

淀粉化学品

氧化玉米淀粉-聚己内酯基抗菌膜的制备及性能

杜永梅, 党旭岗*, 王学川

(陕西科技大学 轻工科学与工程学院, 陕西 西安 710021)

摘要: 通过简便的“一锅法”对氧化玉米淀粉(OCS)进行线性接枝吡啶-3-乙酸(IAA),成功制得了新型氧化玉米淀粉基抗菌材料(OI)。然后,将OI与聚己内酯(PCL)进行共混成膜,制得了氧化玉米淀粉-聚己内酯基抗菌膜(PO)。通过FTIR、UV-Vis-NIR分光光度计、XRD、视频光学接触角测量仪、电子拉力机对所制备的OI、PO的结构和性能进行了表征和测试,并评价了PO的抗菌性能和生物相容性。结果表明,IAA与OCS主要通过酯化反应进行结合,制备的OI的取代度为60%、最低抑菌浓度为0.50 g/L,远低于传统抗生素和大分子壳聚糖抗菌材料的用量。随着OI用量的增加,PO结晶度下降,透光率下降,接触角略有下降,而抗拉强度先增加后降低再增加。当 $m(\text{PCL}):m(\text{OI})=4:1$ 时,制备的PO-20表现出良好的非浸出性、生物相容性。PO-20对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为(15.2±0.10)和(15.0±0.07) mm。

关键词: 氧化淀粉; 聚己内酯; 吡啶-3-乙酸; 抗菌材料

中图分类号: R318.08; TQ317 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214(2023)10-2278-08

Preparation and properties of oxidized corn starch-based nonionic antibacterial films

DU Yongmei, DANG Xugang*, WANG Xuechuan

(College of Bioresources Chemical and Materials Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, Shaanxi, China)

Abstract: A new oxidized corn starch-based antimicrobial material (OI) was successfully prepared from linear grafting of 3-indoleacetic acid (IAA) on oxidized corn starch (OCS) via a simple "one-pot" method, and further blended with polycaprolactone (PCL) to synthesize oxidized corn starch-polycaprolactone based antimicrobial films (PO). The structure and properties of the OI and PO obtained were characterized and analyzed by FTIR, UV-Vis-NIR spectrophotometer, XRD, video optical contact angle measuring instrument, and electronic tensile machine, followed by evaluation on the antibacterial properties and biocompatibility of PO. The results showed that IAA was covalently grafted to OCS mainly through esterification reaction, and the obtained OI displayed a substitution degree of 60% with a minimum inhibitory concentration of 0.50 g/L, which was much lower than the dosage of traditional antibiotics and macromolecule chitosan antibacterial materials. With the increase of OI dosage, the PO exhibited decrease in crystallinity, transmittance and contact angle, while the tensile strength first increased, then decreased and then increased. When $m(\text{PCL}):m(\text{OI})=4:1$, the prepared PO-20 showed good non-leachability, biocompatibility, and the inhibition zone diameters of PO-20 on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* were (15.2±0.10) mm and (15.0±0.07) mm, respectively.

Key words: oxidized starch; polycaprolactone; 3-indoleacetic acid; antibacterial materials

近年来,随着人们环保意识的不断提高,天然可生物降解塑料已成为研究的热点^[1-2]。目前,利用

可再生资源进行新型生物基聚合物材料的制备及拓展其应用范围,被认为是应对传统石油基塑料危害

收稿日期: 2022-11-01; 定用日期: 2023-03-03; DOI: 10.13550/j.jxhg.20220992

基金项目: 国家自然科学基金(22108165); 中国博士后科学基金(2022M711995)

作者简介: 杜永梅(1998—),女,硕士生, E-mail: 2290543710@qq.com。联系人: 党旭岗(1989—),男,副教授, E-mail: xg.dang@sust.edu.cn。

最有希望的解决方案。特别是将具有良好生物相容性和生物降解性的聚合物材料用于生物医学材料的开发尤为重要^[3-5]。但该类生物基聚合物普遍存在的潜在问题就是容易受到细菌感染, 当将其用作食品包装和生物医学材料时, 易造成食品污染或者使患者感染细菌^[6]。因此, 亟需开发一种具有抗菌作用的新型绿色生物基聚合物以实现其广泛应用价值。

目前, 工业生产中主要将小分子抗菌剂(抗生素、金属纳米粒子、药物)添加到生物基聚合物中, 以达到杀菌的目的。然而, 该策略制备的生物基聚合物普遍存在小分子抗菌剂浸出的问题, 这可能会降低材料的抗菌作用, 并造成环境二次污染^[7-8]。因此, 具有强抗菌作用, 且无浸出的绿色生物基聚合物抗菌材料有望极大地促进生物基聚合物的发展。氧化淀粉是一种特殊的变性淀粉, 与天然淀粉相比, 氧化淀粉的糊化温度更低, 且溶解性、成膜性和流动性更好^[9], 常作为加工制备淀粉基功能材料的中间体。DRAGAN 等^[10]研究发现, 通过对氧化淀粉进行物理共混或掺杂抗菌功能分子可实现具有生物活性的氧化淀粉基抗菌材料的制备, 这种功能化的氧化淀粉基抗菌材料能够有效地克服氧化淀粉自身功能缺陷, 具有良好的生物抗菌活性。然而, 物理掺杂抗菌分子存在容易浸出、造成环境二次污染问题。与其他抗菌聚合物物理共混相比, 所制得的氧化淀粉基抗菌材料存在相容性差、稳定性不足, 且含有毒性抗菌基团(如氯、锡), 无法实现持续长久的抗菌效果^[11-12]。吡啶是一种生物来源的非离子结构单元, 是生物碱和其他天然产物的重要成分, 广泛存在于自然界中^[13]。许多吡啶衍生物目前已被用作抗病毒剂、抗炎剂和抗氧化剂等^[14-15]。聚己内酯(PCL)作为一种生物基聚合物, 具有良好的加工性、可塑性及较低的玻璃化转变温度, 已广泛应用于生物医学、可降解塑料、增塑剂等领域^[16-17]。因此, 基于氧化淀粉、PCL 及吡啶衍生物良好的功能特性(绿色无毒、价廉易得、可生物降解和生物相容等), 本研究旨在制备一种具有高抗菌活性的新型生物基聚合物。

本文首先将氧化玉米淀粉(OCS)和吡啶-3-乙酸(IAA)单体通过更简便的“一锅法”线性接枝, 合成新型氧化玉米淀粉基抗菌材料(OI)。然后, 将具有良好加工性能的 PCL 与 OI 复配, 制备新型氧化玉米淀粉-聚己内酯基抗菌膜(PO), 合成方案如图 1 所示。由此方法制备的 PO 具有绿色无毒、低浸出的特点, 有望实现在生物医学材料方面的广泛应用。

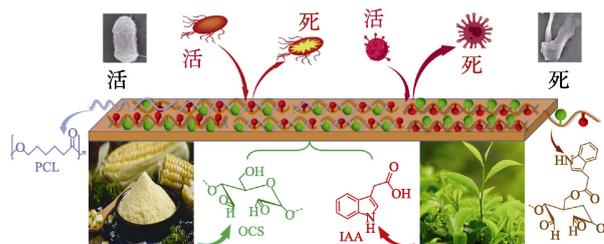


图 1 OI 及 PO 的合成方案

Fig. 1 Synthetic scheme of OI and PO

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

高碘酸钠、盐酸羟胺、IAA、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、*N,N*-二甲基乙酰胺(DMAc)、4-二甲氨基吡啶(DMAP)、*N*-(3-二甲氨基丙基)-*N'*-乙基碳化二亚胺盐酸盐(EDC)、PCL、碳酸氢钠、无水乙醇、AR, 上海麦克林生化科技股份有限公司; OCS [氧化度(OD) 72%] 由实验室制备; 金黄色葡萄球菌(Sa)和大肠杆菌(Ec), 陕西科技大学食品与工程学院; 小鼠成纤维细胞(L929), 南京科佰生物科技有限公司; RPMI 完全培养基, 美国 Corning 公司; Calcein-AM/PI 细胞双染试剂盒(货号: C5420), 同仁化学。

Vector-22 型傅里叶变换红外光谱仪、D8 Advance 型广角 X 射线衍射仪, 德国 Bruker 公司; OCA 15EC 型视频光学接触角测量仪, 德国德菲公司; RS-8002 型电子拉力机, 华谊创鸿仪器有限公司; Cary 5000 紫外-可见-近红外分光光度计, 美国安捷伦科技公司; Leica TCS SP8 激光扫描共聚焦显微镜, 德国徕卡公司。

1.2 OI 的制备

将 6.56 g (37.5 mmol) IAA 溶解在 61 mL DMAc 中, 然后加入 7.20 g (37.5 mmol) EDC 和 0.25 g (2.9 mmol) DMAP, 室温下搅拌均匀, 获得 IAA 混合液; 接着, 将 5.00 g OCS 溶解在 15 mL DMAc 中, 获得 OCS 溶液; 然后, 在室温下将获得的 IAA 混合液逐滴加入到 OCS 溶液中, 连续搅拌 36 h。反应完成后, 反应产物用 *V*(饱和碳酸氢钠溶液): *V*(去离子水): *V*(无水乙醇)=1:4:1 混合溶液低温析出, 过滤, 用去离子水、无水乙醇洗涤 3~5 次, 50 °C 下真空干燥 24 h, 得到深棕色 OI 粉末, 产率 62%, 取代度 60%。

1.3 PO 的制备

采用 PCL 与 OI 固体粉末以不同质量比共混复配, 选用 DMF 为有机溶剂, 室温下采用流延法成膜。将 1.8 g PCL 和 0.2 g OI 分别溶解在 24 和 6 mL DMF

中, 其中, $m(\text{PCL}) : m(\text{OI}) = 9 : 1$, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 下加热搅拌直至完全溶解为均一溶液; 然后将 OI 溶液逐滴加入到 PCL 溶液中, $60\text{ }^\circ\text{C}$ 继续加热搅拌 30~60 min, 最后, 将均匀的混合溶液(记 PO-10 溶液)倒在聚四氟乙烯板(10 cm×10 cm)上, 室温下干燥得到 PO, 记为 PO-10。

其余 PO 样品的制备方法同上, 其原料组成及用量见表 1。室温下将 2.0 g OI 充分溶解在 30 mL DMF 中, 然后将 OI 溶液倒在聚四氟乙烯板上, 室温下干燥得到 OI 膜。

表 1 原料组成及用量
Table 1 Composition and dosage of raw materials

样品	PCL/g	DMF/mL	OI/g	DMF/mL	$m(\text{PCL}) : m(\text{OI})$
PO-0	2.0	24	0	6	10 : 0
PO-20	1.6	18	0.4	12	4 : 1
PO-30	1.4	12	0.6	18	7 : 3

1.4 表征方法与性能测定

1.4.1 OI 取代度的测试

将 25 mg IAA 先用 10 mL 无水乙醇溶解, 然后用去离子水定容至 250 mL, 得到质量浓度为 0.1 g/L 的储备液。用储备液分别配制质量浓度为 0、 1.0×10^{-3} 、 5.0×10^{-3} 、 1.0×10^{-2} 、 1.5×10^{-2} 、 2.0×10^{-2} 、 2.5×10^{-2} g/L 的一系列 IAA 标准溶液作为工作液(现用现配)。室温下使用紫外-可见-近红外分光光度计在 IAA 最大吸收波长($\lambda_{\text{max}} = 270\text{ nm}$)处测定一系列标准溶液的吸光度, 绘制得到标准曲线 $y = 0.03956x + 0.03077$ ($R^2 = 0.99937$), 其中, y 为吸光度; x 为质量浓度, g/L。

将 10 mg OI 溶解于 500 mL 去离子水中, 配制质量浓度为 0.02 g/L 的 OI 溶液, 在 $\lambda_{\text{max}} = 270\text{ nm}$ 处测定 OI 溶液的吸光度, 并利用标准曲线得到 OI 待测液中 IAA 的质量浓度, 取代度按式(1)进行计算:

$$\text{DS} / \% = \frac{\rho_2 v_2}{M_2} \times 100 \times \frac{\rho_1 v_1}{M_1} \quad (1)$$

式中: DS 为取代度, %; ρ_1 为 OI 溶液的质量浓度, g/L; v_1 为消耗 OI 溶液的体积, L; M_1 为 OI 的摩尔质量, g/mol; ρ_2 为 IAA 溶液的质量浓度, g/L; v_2 为消耗 IAA 溶液的体积, L; M_2 为 IAA 的摩尔质量, g/mol。

1.4.2 FTIR 测试

将 OCS 和 OI 采用 KBr 压片法, 使用 FTIR 对 OCS、OI 以及 PO 进行测试。其中, PO 干燥后直接测定, 波数范围 $4000 \sim 400\text{ cm}^{-1}$ 。

1.4.3 XRD 测试

OCS、OI 以及 PO 的结晶行为变化利用具有 Cu

$\text{K}\alpha$ 辐射的 XRD 测试, 扫描范围 $2\theta = 10^\circ \sim 40^\circ$ 。

1.4.4 润湿性测定

PO 的亲疏水性通过视频光学接触角测量仪测量的水接触角大小进行表征, 水滴用量为 $5\text{ }\mu\text{L}$, 每组样品重复测量 3 次取平均值。

1.4.5 光学性能测试

参照 JAMALUDDIN 等^[18]的方法, 用紫外-可见-近红外分光光度计测定 PO 在 600 nm 下的透光率, 以空气作为对照。

1.4.6 机械性能测试

使用哑铃型裁刀将 PO 样品切割成 $14\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ 的哑铃型形状, 使用电子拉力机以 10 mm/min 的加载速度记录 PO 样品的抗拉强度和断裂伸长率。设置测试拉力 2 kN, 每组样品重复测量 6 次, 取平均值。抗拉强度和断裂伸长率按式(2)和(3)进行计算:

$$T_s = \frac{F_{\text{max}}}{S} \times 10^{-6} \quad (2)$$

式中: T_s 为抗拉强度, MPa; F_{max} 为断裂瞬间承受的最大拉力, N; S 为薄膜的有效横截面积, 即膜厚度×宽度, mm^2 。

$$\text{EAB} / \% = \frac{\Delta L}{L_0} \times 100 \quad (3)$$

式中: EAB 为断裂伸长率, %; ΔL 为断裂时长度增加值, mm; L_0 为原始长度, mm。

1.4.7 浸出性测试

将所制备的系列 PO 样品裁剪成矩形 [$(0.0421 \pm 0.0041)\text{ g}$, 约 2 cm^2], 然后将其浸没在含有 20 mL 蒸馏水的封口瓶中静置。5 d 后, 利用紫外-可见-近红外分光光度计测量水相的吸光度 ($\lambda_{\text{max}} = 270\text{ nm}$), 从而判断该抗菌膜的浸出特性。

1.5 抗菌性能

1.5.1 细菌培养

微生物 Ec 和 Sa 用于评估 OI 和 PO 样品的抗菌性能。所有细菌菌株在 LB 琼脂培养基上于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 传代培养 24 h。

1.5.2 最低抑菌浓度

最低抑菌浓度 (MIC) 是测量抗菌药物在体外抗菌活性大小的一个指标, 指在体外特定的环境下培养细菌 18~24 h 后, 可抑制某种微生物生长的最低药物浓度。

首先, 将菌种接入液体培养基中, 在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养 12 h。然后, 用移液枪吸取 1 mL 菌种装到含有 9 mL 无菌生理盐水(也可用培养基)的试管中充分混匀, 得到 1×10^{-1} 稀释液。以此类推, 分别制得 1×10^{-2} 、 1×10^{-3} 、 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 和 1×10^{-7} 6 种不同稀释液, 并测试不同浓度菌液在

600 nm 处的吸光度 (OD_{600})。取 1×10^{-4} 、 1×10^{-5} 、 1×10^{-6} 稀释液 200 μL 做涂布实验, 每个梯度平行 3 组, 调整菌悬液浓度。用平板菌落计数法测定其菌液浓度, 使其含菌体数为 $1 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mL, 即为供菌悬液。将抗菌药物 (OCS 和 OI) 混合在 30 mL LB 软琼脂 (质量分数为 0.7% 琼脂) 中, 倒在平板上待其凝固, 吸取不同浓度稀释后的菌液 5 μL 点板, 放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 过夜培养。根据实验结果, 挑选出不长菌的浓度作为抗菌测试菌液的浓度。

1.5.3 圆盘扩散实验

取待测固体样品 (OCS 和 OI) 溶解在不同体积 DMF 中, 得到不同质量浓度的抑菌测试液体 (0.10、0.25、0.50 和 1.00 g/L)。制备的溶液测试前在紫外光下灭菌 5 min。将微生物悬浮液 (100 μL , 1×10^6 个细胞/mL) 擦拭到 LB 琼脂培养基上。将直径为 6 mm 的无菌圆盘放在接种有微生物的培养皿上, 之后将 20 μL 制备的样品溶液加载到圆盘上。紧接着将细菌培养物在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 24 h。其中, DMF (纯溶剂) 的盘用作对照组, 所有实验重复 3 次。

采用相似的步骤评估 PO 的抗菌性能, 将系列 PO 样品剪裁成直径为 6 mm 的圆盘放在接种微生物的培养基上, 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养 24 h, 结果表示为抑菌圈的平均直径。使用 Microsoft Excel 软件通过 t 检验将两组之间的显著差异评估为 p 值。

1.6 生物相容性实验

通过 Calcein-AM/PI 细胞双染试剂盒染色评估抗菌薄膜对细胞的影响。其中, 绿色代表活细胞, 红色代表死细胞。首先, 将 PO 样品用质量分数 75% 乙醇浸泡 2 h, 磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 溶液洗涤 3 次。以 $1 \text{ cm}^2/\text{mL}$ 的标准浸提于 RPMI 完全培养基中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% 的 CO_2 培养箱中培养 24 h, 得到 PO 样品浸出液。

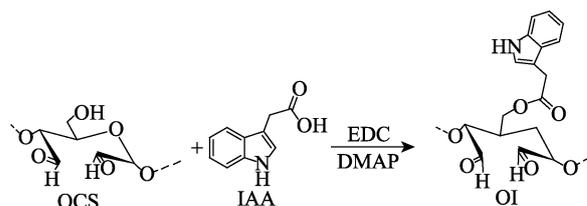
37 $^{\circ}\text{C}$ 下, 将 L929 细胞 (0.5 mL, 密度为 1×10^5 个细胞/mL) 接种到 36 孔板中 12 h; 接着, 分别用 PO-10、PO-20、PO-30 浸出液处理。孵育 24 或 48 h 后, 取出上清液并用 PBS 洗涤 2 次。然后加入 0.5 mL 染色溶液 (Calcein-AM/PI), 室温下无光孵育 10 min。随后, 去除染色溶液并用 100 μL PBS 润湿, 用激光扫描共聚焦显微镜观察细胞。

2 结果与讨论

2.1 OI 的合成

OI 的合成路线如下所示, 通过使用 EDC 和 DMAP 在室温下进行温和的酯化反应, 将 IAA 上的羧基接枝到 OCS 中 C-6 位的羟基上, 制得 OI, 产率为 62%。计算得到 OI 的取代度为 60%, 这表明 IAA 成功地接枝到 OCS 葡萄糖单元环 C-6 位的羟基

上, 合成了较高取代度的 OI。



2.2 OI 及 PO 样品的表征

2.2.1 FTIR 分析

IAA、OCS、OI 及 PO 样品的 FTIR 谱图见 2。如图 2a 所示, 在 OCS 的 FTIR 谱图中, 1673 cm^{-1} 处归属于羰基的特征吸收峰, 表明 OCS 分子中醛基的存在^[19]。同时, $3500 \sim 3200 \text{ cm}^{-1}$ 处为 OCS 分子中羟基的特征吸收峰。对于 IAA, 1700 和 740 cm^{-1} 处分别为羧基中 $\text{C}=\text{O}$ 键的特征吸收峰和芳烃邻位二取代的特征吸收峰^[20-21]; $3470 \sim 3250 \text{ cm}^{-1}$ 为氨基特征吸收峰^[22]。与 OCS 和 IAA 相比, OI 在 $3700 \sim 3200 \text{ cm}^{-1}$ 区间的特征吸收峰透过率变弱, 这可能与 OCS 中 C-6 位的羟基与 IAA 中羧基之间的化学反应有关^[23]。同时, OI 在 1220 和 1700 cm^{-1} 处的吸收峰分别归属于 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 键的伸缩振动和 $\text{C}=\text{O}$ 键的伸缩振动。结果表明, OCS 和 IAA 通过酯化反应成功制得了 OI。如图 2b 所示, OI 与 PCL 复配后, PO 样品在 1700 cm^{-1} 处的特征吸收峰透过率略微增大, 这可能与 PO 中 OI 用量的增大有关。同时, 在 740 cm^{-1} 处出现苯环取代的特征吸收峰, 结果表明, OI 已成功与 PCL 复合, 并制得 PO。

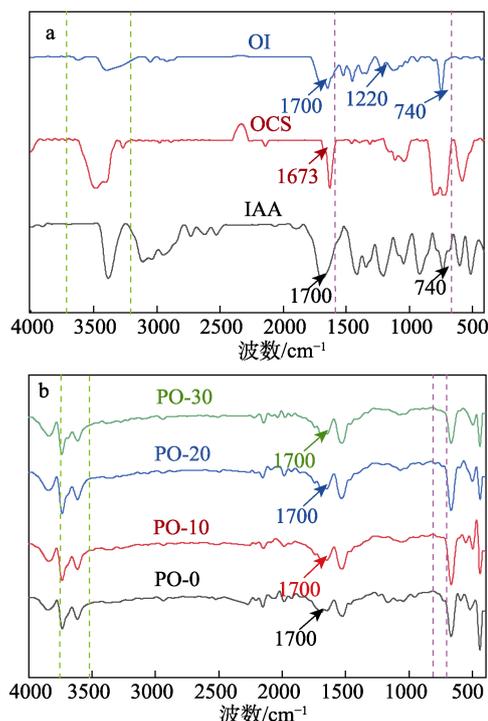


图 2 IAA、OCS、OI (a) 及 PO 样品 (b) 的 FTIR 谱图
Fig. 2 FTIR spectra of IAA, OCS, OI (a) and PO samples (b)

2.2.2 XRD 分析

采用 XRD 对 OCS、OI 以及 PO 样品的结晶行为进行了测试, 结果如图 3 所示。

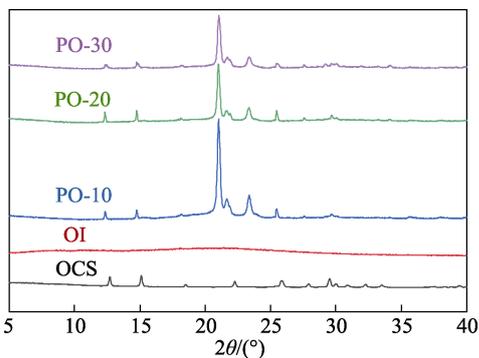


图 3 IAA、OCS、OI 及 PO 样品的 XRD 谱图
Fig. 3 XRD patterns of IAA, OCS, OI and PO samples

由图 3 可见, OCS 在 $2\theta=12.64^\circ$ 、 15.15° 、 18.52° 和 22.28° 处出现衍射峰, 表明氧化改性后仍然存在原淀粉的晶体结构^[24]。此外, OCS 分子中的 XRD 结晶峰强度略有下降, 表明原淀粉经氧化后结晶度受到了一定的破坏。与 OCS 的 $2\theta=15^\circ\sim 30^\circ$ 的衍射峰相比, OI 中淀粉结晶峰基本消失, 呈现出无定形区域, 表明 IAA 的引入对 OCS 的结晶区域造成了明显的破坏。由此可知, OCS 通过与 IAA 之间的接枝反应能够成功地制备出具有无定形结构的 OI, 这将有利于改善淀粉的难溶解特性。PO 样品在 $2\theta=21.06^\circ$ 和 23.33° 附近存在明显的尖锐衍射峰, 这两个特征峰分别代表了 PCL 的两个晶面。同时, 随着 OI 用量的增加, PO 样品中 PCL 特征峰强度逐渐减小, 说明 OI 的引入会使 PO 样品的结晶度降低。

2.2.3 润湿性分析

水接触角是衡量液体对于固体材料表面润湿性能的重要参数, 对 PO 样品的水接触角进行了测试, 结果见图 4。

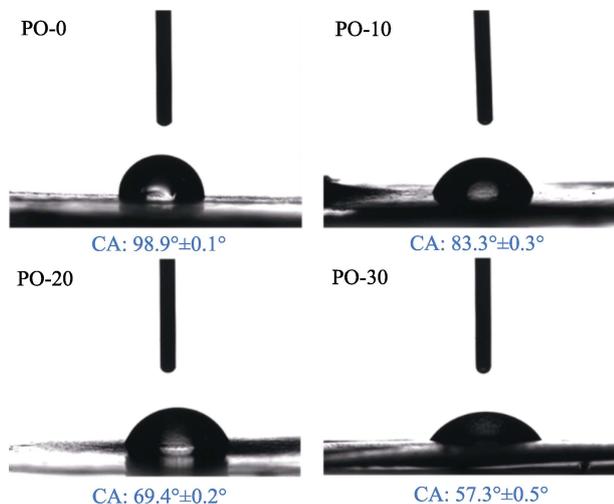


图 4 PO 样品的接触角
Fig. 4 Contact angle of PO samples

水接触角越小, 表明材料表面亲水性越强, 反之则疏水性越强^[25]。由图 4 可知, 纯 PCL (PO-0) 的水接触角为 $98.9^\circ\pm 0.1^\circ$ 。将 PCL 与 OI 复配后, 所制备的 PO 样品的水接触角明显降低。其中, PO-10 的水接触角为 $83.3^\circ\pm 0.3^\circ$, PO-30 的水接触角为 $57.3^\circ\pm 0.5^\circ$ 。结果表明, 随着 OI 用量的增加, PO 的水接触角显著减小。这是由于 OI 分子中含有亲水基团(醛基、酯基和仲氨基), 使所制备的 PO 亲水性增加, 导致水接触角下降。

2.2.4 光学性能分析

薄膜的透光率是评价其应用效果的一个重要指标, 同时, 膜的透明度与成膜材料之间的相容性、膜的厚度以及膜表面是否平整有关^[26-27]。对 PO 样品的透光率进行了测试, 结果如图 5 所示。由图 5 可知, 纯 PCL 薄膜的透光率为 92.32% (600 nm), 随着 OI 用量的增加, PO 的透光率逐渐减小, 其中, 600 nm 处 PO-10 的透光率为 60.47%, PO-30 的透光率为 29.11%。结果表明, OI 的引入能够有效降低纯 PCL 薄膜的透光率。推测其原因可能是随着 OI 用量的增加, PO 的堆积密度增加, 使其成膜溶液黏度增大, 最终导致成膜材料透光率的下降。也可能归因于 OI 增加使成膜材料厚度增加, 导致光线通过复合薄膜时散射程度增加。

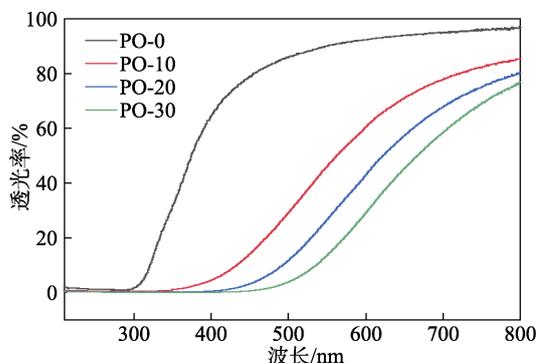


图 5 PO 样品的透光率
Fig. 5 Light transmittance of PO samples

2.2.5 机械性能分析

机械性能是影响薄膜应用的重要因素之一。对所制备的 PO 样品的抗拉强度和断裂伸长率进行了测试, 结果如图 6 所示。

由图 6a 可知, 与 PO-0 相比, 随着 OI 用量的增加, PO 的 T_s 先增大后减小再增加。特别地, 当 $m(\text{PCL}) : m(\text{OI})=9 : 1$ 时, 制备的 PO-10 的 T_s 达到最大, 为 11.75 MPa。这归因于 PCL 和 OI 的分子间相互作用使分子键之间更好地缔合, 从而使材料的结构更紧密, 结合作用更强。然而, 随着 OI 用量的继续增加, PO 的 T_s 略有下降, 这是由于过量的 OI

导致 PO 均一性下降, 使 PO 的力学强度减弱。此外, 随着 OI 用量的增加, 制备的 PO 的断裂伸长率逐渐减小, PO-10、PO-20、PO-30 的断裂伸长率分别为 6.36%、4.24%、3.29%, 这主要归因于过多 OI 的加入使部分 OI 样品滞留于复合膜表面, 导致 PO 表面强度增加, 断裂伸长率下降。且过量的 OI 可使 PO 容易形成不连续的内部结构, 从而削弱了其机械强度。

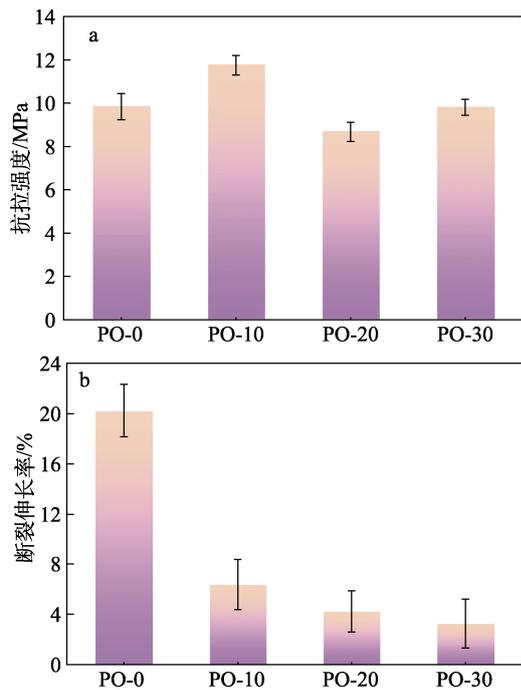


图 6 PO 样品的抗拉强度 (a) 和断裂伸长率 (b)
Fig. 6 Tensile strength (a) and elongation at break (b) of PO samples

2.2.6 浸出性能

含有小分子添加剂的聚合物抗菌涂层材料通常会存在有害化学物质泄漏到环境中的问题。因此, 抗菌涂层材料的无明显浸出行为仍是考察抗菌材料制备的关键指标。首先, 将 PO 样品在水中浸没 5 d, 然后对水相进行 UV-Vis 测量, 以评价 PO 样品的浸出性能, 结果见图 7。

由图 7a 可知, PO 样品在最大吸收波长(270 nm)处基本无 IAA 的吸光度; 相反, 在相同的条件下, OI 膜在水相中显示出一定的吸光度, 表明 5 d 后 PO 样品几乎无浸出, 而 OI 膜略有浸出。此外, 生物聚合物膜的外观和浸出液颜色的变化也可以用于评估抗菌膜中添加剂的泄露问题。由图 7b 可知, PO 在水相中浸泡 5 d 后, 水相保持无色; 然而, OI 膜的水溶液呈现出淡棕色, 表明制备的 PO 具有良好的非浸出性。由此可知, PO 作为抗菌材料将表现出令人满意的安全性能。

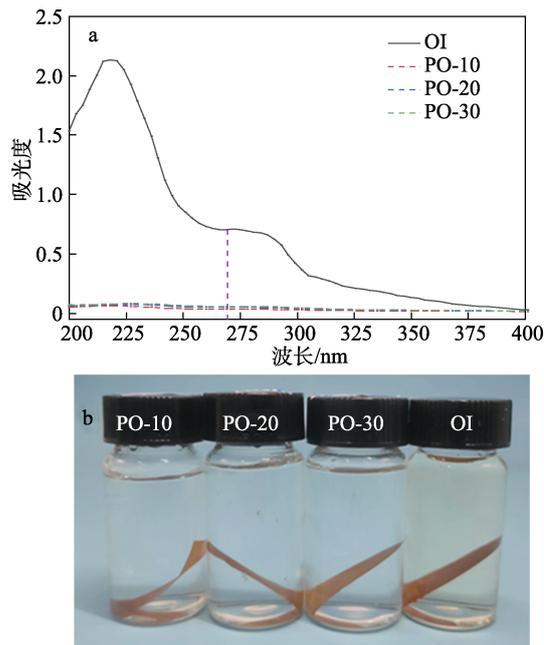


图 7 PO 样品和 OI 薄膜去离子水中浸泡 5 d 后的 UV-Vis 吸收光谱 (a) 和宏观形貌 (b)

Fig. 7 UV-Vis absorption spectrum (a) and macroscopic morphology (b) of PO samples and OI film after immersion in deionized water for 5 d

2.3 抗菌性能

OI 及 PO 的抗菌活性通过简单的圆盘扩散实验进行评估, 测试的细菌包括革兰氏阴性细菌 (Ec) 和革兰氏阳性细菌 (Sa), 结果如表 2、3 所示。

表 2 OI 的最低抑菌浓度

Table 2 Minimum inhibitory concentration of OI

质量浓度/(g/L)	抑菌圈直径/mm	
	Ec	Sa
0	1.5±0.20	1.4±0.40
0.10	14.8±0.08	14.5±0.09
0.25	15.4±0.05	15.2±0.08
0.50	15.7±0.06	15.8±0.06
1.00	15.7±0.10	15.7±0.03

表 3 OCS、OI 及 PO 样品的抗菌效果

Table 3 Antimicrobial effects of OCS, OI and PO samples

样品	抑菌圈直径/mm	
	Ec	Sa
PCL	1.5±0.30	1.4±0.20
OCS	9.5±0.09	10.5±0.08
OI	15.7±0.05	15.8±0.09
PO-10	12.4±0.08	13.7±0.05
PO-20	15.2±0.10	15.0±0.07
PO-30	15.4±0.03	14.9±0.04

由表 2 可发现, 在质量浓度为 0.10~1.00 g/L 的范围内, OI 对 Ec 和 Sa 均显示出较大的抑制区域 (>14 mm)。OI 的最低抑菌浓度为 0.50 g/L, 表现为对 Ec 和 Sa 抑菌圈直径达到最大, 分别为(15.7±0.06)和(15.8±0.06) mm, 表明 OI 具有优异的抗菌活

性。这一结果与小分子抗生素的行为明显不同,其表现为抗生素的加载量和抗菌效果呈正相关。据报道,浓度较高的线性聚合物具有最大的抗菌效果,如壳聚糖在质量浓度为 1.5 g/L 时表现出最大的抗菌效果^[28],比本文制备的 OI 抗菌材料使用量明显高出很多,这主要归因于 OI 分子特有的化学结构优势。研究表明,吡啶及其衍生物基于其特殊的氮杂环结构,是一种具有良好抗菌性能的试剂^[29];醛类化合物会不可逆转地破坏细菌的细胞壁和细胞膜,导致细菌的衰变和死亡^[30]。而本文制备的 OI 分子中含有丰富的末端吡啶基团,该基团可与细胞膜相互作用,从而破坏细胞膜的结构或功能,进而起到抑菌作用;OI 中保留了 OCS 的双醛基团,由于双醛基的反应活性,使其具有较高的抗菌活性。

由表 3 可知,随着 OI 用量的增加,PO-10、PO-20、PO-30 的抑菌圈直径大幅提升,且都远高于空白实验组(PCL)。对于 Ec 实验组,PO-30 的抑菌效果达到最佳,抑菌圈直径为(15.4±0.03) mm;对于 Sa 实验组,PO-20 的抑菌圈直径为(15.0±0.07) mm;随着 OI 用量的继续增大,PO-30 抑菌效果略有下降,抑菌圈直径为(14.9±0.04) mm。此时,制备的 PO-20 可作为理想的抗菌膜,在生物医学材料中有着潜在的应用价值。

2.4 生物相容性

为了进一步研究 PO 样品对细胞的影响,在培养 24 或 48 h 后对细胞进行染色,并用荧光显微镜观察,结果如图 8 所示。

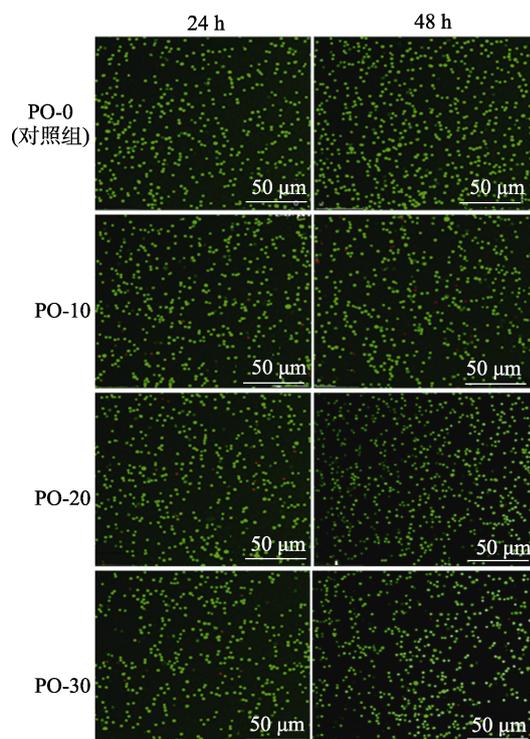


图 8 培养 24 和 48 h 后的 L929 细胞活/死染色图像
Fig. 8 Live/dead staining images of L929 cells after 24 and 48 h of culture

与对照组相比,孵育 24 h 后,实验组荧光图像出现红点。而在孵育 48 h 后,图像中的红点数目显著减少,同时,绿点数目逐渐增加,说明活细胞在培养过程中继续增殖。结果表明,所制备的抗菌材料具有良好的生物相容性,细胞毒性较小,可以实现其生理适用性。因此,PO 具有良好的生物相容性,可应用于生物医用材料领域。

3 结论

本研究探究了新型抗菌功能材料 OI 及抗菌膜 PO 的制备和性能。制备的 PO 的结晶度较低,呈无定形结构,且具有良好的生物相容性和机械性能。采用圆盘扩散法初步评估了复合膜的抗菌效果,发现其具有较强的抑菌杀菌能力,OI 的最低抑菌浓度为 0.50 g/L。本研究使用较少量的抗菌材料便可实现持续抗菌效果,这一结果明显优于传统的抗生素以及线性抗菌聚合物。同时,当 $m(\text{PCL}) : m(\text{OI}) = 4 : 1$ 时,制备的 PO-20 的抗菌效果达到最大。因此,PO 作为一种环境友好的新型抗菌材料,不仅所用原料绿色、价廉易得,且具有良好的机械性能、非浸出性和抗菌活性,可有效地实现天然淀粉资源的高值化利用,是一种潜在的生物医用材料。

参考文献:

- [1] ANUGRAHWIDYA R, ARMYNAH B, TAHIR D. Bioplastics starch-based with additional fiber and nanoparticle: Characteristics and biodegradation performance: A review[J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2021, 29(11): 3459-3476.
- [2] RAI P, MEHROTRA S, PRIYA S, *et al.* Recent advances in the sustainable design and applications of biodegradable polymers[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 325: 124739.
- [3] NIAOUNAKIS M. Definitions of terms and types of biopolymers[M]. *Biopolymers: Applications and Trends*, 2015: 1-90.
- [4] APPENDINI P, HOTCHKISS J H. Review of antimicrobial food packaging[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2002, 3(2): 113-126.
- [5] SHAHID M, MOHAMMAD F. Green chemistry approaches to develop antimicrobial textiles based on sustainable biopolymers: A review[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2013, 52(15): 5245-5260.
- [6] JIN M K, WANG X, REN T, *et al.* Microplastics contamination in food and beverages: Direct exposure to humans[J]. *Journal of Food Science*, 2021, 86(7): 2816-2837.
- [7] HARTEMANN P, HOET P, PROYKOVA A, *et al.* Nanosilver: Safety, health and environmental effects and role in antimicrobial resistance[J]. *Materials Today*, 2015, 18(3): 122-123.
- [8] CHEN M M (陈美梅), GUO R H (郭荣辉). Research progress on antibacterial materials[J]. *Journal of Textile Science and Engineering (纺织科学与工程学报)*, 2019, 36(1): 153-157.
- [9] LIU N (刘宁), WEN M C (温沐潮), ZHANG T P (张铁鹏), *et al.* Research progress of oxidized starch and its application in the field of food[J]. *Preservation and Processing (保鲜与加工)*, 2021, 21(5): 134-138.
- [10] DRAGAN E S, GHIORGHITA C A, DINU M V, *et al.* Fabrication of self-antibacterial chitosan/oxidized starch polyelectrolyte complex sponges for controlled delivery of curcumin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 135: 108147.
- [11] KHANOONKON N, YOKSAN R, OGALE A A. Morphological characteristics of stearic acid-grafted starch-compatible linear low density polyethylene/thermoplastic starch blown film[J]. *European Polymer Journal*, 2016, 76: 266-277.

- [12] KAUR B, ARIFFIN F, BHAT R, *et al.* Progress in starch modification in the last decade[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 26(2): 398-404.
- [13] LIANG Q, PAN W L, GAO Q Y. Preparation of carboxymethyl starch/polyvinyl-alcohol electrospun composite nanofibers from a green approach[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 190: 601-606.
- [14] WANG P, LINARES-PASTÉN J A, ZHANG B Z. Synthesis, molecular docking simulation, and enzymatic degradation of AB-type indole-based polyesters with improved thermal properties[J]. *Biomacromolecules*, 2020, 21(3): 1078-1090.
- [15] LIANG C (梁诚). Indole synthesis technology and application status[J]. *Fine and Specialty Chemicals (精细与专用化学品)*, 2002, 10(9): 6-7.
- [16] ZHAO X (赵鑫), CHANG J (常静). Research and application progress of ϵ -caprolactone and polycaprolactone[J]. *Coal and Chemicals (煤炭与化工)*, 2021, 44(4): 130-134.
- [17] LI Y D (李玉东), XU Y (徐源), ZHOU Q (周强), *et al.* Preparation and performance of polylactic acid-polycaprolactone tissue engineered fiber ring scaffold[J]. *Journal of the Third Military Medical University (第三军医大学学报)*, 2014, 36(9): 914-918.
- [18] JAMALUDDIN N, HSU Y I, ASOH T A, *et al.* Optically transparent and toughened poly(methyl methacrylate) samples with acylated cellulose nanofibers[J]. *ACS Omega*, 2021, 6(16): 10752-10758.
- [19] BELLO-PÉREZ L A, AGAMA-ACEVEDO E, ZAMUDIO-FLORES P B, *et al.* Effect of low and high acetylation degree in the morphological, physicochemical and structural characteristics of barley starch[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2010, 43(9): 1434-1440.
- [20] KARPAGAM S, GUHANATHAN S. Phosphorus based indole and imidazole functionalized hyperbranched polyester as antimicrobial surface coating materials[J]. *Progress in Organic Coatings*, 2014, 77(11): 1901-1910.
- [21] MARGOSHES M, FASSEL V. The infrared spectra of aromatic compounds: I. The out-of-plane CH bending vibrations in the region 625~900 cm^{-1} [J]. *Spectrochimica Acta*, 1955, 7: 14-24.
- [22] VITAKU E, SMITH D T, NJARDARSON J T. Analysis of the structural diversity, substitution patterns, and frequency of nitrogen heterocycles among US FDA approved pharmaceuticals: Miniperspective[J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 2014, 57(24): 10257-10274.
- [23] CUENCA P, FERRERO S, ALBANI O. Preparation and characterization of cassava starch acetate with high substitution degree[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 100: 105430.
- [24] POZO C, RODRÍGUEZ-LLAMAZARES S, BOUZA R, *et al.* Study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis[J]. *Journal of Polymer Research*, 2018, 25(12): 1-8.
- [25] REN L F (任龙芳), NIU Q X (牛巧宣). Hybrid capped, waterborne polyurethane with hydrophilic/hydrophobic chain ends[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2020, 37(2): 378-384.
- [26] GUZMAN-PUYOL S, BENÍTEZ J J, HEREDIA-GUERRERO J A. Transparency of polymeric food packaging materials[J]. *Food Research International*, 2022, 161: 111792.
- [27] ZHAO J, WANG Y S, LIU C Q. Film transparency and opacity measurements[J]. *Food Analytical Methods*, 2022, 15: 2840-2846.
- [28] GOY R C, MORAIS S T, ASSIS O B. Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *E. coli* and *S. aureus* growth[J]. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 2016, 26: 122-127.
- [29] LI X Y, ILK S, LINARES-PASTÉN J A, *et al.* Synthesis, enzymatic degradation, and polymer-miscibility evaluation of nonionic antimicrobial hyperbranched polyesters with indole or isatin functionalities[J]. *Biomacromolecules*, 2021, 22(5): 2256-2271.
- [30] ZI Y X, ZHU M J, LI X Y, *et al.* Effects of carboxyl and aldehyde groups on the antibacterial activity of oxidized amylose[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 192: 118-125.

(上接第 2277 页)

- [11] GAO H Y, WU Q Q, GUO M, *et al.* Rationally fabricating nitrogen-doped carbon coated nanocrystalline $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4$ @N-C with excellent Li-ion battery performances[J]. *Electrochimica Acta*, 2019, 318: 720-729.
- [12] QU L, LIU Y, FANG S H, *et al.* $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4$ coated by sorbitanlaurat-derived carbon as cathode of high-performance lithium-ion battery[J]. *Electrochimica Acta*, 2015, 163: 123-131.
- [13] PAZHANISWAMY S, PARAMESWARAN A K, BALAKRISHNAN N, *et al.* Prediction clue on the fading capacity of multi-walled carbon nanotube-decorated $\text{Li}_2(\text{Fe}_{1-x}\text{Ti}_x)\text{SiO}_4/\text{C}$ high-performance cathode materials[J]. *Energy and Fuels*, 2021, 35(9): 8321-8333.
- [14] WIRIYA N, CHANTRASUWAN P, KAEWMALA S, *et al.* Doping effect of manganese on the structural and electrochemical properties of $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4$ cathode materials for rechargeable Li-ion batteries[J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2020, 171: 108753.
- [15] ZHANG Q T, JI S K, YAN C, *et al.* Insights into the porosity and electrochemical performance of nano $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4$ and $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4/\text{C}$ composite cathode materials[J]. *Materials Technology*, 2022, 37(9): 1195-1204.
- [16] SHEN S Y, ZHANG Y, WEI G H, *et al.* $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4/\text{C}$ hollow nanospheres as cathode materials for lithium-ion batteries[J]. *Nano Research*, 2019, 12(2): 357-363.
- [17] DU X F, ZHAO H L, LU Y, *et al.* Electrochemical properties of nanostructured $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4/\text{C}$ synthesized by a simple co-precipitation method[J]. *Electrochimica Acta*, 2016, 188: 744-751.
- [18] ZHANG Q T, YAN C, GUO J H, *et al.* Mesoporous $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4/\text{C}$ nanocomposites with enhanced performance synthesized from fumed nano silica[J]. *Ionic*, 2018, 24(9): 2555-2563.
- [19] LI L, HAN E S, MI C, *et al.* The effect of Ni or Pb substitution on the electrochemical performance of $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4/\text{C}$ cathode materials[J]. *Solid State Ionics*, 2019, 330: 24-32.
- [20] ZHANG S, DENG C, FU B L, *et al.* Effects of Cr doping on the electrochemical properties of $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4$ cathode material for lithium-ion batteries[J]. *Electrochimica Acta*, 2010, 55(28): 8482-8489.
- [21] DENG C, ZHANG S, YANG S Y. Effect of Mn substitution on the structural morphological and electrochemical behaviors of $\text{Li}_2\text{Fe}_{1-x}\text{Mn}_x\text{SiO}_4$ synthesized via citric acid assisted sol-gel method[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2009, 487(1/2): L18-L23.
- [22] DENG C, ZHANG S, YANG S Y, *et al.* Synthesis and characterization of $\text{Li}_2\text{Fe}_{0.97}\text{M}_{0.03}\text{SiO}_4$ ($M = \text{Zn}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Ni}^{2+}$) cathode materials for lithium ion batteries[J]. *Journal of Power Sources*, 2011, 196(1): 386-392.
- [23] ZHANG S, DENG C, FU B L, *et al.* Doping effects of magnesium on the electrochemical performance of $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4$ for lithium ion batteries[J]. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 2010, 644(2): 150-154.
- [24] QIU H L, YUE H J, ZHANG T, *et al.* Enhanced electrochemical performance of $\text{Li}_2\text{FeSiO}_4/\text{C}$ positive electrodes for lithium-ion batteries via yttrium doping[J]. *Electrochimica Acta*, 2016, 188: 636-644.
- [25] LI Y S, CHENG X, ZHANG Y. On the delithiation mechanism of $\text{Li}_2\text{FeSiO}_{4-y}\text{S}_y$ compounds: A first-principles investigation[J]. *Electrochimica Acta*, 2013, 112: 670-677.
- [26] CHAE M S, KIM H J, LYOO J, *et al.* Anomalous sodium storage behavior in Al/F dual-doped P2-type sodium manganese oxide cathode for sodium-ion batteries[J]. *Advanced Energy Materials*, 2020, 10(43): 2002205.
- [27] CUI X L, WANG S M, YE X S, *et al.* Insights into the improved cycle and rate performance by *ex-situ* F and *in-situ* Mg dual doping of layered oxide cathodes for sodium-ion batteries[J]. *Energy Storage Materials*, 2022, 45: 1153-1164.
- [28] TUO K Y, MAO L P, DING H, *et al.* Boron and phosphorus dual-doped carbon coating improves electrochemical performances of $\text{LiFe}_{0.8}\text{Mn}_{0.2}\text{PO}_4$ cathode materials[J]. *ACS Applied Energy Materials*, 2021, 4(8): 8003-8015.
- [29] OKADA K, KIMURA I, MACHIDA K. High rate capability by sulfur-doping into LiFePO_4 matrix[J]. *RSC Advances*, 2018, 8(11): 5848-5853.