

# 壳聚糖接枝物与琼脂复合膜的制备及性能研究

陈淑花, 岳丽春, 张晶, 许利丽, 詹世平, 王景昌, 张晓琳  
(大连大学 环境与化学工程学院, 辽宁 大连 116622)

**摘要:** **目的** 以琼脂 (Agar) 和壳聚糖-氧化微晶纤维素接枝物 (CS-g-MCC(O)) 为原料制备海绵状薄膜, 探究薄膜在医用敷料领域的应用。**方法** 采用共混法将琼脂和壳聚糖-氧化微晶纤维素接枝物按不同体积比混合, 然后使用冷冻干燥法制得薄膜, 利用扫描电子显微镜对其多孔结构进行表征; 对薄膜的溶胀率、溶失率、水蒸气透过率以及力学性能进行检测。**结果** 制备出的海绵敷料形貌结构规整, 有明显的孔洞, 利于伤口排出代谢产物; 随着琼脂含量的增加, 海绵敷料的溶失率先减小后增加, 溶胀率、孔隙率、透湿量、拉伸强度和断裂伸长率先增加后减小。**结论** 海绵敷料各项性能都较为优异, 有利于伤口渗出液的吸收和细胞生长, 对伤口的愈合起到了重要作用, 促进了其在医用敷料领域的应用。

**关键词:** 琼脂; 壳聚糖; 氧化微晶纤维素; 接枝; 改性; 海绵状敷料

中图分类号: TB34 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2021)01-0077-06

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2021.01.010

## Preparation and Properties of Composite Membrane of Chitosan Graft and Agar

CHEN Shu-hua, YUE Li-chun, ZHANG Jing, XU Li-li, ZHAN Shi-ping,  
WANG Jing-chang, ZHANG Xiao-lin

(College of Environmental and Chemical Engineering, Dalian University, Dalian 116622, China)

**ABSTRACT:** The work aims to prepare a spongy film with agar and chitosan-oxidized microcrystalline cellulose graft (CS-g-MCC(O)) as raw materials, and study the application of film in surgical dressing. The agar and chitosan-oxidized microcrystalline cellulose grafts were mixed in different proportions by blending method, and then the film was obtained by freeze-drying method, and the porous structure was characterized by scanning electron microscope; the swelling ratio, dissolution rate, water vapor transmission rate and mechanical properties of the film were tested. The prepared sponge dressing had regular morphological structure and obvious pores, which were helpful for the discharge of metabolites in the wound; with the increase of the agar content, the dissolution rate of the sponge dressing decreased first and then increased. The swelling ratio, porosity, moisture permeability, tensile strength and elongation at break increased first and then decreased. Sponge dressing is relatively excellent in all properties. These excellent properties are beneficial to the absorption of wound exudate and the growth of cells, which plays an important role in wound healing and promote its application in medical dressing.

**KEY WORDS:** agar; chitosan; oxidized microcrystalline cellulose; grafting; modification; sponge dressing

收稿日期: 2020-06-08

基金项目: 大连市科技创新基金 (2018J12GX059)

作者简介: 陈淑花 (1976—), 女, 博士, 大连大学副教授, 主要研究方向为超临界绿色化工。

琼脂 (Agar) 是由 1,3 连结的  $\beta$ -D-半乳糖和 1,4 连结的 3,6-脱水  $\alpha$ -L-半乳糖的重复单元交替组成的线性多糖, 主要从大型海藻 (石花菜、红藻) 中提取, 具有良好的生物相容性及机械强度<sup>[1]</sup>。琼脂的凝胶化能力非常强, 由其制备的凝胶具有很好的组织相容性, 对人体无毒无害, 且强度大、性质稳定。其化学结构与海藻酸钠、壳聚糖等相似, 可用作皮肤创伤的敷料。琼脂与透明质酸、硫酸软骨素 (皮肤基质重要组成部分) 等结构相近, 因此被广泛应用于生物医用材料的研究<sup>[2-3]</sup>。对比其他多糖物质, 如壳聚糖, 发现琼脂溶解性及亲水性较好, 还具有良好的细胞亲和性; 与透明质酸 (皮肤基质的重要组成物质) 相比, 琼脂的成膜强度更好<sup>[4]</sup>。在水中溶解时, 琼脂与硬脂细胞网络形成了凝胶, 为三维多孔结构, 给细胞的粘附、扩散和增殖提供了良好环境。作为一种天然高分子生物材料, 琼脂因优异的生物性能, 在生物医学方面有着广泛应用, 如用作细胞培养微载体以及用于临床检验、制备先进的药物、进行生化分析 (核酸、酶、蛋白质、多糖以及抗原的分离纯化) 等<sup>[5-6]</sup>。

壳聚糖具有资源丰富、廉价易得等优点<sup>[7-13]</sup>, 通常存在于几种真菌和藻类的细胞壁中, 来源十分广泛。壳聚糖具有无刺激性、无致敏性、无致突变性以及良好的生物相容性, 还可抗菌止血。此外, 壳聚糖还可以促进细胞增长、繁殖, 并修复创伤。综上所述, 壳聚糖常被用于制备可降解保鲜膜<sup>[14]</sup>。氧化微晶纤维素具有比表面较大、强度高、密度低、无毒以及优良的生物相容性、血液相容性和生物降解性等特性, 并在溶液中具有有良好的分散性<sup>[15-16]</sup>。

文中以琼脂和自制的壳聚糖-氧化微晶纤维素接枝物为原料, 采用真空冷冻干燥方法制备琼脂与壳聚糖-氧化微晶纤维素接枝物的复合海绵状敷料, 预将其应用于皮肤敷料, 覆盖于受伤部位, 防止受伤部位二次感染, 促进受伤部位的愈合。通过扫描电子显微镜对该敷料的形貌进行观察, 主要探究琼脂含量对敷料的溶胀率、溶失率、水蒸气透过率以及力学性能的影响, 以期促进壳聚糖、氧化微晶纤维素和琼脂在生物医用领域的发展。

## 1 实验

### 1.1 试剂及仪器

主要材料: 壳聚糖-氧化微晶纤维素接枝物, 实验室自制; 琼脂粉, 分析纯, 天津市大茂化学试剂厂; 无水氯化钙, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 凡士林, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 冰醋酸, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

主要仪器: 电子天平, BS 200S, 北京赛多利斯天平有限公司; 冷冻干燥箱, FD-1A-50, 北京博医康

实验仪器有限公司; 数显外径千分尺, ISO 9001, 哈尔滨量具刃具集团有限公司; 哑铃裁刀, 裁刀尺寸 (宽×长) 为 6 mm×115 mm, 扬州市道纯试验机械厂; 透湿杯, YM-11B, 莱州元茂仪器有限公司; 扫描电子显微镜, QUANTA-450, FEI 公司; 电子万能试验机, WDT-W-20A, 承德精密试验机有限公司。

### 1.2 试样制备

准确称取一定量的琼脂放入去离子水中, 在 95 °C 下磁力搅拌, 使其充分溶解, 配制成质量分数为 4% 的琼脂溶液。

准确称量接枝率为 42.4% 的壳聚糖-氧化微晶纤维素, 将称量好的物质加入乙酸溶液 (体积分数为 2%) 中, 在 65 °C 下磁力搅拌至充分溶解, 配制成质量分数为 4% 的壳聚糖-氧化微晶纤维素溶液。

通过改变反应混合物中壳聚糖-氧化微晶纤维素溶液与琼脂溶液的体积比, 制备了不同的海绵敷料。在 70 °C 下, 将 2 种聚合物分别按 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9 的体积比混合在一起, 共混 1 h, 使其充分混合, 然后滴加 2~3 滴甘油, 并加热 0.5 h, 随后静置脱泡。由于琼脂在低温下具有自凝胶化性, 因此在室温条件下, 将此溶液静止一段时间, 可形成半透明的弹性凝胶。将此凝胶均匀流延至培养皿中, 先将其预冷冻, 然后真空冷冻干燥得到海绵状敷料。

### 1.3 测试与表征

#### 1.3.1 形貌表征

将薄膜裁剪成一定尺寸, 用导电胶粘合在电镜台上, 并对样品表面进行喷金处理, 用扫描电镜 (SEM) 观察薄膜断面的微观结构。测试过程中设定扫描电压为 15 kV。

#### 1.3.2 溶胀率测试

在室温下, 将干燥薄膜剪成大小为 20 mm×20 mm 的方形样品, 称其质量, 记为  $m_d$ 。将样品放入 PBS 溶液中, 静置 24 h, 使其达到溶胀平衡, 然后用滤纸除去薄膜表面多余的水, 称其质量, 记为  $m_s$ 。每组样品平行测定 3 次, 取平均值, 溶胀率 ( $S_R$ ) 按式 (1) 计算。

$$S_R = [(m_s - m_d) / m_d] \times 100\% \quad (1)$$

#### 1.3.3 溶失率测试

在室温下, 将干燥薄膜剪成大小为 20 mm×20 mm 的方形样品, 称其质量记为  $m_0$ 。将样品膜放入 PBS 溶液中, 并在 25 °C 的恒温水浴锅中放置 1 h, 随后取出薄膜将其放在 50 °C 的鼓风干燥箱中干燥至恒质量, 称其质量记为  $m_1$ 。每组样品平行测定 3 次, 取平均值, 溶失率 ( $F_S$ ) 按式 (2) 计算。

$$F_S = [(m_0 - m_1) / m_0] \times 100\% \quad (2)$$

### 1.3.4 孔隙率测试

使用失重法测量孔隙率<sup>[17]</sup>。具体操作:取一定面积的膜( $S$ 为面积,  $\text{cm}^2$ ), 在每个薄膜上随便取 4 个位置, 用千分尺测量其厚度, 记平均厚度为  $d$  ( $\text{cm}$ ); 在干燥条件下称其质量, 记为  $m_1$  ( $\text{g}$ ); 将该膜浸入纯水中, 1 h 后达到饱和状态, 用滤纸除去表面的水, 称其最终质量, 记为  $m_2$  ( $\text{g}$ )。每组样品平行测定 3 次, 取平均值, 孔隙率( $P$ )按式(3)计算。

$$P = [(m_2 - m_1) / (S \times d \times \rho)] \times 100\% \quad (3)$$

式中:  $\rho$  为水的密度 ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )。

### 1.3.5 水蒸气透过率测试

取 2 个称量瓶, 分别加入 2 g 无水氯化钙粉末, 称其质量, 分别记为  $m_a$ ,  $m_b$ 。剪切一块大小合适的海绵, 将其中 1 个瓶口封好, 随后将 2 个称量瓶都放入装有饱和氯化钠的密闭容器中, 不要沾到溶液, 24 h 后将其取出, 把封口海绵取下, 称其质量, 记为  $m_c$ ; 称量无海绵封口瓶的质量, 记为  $m_e$ 。每组样品平行测定 3 次, 取平均值, 水蒸气透过率按式(4)计算<sup>[18]</sup>。

$$\theta = \frac{m_c - m_a}{m_e - m_b} \times 100\% \quad (4)$$

### 1.3.6 力学性能测试

参照 GB/T 1040.3—2006, 使用哑铃裁刀将复合海绵裁剪成特定尺寸, 通过数显千分尺测量试样中间平行部分的宽度和厚度, 选取 3 个点测量, 取平均值; 采用电子万能试验机测定拉伸强度和断裂伸长率, 设定拉伸速度为 10 mm/min, 标距为 25 mm。

## 2 结果与分析

### 2.1 形貌分析

将壳聚糖-氧化微晶纤维素与琼脂按不同体积比共混, 制得海绵敷料的扫描电镜结果分别见图 1—2。由图 1—2 可知, 壳聚糖-氧化微晶纤维素与琼脂的共混海绵敷料均表现为多孔的互穿网络结构; 体积比不同, 孔洞的形状、大小不同。文中选择了结构差异较大的 2 张电镜图片进行对比分析。琼脂体积分数为 40% 的海绵敷料的扫描结果见图 1, 其孔洞分布密集, 孔与孔相互贯通, 孔径明显且均一, 有明显的分层现象。琼脂体积分数为 60% 的海绵敷料的扫描结果见图 2, 其孔洞杂乱无章, 孔径大小不均一, 说明两者混合不均匀。

### 2.2 溶胀率分析

文中主要采用质量分析法分析共混敷料自身产生的溶胀行为。海绵具有较高的溶胀率, 进而具有高吸收水性, 易导致聚合物孔径增加, 因此, 营养物、

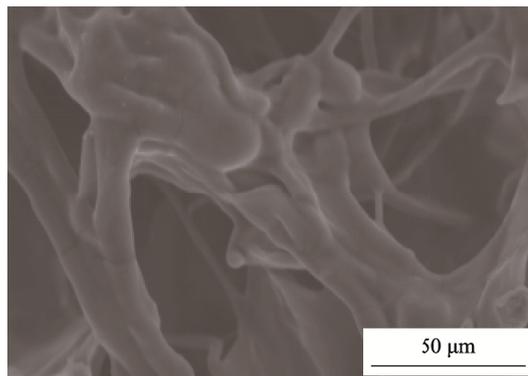


图 1 琼脂体积分数为 40% 的海绵敷料  
Fig.1 SEM of sponge dressing with 40% agar

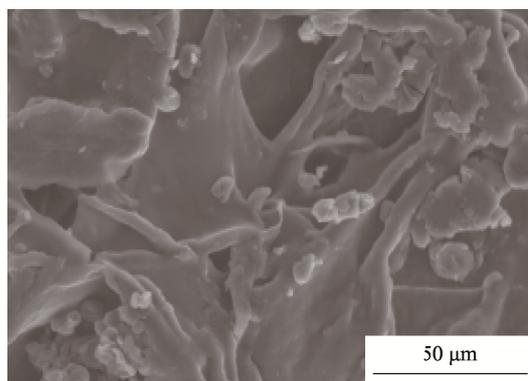


图 2 琼脂体积分数为 60% 的海绵敷料  
Fig.2 SEM of sponge dressing with 60% agar

生物活性分子、排泄物等都可以通过此敷料扩散。优异医用敷料的溶胀率需达到 300% 以上。

不同琼脂含量的海绵状敷料的溶胀率见图 3。由图 3 可知, 溶胀率随着琼脂含量的增多先增加再减小。当琼脂含量较低时, 不能形成凝胶态, 为流动态, 干燥后获取的海绵比较薄且脆, 溶胀性能较弱; 当琼脂体积分数为 40% 时, 溶胀率达到最大值; 随着琼脂含量继续增大, 溶胀率逐渐降低。这是因为当琼脂体积分数为 40% 时, 两者之间会产生较强的分子间作用

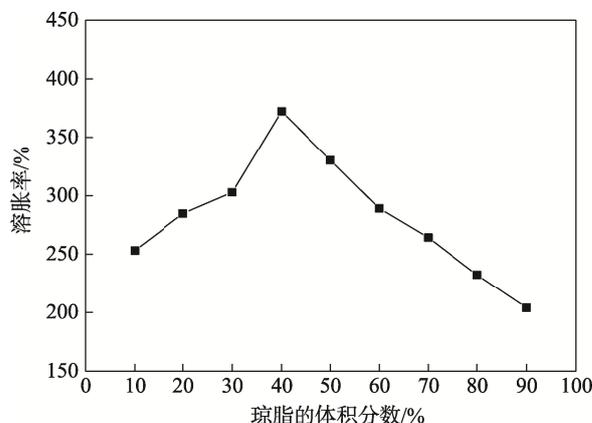


图 3 不同琼脂含量的复合海绵的溶胀率  
Fig.3 Swelling ratio of composite sponge with different agar contents

力,易形成凝胶态,形成的海绵结构稳定;结构稳定性会受到琼脂含量的影响,琼脂含量越多,融水速率增加,导致稳定性降低,从而使溶胀率降低。

### 2.3 溶失率分析

不同琼脂含量的海绵状敷料的溶失率见图4。由图4可知,随着琼脂含量的增加,海绵的溶失率先减小后增加。产生这种趋势的原因可能是因为随着琼脂含量的增加,两者分子间作用力增强,海绵结构稳定且紧密,溶失率降低;然而,当琼脂体积分数超过40%时,过量的琼脂不能与壳聚糖-氧化微晶纤维素发生作用,反而弱化了分子间作用力,导致海绵结构松散,稳定性降低,溶解速率提高。

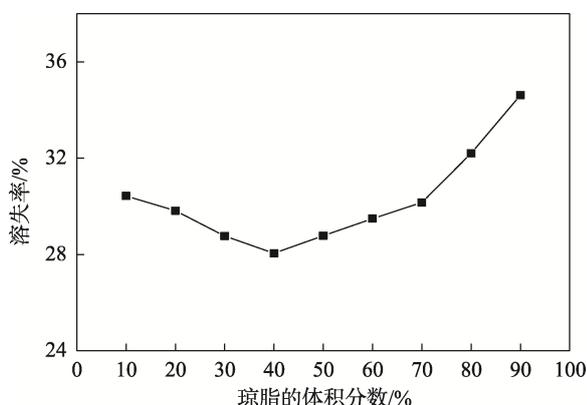


图4 不同琼脂含量的复合海绵的溶失率  
Fig.4 Dissolution of composite sponge with different agar contents

### 2.4 孔隙率分析

海绵的孔隙率反映物质通过其相互连接的孔有效传输流体的能力。当海绵的孔隙率增大时,营养物的渗透量随之增加,可以使细胞更好地生长和增殖。

不同琼脂含量的复合海绵的孔隙率见图5。由图5可知,随着琼脂含量的增加,孔隙率先增加后减小,产生这种趋势的原因可能是琼脂与壳聚糖-氧化微晶纤维素发生了相互作用,使其结构发生变化,导致形成海绵的孔径变大;由于材料内部均是连通的大孔,因此孔隙率增大;随着琼脂含量继续增加,其凝胶性能增强,粘度增大,导致形成的材料较为紧密,孔密度较大,因此孔隙率减小。整体来看,海绵的孔隙率均在90%以上,高于传统的粘胶无纺布(孔隙率在70%左右)<sup>[19]</sup>。

### 2.5 水蒸气透过率分析

海绵水蒸气透过率的大小与原材料本身的性能、海绵孔洞的大小及分布等有密切关系。通过实验发现,冷冻干燥制备的海绵有明显的孔洞,且孔隙率较大,具有良好的透湿性能,可以增加渗透液的排放,有利于细胞增长,进而使伤口更快地愈合。

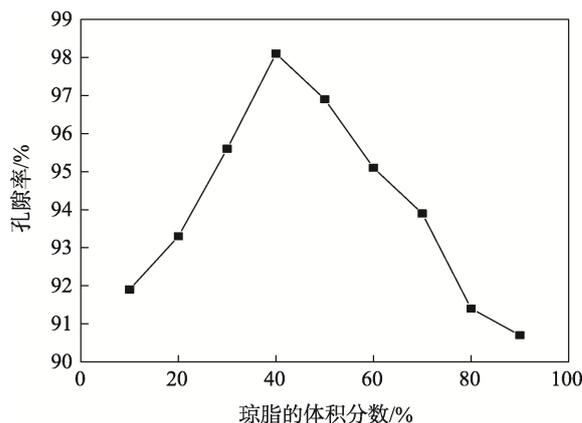


图5 不同琼脂含量的复合海绵的孔隙率  
Fig.5 Porosity of composite sponge with different agar contents

不同琼脂含量的复合海绵的水蒸气透过率见图6。由图6可知,随着琼脂含量的增加,水蒸气透率先增加后减少。这可能是由2种原料之间的相互作用及亲水基团的引入导致的。结果发现,当两者的相互作用在一定范围内时,有助于水蒸气的吸附与扩散。理想的伤口敷料应允许水分和气体通过,以防止过度脱水,因此,共混海绵可以通过控制水的蒸发损失,维持水分环境。

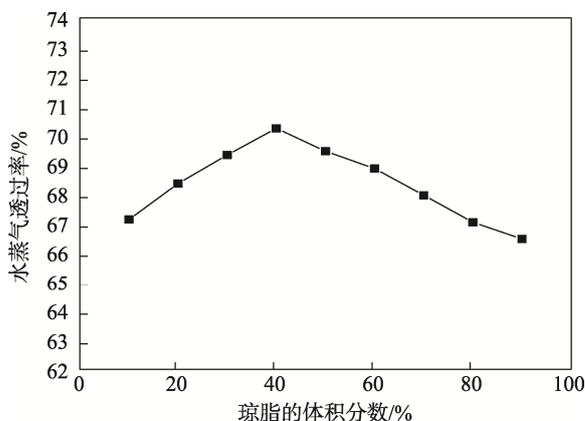


图6 不同琼脂含量的复合海绵的水蒸气透过率  
Fig.6 WVT of composite sponge with different agar contents

### 2.6 力学性能分析

不同琼脂含量的复合海绵的拉伸强度见图7。由图7可知,随着琼脂含量的增加,海绵的拉伸强度先增大后减小。产生这种趋势的原因可能是两者共混时,能够逐步形成较强的分子间作用力,形成一种凝胶态,制备出的海绵结构紧密规整,因此拉伸强度增大。随着琼脂含量继续增加,过多的琼脂不能与壳聚糖-氧化微晶纤维素发生作用,使敷料变得又硬又脆,从而降低了海绵自身的力学性能,导致拉伸强度降低。

不同琼脂含量的复合海绵的断裂伸长率见图8。由图8可知,当琼脂体积分数为40%时,敷料的强度

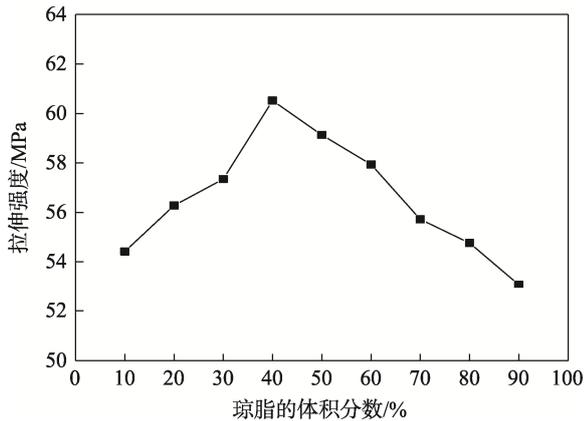


图 7 不同琼脂含量复合海绵的拉伸强度  
Fig.7 Tensile strength of composite sponge with different agar contents

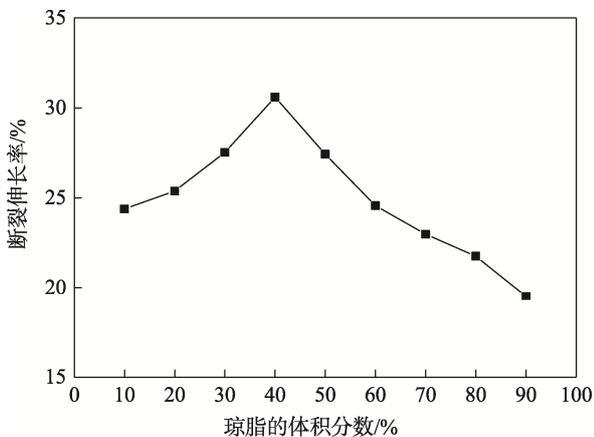


图 8 不同琼脂含量复合海绵的断裂伸长率  
Fig.8 Elongation at break of composite sponge with different agar contents

最高，且伸长率可以达到 30.6%。这可能是因为壳聚糖-氧化微晶纤维素与琼脂只在有限的位点上发生作用，在一定范围内，两者之间的分子间作用力因琼脂含量的增加而加强，形成的凝胶态比较稳定，其断裂伸长率增大；当琼脂体积分数超过 40%后，琼脂占主导地位，过量的琼脂不能与壳聚糖-氧化微晶纤维素发生作用，从而使断裂伸长率降低。

### 3 结语

随着琼脂含量的增加，溶失率先减小后增加，溶胀率、孔隙率、透湿量、拉伸强度和断裂伸长率先增加后减小。

当琼脂体积分数为 40%时，复合海绵的性能较为优异，溶胀率为 372.29%，达到了医用敷料的标准；溶失率为 28.05%，孔隙率高达 98.1%，水蒸气透过率为 70.23%，有利于吸收渗出液并保持湿润的环境；抗拉强度和断裂伸长率分别为 60.52 MPa 和 30.6%，力学性能得到改善，具有一定的强度和韧性。

### 参考文献：

- [1] MI F L, SHYU S S, WU Y B, et al. Fabrication and Characterization of a Sponge-like Asymmetric Chitosan Membrane as a Wound Dressing[J]. *Biomaterials*, 2001, 22(2): 165—173.
- [2] SEGURA T, ANDERSON B C, CHUNG P H, et al. Crosslinked Hyaluronic Acid Hydrogels: a Strategy to Functionalize and Pattern[J]. *Biomaterials*, 2005, 26: 359—371.
- [3] CAO Z, GILBERT R J, HE W. Simple Agarose-chitosan Gel Composite System for Enhanced Neuronal Growth in Three Dimensions[J]. *Biomacromolecules*, 2009, 10(10): 2954—2959.
- [4] MANO J F, SILVA G A, AZEVEDO H S, et al. Natural Origin Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Present Status and Some Moving Trends[J]. *Journal of the Royal Society Interface*, 2007, 4(17): 999—1030.
- [5] MARQUES J G, GASPAR V M, COSTA E, et al. Synthesis and Characterization of Micelles as Carriers of Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAID) for Application in Breast Cancer Therapy[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2014, 113(13): 375—383.
- [6] MARTIN B C, MINNER E J, WISEMAN S L, et al. Hydrogel Blends for Support of Nerve Regeneration Therapies[J]. *Journal of Neural Engineering*, 2008, 5: 221—231.
- [7] JAYAKUMAR R, MENON D, MANZOOR K, et al. Biomedical Applications of Chitin and Chitosan Based Nanomaterials—a Short Review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 82(2): 227—232.
- [8] PARK B K, KIM M. Applications of Chitin and Its Derivatives in Biological Medicine[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 11(12): 5152—5164.
- [9] KUMAR M N, MUZZARELLI R A, MUZZARELLI C, et al. Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives[J]. *Chemical Reviews*, 2004, 104(12): 6017—6084.
- [10] NASERI N, MATHEW A P, GIRANDON L, et al. Porous Electrospun Nanocomposite Mats Based on Chitosan-cellulose Nanocrystals for Wound Dressing: Effect of Surface Characteristics of Nanocrystals[J]. *Cellulose*, 2015, 22(1): 521—534.
- [11] XIAO Z B, TIAN T, HU J, et al. Preparation and Characterization of Chitosan Nanoparticles as the Delivery System for Tuberosc Fragrance[J]. *Flavour and Fragrance Journal*, 2014, 29(1): 22—34.
- [12] WALTERS B D, STEGEMANN J P. Strategies for Directing the Structure and Function of Three-dimensional Collagen Biomaterials across Length Scales[J].

- Acta Biomaterialia, 2014, 10(4): 1488—1501.
- [13] 王浩. 壳聚糖的改性研究进展及其应用[J]. 成都纺织高等专科学校学报, 2017, 34(1): 187—194.  
WANG Hao. Chitosan Modification Research Progress and Application[J]. Journal of Chengdu Textile College, 2017, 34(1): 187—194.
- [14] 周三九. 壳聚糖淀粉抗菌复合膜的性能优化及保鲜效果评价[D]. 哈尔滨: 黑龙江大学, 2015: 2—4.  
ZHANG San-Jiu. Performance Optimization and Fresh-keeping Effect Evaluation of Chitosan and Starch Antibacterial Composite Film[D]. Harbin: Heilongjiang University, 2015: 2—4.
- [15] 唐丽荣. 功能化纳米纤维素的设计, 构建及其在药物缓控释中的应用研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013: 3—16.  
TANG Li-rong. Design, Construction and Application of Functionalized Cellulose Nanocellulose in Controlled Drug Delivery System[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013: 3—16.
- [16] LUO H L, XIONG G Y, HU D, et al. Characterization of TEMPO-oxidized Bacterial Cellulose Scaffolds for Tissue Engineering Applications[J]. Materials Chemistry and Physics, 2013, 143(1): 373—379.
- [17] 何鹏, 张玉忠, 祝杰, 等. 亲水性乙烯—乙醇共聚物分离膜的制备与性能表征[J]. 天津工业大学学报, 2005, 24(5): 22—27.  
HE Peng, ZHANG Yu-zhong, ZHU Jie, et al. Preparation and Characterization of Hydrophilic Ethylene-vinyl Alcohol Copolymer (EVAL) Membrane[J]. Journal of Tianjin Polytechnic University, 2005, 24(5): 22—27.
- [18] 关丽, 黄国程, 杨宝芸, 等. 壳聚糖复合膜剂的制备及性能研究[J]. 海峡药学, 2014, 24(1): 25—28.  
GUAN Li, HUANG Guo-cheng, YANG Bao-yun, et al. Preparation and Characteristics of Composite Chitosan Membrane[J]. Strait Pharmaceutical Journal, 2014, 24(1): 25—28.
- [19] 马焯. 壳聚糖医用敷料的制备及性能研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2018: 4—7.  
MA Ye. Preparation and Performance of Chitosan Wound Dressing[D]. Nanjing: Nanjing University of Science and Technology, 2018: 4—7.