

研究简报

包埋苯甲酸钠微球的制备及在海洋防污涂料中的抑菌研究

史航^{1,2}, 石建高¹, 陈晓蕾¹, 刘永利¹, 王鲁民^{1*}

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业部海洋与河口重点开放实验室, 上海 200090;

2. 东华大学材料科学与工程学院纤维材料改性国家重点实验室, 上海 200051)

摘要: 用溶剂挥发法制备了可以包埋海洋防污剂苯甲酸钠的聚苯乙烯聚合物微球, 并实现了防污剂在海洋防污涂料中的缓慢释放。讨论了影响微球性能的一些因素, 聚合物微球的粒径分别随着温度的降低、分散剂浓度的升高以及搅拌速度的提高而减小。采用标准曲线法, 对防污剂释放速度进行了分析, 并与未用微球包埋的苯甲酸钠释放速度进行对比, 缓释效果明显。抑菌试验也表明, 即使在去离子水中浸泡 120 天后的防污涂层样品依然对典型海洋防污细菌具有明显抑制效果。

关键词: 防污; 涂层; 微球; 苯甲酸钠

海洋中存在大量海洋生物及微生物, 这些生物的幼虫和孢子能够漂浮游动, 发展到一定阶段后就附着在海上设施, 例如船体、浮标、桥墩、码头、网箱及网具等上, 称为海洋生物污损 (marine biofouling), 生物污损可以使舰船航速降低, 增加燃料消耗, 壳体腐蚀加速^[1]; 附着在养殖网箱上造成养殖网箱网衣堵塞, 减少海水的流动交换, 造成网箱内水体环境变差, 导致养殖对象疾病多发。抑制海洋生物污损常用的方法是使用防污涂料, 通过涂料中可释放的铜、锡、汞、铅在材料周围形成对海洋植物孢子以及海洋动物幼虫有毒杀作用的毒料浓度层^[2], 从而达到防污效果。但这些重金属及有害物质的释放严重污染海洋环境^[3,4], 因此, 有毒防污涂料的使用已受到许多国家立法限制^[5~7]; 加快开发无毒海洋防污技术, 有效控制海洋污损的是目前需求解决的重要难题。

苯甲酸钠已被证明可以充当海洋污损过程中接触反应抑制剂而不杀死污损生物^[8], 有研究^[9] 证明苯甲酸钠分子能抑制微生物细胞呼吸酶系统活性, 特别是对乙酰辅酶缩合反应有很强的抑制作用; 另外, 苯甲酸钠还可以影响细胞膜保持合适的 pH 值的能力, 从而导致细胞酸化并破坏新陈代谢过程; 静态生物实验^[10] 证明苯甲酸钠对微生物有麻痹 (无毒) 作用; Mirta 等^[11] 研究发现苯甲酸钠对藤壶幼虫有麻痹作用, 当被麻痹幼虫重新被移至新鲜的人造海水中时, 会恢复活动。我们课题组在苯甲酸钠对东海区典型污损细菌种类的抑制作用方面也做了相关研究^[12]。另一方面, 涂料中防污剂的释放速度对海洋防污涂料的效果有直接影响, 很多涂料在使用初期效果良好, 但是不能持续, 使得涂有防污涂料的物体表面再经过一段时间的浸海后, 由于防污的有效成分释放速度初期较快, 造成后期几乎没有释放, 使得材料表面被海洋生物附着污损。因此, 如何控制防污剂的长效释放是保证防污涂料耐污损效果持久的关键。目前美国、日本都在积极致力于把可控释放技术应用于海洋防污涂料的研究, 美国海洋研究室从 20 世纪 90 年代初开始进行防污涂料的控制释放研究, 他们用镀铜微管作为控释释放载体, 对四环素等药物进行包埋; Price^[13] 研究了微球包封天然海洋防污活性物质及其防污性能的改善; 国内中国海洋大学的付玉彬教授课题组研究了铜微球^[14] 以及纳米钛酸管^[15] 对防污剂异噻唑酮的控释作用。本文采用聚苯乙烯微球对无毒海洋防污剂苯甲酸钠进行包埋, 并通过标准曲线法对释放速率做了表征。

1 材料与方法

1.1 实验材料与仪器

聚氨酯 (PU) 树脂 (Dow Corning, USA); 聚苯乙烯 (PS) (通用, 上海赛科石油化工有限公司); 聚乙烯

醇(PVA)(进口分装, 国药集团化学试剂有限公司); 十二烷基硫酸钠(电子纯, 香港迪韻科技有限公司); 苯甲酸钠(NaB)(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 二氯甲烷, 三氯甲烷(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 正辛醇(分析纯, 上海长城华美仪器化剂有限公司); 赤细菌(*Erythrobacter* sp. car-8051 株), 分离自我国东海海域(东经 124 605 E, 北纬 31 237)的 160m 海深海水样品。其 16S rRNA 基因序列 GenBank 登录号为: EU981822。菌株保存于上海海洋大学食品学院海洋药物实验室; 仪器设备包括: 85-2 恒温磁力搅拌器; Vector 22 型傅立叶变换红外光谱仪; WFX-110 原子吸收光谱分析仪; DDSJ-350 电导率仪; COULTER N4 Plus 粒径分析仪; TMZ9-S-5200 扫描电镜等。

1.2 聚苯乙烯载药微球的制备

本文采用溶剂挥发法来制备苯乙烯微球, 首先将分散剂(PVA 或十二烷基硫酸钠)溶解在去离子水中, 形成浓度为 2%(wt)左右的分散剂溶液, 并搅拌升温至 60~70℃; 聚苯乙烯(PS)和防污剂 NaB(1:1)加入到有机溶剂二氯甲烷或三氯甲烷中至 NaB 浓度为 5wt% 的悬浊液作为有机相; 将有机相液体缓慢滴加入分散相溶液中, 形成 O/W 水包油分散体系, 并滴加 2 滴正辛醇消泡, 控制适当的搅拌速度(1000r/min 左右)和温度(20~30℃); 搅拌 4~5h 将溶剂挥发, 可以得到载有防污剂 NaB 的聚苯乙烯微球, 待微球壁材固化成型后将其分离过滤, 用去离子水洗涂数次以去除表面残留的溶剂, 于 25~27℃真空干燥 3~4h, 得聚苯乙烯载药微球待用。

1.3 聚苯乙烯载药微球表现形态的分析

利用扫描电镜观察不同分散剂、溶剂以及搅拌速度下制备的的苯乙烯载药微球表现形态, 包括粒径, 粒径分布, 微球形貌的完整性; 优化苯乙烯载药微球的制备工艺。

1.4 红外光谱(FT-IR)表征以及微球中防污剂载药量的检测

利用红外光谱对聚合物载药微球进行表征, 以确定有效防污成分被包埋在聚合物微球中; 聚合物微球在鉴定之前真空干燥放置 48h, 测试也在干燥的环境中进行, 以避免水对测试结果的影响; 采用 WFX-110 原子吸收光谱分析仪对样品中的苯甲酸钠的含量进行测定。

1.5 微球在防污涂料中的分散

以聚氨酯作为涂层基料, 乙酸乙酯做稀释剂, 与聚氨酯的质量比为 1:1, 将苯乙烯微球逐步加入聚氨酯溶液中(比例按照苯甲酸钠占聚氨酯基料的质量分数为 3%)的防污涂层样品, 超声分散, 涂刷, 固化, 在蔡司显微镜下观察微球在聚氨酯防污涂层中的分散情况。

1.6 苯甲酸钠释放速度的测定

采用标准曲线法, 利用电导率仪测定每个不同质量分数(配制苯甲酸钠的不同含量的 200mL 水溶液, 质量分数分别为 0.5%、0.8%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%)的防污剂水溶液的电导率, 根据每个不同质量分数及其所对应的和电导率绘制标准曲线。将防污涂料层样品放在装有 200mL 的去离子水的容器中, 每两天测溶液的电导率, 根据标准曲线, 计算浓度, 再推算出苯甲酸钠的累计释放量; 并对使用微球包埋的苯甲酸钠和未经过包埋处理的苯甲酸钠的释放速度进行对比。

1.7 抑菌试验

实验将经过去离子水浸泡过的 120 天的防污涂层样品进行实验室抑菌试验。采用抑菌圈法: 自海洋细菌的保存斜面上, 挑取一环置于 Zobel 2216E 液体培养基中, 置 28℃, 130 rpm 培养 48 h 至对数生长期。使用 0.9% 生理盐水对菌液进行梯度稀释, 取 100 μL 均匀涂布于 2216E 固体琼脂平板上。用无菌镊子取剪好的防污涂层置于已涂布菌液的固体平板表面上。置 28℃培养箱中, 培养 48 h, 待抑菌圈较明显时, 拍照记录结果。

1.8 试验网片的挂海实验

采用 GB5370-85 防污漆样板浅海浸泡试验方法, 试验在福建宁德三都澳一带海水养殖海域上进行。按照国标将防污网片浸入指定的海水深度, 逐月观察网片上海洋污损生物附着种类、附着量及繁殖程度, 同时与空白网片作比较。每次观察时, 首先应仔细除去附着在样板上的海泥, 观察位置应远离框架边缘 20mm, 以消除边缘影响。观察时, 应尽量缩短时间, 观察后应立即将试验网片浸入海中, 以避免已附着生

物的死亡,影响试验结果。

2 结果与讨论

2.1 苯乙烯载药微球的微观形貌

在溶剂挥发相转移制备聚合物微球的过程中有诸多的因素对微球的微观形貌有影响,包括分散剂以及溶剂的选择,温度,搅拌速度和搅拌时间等。首先是分散剂的选择,在微球制备过程中,分散剂起着十分重要的作用。因为分散剂会影响微球的形状、大小和均匀性。下图为用不同分散剂和溶剂制备的聚合物微球形态。

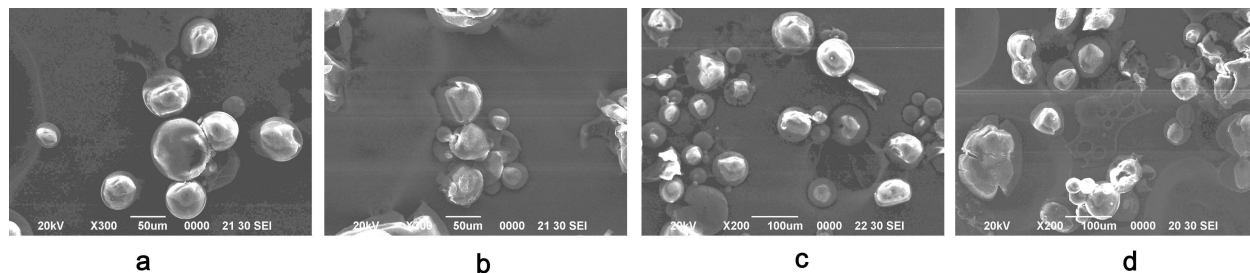


图1 用不同分散剂和溶剂制备的聚合物微球形态

Figure 1 Morphology of microcapsules prepared from different dispersants and solvents

图1a 聚乙烯醇作为分散剂的苯乙烯载药微球的扫描电镜(SEM)照片,二氯甲烷做溶剂

图1b 十二烷基硫酸钠作为分散剂的苯乙烯载药微球的SEM照片,二氯甲烷做溶剂

图1c 聚乙烯醇作为分散剂的苯乙烯载药微球的扫描电镜(SEM)照片,三氯甲烷做溶剂

图1d 十二烷基硫酸钠作为分散剂的苯乙烯载药微球的SEM照片,三氯甲烷做溶剂

本实验使用了两种分散相:2%聚乙烯醇水溶液和0.1%十二烷基硫酸钠水溶液。图1a和1b分别为选择聚乙烯醇和十二烷基硫酸钠作为分散剂的苯乙烯载药微球的扫描电镜(SEM)照片。聚乙烯醇作为分散剂制备的微球球状结构完整,而用十二烷基硫酸钠作为分散剂制备的微球很多都发生了破裂,球状结构有缺口。原因可能是聚乙烯醇较十二烷基硫酸钠能更好的吸附在聚苯乙烯有机液滴的表面,使有机液滴更好的分散,保证了液滴的分散稳定性,防止微球的团聚,所以得到了较好的微球形貌。

用COULTER N4 Plus 粒径分析仪对实验所得的聚合物微球做了粒径分布分析,以聚乙烯醇作分散剂,二氯甲烷作有机相溶剂,搅拌转速控制在1000 r/min 为例,考察了温度的变化对粒径的影响,在20℃、25℃、30℃进行实验,结果表明微球的粒径随着聚合温度的提高而增大;而且温度的提高也会使体系不稳定,粒径分布变宽如图2所示。

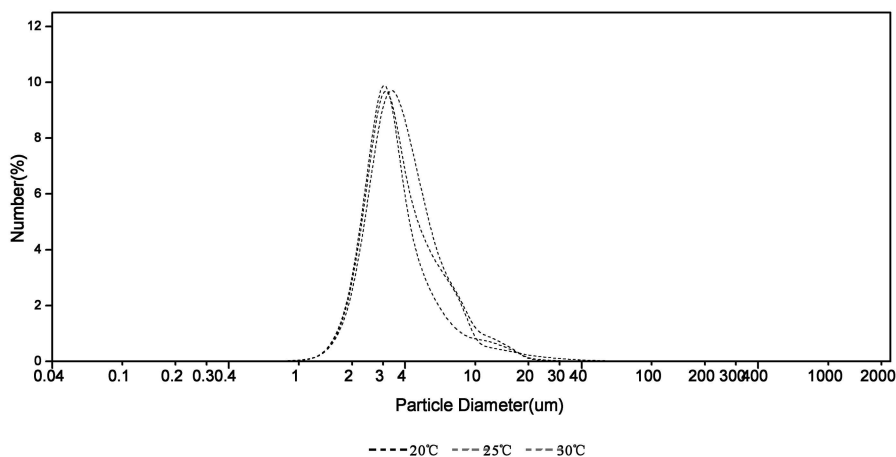


图2 温度的变化对粒径的影响

Figure 2 The effect of temperature on the polymer particle size

在单因素试验中,考察了分散剂 PVA 用量的影响。改变 PVA 浓度(1.4%、1.8%、2.0%、2.4%),进行试验。结果如图 3 所示。

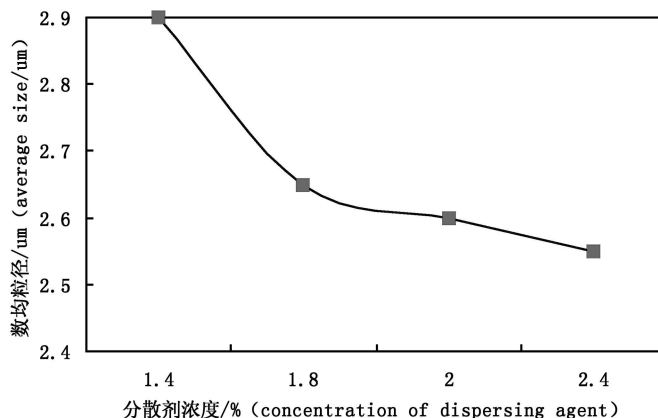


图 3 分散剂浓度对粒径的影响

Figure 3 The effect of concentration of dispersing agent on the polymer particle size

从上图中可以看出,随着分散剂用量的提高,微球粒径趋向减小。当分散剂用量过低时,得不到单分散的微球。同时,稳定剂用量过大时,对粒径变化影响不大。对于聚乙烯醇较为适宜的分散剂浓度为 2%。

另一方面,实验中采用二氯甲烷和三氯甲烷作为溶剂进行对比实验,从微球的形态看,使用二氯甲烷的要好于使用三氯甲烷。另外在制备微球的过程中,搅拌速度对微球的粒径也有着直接的影响,只有搅拌速度达到一定程度,才可以对有机相进行破碎,从而形成 O/W 乳液,但若速度过高,会使微球的粒径分布变宽,还可能破坏该乳液体系,不能形成微球。所以在实验过程中逐步尝试选择制备微球的搅拌速度在 1000r/min 左右。而搅拌时间根据不同溶剂也有所差别,二氯甲烷的挥发要比三氯甲烷大,所以前者的搅拌时间选为(4~6)h,后者为(10~12)h,使得溶剂能够缓慢地全部挥发,从而得到较好形态的微球。

2.2 红外光谱的表征以及微球中的防污剂载药量的检测

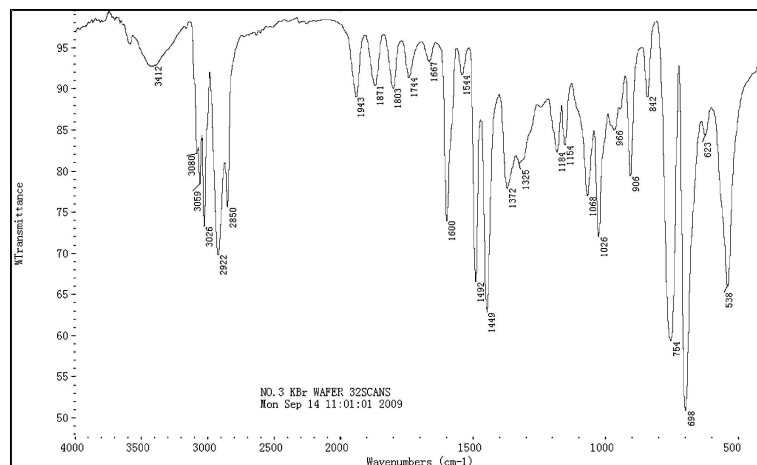


图 4 聚合物微球的红外表征

Figure 4 ATR-FTIR absorption spectrum of the polymer microcapsules

从上图聚合物微球的红外图谱中可以看出,在 3026cm^{-1} 处是苯环 C-H 伸缩振动吸收峰; 1449cm^{-1} 、 1492cm^{-1} 是苯环 C=C 骨架伸缩振动吸收峰; 754cm^{-1} 、 698cm^{-1} 处的两个峰表明苯环是单取代的; 2850cm^{-1} 是亚甲基的伸缩振动吸收峰; 1600cm^{-1} 是羰基 C=O 特征吸收峰,因此证明微球样品中有苯甲酸钠存在。

利用 WFX-110 原子吸收光谱分析仪对样品中的苯甲酸钠的含量进行测定,以聚乙烯醇作分散剂,二

氯甲烷作有机相溶剂, 搅拌转速控制在 1000r/min 左右, 所得到的微球为例, 其结果表明 Na 元素的含量为 2.97%, 由此可以计算出聚苯乙烯微球中所含的苯甲酸钠的质量分数 18.60%。

2.2 微球在防污涂料中的分散

通过超声分散、涂刷、固化形成的涂层样品在显微镜下观察微球在聚氨酯防污涂层中的分散情况。图 5 为聚苯乙烯载药微球在聚氨酯涂料中的分散效果。从图中可见, 微球没有发生聚集, 在涂料中分散均匀, 这样有效防污成分能够更好地缓慢释放, 有利于涂料在材料表面形成的涂层厚度一致。

2.3 苯甲酸钠从涂层中的累计释放量

图 6 是聚氨酯防污涂料中苯甲酸钠的累计释放量, 通过对使用聚苯乙烯微球进行包埋的苯甲酸钠和未经过包埋处理的苯甲酸钠的释放速度进行了对比。结果表明, 未经过包埋处理的苯甲酸钠在最初的两天, 释放速度很快, 也就是发生了“暴释”的现象, 在 120 天以后几乎不再有苯甲酸钠释放。然而, 进行包埋处理的苯甲酸钠聚氨酯涂层样品的数据表明, “暴释”现象得到解决, 最初的释放速度放缓, 而且在 120 天以后依然不断有适量的苯甲酸钠释放出来。在这一方法中由于 200mL 水溶液中累积释出的 NaB 的浓度远远小于涂层中 NaB 的浓度 3%, 所以对于溶液中累积释出的 NaB 对缓释效果的影响可以忽略不计。

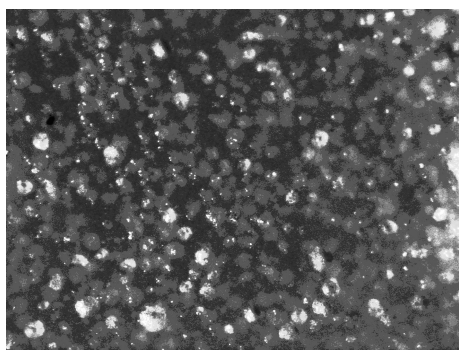


图 5 聚苯乙烯载药微球在聚氨酯涂料中的分散照片(放大 100 倍的显微镜照片)

Figure 5 Optical microscope images of the resulting microcapsules distribution in the PU coating

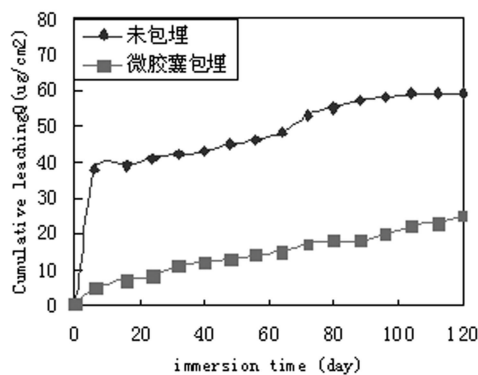


图 6 涂料中苯甲酸钠的累计释放量

Figure 6 The cumulative leaching amount of NaB in the matrix

2.4 抑菌试验

图 7 中 1 #和 3 #样品为经过微球包埋防污剂的涂层在浸泡 120 天后的样品, 分别是使用聚乙烯醇和十二烷基硫酸钠作分散剂; 2 #样品为未经过包埋处理的防污涂层在浸泡 120 天后的样品。从图中可以看出, 1 #和 3 #样品周围有明显的抑菌圈, 而 2 #样品周围抑菌效果不明显; 也就是说经过包埋处理的涂层在浸泡 120 天后依然对赤细菌 car-8051 株显示出较明显抑菌效果, 并且使用聚乙烯醇作分散剂的微球涂层样品, 由于其形成的微球更稳定、完整所以具有比使用十二烷基硫酸钠作分散剂的微球涂层样品更好的抑菌效果。



图 7 实验样品对赤细菌(Erythrobacter sp. car-8051 株)的抑菌效果

Figure 7 The antibacterial effect of antifouling coating on Erythrobacter sp

3 结 论

采用溶剂挥发法制备的包埋海洋防污剂苯甲酸钠的聚苯乙烯聚合物微球, 实现了海洋防污涂料中的防污剂的缓慢释放, 有望有效延长防污涂料的耐附着期限。实验结果表明, 聚苯乙烯微球中所含的苯甲酸钠的质量分数可以达到 18.60%, 并且微球能够在涂层基料中分散均匀; 同时防污剂的“暴释”现象得到解决, 最初的释放速度放缓, 而且在 120 天以后依然不断有适量的苯甲酸钠释放出来, 并表现出良好的抑菌效果。

参考文献:

- [1] 黄宗国, 蔡如星. 海洋污损生物及其防除. 海洋出版社, 1984. 12~14.
- [2] Andou A. U S A, WO 9210546. 2001. 9. 25.
- [3] Strand J, Acobsen J A. Sci Total Environ, 2005, 35(10): 72~78.
- [4] Evans S M., Leksono T, McKinnell P D. Mar Pollut Bull. 1995, 30: 14~21.
- [5] Terlizzi A, Frascchetti S, Gianguzza P. Aquat Conserv Mar Freshw Ecosyst, 2001, 11: 311~318.
- [6] Yebra D M, Küll S. Prog Org Coat. 2004, 50(11): 75~82.
- [7] Hamid M, Farhad S. Prog Org Coat, 2008, 63(9): 79~86.
- [8] K ä n g A, Dahlström M. Mar Pollut Bull. 2006, 52(12): 1776~1783.
- [9] Beuchat L. Appl Environ Microbiol. 1980, 39(6): 1178~1182.
- [10] TOMEKA L. J Food Science, 2007, 63(5): 904~906.
- [11] Mirta E, Stupak A, Mónica T, Garé a S. Inter Biodeterioration Biodegradation, 2003, 52(1): 49~52.
- [12] 史航, 陈晓蕾, 石建高. 涂料工业. 2009, 39(3): 10~13.
- [13] Price R. USP 5651976. 1997. 7. 29.
- [14] 汪小伟, 时清亮, 付玉彬. 精细化工. 2007, 10: 944~947.
- [15] 汪小伟, 付玉彬, 张经纬, 尹卫平. 精细化工. 2007, 3: 213~216.

Preparation of Encapsulated Sodium Benzoate and Antibacterial Application in Marine Antifouling Coating

SHI Hang, SHI Jian-gao, CHEN Xiao-lei, LIU Yong-li, WANG Lu-min *

(East China Sea Fisheries Research Institute, CAFS, Key and Open Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries Ministry of Agriculture, Shanghai 200090, China)

Abstract: The non-toxic antifouling compound sodium benzoate (NaB) was encapsulated in polystyrene (PS) microcapsules via an in-liquid drying process, and sodium benzoate could leach slowly from the antifouling coating matrix. The effect of solvent, temperature and dispersant was analyzed, and the polymer particle size decreases while the reaction temperature decreases, or amount of dispersing agent and stirring speed increases. The release rate of sodium benzoate was determined by standard curve method, compared with the matched group to go ahead study slow release of Sodium benzoate. Antibacterial test also shows that, even in de-ionized water for 120 days, the samples of anti-fouling coatings have obvious inhibitory effect.

Key words: Antifouling; Coating; Microcapsule; NaB