

交联壳聚糖膜的制备及其性能的研究

郑 化 杜予民 余家会 肖 玲

(武汉大学环境科学系, 武汉 430072)

摘要 用环氧氯丙烷成功地制备出交联壳聚糖膜. 用 FTIR, XRD 和 SEM 方法表征其结构, 并测试了其力学性能. 结果表明, 壳聚糖在低温下只有氨基参与交联反应, 反应温度高于 40 °C 时, 羟基才发生反应; 环氧氯丙烷的交联作用显著提高了壳聚糖膜的抗张强度, 并有效地降低了溶菌酶对其降解速率; 该交联膜有望用作可控降解的生物医用材料.

关键词 壳聚糖; 环氧氯丙烷; 交联壳聚糖膜; 力学性能; 溶菌酶降解

中图分类号 O636.1

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2000)05-0809-04

壳聚糖具有良好的生物相容性、生物降解性以及抗菌、止血和促进伤口愈合等功能^[1,2], 因而壳聚糖膜在药物控制释放载体、血液透析膜、人造皮肤及伤口包扎材料等方面的应用^[3,4]十分引人注目. 壳聚糖膜湿态强度较低, 并能被人体内的溶菌酶迅速降解, 从而限制了其在生物医用材料领域的广泛应用. 文献[5,6]报道, 用戊二醛、乙二醛、双官能团酸酐等交联剂与壳聚糖交联, 可提高膜的机械强度, 但醛类交联剂与壳聚糖生成的 Schiff 碱具有化学不稳定性; 双官能团酸酐与壳聚糖交联需在高温下进行, 易使壳聚糖降解. 本文用环氧氯丙烷(ECH)对壳聚糖膜交联, 以提高壳聚糖膜的机械强度和延缓溶菌酶对其降解速率, 并对交联壳聚糖膜的结构以及反应条件对力学性能的影响进行研究.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Elemental Analyzer-MOD1106 型元素分析仪; Nicolet 179SX FTIR 红外光谱仪, KBr 压片; Rigaku Dmax-7A 型 X 射线衍射仪, 管电压 40 kV, 管电流 50 mA, Cu K α , 扫描区间 5°~40°, 扫描速率 8°/min; Hitachi XZ-650 扫描电子显微镜; XLD-0.1 电子拉力试验机(中国长春第二试验厂). 甲壳素: 脱乙酰度 12%, $\overline{M}_n = 1.21 \times 10^6$, 浙江玉环海洋生物化学有限公司; 冰醋酸: C. P. 级, 上海化学试剂公司; 醋酸钠: C. P. 级, 南开大学化工厂; NaOH: C. P. 级, 北京化工厂; 环氧氯丙烷: C. P. 级, 上海试剂一厂; 溶菌酶: 从卵清中提取, 活性为 20 000 U/mg, 中科院上海生化所; 二次蒸馏水.

1.2 壳聚糖的制备

将甲壳素粉末置于质量分数为 50 % NaOH 水溶液中, 在氮气保护下于 100 °C 进行非均相脱乙酰基反应 8 h, 去掉上层溶液, 用热水将所得固体物洗至中性, 自然干燥即得壳聚糖. 其脱乙酰度(DD)和 \overline{M}_n 分别为 85 % 和 5.2×10^5 . 脱乙酰度用元素分析法按文献[7]进行测定, 按式 $DD = 1 - [m(C)/m(N) - 5.14]/1.72 \times 100\%$ 进行计算, 式中 $m(C)/m(N)$ 为碳、氮的质量比.

\overline{M}_n 由测定特性粘数 $[\eta]$ (mL/g) 后按文献[8]方法计算. $[\eta]$ 用乌氏粘度计按 5 点法测定, 溶剂为 0.1 mol/L CH₃COONa 和 0.2 mol/L CH₃COOH, 温度为 30 °C, 所用 Mark-Houwink 方程为 $[\eta] = KM_n^\alpha$, 式中, $K = 1.424 \times 10^{-3}$ mL/g, $\alpha = 0.96$.

1.3 壳聚糖膜及交联壳聚糖膜的制备

壳聚糖溶于 2 % (体积分数) 的醋酸溶液, 制得 3 % (质量分数) 的壳聚糖溶液, 将该溶液减压脱泡

收稿日期: 1999-08-05.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 29977014)和上海中金集团公司资助.

联系人简介: 杜予民(1937 年出生), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事再生资源化学研究.

后于玻璃板上刮膜,充分晾干,再浸入 2 % (质量分数) 的 NaOH 凝固液中以中和残留酸,取膜,用水洗涤至中性,自然干燥即得壳聚糖膜。

将充分溶胀的壳聚糖膜置于环氧氯丙烷的 0.067 mol/L NaOH (pH=10) 水溶液中,于 N₂ 气保护下进行交联反应,即得交联壳聚糖膜。反应温度分别为 20, 30, 40, 50 和 60 °C,环氧氯丙烷的浓度为 $0.125 \times 10^{-2} \sim 3.0 \times 10^{-2}$ mol/L,取 0.125×10^{-2} mol/L 的整数倍,反应时间为 1~6 h。

1.4 交联壳聚糖膜的降解

参照文献[9]方法,将 10 g 交联壳聚糖膜置于 1 000 mL 溶菌酶的 0.2 mol/L CH₃COOH-0.2 mol/L CH₃COONa 缓冲溶液(pH=5.2),于 37 °C 降解到设定时间。酶活性为 200 000 U/mL。膜的降解程度用 SEM 和断裂强度保持(Broken Strength Reserve, 简记 BSR)进行表征。BSR 的计算方法为:

$$\text{BSR}(\%) = \sigma_{b(t)} / \sigma_{b(0)} \times 100 \%$$

式中, $\sigma_{b(0)}$ 和 $\sigma_{b(t)}$ 分别为膜的起始抗张强度和降解到时间 t 的抗张强度。

1.5 膜力学性能测试

膜的抗张强度(σ_b)和断裂伸长率(ϵ_b)按 GB4456-84 方法测试。膜的抗水性(R)由湿膜和干膜的强度可由方程 $R(\%) = \sigma_{b(\text{wet})} / \sigma_{b(\text{dry})} \times 100 \%$ 得到。

将 1 cm × 3 cm 的膜浸入 500 mL 水中溶胀 24 h 后测得膜的溶胀率(S_w),其值依下式计算:

$$S_w(\%) = (w_{\text{wet}} - w_{\text{dry}}) / w_{\text{dry}} \times 100 \%$$

式中, w_{wet} 为湿膜的重量(g); w_{dry} 为干膜的重量(g),由湿膜于 60 °C 干燥 12 h 后测得。

2 结果与讨论

2.1 交联壳聚糖膜的结构表征

2.1.1 红外光谱分析 壳聚糖的红外光谱(图 1)中 1 597 cm⁻¹ 处的吸收峰归属于氨基的变形振动, 3 264 cm⁻¹ 处的吸收峰归属于氨基的伸缩振动, 1 261 和 3 480 cm⁻¹ 处的吸收峰分别归属于羟基的变形振动和伸缩振动^[10, 11]。而交联后壳聚糖膜的氨基吸收峰位置几乎没有变化,但吸收峰强度明显减弱, N—H 的伸缩振动吸收峰变窄,强度也稍有减弱,并且与羟基的伸缩振动吸收峰均向高波数移动,这表明壳聚糖的氨基参与了交联反应,并因此削弱了羟基、氨基之间的氢键作用。在 CCH-50(50 °C), CCH-60(60 °C)谱图中,还发现羟基在 1 261 cm⁻¹ 处的变形振动吸收峰强度比壳聚糖明显减弱, 3 480 cm⁻¹ 附近的伸缩振动吸收峰几乎消失,这可认为是羟基参与交联反应的结果。除此之外,壳聚糖中 C₃ 上的二级羟基和 C₆ 上的一级羟基的 C—O 键于 1 076 和 1 028 cm⁻¹ 处的平行谱带在 CCH-50 和 CCH-60 谱图中明显移至高波数,这进一步说明壳聚糖的羟基参与了交联反应。但在 CCH-30(30 °C)和

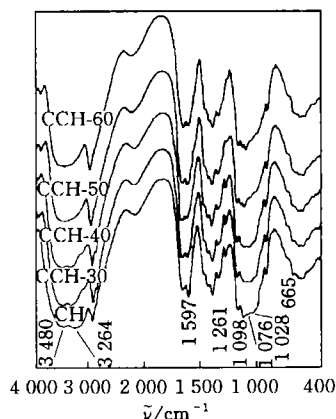


Fig. 1 IR spectra of chitosan film (CH) and chitosan films crosslinked with ECH 0.01 mol/L for 4 h at 30 °C (CCH-30), 40 °C (CCH-40), 50 °C (CCH-50) and 60 °C (CCH-60)

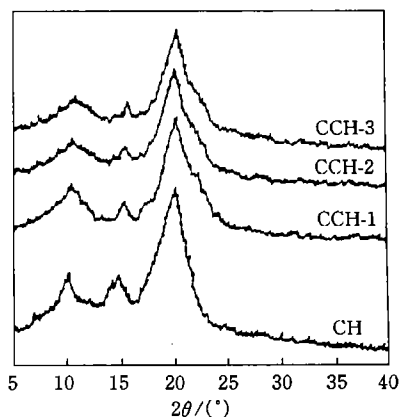


Fig. 2 X-ray diffractions of chitosan film (CH) and chitosan films crosslinked at 40 °C for 4 h with different ECH concentration, 0.25×10^{-2} mol/L (CCH-1), 0.5×10^{-2} mol/L (CCH-2) and 1.0×10^{-2} mol/L (CCH-3)

CCH-40(40 °C)谱图上并没有发现上述变化, 据此可认为交联反应温度低于 40 °C 时, 壳聚糖只有氨基参与反应, 温度高于 40 °C 时, 羟基才发生反应.

从图 1 中还发现, 壳聚糖膜的结晶敏感吸收峰^[12](665 cm⁻¹)在交联反应后几乎消失, 说明在交联后, 壳聚糖膜的结晶状态发生了变化, 这还可从 X 射线衍射图谱分析中得到进一步证实.

2.1.2 XRD 分析 图 2 为壳聚糖膜及交联壳聚糖膜的 X 射线衍射谱图. 壳聚糖膜分别在 2 θ 为 10.5°, 15.4° 及 20.1° 处显示出 3 个主要结晶峰. 与壳聚糖膜比较, 交联壳聚糖膜的衍射峰位几乎没有发生变化, 但衍射峰相对强度明显降低, 无定形区面积相对增加, 说明交联反应中形成的网络结构降低了壳聚糖膜的结晶度, 而且随着 ECH 浓度的增加, 交联壳聚糖膜的结晶度呈下降趋势.

2.2 反应条件对交联壳聚糖膜力学性能的影响

2.2.1 ECH 浓度的影响 交联后, 壳聚糖膜的抗张强度明显增加, 当 ECH 浓度低于 1.0×10^{-2} mol/L 时, 交联壳聚糖膜的抗张强度随 ECH 浓度的变化较为明显, 但当 ECH 浓度高于 1.0×10^{-2} mol/L 时, ECH 浓度对抗张强度的影响明显减弱(见表 1), 这种变化趋势是壳聚糖膜的交联程度和结晶度的综合体现. 由于交联膜的网络结构和疏水基团随反应程度的加深而增加, 因而其抗水性能随 ECH 浓度的增大而提高, 溶胀率随 ECH 浓度的增加而减低. 随着 ECH 浓度的增加, 交联壳聚糖膜的断裂伸长率也显示出降低的趋势.

Table 1 The effect of ECH concentration on film mechanical properties(Dry/Wet)*

$10^2 c(\text{ECH})$ /(mol · L ⁻¹)	t/h	Swelling ratio(%)	Tenacity /MPa	Elongation (%)	$R(\%)$
0.125	4	61.5	92.3/30.5	11.4/52.1	33.0
0.25	4	52.0	97.5/31.2	11.0/47.0	32.0
0.50	4	42.1	106.3/39.8	10.8/45.1	37.4
0.75	4	39.4	112.5/44.1	10.2/42.0	39.2
1.0	4	24.2	120.1/53.8	9.9/41.0	44.8
1.5	4	18.0	125.7/60.2	9.1/38.1	47.9
2.0	4	14.3	130.4/64.1	8.4/35.0	49.2
2.5	4	11.2	133.6/69.5	8.1/33.3	52.0
3.0	4	8.5	139.8/72.8	8.0/31.2	52.1
Control film		91.2	68.0/29.3	12.0/42.0	43.1

* The chitosan films were crosslinked with ECH in 0.067 mol/L NaOH at 40 °C.

2.2.2 反应温度和时间的影响 从表 2 可见, 反应温度低于 40 °C 时, 交联壳聚糖膜的抗张强度和抗水性能随温度的增加逐步增大, 其溶胀率和断裂伸长率则逐步降低, 并分别在 40 °C 时达到极大值和极小值. 其后, 随着反应温度的升高, 交联壳聚糖膜的溶胀率和断裂伸长率逐步增加, 抗张强度和抗水性能则逐步降低, 反应温度对交联壳聚糖膜力学性能的影响与文献[13]报道的交联壳聚糖纤维的变化规律完全吻合.

Table 2 The effect of reaction temperature on the film mechanical properties(Dry/Wet)*

$t/^\circ\text{C}$	Swelling ratio(%)	Tenacity /(MPa)	Elongation (%)	$R(\%)$	$t/^\circ\text{C}$	Swelling ratio(%)	Tenacity /(MPa)	Elongation (%)	$R(\%)$
20	51.0	100.5/31.4	11.0/46.8	31.2	50	29.5	117.0/50.1	10.2/42.3	42.8
30	42.1	106.7/48.2	10.8/44.1	45.0	60	45.3	104.0/43.7	10.8/43.4	42.0
40	25.1	120.1/53.8	9.9/41.0	45.1					

* The chitosan films were crosslinked with 1.0×10^{-2} mol/L ECH in 0.067 mol/L NaOH for 4 h.

随着反应时间的增加, 溶胀率和断裂伸长率逐步下降, 抗张强度逐步增大, 抗水性能则在 4 h 达到最大. 但交联反应 4 h 后(表 3), 反应时间对力学性能的影响明显变得缓慢.

Table 3 The effect of reaction time on the film mechanical properties(Dry/Wet)*

t/h	Swelling ratio(%)	Tenacity /(MPa)	Elongation (%)	$R(\%)$	t/h	Swelling ratio(%)	Tenacity /(MPa)	Elongation (%)	$R(\%)$
1	59.6	94.3/31.0	11.1/50.0	32.9	5	26.7	123.1/54.0	9.5/40.5	43.9
2	42.0	106.1/40.3	10.7/44.1	38.0	6	26.1	125.1/54.9	9.1/40.1	43.9
3	38.4	113.4/47.5	10.3/42.0	41.9	Control film	91.3	68.0/29.3	12.0/42.0	43.1
4	24.2	120.1/53.8	9.9/41.0	44.8					

* The chitosan films were crosslinked with 1.0×10^{-2} mol/L ECH in 0.067 mol/L NaOH at 40 °C.

2.3 交联壳聚糖膜的降解

图 3 为交联壳聚糖膜被溶菌酶降解后的 BSR 曲线. 壳聚糖膜的交联网络结构明显降低了溶菌酶

对其降解速率,其降解速率随交联反应程度的增加而降低,这可从降解膜的表面形貌进一步证实。

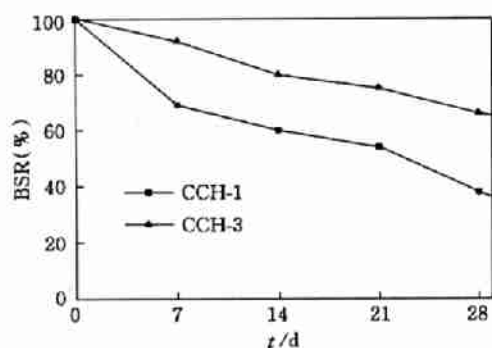


Fig. 3 BSR curves of crosslinked chitosan films CCH-1 and CCH-3

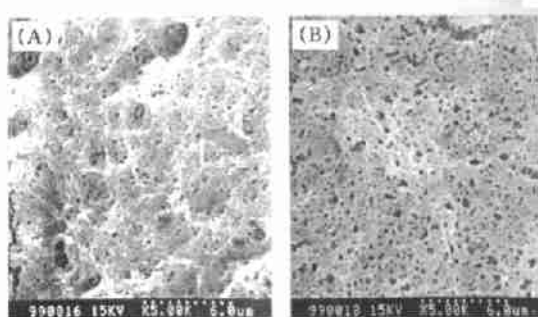


Fig. 4 SEM of crosslinked chitosan films CCH-1(A) and CCH-3(B)

图4显示了交联壳聚糖膜CCH-1和CCH-3被溶菌酶降解35 d后的表面形貌。降解后的交联壳聚糖膜表面疏松且出现降解孔洞,表明本实验条件下制备的交联膜可被溶菌酶降解。与CCH-3比较,CCH-1表面更为粗糙,且降解孔洞更大,这表明膜的降解速率与交联程度有关,交联程度越大,膜降解速率越小。可以推测,通过控制壳聚糖膜的交联程度,可以制备出可控降解的壳聚糖膜。

参 考 文 献

- 1 Qurashi M. J., Blair J. Appl. Polym. Sci. [J], 1992, 46: 255—261
- 2 Hirano S., Inui H., Kosaki H. *et al.* Chitin and Chitosan[M], New York: Plenum Press, 1994: 43—54
- 3 Malette W. G., Euglem H. J., Gaines R. P. *et al.* Ann Thorac Surg. [J], 1983, 35: 55—58
- 4 Youha S., Kasumu O. Biol. Pharm. Bull. [J], 1993, 1: 48—54
- 5 Muzzarelli R. A., Barontini G., Goosen M. F. A. *et al.* Biotech. Bioeng. [J], 1976, 18: 1 445—1 450
- 6 Yao Kangde, Tao Peng, Goosen M. F. A. *et al.* J. Appl. Polym. Sci. [J], 1993, 48: 343—354
- 7 Xu J., Stephen P. M. Macromolecules [J], 1996, 29: 3 436—3 440
- 8 WANG Jian-Wei(汪剑伟), DONG Yan-Ming(董炎明), LIU Huang-Nan(刘晃南) *et al.* Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 1999, 20(1): 474—477
- 9 Imoto T., Yagishita K. Agri. Biol. Chem. [J], 1971, 35: 1 154—1 156
- 10 Tsuboi M. J. Polym. Sci. [J], 1957, 25: 159—164
- 11 Brown D. W., Floyd A. J., Sainbury M. *et al.* Organic Spectroscopy[M], New York: Wiley, 1988: 24
- 12 Mims S., Miga M., Iwamoto R. *et al.* J. Appl. Polym. Sci. [J], 1983, 28: 1 909—1 115
- 13 Wei Y. C., Hudson S. M., Mayer J. M. *et al.* J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem. [J], 1992, 30: 2 187—2 193

The Properties and Preparation of Crosslinked Chitosan Films

ZHENG Hua, DU Yu-Min*, YU Jia-Hui, XIAO Ling

(Department of Environmental Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract The crosslinked chitosan films were prepared with epichlorohydrin as a crosslinking agent, and characterized by FTIR, X-ray diffraction and SEM. Their mechanical properties were measured. The structure analysis indicated that at low temperature, the crosslinking reaction only occurred between —NH_2 group of chitosan and epichlorohydrin. When the temperature was above $40\text{ }^\circ\text{C}$, —OH group of chitosan reacted with epichlorohydrin. The results from SEM and measurement of mechanical properties showed that the tensile strength of the crosslinked films was considerably improved, and the rate of degradation of crosslinked films by lysozyme was reduced. The new crosslinked chitosan films are expected to be used as controllable degradation biomaterials.

Keywords Chitosan; Epichlorohydrin; Crosslinked chitosan film; Mechanical properties; Lysozyme degradation (Ed.: Q, W, L)