

氧化纤维素/壳聚糖复合海绵的制备及性能研究

刘文迎¹ 郭亮亮² 刘泽员³ 张 静^{1*}

(郑州大学化工与能源学院, 郑州 450001)

摘 要 以壳聚糖与氧化纤维素为原料,采用冷冻干燥法制备了氧化纤维素不同用量的复合海绵。通过吸水性、水蒸汽透过率、降解性等测试研究了其性能。研究表明,与纯壳聚糖海绵相比,复合海绵机械性能得到很大改善,还具有好的吸水性、降解性及抑菌性。在氧化纤维素用量为 5%(wt,质量分数)条件下,制得的复合海绵性能相对最佳,吸水率高达 1243%,孔隙率为 86.51%,水蒸汽透过率为 4.13kg/(24h·m²),拉伸强度为 0.28MPa,降解 28d 的降解率为 22.8%,对大肠杆菌、金黄葡萄球菌的抑菌圈宽度分别为 2.50mm、1.50mm,是一种潜在的止血材料。

关键词 氧化纤维素,壳聚糖,复合物,机械性能

Research on preparation and property of oxidized cellulose/chitosan composite sponge

Liu Wenying¹ Guo Liangliang² Liu Zeyuan³ Zhang Jing¹

(School of Chemical and Energy Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001)

Abstract Composite sponges with different proportions of oxidized cellulose were prepared by freeze-drying using chitosan and oxidized cellulose as raw materials. The properties of the composites were studied by tests of water absorption, water vapor transmission rate and degradability. The results shown that the mechanical properties of the sponge were greatly improved compared with the pure chitosan sponge, and also had good water absorption, degradability and bacteriostasis. Under the condition that the amount of oxidized cellulose was 5% (wt, mass fraction), the obtained composite sponge had the best performance, the water absorption rate was as high as 1243%, the porosity was 86.51%, and the water vapor transmission rate was 4.13kg/(24h m²), the tensile strength was 0.28MPa, the degradation rate of degradation for 28d was 22.8%, and the inhibition zone width for Escherichia coli and Staphylococcus aureus were 2.50mm and 1.50mm, respectively, which was a potential hemostatic material.

Key words oxidized cellulose, chitosan, composites, mechanical properties

不受控制的出血仍然是创伤死亡的主要原因之一,也是急救医疗专业人员面临的最具挑战性的问题之一。优异的止血材料已成为控制肢端出血的有效辅助剂。理想的止血材料不仅要有快速的凝血能力,还应具有生物相容性、可生物降解、非免疫原性和抗菌性质^[1]。已有各种天然和合成材料应用于止血材料领域^[2-5]。

壳聚糖是一种天然碱性多糖,具有良好的生物相容性,可生物降解,可促进凝血以及血栓的形成,能抑制多种细菌和真菌的生长,且具有促进受损组织修复的功能,被认为是临床伤口护理的重要候选者^[6-8]。而壳聚糖基海绵作为医用敷料具有高吸水性和高水蒸汽透过率,可以抵御细菌的侵入和加快

组织的愈合。但壳聚糖海绵质地较脆、柔性较差,对伤口施加压力时容易破裂,影响其广泛应用^[9-10]。纤维素是自然界存在含量最丰富的生物质资源,具有良好的可再生性、生物相容性及生物降解性。虽然纤维素原纤维是不溶且非弹性的,但能够为它们所在的组织提供机械支撑,可以作为聚合物中的增强元素,改善一些材料的机械性能,拓宽其应用范围^[11-13]。因此,本研究采用壳聚糖、氧化纤维素交联制备氧化纤维素改性的壳聚糖基海绵,并对其吸水性、水蒸汽透过率和抑菌性等性能进行研究,以期在确保其他优良性能的基础之上,改善壳聚糖海绵的机械性能,使之能够提供足够的机械强度以保持压缩压力,满足一些伤口对止血材料的要求。

基金项目:河南省高等学校重点科研项目(17A530004)

作者简介:刘文迎(1990-),女,硕士,主要研究功能材料与药物研制。

联系人:张静(1974-),女,副教授,主要从事功能材料与药物研制。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

纤维素(分析纯),江西龙达差别化化学纤维有限公司;壳聚糖(分析纯),阿拉丁试剂科技有限公司;硫酸(分析纯),洛阳昊华化学试剂有限公司;氯化钙、氢氧化钠、高碘酸钠、氯化钠、磷酸盐缓冲溶液(PBS),均为分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;冰乙酸(分析纯),天津富宇精细化工公司;牛肉膏(生物试剂)、蛋白胨(生物试剂)、琼脂粉(生物试剂,分析纯),北京奥博星生物技术有限责任公司。

恒温油水浴锅(XMTE-7000 型),上海申顺生物科技有限公司;恒速搅拌器(S212 型),上海梅颖浦仪器制造有限公司;真空干燥箱(DZF-6020 型),北京市中兴伟业仪器有限公司;离心机(TGL-16C 型),上海安亭科学仪器厂;冷冻干燥机(FD-1A-50 型),北京博医康实验仪器有限公司;傅里叶红外光谱仪(FT-IR, WQF-510 型),北京瑞利分析仪器公司;立式压力蒸汽灭菌锅(YXQ-LS 型),上海博迅实业有限公司;洁净工作台(VS-1300L-U 型),苏州安泰空气技术有限公司;微机控制电子万能试验机(CMT6503 型),美特斯工业公司;生化培养箱(BPC-70F 型),上海一恒科学仪器有限公司。

1.2 样品的制备

氧化纤维素的制备。称取 1%(wt,质量分数,下同)的高碘酸钠溶液,将预处理后的纤维素在高碘酸钠与纤维素质量配合比为 1:1, pH=4, 采用恒温油水浴锅(XMTE-7000 型,上海申顺生物科技有限公司)50℃避光反应 1h。之后加入无水乙醇结束反应。最后用蒸馏水反复冲洗,除去其他离子后,即制得氧化纤维素,冻干封存待用。

复合海绵的制备。称取制得的氧化纤维素溶于氢氧化钠溶液中得到 2%的氧化纤维素溶液。将壳聚糖溶于乙酸溶液中,配成 2%的壳聚糖溶液。之后按照一定质量配合比,采用恒速搅拌器(S212 型,上海梅颖浦仪器制造有限公司)将两者溶液进行混合,氢氧化钠调 pH=6,搅拌反应一段时间,加入甘油,充分混合脱泡,置于培养皿冷冻干燥,即制得复合海绵,氧化纤维素溶液的用量分别占总质量的 5%(wt,质量分数,下同)、10%、15%、20%、25%、0%。

1.3 样品的测试

1.3.1 FT-IR 测试

采用傅里叶红外光谱仪(FT-IR, WQF-510 型,

北京瑞利分析仪器公司)对样品进行测试,将纤维素、氧化纤维素用研钵研磨成粉末状, KBr 压片。

1.3.2 吸水率测试

将制得复合海绵剪成 1cm×1cm×0.5cm 的小块,采用真空干燥箱(DZF-6020 型,北京市中兴伟业仪器有限公司)进行干燥,待质量恒重后,记录样品的质量。然后将其浸没在 PBS 中,经 5min 吸水完全后取出,用滤纸吸取海绵表面水分,记录样品吸水后的质量。复合海绵的吸水率^[14]计算见式(1)。

$$\text{吸水率} = [(M_2 - M_1) \div M_1] \times 100\% \quad (1)$$

式中,吸水率,%; M_1 为干燥恒重后的复合海绵的质量,g; M_2 为复合海绵吸水后的质量,g。

1.3.3 孔隙率测试

取一个已知体积的塑料瓶,加入无水乙醇至一定的刻度,记为 M_1 ,把质量为 M_2 的复合海绵浸入乙醇中,超声脱气,使无水乙醇充盈复合海绵多孔孔隙中。然后再加无水乙醇至初始刻度,称重记为 M_3 。用镊子将塑料瓶中的复合海绵取出,这时再称取塑料瓶中剩余无水乙醇的质量,记为 M_4 。复合海绵的孔隙率计算见式(2)。

$$\text{孔隙率} = [(M_3 - M_4 - M_2) \div (M_1 - M_4)] \times 100\% \quad (2)$$

式中, M_1 为加入塑料瓶中无水乙醇的质量,g; M_2 为复合海绵的质量,g; M_3 为后加入至初始刻度的无水乙醇的质量,g; M_4 为塑料瓶中剩余的无水乙醇的质量,g。

1.3.4 水蒸汽透过率测试

根据 ASTM E96—00 标准测试方法计算复合海绵的水蒸汽透过率(WVTR)。将一定量的无水氯化钙加入到称量瓶中以在瓶中维持 0%相对湿度(RH),将测试的复合海绵放置在称量瓶的口上,然后施加熔融石蜡将其密封在称重瓶边缘。在 30℃条件下,将称重瓶置于含有氯化钠(75% RH)的密封罐中。在罐底部放置蒸馏水来保持罐中的 RH。复合海绵的水蒸汽透过率计算见式(3)。

$$\text{WVTR} = \frac{\Delta w}{\Delta t \cdot A} \quad (3)$$

式中,WVTR 为水蒸汽透过率,kg/(24h·m²); $\Delta w/\Delta t$ 为以每 24h 水的增加速率,kg/24h; A 为样品的表面积,m²。

1.3.5 拉伸强度测试

将样品切割成 3cm×1cm×0.5cm 的条形样品,采用微机控制电子万能试验机(CMT6503 型,美特斯工业公司)对样品的拉伸强度进行测试,拉伸

速度为 10mm/min。

1.3.6 降解性测试

将复合海绵切割成 $1\text{cm} \times 1\text{cm} \times 0.5\text{cm}$, 初始质量记为 M_1 , 然后把它放入到一定体积的 $\text{pH}=7.40$ 的 PBS 中, 采用生化培养箱(BPC-70F 型, 上海一恒科学仪器有限公司) 37°C 进行培养, 定期置换缓冲溶液, 一定时间后用滤纸过滤留取滤渣, 取一定的蒸馏水进行洗涤, 采用真空干燥箱(DZF-6020 型, 北京市中兴伟业仪器有限公司)烘干, 称重记为 M_2 , 则其失重率计算见式(4)。

$$\text{失重率} = [(M_1 - M_2) \div M_1] \times 100\% \quad (4)$$

式中, M_1 为复合海绵的初始质量, g; M_2 为滤渣烘干后的质量, g。

1.3.7 抑菌性测试

采用纸片扩散法进行测试, 用圆形无菌滤纸分别吸取定量待测液置于培养皿中干燥备用。移取 $100\mu\text{L}$ 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌悬液分别均匀涂于固体培养基上接种菌种, 将带有测试液的滤纸放入培养基上, 最后将所有培养皿采用生化培养箱(BPC-70F 型, 上海一恒科学仪器有限公司) 37°C 培养 24h 后, 测试抑菌带宽度, 其中抑菌带宽度为抑菌圈与纸片的半径之差。

2 结果与讨论

2.1 FT-IR 分析

纤维素与氧化纤维素的 FT-IR 谱图见图 1。从图可以看出, 纤维素与 Abou-Zeid 等^[15]研究成果的峰型类似, 在 3411cm^{-1} 左右有 1 个大的宽峰, 对应的是 OH 伸缩振动峰, 2913.91cm^{-1} 对应的是 CH 和 CH_2 基的伸缩振动峰, 1645.46cm^{-1} 处是吸收水产生的峰, CH_2 和 OH 的弯曲振动位置分别在 1429.02cm^{-1} 、 1370.45cm^{-1} 和 1334.85cm^{-1} , 在 1162.40cm^{-1} 、 1065.43cm^{-1} 和 1018.18cm^{-1} 处的峰分别对应于糖苷键和羟基的 C—O 伸缩振动, 而 895.52cm^{-1} 峰是 C—O 和 OH 的平面外变形振动引起的; 与纤维素的谱图相比, 氧化纤维素在

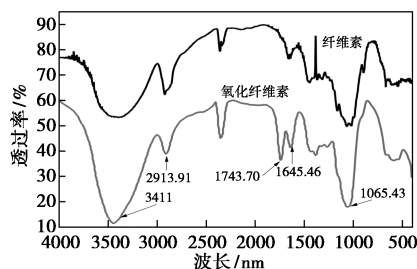


图 1 纤维素与氧化纤维素的 FT-IR 谱图

1743.70cm^{-1} 处出现了 C=O 的特征吸收峰, 并且 $1000\sim 1100\text{cm}^{-1}$ 的羟基吸收峰减弱甚至消失, 因此纤维素 C2、C3 位已成功氧化。

2.2 复合海绵性能分析

2.2.1 吸水率及孔隙率分析

吸水性及孔隙率是生物材料的重要特性, 好的吸水率与孔隙率能反映海绵的预期止血效果及伤口愈合环境。复合海绵的吸水率(a)和孔隙率(b)见图 2。从图 2(a)、图 2(b)可以看出, 随着氧化纤维素用量的增加, 复合海绵的吸水率及孔隙率呈不同程度的降低态势, 这可能是复合海绵连接紧密, 影响了小孔的正常形成, 从而使吸水率与孔隙率下降, 虽然在掺杂体系中有所降低, 但复合海绵的孔隙率基本维持在 85% 以上, 吸水率则大于 833%, 比参考文献[16](孔隙率为 67.23%, 吸水率为 38.77%)性能要优越许多, 能够满足生物材料的要求, 在氧化纤维素用量为 5% 条件下, 制得的复合海绵的吸水率高达 1243%, 孔隙率为 86.51%。

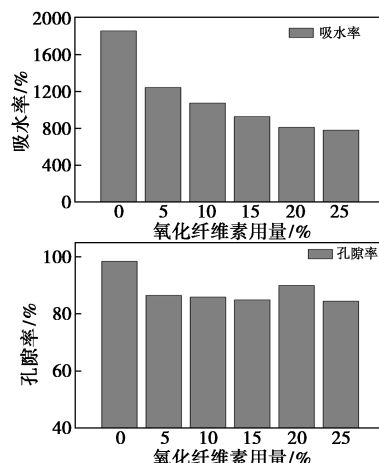


图 2 复合海绵的吸水率(a)和孔隙率(b)图

2.2.2 水蒸汽透过率分析

避免伤口表面渗出液的集聚, 合适比率的氧气进入和二氧化碳的排出对于伤口的愈合至关重要。理想的伤口敷料应具有一定的透气性以保证表皮细胞和成纤维细胞的增值和成长。复合海绵的水蒸汽透过率见图 3。从图 3 可以看出, 复合海绵的水蒸汽透过率都大于 $2.2\text{kg}/(24\text{h} \cdot \text{m}^2)$, 与纯壳聚糖材料相比, 复合海绵的水蒸汽透过率均有不同程度的降低, 但下降的幅度不大, 都能满足伤口对敷料的要求, 在氧化纤维素用量为 5% 条件下, 制得的复合海绵的水蒸汽透过率达到 $4.13\text{kg}/(24\text{h} \cdot \text{m}^2)$ 。结晶度以及结构的致密度等对复合材料透气性有很大的影响, 厚度相对越薄、结构越疏松, 孔结构越多以及

结晶度越低,其透气性就会越高。随着氧化纤维素用量的增加,复合海绵越加致密,可能导致水蒸汽透过率下降,但氧化纤维素表面具有大量的亲水基团,具有良好的亲水性能,当达到一定含量时,可能造成水蒸汽透过率的上升。

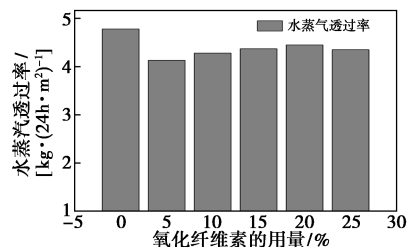


图 3 复合海绵的水蒸汽透过率图

2.2.3 拉伸强度分析

复合海绵的拉伸强度见图 4。从图可以看出,随着氧化纤维素用量的增加,复合海绵的拉伸强度呈逐渐增大态势,在氧化纤维素用量为 5%条件下制得的复合海绵的拉伸强度为 0.28MPa,氧化纤维素用量为 20%制得的复合海绵的拉伸强度达到最大为 0.40MPa,比纯壳聚糖提高了 66.67%。拉伸强度增加可能是因为氧化纤维素上的醛基与壳聚糖分子链上的氨基之间发生了化学交联使基质更加紧密、结实,从而使机械性能增加,但在氧化纤维素用量>20%条件下,制得的复合海绵的拉伸强度呈快速下降态势,这是因为氧化纤维素的分散均匀性降低,在体系中成为应力集中点,从而导致复合海绵力学性能下降。

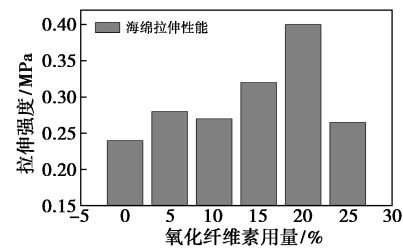


图 4 复合海绵的拉伸强度图

2.2.4 降解率分析

将纯壳聚糖、氧化纤维素用量不同的复合海绵浸入 PBS 中,观察其形态变化及降解率。在降解 3d 条件下,纯壳聚糖海绵结构和形状都受到损坏,不能保持其三维形态,7d 之后,复合海绵各样品还都保持其明显的立方体轮廓,14d 之后,样品的侵蚀现象加重,各棱角开始部分剥离,样品碎屑散落于样品块周围。复合海绵的降解率曲线见图 5。从图可以看出,壳聚糖海绵机械强度不高,加入氧化纤维素可在

一定程度上提高其机械强度,抗损能力增强,这与拉伸性能测试结果一致,在体外中性、无酶存在、复合海绵浸入 PBS 降解 28d 条件下,复合海绵的降解率为 20%~30%,氧化纤维素用量为 5%制得的复合海绵,在降解 28d 条件下,复合海绵的降解率为 22.8%。由于氧化纤维素的加入可使复合海绵的降解性逐渐下降,由此可以通过加入不同用量的氧化纤维素,在一定程度上可以改善壳聚糖过于溶胀、降解快和不能持久作用于伤口的缺点。

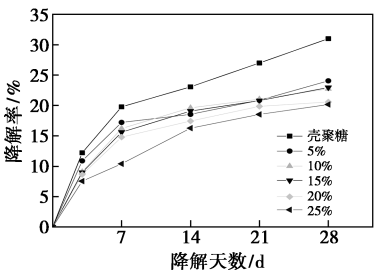


图 5 复合海绵的降解率曲线图

2.2.5 抑菌性分析

样品的抑菌效果见表 1。从表 1 可知,对照组中的氧化纤维素和空白样品没有出现抑菌带,还出现了细菌繁殖,说明氧化纤维素和空白样品没有抑菌效果,而对照组中的壳聚糖及添加不同用量氧化纤维素溶液制得的复合海绵都有明显的抑菌带,具有良好的抑菌效果,其中氧化纤维素用量为 5%制得的复合海绵的抑菌带最大,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抑菌圈宽度分别达 2.50mm、1.50mm,表现出与壳聚糖相当甚至更好的抑菌效果。

表 1 样品的抑菌效果

样品	壳聚糖	复合海绵中氧化纤维素用量/%					氧化纤维素	空白
		5	10	15	20	25		
对大肠杆菌的抑菌圈宽度/mm	2.00	2.50	0.75	0.30	0.25	0.10	0	0
对金黄色葡萄球菌的抑菌圈宽度/mm	2.45	1.50	1.00	0.50	0.25	0.10	0	0
抑菌圈宽度/mm	>1	>1	0~1	0~1	0~1	0~1	—	—
细菌繁殖情况	无	无	无	无	无	无	繁殖	繁殖
抑菌效果评价	很好	很好	较好	较好	有效果	有效果	没效果	没效果

3 结论

将醛基化的氧化纤维素与壳聚糖共混交联,开发了不同用量氧化纤维素改性的壳聚糖复合海绵,复合海绵具有良好的抑菌性、降解性及明显改善的机械性能。氧化纤维素的加入,使复合海绵的吸水性、孔隙率有所降低,但还保持优良性能,综合考虑,氧化纤维素用量为 5% 制得的复合海绵性能最佳,吸水率高达 1243%,孔隙率为 86.51%,水蒸汽透过率为 $4.13\text{kg}/(24\text{h}\cdot\text{m}^2)$,拉伸强度为 0.28MPa,降解 28d 的降解率为 22.8%,抑菌圈研究表明,复合海绵对大肠杆菌与金黄葡萄球菌的抑菌圈宽度分别为 2.50mm、1.50mm,具有良好的抑菌作用,在止血、促进伤口愈合等功能新型敷料领域具有较好的应用前景。

参考文献

- [1] Sukul M, Ventura R D, Sang H B, et al. Plant-derived oxidized nanofibrillar cellulose-chitosan composite as an absorbable hemostat[J]. Materials Letters, 2017, 157: 150-155.
- [2] Harmon A M, Kong W, Buensuceso C S, et al. Effects of fibrin pad hemostat on the wound healing process in vivo and in vitro[J]. Biomaterials, 2011, 32(36): 9594-9601.
- [3] Basu A, Lindh J, Ålander E, et al. On the use of ion-crosslinked nanocellulose hydrogels for wound healing solutions: physicochemical properties and application-oriented biocompatibility studies[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 174: 299-308.
- [4] Wang C, Luo W, Li P, et al. Preparation and evaluation of chitosan/alginate porous microspheres/bletilla striata polysaccharide composite hemostatic sponges[J]. Carbohydr Polym, 2017, 174: 432-442.
- [5] Sun X, Tang Z, Pan M, et al. Chitosan/kaolin composite porous microspheres with high hemostatic efficacy[J]. Carbohydr Polym, 2017, 177: 135-143.
- [6] Li J, Wu X, Wu Y, et al. Porous chitosan microspheres for application as quick in vitro and in vivo hemostat[J]. Materials Science & Engineering C, 2017, 77: 411-419.
- [7] Yan T, Cheng F, Wei X, et al. Biodegradable collagen sponge reinforced with chitosan/calcium pyrophosphate nanoflowers for rapid hemostasis[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 170: 271-280.
- [8] 姜毅, 王风华, 段蕴铀. 多糖类止血材料的研究及应用进展[J]. 解放军医学杂志, 2014, 12(1): 1004-1007.
- [9] Kang P L, Chang S J, Manousakas I, et al. Development and assessment of hemostasis chitosan dressings[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(3): 565-570.
- [10] 周大丽. 壳聚糖基多孔海绵敷料的制备及性能研究[D]. 南京: 东南大学, 2012.
- [11] Nishi Y, Uryu M, Yamanaka S, et al. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose[J]. Journal of Materials Science, 1990, 25(6): 2997-3001.
- [12] Anumary A, Thanikaivelan P, Ashokkumar M, et al. Synthesis and characterization of hybrid biodegradable films from bovine hide collagen and cellulose derivatives for biomedical applications[J]. Soft Materials, 2013, 11(2): 181-194.
- [13] 张霞, 周浩, 杨宇红, 等. 氧化纤维素增强胶原水凝胶[J]. 高等学校化学学报, 2015, 36(10): 2040-2046.
- [14] 尉枫. 不同尺度纤维素纤维/胶原蛋白复合海绵的制备与表征[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.
- [15] Abou-Zeid R E, Hassan E A, Bettaieb F, et al. Use of cellulose and oxidized cellulose nanocrystals from olive stones in chitosan bionanocomposites[J]. Journal of Nanomaterials, 2015, 16(1): 172-173.
- [16] 刘辉, 邹清河, 吴迪. O-羧甲基壳聚糖复凝止血海绵的体外表征与止血作用[J]. 医药导报, 2014, 33(7): 850-852.
- [17] Xu D, Zhu C L, Meng X. Design and fabrication of Ag-CuO nanoparticles on reduced graphene oxide for nonenzymatic detection of glucose[J]. Sensors And Actuators B-Chemical, 2018, 265: 435-442.
- [18] Ponprapakaran K, Subramani R, Harihara. Synthesis, spectral analysis, and catalytic activity of poly(aniline-co-congored)-metal oxide nanocomposites[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2018, 135(27): - .
- [19] Na Hyun-Suk, Shim Jae-Oh, Jang Won-Jun. The effect of titration time on the catalytic performance of Cu/CeO₂ catalysts for water-gas shift reaction[J]. Catalysis Today, 2018, 309: 83-88.

收稿日期: 2018-06-02

修稿日期: 2019-08-15

(上接第 161 页)

- [13] Amani Jafar, Khoshroo Alireza, Rahimi-Nasrabadi Mehdi. Electrochemical immunosensor for the breast cancer marker CA 15-3 based on the catalytic activity of a CuS/reduced graphene oxide nanocomposite towards the electrooxidation of catechol[J]. Microchimica Acta, 2018, 185(1): - .
- [14] 谭志刚. 不同形貌硫化铜微/纳米结构材料的合成及光催化性能研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2011.
- [15] 周蕾. 硫化铜微米花状结构材料的合成及其光催化性能的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2013.
- [16] Lykaki Maria, Pachatouridou Eleni, Carabineiro Sonia A C. Ceria nanoparticles shape effects on the structural defects and surface chemistry: implications in CO oxidation by Cu/CeO₂ catalysts[J]. Applied Catalysis B-Environmental, 2018, 230: 18-28.

- [17] Xu D, Zhu C L, Meng X. Design and fabrication of Ag-CuO nanoparticles on reduced graphene oxide for nonenzymatic detection of glucose[J]. Sensors And Actuators B-Chemical, 2018, 265: 435-442.
- [18] Ponprapakaran K, Subramani R, Harihara. Synthesis, spectral analysis, and catalytic activity of poly(aniline-co-congored)-metal oxide nanocomposites[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2018, 135(27): - .
- [19] Na Hyun-Suk, Shim Jae-Oh, Jang Won-Jun. The effect of titration time on the catalytic performance of Cu/CeO₂ catalysts for water-gas shift reaction[J]. Catalysis Today, 2018, 309: 83-88.

收稿日期: 2018-06-12