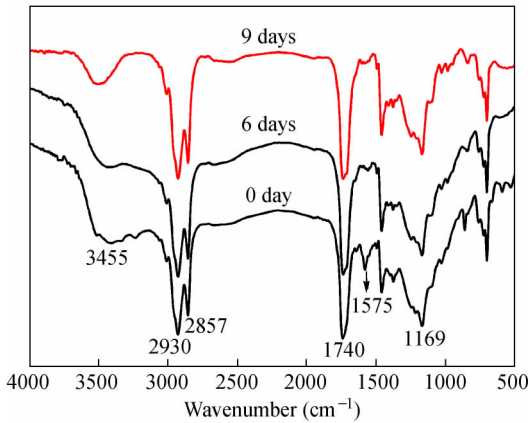


Fig. 11 FTIR spectra of MACO/St (9/1) foams before and after enzymolysis

为了进一步量化泡沫塑料生物降解过程中化学组成的变化,根据图 2(土埋前后)和图 11(酶解前后)红外谱图中 $\text{C}-\text{O}$ 键和苯环峰面积的变化,以羰基峰作为内标,给出了这两个基团经过 2 和 3 个月土埋,以及酶解 6 和 9 天之后的定量变化情况(见图 12),由此可更明显地看出生物降解

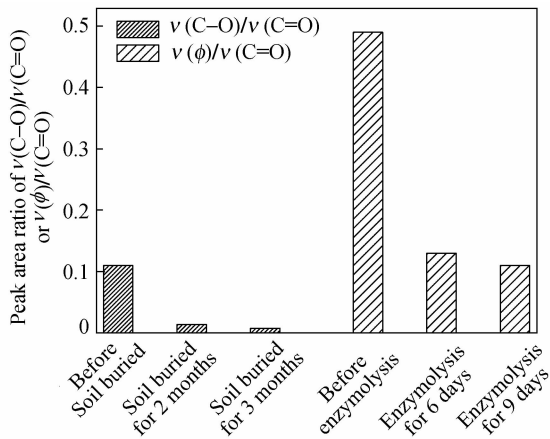


Fig. 12 Peak area ratios of $\nu(\text{C}-\text{O})/\nu(\text{C}=\text{O})$ and $\nu(\varphi)/\nu(\text{C}=\text{O})$ estimated from the FTIR spectra in Figs. 3 and 11

过程确实是发生在酯键. 2 个月的土埋实验,可以使泡沫塑料中的酯键含量下降 80% 左右,而酶解的效率更高,6 天的酶解即使苯环含量(苯环短链与酯键相连)下降 75% 左右.

3 结论

上述研究使我们对蓖麻油基泡沫塑料生物降解分子机制有了初步的了解. 由于改性蓖麻油 MACO 含有多个双键,所以本文研究的 MACO 泡沫塑料属于热固性聚合物,它在降解前后均维持网状结构,而且降解是一种由外及里逐渐的过程,其分子量的变化无法检测. 为此,我们采用 3 种实验手段,从多个角度探索其生物降解的分子机制. 首先,在实验室土埋实验时,由于土壤中的微生物对大分子网络结构造成破坏,导致泡沫塑料重量损失,分子链上最容易被攻击的基团是酯键. 在有有机物的 C 和 H 被消耗的同时,还伴随着有机物被微生物转化为无机化合物的矿化过程,而有机物则最终转化为 CO_2 和其它副产物. 随后,黑曲霉的培养降解实验发现微生物可以在蓖麻油基塑料薄膜表面生长,从而进一步证明植物油是微生物生长的主要碳源. 尽管 MACO 与 St 反应生成了大分子网络,但黑曲霉仍然选择蓖麻油链段作为其营养源. 最后,根据脂肪酶催化水解的分析可知,利用马来酸酐改性蓖麻油,并没有降低其酶解活性. 蓖麻油基泡沫塑料同样具有酶解活性,表明植物油分子不仅自身可发生生物降解,而且可以诱导苯乙烯短链也发生生物降解.

REFERENCES

- 1 Crandall L. Inform, 2002, 13: 626 ~ 630
- 2 Mohanty A K, Misraa M, Hinrichsen G. Macromol Mater Eng, 2000, 276/277: 1 ~ 24
- 3 Khot S N, Lascalea J J, Can E, Morye S S, Williams G I, Palmese G R, Kusefoglu S H, Wool R P. J Appl Polym Sci, 2001, 82: 703 ~ 723
- 4 Silva R V, Spinelli D, Bose Filho W W, Claro Neto S, Chierice G O, Tarpani J R. Compos Sci Technol, 2006, 66: 1328 ~ 1335
- 5 Donnell A, Dweib M, Wool R. Compo Sci Technol, 2004, 64: 1135 ~ 1145
- 6 Donnell A O, Dweib M A, Wool R P. Compo Sci Technol, 2004, 64: 1135 ~ 1145
- 7 Dweib M A, Hu B, Shenton H W, Wool R P. Compos Struct, 2006, 74: 379 ~ 388
- 8 Liu Z S, Erhan S Z, Xu J, Calvert P D. J Appl Polym Sci, 2002, 85: 2100 ~ 2107
- 9 Lu J, Wool R P. Compo Sci Technol, 2008, 68: 1025 ~ 1033
- 10 Pan Meijuan(潘梅娟), Wang Xiaohui(王晓辉), Yao Cheng(姚成). Modern Chemical Industry(现代化工), 2007, 27: 521 ~ 524
- 11 Don D A, McSherry W F, Goldblatt L A. J Am Oil Chem Soc, 1959, 36: 16 ~ 20
- 12 Kong X H, Narine S S. Biomacromolecules, 2007, 8: 2203 ~ 2209
- 13 Guo A, Javni I, Petrovic Z. J Appl Polym Sci, 2000, 77: 467 ~ 473
- 14 Wu Suping(吴素平), Rong Minzhi(容敏智), Zhang Mingqiu(章明秋). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2007, (10): 993 ~ 998
- 15 Qiu J F, Zhang M Q, Rong M Z, Wu S P, Karger-Kocsis J. J Mater Chem A, 2013, 1: 2533 ~ 2542
- 16 Wang H J, Rong M Z, Zhang M Q, Hu J, Tibor C. Biomacromolecules, 2008, 9: 615 ~ 623
- 17 Wang H J, Rong M Z, Zhang M Q, Tibor C. Compos Interface, 2008, 15: 95 ~ 110
- 18 Shogren R L, Petrovic Z. J Polym Enviro, 2004, 3: 173 ~ 178
- 19 Fang Jun(方俊), Huang Farong(黄发荣), Guo Hongmei(郭红梅), Lin Mingtao(林明涛), Dong Xu(董旭), Wang Jun(王俊). Journal of Functional Polymers(功能高分子学报), 2003, 16: 191 ~ 196
- 20 Zhang Jianfei(张健飞), Wang Xiaochun(王晓春), Gong Jixian(巩继贤), Ji Li(季莉), Gu Zhenya(顾振亚). Journal of Donghua University(东华大学学报), 2003, 29: 105 ~ 109
- 21 Lu Guining(卢桂宁), Dang Zhi(党志), Tao Xueqin(陶雪琴), Zhang Taiping(张太平), Zhou Yongzhang(周永章). Chinese Journal of Soil Science(土壤通报), 2006, 37: 189 ~ 192
- 22 Chen Jie(陈洁), Song Qizhe(宋启泽). Organic Spectral Analysis(有机波谱分析). Beijing(北京): Beijing Institute of Technology Press(北京理工大学出版社), 1997. 69 ~ 73

Molecular Mechanism Involved in Biodegradation of Castor Oil Based Plastic Foam

Jing Hu¹, Teng Rong², Min-zhi Rong^{1*}, Ming-qiu Zhang¹

(¹Key Laboratory for Polymeric Composites & Functional Materials of Ministry of Education of China,
Materials Science Institute, School of Chemistry and Chemical Engineering,
Sun Yat-sen (Zhongshan) University, Guangzhou 510275)

(²Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 510725)

Abstract The castor oil was converted into maleic acid ester (*i. e.* maleated castor oil, MACO) by the reaction with maleic anhydride. Afterwards, the resultant MACO was free-radically copolymerized with reactive diluents (styrene, St) and cured to form foam plastics through conventional foaming technique. By changing MACO/St ratio, mechanical properties and aerobic biodegradability of MACO foams can be easily adjusted. To understand the biodegradation mechanism of the castor oil based plastic foam, various characterization techniques were employed in a systematic way. Compost tests in laboratory soil combined with molecular characterizations demonstrated that the bio-foam has acquired excellent biodegradability. Destruction of the network structure of the castor oil based polymer resulted from fission of ester groups due to attack of microorganisms. The final product of compost tests proved to be carbon dioxide. Inoculation of fungi on the castor oil based polymer further revealed that the vegetable oil acted as carbon source of growth of *aspergillus niger*. Under the catalysis of lipase, castor oil, MACO and its foam were hydrolyzed to produce fatty acids. The results of different degradation tests matched each other, which not only confirmed biodegradability of MACO plastics, but also preliminarily revealed molecular mechanism of the biodegradation process.

Keywords Castor oil, Foam plastics, Biodegradability, Molecular mechanism

* Corresponding author: Min-zhi Rong, E-mail: cesrmz@mail.sysu.edu.cn