

doi:10.3969/j.issn.1001-3539.2023.12.005

可生物降解壳聚糖/香草醛抑菌膜的制备及性能

罗华丽¹, 房震²

(1.烟台职业学院食品与生化工程系,山东烟台 264670; 2.烟台先进材料与绿色制造山东省重点实验室,山东烟台 264006)

摘要:为研究壳聚糖(成膜材料)、香草醛(交联剂)二者所制备的壳聚糖/香草醛膜的力学性能、可生物降解性和抑菌性能等功效,采用浇注成膜法,制备不同壳聚糖与香草醛质量比的壳聚糖/香草醛膜。通过傅里叶变换红外光谱(FTIR)仪、扫描电子显微镜、热重分析仪、雾度计和万能试验机等表征壳聚糖/香草醛抑菌膜的结构、形态、力学性能和可降解性等指标,研究其在伤口敷料和食品包装材料等领域的应用价值。结果表明,壳聚糖/香草醛膜的FTIR光谱在 $1\ 636\text{ cm}^{-1}$ 处出现了C=N的席夫碱结构峰,证明了壳聚糖上的胺基和香草醛上的醛基发生反应,形成席夫碱结构。随着香草醛添加量的增加,壳聚糖/香草醛膜的拉伸强度有所增强,而壳聚糖膜的透光性逐渐降低,透光率低至49.58%。在体外溶菌酶酶解实验中,壳聚糖/香草醛膜在溶菌酶溶液中的质量损失率达58%,在乙酸溶液中6 h降解率可达50%。壳聚糖/香草醛膜表面存在微纳结构,使得接触角略大于 90° ,表现出一定的疏水性。随着壳聚糖链上香草醛的引入,膜的亲水性有所提升,接触角呈降低趋势。壳聚糖/香草醛膜具有较好的抑菌性、可生物降解性和透光性,在食品包装材料、医用辅料领域有巨大的应用潜力。

关键词:壳聚糖;膜;伤口敷料;香草醛

中图分类号: TQ325.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3539(2023)12-0027-08

Preparation and Properties of Biodegradable Chitosan/Vanillin Antibacterial Film

Luo Huali¹, Fang Zhen²

(1. Department of Food and Biochemical Engineering, Yantai Vocational College, Yantai 264670, China;

2. Shandong Laboratory of Yantai Advanced Material and Green Manufacture, Yantai 264006, China)

Abstract : To study the mechanical properties, biodegradability and antibacterial properties of chitosan/vanillin films prepared by chitosan (film-forming material) and vanillin (cross-linking agent), a casting film-forming method was used to prepare chitosan/vanillin films with different mass ratios of chitosan to vanillin. The structure, morphology, mechanical properties, and degradability of chitosan/vanillin antibacterial films were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy, thermogravimetric analyzer, haze meter, and universal testing machine, and their application value in wound dressings and food packaging materials were studied. The results show that the FTIR spectrum of chitosan/vanillin membrane exhibits a CH=N Schiff base structure peak at $1\ 636\text{ cm}^{-1}$, indicating that the amine group on chitosan reacted with the aldehyde group on vanillin to form a Schiff base structure. With the amount of vanillin increases, the tensile strength of chitosan/vanillin film increases, the transparency of chitosan film gradually decreases to 49.58%. In the in vitro lysozyme hydrolysis experiment, the weight loss rate of chitosan/vanillin membrane in lysozyme solution reached to 58%, and the degradation rate reaches to 50% in acetic acid solution for 6 hours. The surface of chitosan/vanillin film exhibits a micro-nano structure, resulting in a contact angle slightly greater than 90° and exhibiting a certain degree of hydrophobicity. With the introduction of vanillin on the chitosan chain, the hydrophilicity of the membrane is improved, and the contact angle shows a decreasing trend. Chitosan/vanillin film has good antibacterial, biodegradable, and transparent properties, and has enormous application potential in the fields of food packaging materials and medical excipients.

Keywords : chitosan ; film ; wound dressing ; vanillin

基金项目: 2023年度山东省教育科学研究一般课题“双高建设背景下中医药文化育人价值挖掘及实践探索”项目(2023JXY167), 2022年烟台职业学院教学改革研究项目(YZ202209), 2023年中国职业技术教育学会第五届理事会2023年度分支机构科研课题项目(ZJ2023B211)

通信作者: 罗华丽, 硕士, 副教授, 从事生物医用高分子材料的研究

收稿日期: 2023-10-21

引用格式: 罗华丽, 房震. 可生物降解壳聚糖/香草醛抑菌膜的制备及性能[J]. 工程塑料应用, 2023, 51(12): 27-34.

Luo Huali, Fang Zhen. Preparation and Properties of Biodegradable Chitosan/Vanillin Antibacterial Film[J]. Engineering Plastics Application, 2023, 51(12): 27-34.

全球每年用于伤口处理的敷料用量急剧增长^[1],过去传统处理伤口的方法是使用棉纱布覆盖伤口,可以吸收伤口渗出物,保持伤口干燥,避免伤口被细菌感染。理想的伤口敷料应当能够提供湿润、无毒、绿色、安全的环境,以利于组织再生。理想的创面敷料应当透气防污、可吸收脓液、无黏附、易更换,同时应价廉、无毒、可生物降解、吸液性和透气性良好,有助于构建一个伤口组织生长的良好微观环境,敷料最好本身具有优良的抗菌性能^[2-3]。薄膜敷料因自身透明,易于观察伤口愈合状况,堪称一种理想的医用敷料,同时其可以维持伤口的湿润状态,有利于伤口愈合,是生物医药领域的研究热点。近年来,随着细菌耐药性的增强导致严重感染和伤口难以愈合的事件频发,因此对具有抗菌功效的伤口敷料的需求日益紧迫^[4]。以往的技术路线是添加抗菌剂,但伤口敷料使用后因丢弃导致抗菌剂在自然环境中扩散而造成诸多环境问题,因此寻找一种既具有生物抗菌性且在自然界可以实现生物降解,又对人体安全无毒,甚至达到可食用级别的新型材料,是未来研发的新方向。薄膜敷料一方面具有止血护创、抗菌无毒、促进愈合等作用;另一方面具有携带方便、疗效可靠、体积小等优点,是开发绿色环保的伤口敷料的热点之一,具有很好的研究价值。

聚- β -(1,4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖,简称壳聚糖,是唯一天然存在的阳离子聚合物^[5],将虾皮蟹壳等海洋生物废弃物脱钙、脱蛋白制得甲壳素,再经脱乙酰制备得到壳聚糖^[6]。因其良好的生物相容性、可生物降解性、抗菌止血性和生物黏附性,可用作理想的伤口敷料^[9]。由于壳聚糖分子链上的胺基可以和香草醛的醛基反应,可制备具有特殊功效的材料^[7]。木质素是自然界中含量最丰富的天然芳香族高分子聚合物。香草醛化学名称为3-甲氧基-4-羟基苯甲醛,是从木质素工业生产得到的唯一芳香单体,属于天然可食用单醛类调味剂^[8]。香草兰是一种名贵的天然香料植物,经乙醇提取、过滤也可得到香草醛^[10]。利用壳聚糖和香草醛等生物质材料,有望制成医用水凝胶^[11]、止血绷带^[12]、止血海绵^[13]、薄膜敷料^[14]等新型医用材料。

笔者利用壳聚糖与香草醛交联反应成席夫碱结构,制备壳聚糖/香草醛抗菌薄膜^[15],具有良好的抗菌性和生物相容性,以期为新型伤口敷料的开发

提供新思路^[16](如图1a所示)。与传统的伤口敷料相比,壳聚糖薄膜可生物降解,从而避免了对创伤性伤口的清创问题。同时其表现出良好的溶胀能力和吸收液体的性能,这可以确保渗出物的排出,维持有助于伤口愈合的潮湿环境。该薄膜具有更高的稳定性、可生物降解性和pH敏感性,对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有良好的抗菌性能,在治疗皮肤病变方面具有巨大的应用潜力。

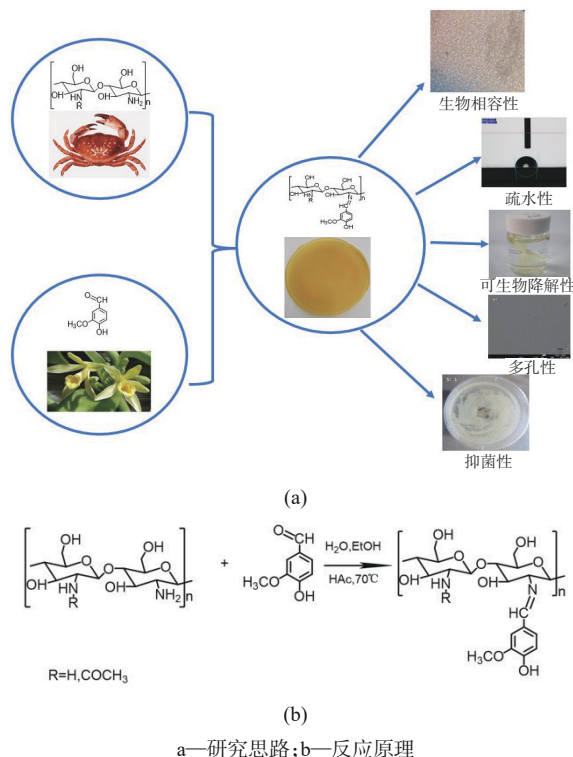


图1 壳聚糖/香草醛膜的研究思路和反应路线

1 实验部分

1.1 主要原材料

壳聚糖:脱乙酰度 $\geq 95\%$,黏度100~200 MPa.s,上海麦克林生化科技有限公司;

香草醛:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;

乙醇:分析纯,纯度 $\geq 99.7\%$,阿拉丁控股集团有限公司;

溶菌酶:20 000 μg ,中美康士生物科技有限公司;

冰乙酸:分析纯,纯度 $\geq 99\%$,阿拉丁控股集团有限公司;

其他试剂均为国药集团化学试剂有限公司提供。

1.2 主要仪器及设备

电子天平:BCE124-1CCN型,北京赛多利斯天平有限公司;

冷冻干燥机:SCIENTZ-10N/C型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

万能材料试验机:AGS-X 500 N型,日本岛津公司;

接触角测量仪:Theta Flex型,瑞典Biolin公司;

傅里叶变换红外光谱(FTIR)仪:IR Tracer-100型,日本岛津公司;

扫描电子显微镜(SEM):8230型,德国ZEISS公司;

雾度计:HM-150型,日本村上色彩MCRL公司;

热重(TG)分析仪:Q500型,瑞士梅特勒托利多公司;

台式空气浴恒温摇床:YCT-80B型,上海捷呈实验仪器有限公司。

1.3 壳聚糖/香草醛抑菌膜的制备

壳聚糖/香草醛膜的合成是通过壳聚糖与香草醛的酸缩合反应生成席夫碱进行的,如图1b所示。将0.48 g壳聚糖(相当于 2.32×10^{-3} mmol的葡萄糖胺重复单元的质量)^[17],溶于24 mL的0.7%乙酸溶液,放置水浴加热至70 °C,将不同物质的量之比的质量分数为2%的香草醛乙醇溶液缓慢滴加入壳聚糖溶液中,维持磁力搅拌一段时间,敞开瓶口,乙醇挥发后瓶中体积接近24 mL时停止反应,转移至塑料培养皿中,随后置于55 °C烘箱中存放24 h后制备壳聚糖/香草醛膜。设计不同配方制备壳聚糖/香草醛膜,通过壳聚糖与香草醛的缩合反应生成席夫碱,改变壳聚糖链上胺基与香草醛上醛基之间的摩尔比,制备了一系列壳聚糖/香草醛膜,将壳聚糖/香草醛膜物质的量之比分别为3:1,5:1,7:1的样品分别命名为1[#],2[#],3[#],制备的不同配比壳聚糖/香草醛膜如图2所示。

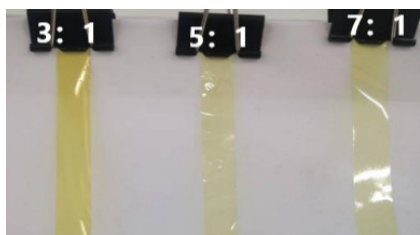


图2 不同配比壳聚糖/香草醛薄膜

1.4 测试与表征

(1) FTIR测试。采用FTIR仪测试,扫描范围为4 000~400 cm^{-1} ,分辨率为0.5 cm^{-1} ,扫描频率为40次,样品经溴化钾压片后进行测试。

(2)微观形貌观测。采用SEM观测试样断面的微观形貌。

(3)接触角测试仪。采用接触角测试仪,以水为媒介,测试壳聚糖膜在空气中水的接触角。依照GB/T 30693-2014测量试样与去离子水的接触角。

(4)力学性能测试。采用万能材料试验机,在室温下测试壳聚糖/香草醛膜试样的断裂伸长率和拉伸强度。拉伸试样尺寸为100 mm×10 mm×0.1 mm,夹距保持50 mm,拉伸速率为25 mm/min。依照GB/T 1040.3-2006使用UTM5504型力学试验机测定力学性能。

(5)透光性测试。使用雾度计测试壳聚糖膜的透光性。壳聚糖/香草醛膜厚度为0.1 mm,制备成直径10 cm的圆形膜片。

(6)热稳定性测试。采用TG分析仪测定热稳定性, N_2 保护,升温速度15 °C/min,温度范围30~800 °C。

(7)抗微生物活性测试。

使用大肠杆菌ATCC25922进行抑菌试验,大肠杆菌储存在-20 °C下的20%~40%甘油中。称取胰蛋白胨10 g、酵母浸粉5 g、氯化钠10 g、去离子水1000 mL、琼脂粉18 g于三角瓶中,经121 °C/202 kPa灭菌20 min后,趁热倒入15 mL培养基于10 cm直径的大平板中。取0.2 mL微生物混悬液在平板已凝固的LB培养基面涂抹均匀后,在平板上打4 mm孔径,并加入4 μg 壳聚糖/香草醛膜碎粉。随后置于37 °C气浴摇床孵育24 h,以评估其抗微生物性能,以壳聚糖作为对照实验,在标准条件下测量抑菌圈直径。试验一式三份,以验证结果并计算平均值。按照抑制率(%)=(处理菌落直径-对照菌落直径)/处理菌落直径×100%计算抑菌率。

2 结果与讨论

2.1 FTIR测试

将壳聚糖/香草醛膜在FTIR光谱仪上扫描400~4 000 cm^{-1} 的光谱范围,分别对纯香草醛、纯壳聚糖和1[#]样品进行溴化钾压片,测定三者的FTIR图谱,如图3所示。由图3可以看出,壳聚糖在1 590 cm^{-1} 处NH—CO的振动峰及香草醛在1 660 cm^{-1} 处的C

=O吸收峰消失了,而制成的壳聚糖/香草醛膜在 $1\ 636\text{ cm}^{-1}$ 处出现C=N的席夫碱结构峰,证明壳聚糖的胺基与香草醛的醛基反应形成席夫碱结构^[18]。

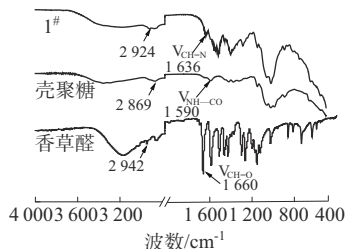


图3 1#壳聚糖/香草醛膜的FTIR图

2.2 壳聚糖/香草醛膜的形貌

采用溶液浇注法^[19]制备壳聚糖/香草醛膜,其外观如图4所示,随着香草醛比例的增加,膜的颜色逐渐变成深黄色。由图2可知,使用相机拍摄壳聚糖膜材表面光滑、致密透明。由图4观测其表面较为平整,但是仍形成一定粗糙度的表面,有利于形成类似荷叶表面的疏水作用^[20]。随着香草醛比例的减少,膜的粗糙度有一定程度的增加。

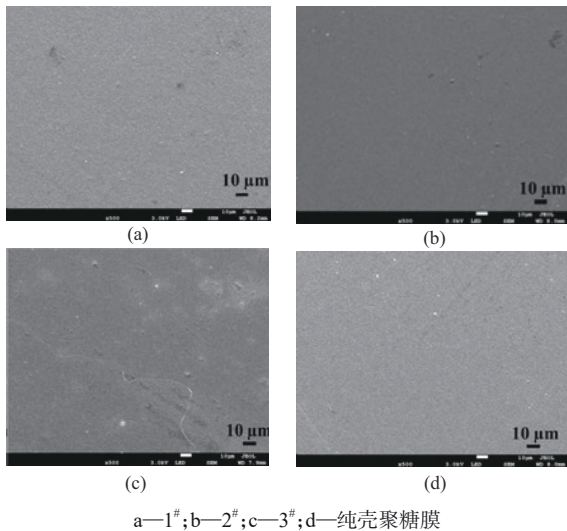
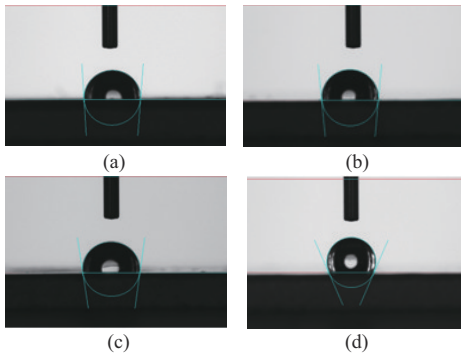


图4 不同物质的量比壳聚糖/香草醛膜表面的SEM图

2.3 壳聚糖/香草醛膜的接触角测试

图5为不同壳聚糖/香草醛比的膜接触角测试图,表1为壳聚糖膜接触角记录。由图5和表1可知,壳聚糖/香草醛膜在空气中的接触角略大于 90° ,处于临界值,具有一定的疏水性,但是疏水性不显著。据参考文献^[14]报道,壳聚糖膜既有一定的亲水性,又有一定的疏水性。由于壳聚糖/香草醛膜表面的微纳结构,使得接触角略大于 90° ,表现出一定的疏水性。然而随着香草醛添加量的增大,壳聚糖膜的接触角逐渐从 113.7° 降低至 93.4° 。香草醛本身溶于水,具有一定的亲水性。随着壳聚糖链上香草

醛的引入,膜的亲水性有所提升,因此接触角呈降低趋势。



a—1#; b—2#; c—3#; d—纯壳聚糖膜

图5 不同壳聚糖/香草醛物质的量比的膜接触角测试图

表1 壳聚糖膜接触角记录

样品名	接触角(左)/(°)	接触角(右)/(°)
1#	93.4	94.5
2#	95.6	95.1
3#	98.5	97.8
纯壳聚糖膜	113.7	113.7

2.4 壳聚糖/香草醛膜的力学性能测试

图6为壳聚糖/香草醛膜的应力-应变曲线。由图6可见,随着添加香草醛比例的增加,壳聚糖/香草醛膜的拉伸应力逐渐增高而应变逐渐降低。3#样品最大拉伸应力可达 3.5 MPa ,应变为 3.25% ;2#样品最大拉伸应力可达 4.1 MPa ,应变仅为 2.25% ;1#样品最大拉伸应力可达 5.5 MPa ,应变仅为 1.6% 。三种配比的壳聚糖/香草醛膜在经过屈服点后都出现了应变增强现象,这可能是因为在拉伸过程中材料的体积不变,但是横截面积发生收缩,使分子链之间变得更加紧凑,出现新的物理交联,从而在曲线中体现出应变增强。随着香草醛加入量的增加,壳聚糖/香草醛膜的拉伸强度有所增加,其主要原因在于香草醛接枝壳聚糖后,壳聚糖主链间的摩擦力和壳聚糖/香草醛膜氢键作用力有所提升,从而表现为拉伸强度的增强^[21]。

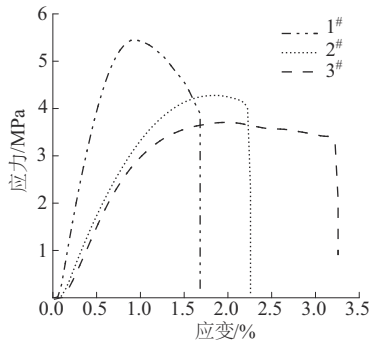


图6 壳聚糖膜的应力-应变曲线

2.5 壳聚糖/香草醛膜的透光性测试

图7为不同比例壳聚糖/香草醛膜透光率变化趋势图,由图7可见,3[#]样品的透光率达87.13%,1[#]样品的透光率达49.58%。这是由于香草醛的醛基和壳聚糖上的氨基反应形成亚胺结构与香草醛的芳环结构形成共轭 π 键,赋予壳聚糖/香草醛膜显黄色^[22],随着香草醛用量的增加,壳聚糖/香草醛膜的透光率下降^[23]。

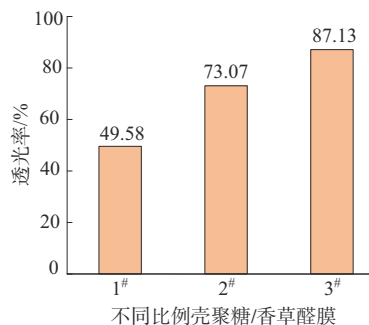


图7 不同比例壳聚糖/香草醛膜透光率

2.6 壳聚糖/香草醛膜热稳定性能测试

图8为所制备的壳聚糖膜的TG图;图9为不同比例壳聚糖/香草醛膜DTG曲线。如图8和图9所示,随着香草醛用量增加,壳聚糖膜整体热稳定性有所提高,热重损失有所降低,这是由于壳聚糖分子中还原性 NH_2 被香草醛结构通过 $\text{C}=\text{N}$ 双键交联和形成有序团簇的作用所致。TG曲线中第一个台阶没有醛类物质的快速挥发所引起质量损失^[24],由FTIR图可见,壳聚糖和香草醛主要形成亚胺键,其质量损失主要原因是水与胺单元之间的氢键断裂及水分的挥发所致^[18]。1[#]膜的最大失重速率温度

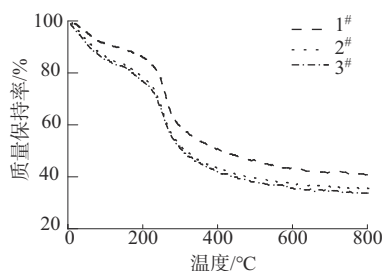


图8 不同比例壳聚糖/香草醛膜的TG图

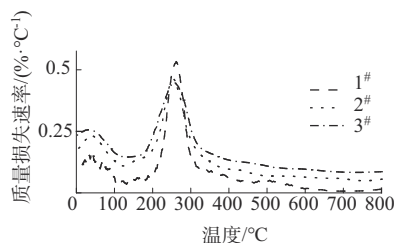


图9 不同比例壳聚糖/香草醛膜DTG图

在265 $^{\circ}\text{C}$,该温度体现了壳聚糖与香草醛交联密度达到最大值。DTG曲线显示在265 $^{\circ}\text{C}$ 时质量损失速率达到最大(0.5%/ $^{\circ}\text{C}$)。第二个台阶主要是 $\text{C}-\text{C}$ 键的断裂、 $\text{C}-\text{H}$ 断裂、 $\text{C}-\text{O}$ 断裂^[25]所致,质量进一步下降。Res为残留质量百分比,由表2可见1[#]膜的 T_s 最大,为85.554,说明热稳定性达到最好。

表2 壳聚糖/香草醛膜热降解典型指标

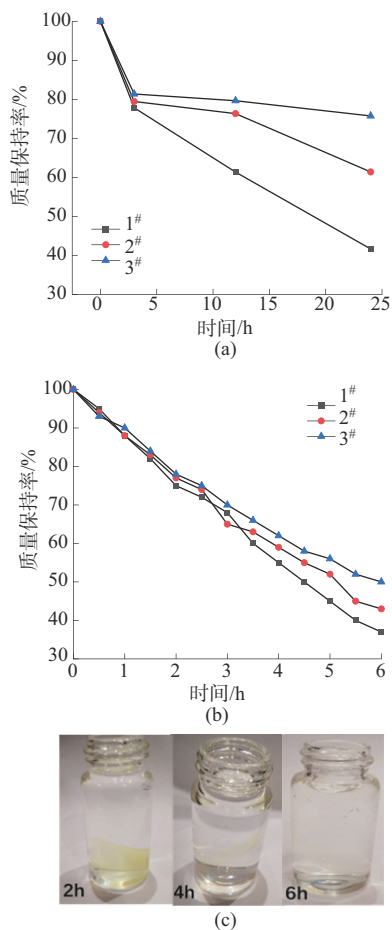
样品名	$T_5\text{°C}$	$T_{30\%}\text{°C}$	$T_{\text{max}}\text{°C}$	Res/%	T_s
3:1壳聚糖/香草醛膜	42	263	265	35	85.554
5:1壳聚糖/香草醛膜	29	240	254	38	76.244
7:1壳聚糖/香草醛膜	21	233	255	54	72.618

注: T_s 为热稳定指数, $T_s=0.49[T_5+0.6(T_{30\%}-T_5)]$; T_5 为热失重5%时的温度; $T_{30\%}$ 为热失重30%时的温度; T_{max} 为材料产生最大质量损失速率时对应的温度;Res为材料升温至800 $^{\circ}\text{C}$ 后,材料分解后残留的质量百分比。

2.7 壳聚糖/香草醛膜的降解性能测试

在模拟感染伤口环境的条件^[26]下,根据24 h内的质量损失评估壳聚糖/香草醛膜的生物降解行为。即依次将1[#],2[#],3[#]膜切成正方形的小块并称重,分别放入3个5 mL样品瓶中各加入5 mL pH=8.0 Tris-HCl缓冲液,加入溶菌酶1 mg于37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温酶解。选择溶菌酶是因为它存在于伤口液中,并且能够将壳聚糖水解成低聚物。如图8a所示,生物降解发生在三个不同降解速率的阶段。图10为壳聚糖/香草醛物质的量比分别为3:1,5:1,7:1的膜降解性能测试图。由图10a可知,第一阶段的前3小时内,1[#],2[#],3[#]样品的质量突然分别下降了22%,21%,20%。在接下来第二阶段的9 h,生物降解以较慢的方式继续,壳聚糖/香草醛膜的质量损失率分别为15%,3%,1%。此外,在接下来第三阶段的12 h里,1[#],2[#],3[#]膜的质量损失率分别为20%,15%,4%。第一阶段的质量损失大与溶菌酶催化的连续N-乙酰-D-葡萄糖胺单元之间的 $\text{O}-\text{C}$ 键断裂有关,导致壳聚糖低聚物及其扩散到介质中。溶菌酶加速壳聚糖降解是以内切方式作用于壳聚糖,切断壳聚糖糖链上的 β -1,4糖苷键^[27]。第一阶段的大量质量损失与溶菌酶催化的连续N-乙酰-D-葡萄糖胺单元之间的 $\text{O}-\text{C}$ 键断裂有关,导致壳聚糖低聚物及其扩散到介质中^[28]。第二阶段预计溶菌酶催化的 $\text{O}-\text{C}$ 键的断裂及亚胺键的断裂所致。第三阶段是溶菌酶导致的 $\text{O}-\text{C}$ 键的断裂和壳聚糖的溶解侵蚀所致^[29]。

研究壳聚糖/香草醛膜在乙酸溶液中降解趋势。分别称取0.1 g的1[#],2[#],3[#]膜放入20 mL 5%乙酸溶液中观察其降解行为。由膜浸入乙酸溶液后,发生



a—壳聚糖/香草醛膜在溶菌酶中的降解趋势;
b—壳聚糖/香草醛膜在乙酸中的降解趋势;
c—1[#]膜在乙酸中的2,4 h和6 h降解形态照片

图10 壳聚糖/香草醛膜的降解性能测试图

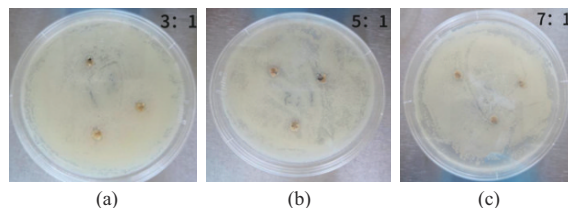
溶胀降解,每隔0.5 h,将溶胀降解的膜过滤、干燥后称量,计算膜的质量损失比例。

如图10b所示,膜降解发生在三个不同降解速率的阶段。因此,第一阶段的前2 h,1[#],2[#],3[#]膜的质量分别下降了25%,23%,22%(见图10b)。在接下来第二阶段的2 h,乙酸降解以较慢的方式继续,壳聚糖/香草醛膜的质量损失分别为20%,18%,16%。此外,在接下来第三阶段的2 h里,1[#],2[#],3[#]膜质量损失率为18%,16%,12%。第一阶段的质量损失大于乙酸和壳聚糖/香草醛膜接触溶胀降解成壳聚糖低聚物扩散到介质中^[30];第二阶段乙酸与席夫碱结构发生可逆反应,导致亚胺键的断裂所致;第三阶段是由于O—C键的断裂和壳聚糖的溶解侵蚀所致。

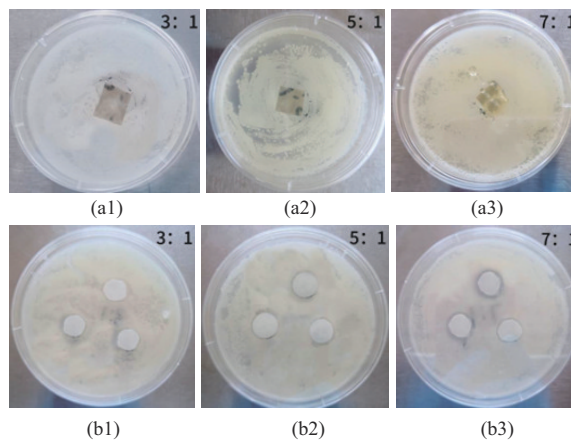
2.8 抗微生物活性

通过圆盘扩散法^[31]对大肠杆菌 ATCC25922 进行抑菌试验,如图11所示。将壳聚糖/香草醛膜剪成8 mm×8 mm正方形膜片,贴敷在已涂布菌液的

LB培养基平板中央,从图12a1~图12a3可以观察到膜上没有生长大肠杆菌,说明膜本身具有一定的抑菌效果。由于膜本身的抑菌成分无法有效向外围扩散,所以外围抑菌圈不显著。



a—1[#];b—2[#];c—3[#]
图11 不同壳聚糖/香草醛膜粉抑菌效果



方片:a1—1[#];a2—2[#];a3—3[#]
圆片:b1—1[#];b2—2[#];b3—3[#]

图12 壳聚糖/香草醛膜抑菌效果

表3为不同壳聚糖/香草醛膜粉抑菌圈直径数据。由表3可见,随着香草醛比例的增加,膜粉的抑菌率有所下降,这是由于壳聚糖本身带有的氨基在微生物抑制中起到重要的作用,而壳聚糖和香草醛反应占据一定比例的胺基,从而表现出随着香草醛的加入量的增长,抑菌率略有下降。因此,进一步增强壳聚糖/香草醛膜的抑菌率可以考虑引入抑菌效果更强的基团,以协同增强壳聚糖本身的抑菌作用。

表3 不同壳聚糖/香草醛膜粉抑菌圈直径数据

样品	d_1/mm	d_2/mm	d_3/mm	$d_{\text{平均}}/\text{mm}$	$d_{\text{孔}}/\text{mm}$	抑菌率/%
纯壳聚糖	6.00	6.00	7.00	6.33	4.00	
1 [#]	7.00	7.00	8.33	7.44	4.00	33.72
2 [#]	8.00	8.00	7.00	7.66	4.00	36.34
3 [#]	8.00	8.00	8.00	8.00	4.00	41.75

注:抑菌圈直径=抑菌圈外径-打孔直径。

将灭菌滤纸圆片(5 mm)吸取足量壳聚糖/香草醛制膜液,贴敷在经染菌LB培养基平板中央,放置37℃培养箱中孵育24 h,观察微生物生长状况,如

图 12b1~图 12b3 所示。

表 4 为不同壳聚糖/香草醛制膜液抑菌圈直径数据。从表 4 数据可知,壳聚糖/香草醛制膜液由于液体扩散作用良好,3:1,5:1,7:1 三种比例壳聚糖/香草醛制膜液的抑菌率可达 85.54%, 88.23% 和 88.53%,具有良好的抑菌效果。

表 4 不同壳聚糖/香草醛制膜液抑菌圈直径数据

样品	d_1/mm	d_2/mm	d_3/mm	$d_{\text{平均}}/\text{mm}$	d_H/mm	抑菌率/%
纯壳聚糖	6.00	6.00	7.00	6.33	5.0	
1 [#]	15.00	13.00	14.60	14.20	5.00	85.54
2 [#]	15.00	16.00	16.00	16.30	5.00	88.23
3 [#]	17.00	16.00	17.00	16.60	5.00	88.53

注:抑菌圈直径=抑菌圈外径-圆片直径。

3 结论

(1)采用浇注法制备不同比例的壳聚糖/香草醛膜,FTIR 分析表明壳聚糖的胺基与香草醛的醛基发生反应,形成席夫碱结构。

(2)力学性能分析表明,随着香草醛比例的增加,壳聚糖/香草醛膜的拉伸强度逐渐增强,最大可达 5.5 MPa;随着香草醛用量增加,壳聚糖膜整体热稳定性有所提高,热重损失有所降低。

(3)不透明度分析表明,随着香草醛添加量的增大,壳聚糖膜的透光性逐渐降低,透光率低至 49.58%,壳聚糖膜具备合适的透光性,便于观察伤口情况。

(4)体外溶菌酶酶解实验考察壳聚糖/香草醛膜在溶菌酶溶液中酶解 24 h 的质量损失率可达 58%。非常适合用作皮肤伤口敷料且具有优良的可降解性能。乙酸降解实验发现,壳聚糖/香草醛膜 6 h 即可被溶胀降解达 50%,具有显著的酸降解特性。

(5)抗微生物活性试验分别考察壳聚糖/香草醛制膜液、膜粉、膜片等三种形式,对大肠杆菌的抑菌效果,发现制膜液的扩散作用良好,具有显著的抑菌效果。壳聚糖/香草醛膜粉由于没有充分的液体浸润,无法有效快速扩散,壳聚糖/香草醛膜粉的抑菌率稍低。壳聚糖/香草醛膜片上没有生长大肠杆菌,说明壳聚糖/香草醛膜本身具有一定的抑菌效果。

总之,壳聚糖、香草醛属于可食用材料,开发新型可降解壳聚糖香草醛抗菌膜,有望用于抗菌止血的伤口敷料、可食用包装材料等领域,为天然食品级可降解伤口敷料开拓了新途径。为了进一步提升壳聚糖/香草醛膜的抑菌性能,可以考虑进一步改

性,引入抑菌效果更强的基团,以协同增强壳聚糖膜的抑菌作用。

参考文献

- [1] Wang Liang, Wang Wenping, Liao Jiangui, et al. Novel bilayer wound dressing composed of SIS membrane with SIS cryogel enhanced wound healing process[J]. Materials Science & Engineering C, 2018, 85:162–169.
- [2] Sun Wei, Huang Liangliang, Zhang Peihua. Preparation and properties of chitosan/polyvinyl alcohol blended fiber membrane for medical dressing[J]. Journal of Donghua University: English Edition, 2019, 36(5):466–470.
- [3] 王彩. 生物基可降解聚氨酯的制备及结构与性能调控[D]. 北京: 北京科技大学, 2017.
Wang Cai. Preparation and structure and performance regulation of biodegradable polyurethane based on biomaterials[D]. Beijing: Beijing University of Science and Technology, 2017.
- [4] 田梦. 金属有机框架/水凝胶复合敷料的制备及其在伤口愈合中的应用[D]. 北京: 北京科技大学, 2023.
Tian Meng. Preparation of metal organic framework/hydrogel composite dressing and its application in wound healing[D]. Beijing: Beijing University of Science and Technology, 2023.
- [5] 罗华丽, 王琳玲. 壳聚糖微球在环境修复中的应用研究进展[J]. 环境科学与技术, 2021, 44(12):23–29.
Luo Huali, Wang Linling. Research progress on the application of chitosan microspheres in environmental remediation[J]. Environmental Science and Technology, 2021, 44(12):23–29.
- [6] Mariana A M, Finn L A, Anne T, et al. Chitosan as a wound dressing starting material: Antimicrobial properties and mode of action [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(23). DOI: 10.3390/ijms20235889.
- [7] Bratskaya S, Privar Y, Skatova A, et al. Carboxyalkylchitosan-based hydrogels with “imine clip”: Enhanced stability and amino acids-induced disassembly under physiological conditions[J]. Carbohydrate Polymer. 2021, 274. DOI: 10.1016/j.carbpol.2021.118618.
- [8] 黄小敏. 天然单醛交联壳聚糖包埋 VE 微胶囊的制备及应用性能研究[D]. 上海: 东华大学, 2022.
Huang Xiaomin. Study on the preparation and application performance of natural monoaldehyde crosslinked chitosan encapsulated VE microcapsules[D]. Shanghai: Donghua University, 2022.
- [9] 王蒙, 李澜鹏, 张全, 等. 生物法制备甲壳素/壳聚糖的研究进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(4):213–222.
Wang Meng, Li Lanpeng, Zhang Quan, et al. Research progress in the preparation of chitin/chitosan by biological methods[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(4):213–222.
- [10] 董智哲. 香草兰挥发性成分鉴定及提取研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
Dong Zhizhe. Identification and extraction of volatile components from vanilla[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014.
- [11] 邓劲, 李廷华, 朱海, 等. 不同构型精氨酸改性壳聚糖水凝胶促

- 皮肤创面的修复[J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(10): 1 497–1 504.
- Deng Jin, Li Tinghua, Zhu Hai, et al. Arginine modified chitosan hydrogels with different configurations promote the repair of skin wounds[J]. China Tissue Engineering Research, 2024, 28(10): 1 497–1 504.
- [12] 韩刚, 王成强, 高远, 等. 格列美脲壳聚糖贴剂的制备及经皮渗透研究[J]. 中国新药杂志, 2011, 20(5): 456–458.
- Han Gang, Wang Chengqiang, Gao Yuan, et al. Preparation and transdermal permeation of glimepiride chitosan patch[J]. Chinese Journal of New Drugs, 2011, 20(5): 456–458.
- [13] 秦聪聪, 汪伟, 谢锐, 等. 改性壳聚糖/海藻酸止血海绵的制备及其快速凝血性能研究[J]. 现代化工, 2023, 43(4): 125–129.
- Qin Congcong, Wang Wei, Xie Rui, et al. Preparation and rapid coagulation performance of modified chitosan/alginate hemostatic sponge[J]. Modern Chemical Industry, 2023, 43(4): 125–129.
- [14] 陈淑花, 孙婷婷, 于驰, 等. 氧化微晶纤维素-壳聚糖薄膜状敷料制备与表征[J]. 工程塑料应用, 2020, 48(8): 28–35.
- Chen Shuhua, Sun Tingting, Yu Chi, et al. Preparation and characterization of oxidized microcrystalline cellulose-chitosan film dressing[J]. Engineering Plastics Application, 2020, 48(8): 28–35.
- [15] Uddin G S, Saha S, Karmaker S, et al. Adsorption of cefixime trihydrate onto chitosan 10b from aqueous solution: Kinetic, equilibrium and thermodynamic studies[J]. Cellulose Chemistry Technology, 2021, 55: 771–784.
- [16] Ohmori H, Matsumoto A, Masui M, et al. Anodic oxidation of schiff bases derived from 2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde[J]. Journal of The Electrochemical Society, 2019, 124(12): 1 849.
- [17] Manuela M I, Irina R, Andreea I S, et al. Chitosan crosslinking with a vanillin isomer toward self-healing hydrogels with antifungal activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 205: 574–586.
- [18] Netoa C G T, Giacomettib J A, Jobb A E, et al. Thermal analysis of chitosan based networks[J]. Carbohydrate Polymer, 2005(26): 97–103.
- [19] 王保营, 马发来, 康星雅, 等. 氧化微晶纤维素交联壳聚糖复合膜的制备及性能[J]. 包装工程, 2023, 44(13): 27–34.
- Wang Baoying, Ma Falai, Kang Xingya, et al. Preparation and properties of oxidized microcrystalline cellulose crosslinked chitosan composite film[J]. Packaging Engineering, 2023, 44(13): 27–34.
- [20] 罗华丽, 何婵, 周树学, 等. 水下超疏油涂层的研究现状与评述[J]. 涂料工业, 2016, 46(9): 80–87.
- Luo Huali, He Chan, Zhou Shuxue, et al. Research status and review of underwater super hydrophobic coatings[J]. Coatings Industry, 2016, 46(9): 80–87.
- [21] 杨林杰, 周闯, 杨子明, 等. 不同酚羟基基数目羟基苯甲酸的复合对壳聚糖膜性能的影响[J]. 现代食品科技, 2023(8): 1–9.
- Yang Linjie, Zhou Chuang, Yang Ziming, et al. The effect of hydroxybenzoic acid with different phenolic hydroxyl numbers on the performance of chitosan membranes[J]. Modern Food Technology, 2023(8): 1–9.
- [22] 刘长霞, 金儒颖, 董翠芳, 等. 醛-亚胺-壳聚糖水凝胶的构筑及性能研究进展[J]. 精细化工, 2021, 38(5): 865–873.
- Liu Changxia, Jin Ruying, Dong Cuifang, et al. Research progress on the construction and properties of aldehyde imine chitosan hydrogel[J]. Fine Chemical Industry, 2021, 38(5): 865–873.
- [23] Hongnan Z, Mengting C, Tingting Z, et al. Eco-friendly composite nanofibrous membranes loaded with chitosan microcapsules for enhanced antibacterial and deodorant application[J]. Polymer, 2023, 283. DOI:10.1016/j.polymer.2023.126249.
- [24] 徐佳伟, 郭泽江, 王振宇, 等. 半纤维素/壳聚糖复合凝胶的制备及性能研究[J]. 中国造纸, 2022, 41(7): 34–40.
- Xu Jiawei, Guo Zejiang, Wang Zhenyu, et al. Preparation and properties of hemicellulose/chitosan composite gel[J]. China Paper, 2022, 41(7): 34–40.
- [25] Ailincui D, Rosca I, Morariu S, et al. Iminoboronate-chitooligosaccharides hydrogels with strong antimicrobial activity for biomedical applications[J]. Carbohydrate Polymer, 2022, 276. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118727.
- [26] 姜文欣. 海洋细菌中几丁质氧化降解通路研究[D]. 济南: 山东大学, 2022.
- Jiang Wenxin. Study on the oxidative degradation pathway of chitin in marine bacteria[D]. Jinan: Shandong University, 2022.
- [27] Marin L, Moraru S, Popescu M C, et al. Out-of-water constitutional self-organization of chitosan-cinnamaldehyde dynagels[J]. Chemical Europe Journal, 2014, 20: 4 814–4 821.
- [28] Hirano S, Tsuchida H, Nagao N. N-acetylation in chitosan and the rate of its enzymic hydrolysis[J]. Biomaterials, 1989(10): 574–576.
- [29] Goy R C, Britto D de, Assis O B G, et al. A review of the antimicrobial activity of chitosan[J]. Polímeros, 2009, 19(3): 241–247.
- [30] 刘佳禾, 王晨曦, 张晟宝, 等. 茶多酚-壳聚糖活性保鲜膜的制备及其稳定性研究[J]. 农业技术与装备, 2023(5): 93–96.
- Liu Jiahe, Wang Chenxi, Zhang Shengbao, et al. Preparation and stability study of tea polyphenol chitosan active preservation film[J]. Agricultural Technology and Equipment, 2023(5): 93–96.
- [31] Li Congwei, Marin Luminita, Cheng Xinjian. Chitosan based macromolecular probes for the selective detection and removal of Fe^{3+} ion[J]. International Journal of Biological Macromolecules Structure Function & Interactions, 2021(186): 303–313.