

水降解材料聚乙烯醇包装薄膜的生物安全性评价

李丹¹, 缪朝玉², 汪东昇², 缪玉恩², 王昱³, 陈世昌³, 孟鲁建⁴

(1.海军特色医学中心, 上海 200433; 2.上海海军军医大学, 上海 200433;
3.南京恒世昌新材料科技有限公司, 南京 210019; 4.32298 部队医院, 山东潍坊 261041)

摘要:目的对制备的水降解材料聚乙烯醇包装薄膜进行溶解度测试,并用薄膜降解溶液对小鼠进行急性毒性实验以评价其生物安全性。方法将水降解材料聚乙烯醇包装薄膜和水按照一定比例进行分装,通过范围分析和定量分析确定薄膜在水中的溶解度。根据溶解度对 ICR 小鼠设置 9, 3, 1 g/kg 的浓度梯度实验组,对 C57 小鼠设置薄膜可溶解浓度最大的 9 g/kg 灌胃实验组,随后根据 GB 15193.3—2014 进行小鼠急性毒性研究。结果水降解材料聚乙烯醇包装薄膜与水的溶解比例约为 1 g : 110 g,溶解度约为 9 g/kg。在 14 d 的急性毒性实验观察期内,小鼠均未出现急性毒性反应及死亡现象,且小鼠的体质量无明显变化。结论该水降解材料聚乙烯醇包装薄膜具有良好的生物安全性。

关键词:水降解材料; 聚乙烯醇; 包装薄膜; 急性毒性

中图分类号: TB484 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2019)21-0087-07

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2019.21.013

Biosafety Evaluation of Polyvinyl Alcohol Packaging Film of Water-degradable Material

LI Dan¹, MIAO Chao-yu², WANG Dong-sheng², MIAO Yu-en²,
WANG Yu³, CHEN Shi-chang³, MENG Lu-jian⁴

(1.Naval Special Medical Center, Shanghai 200433, China;
2.Shanghai Naval Medical University, Shanghai 200433, China;
3.Nanjing Hengshichang New Material Technology Limited Company, Nanjing 210019, China;
4.32298 Military Hospital, Weifang 261041, China)

ABSTRACT: The work aims to test the solubility of polyvinyl alcohol packaging film of water-degradable material, and to evaluate its biological safety by acute toxicity test in mice with film-degrading solution. Polyvinyl alcohol packaging film and water were separated according to a certain proportion. The solubility of the film in water was determined by rough measurement and fine measurement. The ICR mice were divided into 9, 3, 1 g/kg concentration gradient groups according to solubility, and the C57 mice were set as the gavage group with the maximum soluble concentration of film of 9 g/kg. Then, the acute toxicity was studied according to GB15193.3—2014 standard. The solubility ratio of water-degradable polyvinyl alcohol packaging film to water was about 1 g : 110 g and the solubility was about 9 g/kg. During the 14-day observation period of acute toxicity test, no acute toxicity reaction and death occurred in the experimental mice, and there was no significant change in body weight. The polyvinyl alcohol packaging film of water-degradable material has good biological safety.

KEY WORDS: water-degradable material; polyvinyl alcohol; packaging film; acute toxicity

收稿日期: 2019-05-17

作者简介: 李丹(1982—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品工程及包装。

通信作者: 孟鲁建(1977—), 男, 学士, 主治医师, 主要研究方向为临床医学。

虽然很多新型材料的使用使人类的生活更便捷,但也带来了大量的污染废弃物,从而加速了环境的恶化。随着能源与环境等问题的日益突出,可降解材料的研发与生产引起了人们的广泛关注,其是解决环境污染问题极为有效的途径,且会对人类的生存、健康与发展起到重要的作用^[1-2]。可降解材料的研究是一个集环境科学、高分子化学和医学研究为一体的全新领域^[3],其开发和应用已日益受到政府、企业和科研机构的重视。近年来可降解高分子材料的研发已经发展成为高分子领域的热点之一,其具有优良的生物相容性,且质量轻、价格低廉、不污染环境、化学稳定性好、生物可降解,因此应用领域也很广泛,例如农业、医学领域、建材业等。特别是在水环境领域,可降解高分子材料起着十分关键的作用^[4-7]。然而,材料溶解于水体后,降解的成分残留于水体中,被动植物、人类重新使用,也带来了新的环保问题、安全问题。

聚乙烯醇(Polyvinyl Alcohol, PVA)是线型分子,化学性质稳定,形成材料后机械强度较高;此外,分子中的羟基使其具有高度亲水性,属于水溶性聚合物;也可形成非常强韧、耐撕裂、耐磨损的膜^[8-12]。PVA材料具有良好的水降解性能,能被分解成水和二氧化碳,对环境无污染^[13-16],同时还具有一些特殊的优异性能,如气体阻隔性、水溶性、耐有机溶剂性、透明性、强韧性、抗静电性、防尘性等,能够满足不同行业对材料的多种要求,因此在国内外引发了开发和应用的热潮^[17-19]。综上,文中针对自主开发生产的PVA包装薄膜,按照GB 15193.3—2014的要求进行小鼠急性毒性研究,对其生物安全性进行评价,为该水降解材料PVA包装薄膜的生产和使用提供根据,以保证该材料的生物安全性。

1 实验

1.1 材料

ICR小鼠,SPF级,繁育单位为斯莱克全资子公司,上海灵畅生物科技有限公司;C57BL/6小鼠(简称C57小鼠),SPF级,繁育单位为斯莱克全资子公司,上海灵畅生物科技有限公司;繁殖饲料(辐照灭菌),上海普路腾生物科技有限公司。

1.2 水降解材料PVA包装薄膜溶解度测试

1) 实验材料分装。用酒精消毒桌面,准备好塑料封口保鲜袋,取一大张实验材料先剪下一块大约1g的薄膜,边称量边剪裁至1g,按照此块薄膜为原型,剪裁同样大小约1g的薄膜,剪裁完后放入封口保鲜袋。

2) 溶解度分析。先进行范围分析,设置样品质量与水的质量比为1:10,1:100,1:1000等3个

组别(单位为g),记为1/10组、1/100组、1/1000组。样品质量都为0.5g,溶剂水的体积分别为5,50,500g。放置在温度为50℃的水浴槽内溶解。然后根据范围分析结果设置合理的溶解度范围进行定量分析。

1.3 小鼠急性毒性实验

1.3.1 实验动物饲养、管理条件

1) 环境条件。饲养房间温湿度:温度为20~26℃,相对湿度为40%~70%;换气次数:40~80次/h;照明时间:12h/d;清扫及消毒:动物笼1周更换1次,并经高压水冲洗和巴士消毒液浸泡消毒。

2) 饲养条件。饲养鼠笼为IVC系统笼盒;饲养密度为5只小鼠/盒;给饲料方法为持续供给,自由摄取;给水方法为自来水装入饮水瓶,持续供给,自由摄取。

3) 饲料。种类为繁殖饲料(辐照灭菌);制造单位为上海普路腾生物科技有限公司;产品标准编号为Q31/0117000777C001—2017;饲料主要成分为鱼粉、小麦、玉米、豆乳、麸皮、维生素、矿、氨基酸等;饲料污染物含量合格;饲料储存在通风清洁干燥防晒处。

1.3.2 动物的分组及识别

1) ICR小鼠。ICR小鼠,SPF级。实验重复性较好,国际通用,已广泛用于药理、毒理、食品等的科研、生产和教学。环境适应及饲养:ICR小鼠1周(含购入日)左右进行环境适应及饲养。给药时质量:23~30g。分组:分为给药组与溶媒对照组,雌雄分别分组。动物数:ICR小鼠共70只,分4组;溶媒对照组10只,给药组1、给药组2、给药组3各20只,雌雄各半(其中多余的2雄2雌备用)。实验动物的标记方法:对小鼠尾巴进行编号并分笼区分。分笼:先将雌雄各37只小鼠分别放置于2个大饲养笼中;再将1个大笼中的37只雄鼠按照发牌式循环发放法分别发放至7只IVC笼盒中,每笼包含5只,剩余2只备用,实验组随机选2笼雄鼠为1组,共6笼3组,对照组一笼雄鼠为1组。雌鼠分笼方法同上。实验笼子的标记方法:分笼后,用动物信息卡进行组别区分,并注明动物性别、动物编号、给药方式、组别、实验人员等。

2) C57小鼠。C57BL/6小鼠(简称C57小鼠),SPF级。实验重复性较好,国际通用,已广泛用于药理、毒理、食品等的科研、生产和教学。环境适应及饲养:含购入日2周左右进行环境适应及饲养。给药时体质量:17~24g。分组:分为给药组与溶媒对照组,雌雄分别分组。动物数:共32只,分2组,溶媒对照组10只,给药组20只,雌雄各半(其中多余的1雄1雌备用)。实验动物的标记方法:对小鼠尾巴进行编号并分笼区分。分笼:先将雌雄各16只小

鼠分别放置于 2 个大饲养笼中;再将 1 个大笼中的 16 只雄鼠按照发牌式循环发放法分别发放至 3 只 IVC 笼盒中,每笼包含 5 只,剩余 1 只备用,实验组随机选 2 笼雄鼠为 1 组,共 2 笼 1 组,对照组 1 笼雄鼠为 1 组。雌鼠分笼方法同上。

实验笼子的标记方法:分笼后,用动物信息卡进行组别区分,并注明动物性别、动物编号、给药方式、组别、实验人员等。

1.3.3 给药途径和方法

1) 剂量设计。根据水降解 PVA 薄膜的溶解度(约为 9 g/kg),对 ICR 小鼠设置了 3 个浓度梯度来进行毒性测试:9 g/kg 的为实验组 1,3 g/kg 的为实验组 2,1 g/kg 的为实验组 3;溶媒对照组为纯水。对于 C57 小鼠,文中设置了薄膜可溶解的最大浓度来进行毒性测试:9 g/kg 为实验组;溶媒对照组为纯水。

2) 给药途径及容积。灌胃,单次灌胃容积为 0.05 mL/g (最大体积灌胃)。

3) 给药的时间、频度、时程。给药前 12 h 禁食不禁水,给药当日上午给药 1 次,给药后观察 14 d。

1.3.4 实验操作、检查和测定

1) 一般症状的观察。观察次数:动物购入时和实验操作前对其进行外观体征、行为活动等方面的评测,剔除不良特例;给药后 4 h 内不间断观察动物的表现,此后上下午分别观察 1 次,持续观察 2 周。

观察内容:从外观体征、行为活动、排泄物性状和给药局部反应等方面观察动物的一般状态有无异常。观察、记录毒性症状的种类、性质、发生和恢复时间。

2) 体质量测量。测量时间:给药前、给药后第 7 天、给药后第 14 天各测定 1 次。用电子天平进行体质量测定。

3) 动物解剖及组织病理学检查。剖检例数:实验过程中濒死动物、死亡动物以及实验结束时异常动物均应进行大体解剖。若无这些情况,则不需要做解剖和组织病理学检查。剖检方法:对濒死动物、实验结束时异常动物进行麻醉处死,然后进行解剖;若动物死亡后则可以直接进行解剖。脏器固定保存:任何组织器官出现体积、颜色、质地等改变时,均应记录并对这些组织器官进行组织病理学检查。检查方法:固定后的组织经修块取材,逐级酒精脱水,石蜡包埋,滑动切片机切片(厚约 3~5 μm),随后经苏木素-伊红(HE)染色,光镜下进行检查。

2 实验结果

2.1 溶解度范围分析

1) 1/10 组。取 PVA 薄膜 0.5 g 溶于 5 g 水中,并

水浴保存于 50 °C 下。溶解 1 h 后底部有较多碎片状沉淀未溶解,2 h 后的状态和 1 h 时相似,底部沉淀多,见图 1。



图 1 0.5 g 样品溶于 5 g 水中溶解 2 h 后的结果
Fig.1 Result of 0.5 g sample dissolved to 5 g water after 2 h

2) 1/100 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 50 g 水中,并水浴保存于 50 °C 下。溶解 1 h 后底部有粉末状沉淀,2 h 后底部沉淀虽减少,但仍旧未完全溶解,见图 2 和图 3。

3) 1/1000 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 500 g 水



图 2 0.5 g 样品溶于 50 g 水中溶解 1 h 后的结果
Fig.2 Result of 0.5 g sample dissolved to 50 g water after 1 h



图 3 0.5 g 样品溶于 50 g 水中 2 h 后的结果
Fig.3 Result of 0.5 g sample dissolved to 50 g water after 2 h

中，并水浴保存于 50 °C 下。溶解 1 h 已无沉淀，溶液浑浊，见图 4。



图 4 0.5 g 样品溶于 500 g 水中 1 h 后的结果
Fig.4 Result of 0.5 g sample dissolved to 500 g water after 1 h

由图 1—4 可知，1/10 组的溶质不溶解，1/1000 组的溶质完全溶解，1/100 组的溶质并未完全溶解，仍有少量沉淀，因此 1 g 样品应在大于 100 g 的溶剂下溶解，故接下来设置 1/110 组、1/120 组、1/130 组、1/200 组、1/600 组，由于 1/100 组中的沉淀较少，故对 1/90，1/80 这 2 个组也进行测验，观察溶解情况。

2.2 溶解度定量分析

1) 1/80 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 40 g 水中，并水浴保存于 50 °C 下。1.5 h 后，底部有大量碎片状沉淀，见图 5。



图 5 0.5 g 样品溶于 40 g 水中 1.5 h 后的结果
Fig.5 Result of 0.5 g sample dissolved to 40 g water after 1.5 h

2) 1/90 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 45 g 水中，并水浴保存于 50 °C 下。1.5 h 后底部仍有少量碎片状沉淀，见图 6。

3) 1/110 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 55 g 水中，并水浴保存于 50 °C 下。1.5 h 后几乎完全溶解，见图 7。



图 6 0.5 g 样品溶于 45 g 水中 1.5 h 后的结果
Fig.6 Result of 0.5 g sample dissolved to 45 g water after 1.5 h



图 7 0.5 g 样品溶于 55 g 水中 1.5 h 后的结果
Fig.7 Result of 0.5 g sample dissolved to 55 g water after 1.5 h

4) 1/120 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 60 g 水中，并水浴保存于 50 °C 下。1.5 h 后几乎完全溶解，见图 8。



图 8 0.5 g 样品溶于 60 g 水中 1.5 h 后的结果
Fig.8 Result of 0.5 g sample dissolved to 60 g water after 1.5 h

5) 1/130 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 65 g 水中，并水浴保存于 50 °C 下。1.5 h 后几乎完全溶解，见图 9。



图 9 0.5 g 样品溶于 65 g 水中 1.5 h 后的结果
Fig.9 Result of 0.5 g sample dissolved to 65 g water after 1.5 h

6) 1/200 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 100 g 水中，并水浴保存于 50 °C 下。不到 1 h 几乎完全溶解，见图 10。



图 10 0.5 g 样品溶于 100 g 水中 1 h 后的结果
Fig.10 Result of 0.5 g sample dissolved to 100 g water after 1 h

7) 1/600 组。取 0.5 g PVA 薄膜溶于 300 g 水中，并水浴保存于 50 °C 下。不到 1 h 几乎完全溶解，见图 11。



图 11 0.5 g 样品溶于 300 g 水中 1 h 后的结果
Fig.11 Result of 0.5 g sample dissolved to 300 g water after 1 h

由图 5—11 可知，溶质在质量比为 1 : 80, 1 : 90, 1 : 100 下不能完全溶解；在质量比为 1 : 110, 1 : 120, 1 : 130, 1 : 200, 1 : 600 下均能溶解，故溶质的溶解比约为 1 : 110，薄膜的溶解度约为 9 g/kg。

2.3 小鼠急性毒性

1) 动物表现。在 14 d 的急性毒性实验中，ICR 小鼠和 C57 小鼠的薄膜实验组均未出现任何毒性反应以及死亡现象，实验组动物表现特征均与溶媒对照组基本相同。

2) 体重数据。ICR 小鼠与 C57 小鼠的体质量见表 1—2，与对照组相比，水降解 PVA 薄膜对小鼠体质量无明显影响。

表 1 水降解 PVA 薄膜灌胃对 ICR 小鼠体质量的影响
Tab.1 Effect of water-degradable film of polyvinyl alcohol on body weight of ICR mice

性别	组别和例数	ICR小鼠体质量/g		
		给药前	给药后第7天	给药后第14天
雄性	对照组 (n=5)	26.4±1.0	29.0±0.8	32.1±1.3
	薄膜1/1000 (n=10)	27.8±1.0	30.7±1.3	34.0±1.3
	薄膜3/1000 (n=10)	27.6±0.9	30.2±1.0	33.8±1.0
	薄膜9/1000 (n=10)	28.1±1.1	30.6±0.9	33.6±0.9
雌性	对照组 (n=5)	25.0±0.6	27.4±0.8	29.9±0.9
	薄膜1/1000 (n=10)	24.9±1.2	28.3±2.8	31.1±3.0
	薄膜3/1000 (n=10)	26.6±0.8	29.2±0.9	32.7±0.8
	薄膜9/1000 (n=10)	24.2±0.8	26.6±0.9	29.4±1.0

注：数据以“均数±标准差”表示

表2 水降解PVA薄膜灌胃对C57小鼠体质量的影响
Tab.2 Effect of water-degradable film of polyvinyl alcohol on body weight of C57 mice

性别	组别和例数	C57小鼠体质量/g		
		给药前	给药后第7天	给药后第14天
雄性	对照组 (n=5)	22.8±0.5	26.0±0.4	29.2±0.4
	薄膜9/1000 (n=10)	22.5±0.7	25.7±1.1	28.8±1.0
雌性	对照组 (n=5)	17.5±1.1	19.7±1.2	22.8±1.3
	薄膜9/1000 (n=10)	17.6±0.8	20.0±1.1	23.0±1.0

注：数据以“均数±标准差”表示

3 结语

根据 GB 15193.3—2014 进行了一系列的小鼠急性毒性实验，对制备可降解材料 PVA 包装薄膜的水解产物进行了评价。结果表明，此种可降解材料 PVA 包装薄膜的水解产物无毒，具有可靠的生物安全性，为该水降解材料 PVA 的制造和应用提供了依据，是良好的包装薄膜材料。

参考文献：

- [1] 邓开发, 陈新, 汪涛, 等. 包装的安全性和毒性机理研究[J]. 包装工程, 2002, 23(1): 28—29.
DENG Kai-fa, CHEN Xin, WANG Tao, et al. Study on Safety and the Mechanism of Toxicity of Packaging[J]. Packaging Engineering, 2002, 23(1): 28—29.
- [2] 黎燕, 卢伟. 纳米材料生物安全性评价的研究进展[J]. 环境与职业医学, 2007, 24(3): 346—349.
LI Yan, LU Wei. Development of Research on the Bio-safety Evaluation of Nanomaterials[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2007, 24(3): 346—349.
- [3] SUURONEN R, KONTIO R, ASHAMMAKHI N, et al. Bioabsorbable Self-reinforced PVAtes and Screws in Craniomaxillofacial Surgery[J]. Bio-medical Materials and Engineering, 2004, 14(4): 517—524.
- [4] 张磊, 郎建峰, 牛姗姗. 可生物降解材料在水环境领域中的研究进展[J]. 资源节约与环保, 2010(3): 41—43.
ZHANG Lei, LANG Jian-feng, NIU Shan-shan. Research Progress of Biodegradable Materials in Water Environment[J]. Resource Conservation and Environment Protection, 2010(3): 41—43.
- [5] YAMAGUCHI Y, TAKENAGA M, KITAGAWA A, et al. Insulin-loaded Biodegradable PLGA Microcapsules: Initial Burst Release Controlled by Hydrophilic Additives[J]. Journal of Controlled Release, 2002, 81(3): 235—249.
- [6] ZHOU H, LIANG Y. Biosafety and Biocompatibility of a Variety of Biological Materials[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2009(38): 7559—7562.
- [7] 许文才, 刘鹏, 李东立, 等. 可降解抑菌功能薄膜的制备及性能研究[J]. 包装工程, 2015(11): 1—4.
XU Wen-cai, LIU Peng, LI Dong-li, et al. Preparation and Properties of Biodegradable and Controllable Bacteriostatic Functional Films[J]. Packaging Engineering, 2015(11): 1—4.
- [8] 李娜, 刘忠洲. 耐污染膜—PVA 膜的研究进展[J]. 膜科学与技术, 1999(3): 1—7.
LI Na, LIU Zhong-zhou. Research Progress of Pollution Resistant Membrane-polyvinyl Alcohol Membrane[J]. Membrane Science and Technology, 1999(3): 1—7.
- [9] CHEN C C, MENG C C, SUN Y. PVA: A Self-adaptive Personal View Agent[J]. Journal of Intelligent Information Systems, 2002, 18(2/3): 173—194.
- [10] WANG H, FANG P, ZHE C, et al. Synthesis and Characterization of CdS/PVA Nanocomposite Films[J]. Applied Surface Science, 2007, 253(20): 8495—8499.
- [11] 刘文霞, 徐冬美, 时芳芳, 等. 壳聚糖-PVA 共混膜的制备与性能[J]. 包装工程, 2016, 37(7): 40—44.
LIU Wen-xia, XU Dong-mei, SHI Fang-fang, et al. Preparation and Properties of Chitosan/PVA Blend Films[J]. Packaging Engineering, 2016, 37(7): 40—44.
- [12] 刘白玲, 曾祥成, 杨金华, 等. PVA 生物降解的影响因素[J]. 材料研究学报, 2000, 14(S1): 108—112.
LIU Bai-ling, ZENG Xiang-cheng, YANG Jin-hua, et al. The Influencing Factors of Polyvinyl Alcohol Biodegradation[J]. Chinese Journal of Materials Research, 2000, 14(S1): 108—112.
- [13] AND C M H, PEPPAS N A. Structure and Morphology of Freeze/Thawed PVA Hydrogels[J]. Macromolecules, 2000, 33(7): 2472—2479.
- [14] STAMMEN J A, WILLIAMS S, KU D N, et al. Mechanical Properties of a Novel PVA Hydrogel in Shear

- and Unconfined Compression[J]. *Biomaterials*, 2001, 22(8): 799—806.
- [15] TRIPATHI S, MEHROTRA G K, DUTTA P K. Physicochemical and Bioactivity of Cross-linked Chitosan-PVA Film for Food Packaging Applications[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2009, 45(4): 372—376.
- [16] 郭大刚, 徐可为. PVA 在生物医学工程中的应用研究进展[J]. *生物医学工程学杂志*, 2005, 22(3): 602—605.
- GUO Da-gang, XU Ke-wei. Advanced Applications of Polyvinyl Alcohol in Biomedical Engineering[J]. *Journal of Biomedical Engineering*, 2005, 22(3): 602—605.
- [17] 王婧, 苑会林, 马沛岚, 等. PVA 薄膜的生产及应用现状与展望[J]. *塑料*, 2005, 34(2): 16—21.
- WANG Jing, YUAN Hui-lin, MA Pei-lan, et al. Production, Application and Development of PVA Film[J]. *Plastic*, 2005, 34(2): 16—21.
- [18] CHANDAR S B, VEERAVAZHUTHI V, SAKTHIVEL S, et al. Growth, Structure, Dielectric and AC Conduction Properties of Solution Grown PVA Films[J]. *Thin Solid Films*, 1999, 348(1/2): 122—129.
- [19] 郝喜海, 彭笑. PVA 水溶性包装薄膜生物降解性研究[J]. *包装工程*, 2016(14): 7—10.
- HAO Xi-hai, PENG Xiao. Biodegradability of Water-soluble Polyvinyl Alcohol (PVA) Packaging Film[J]. *Packaging Engineering*, 2016(14): 7—10.