

羧甲基壳聚糖-蓖麻油基聚氨酯农药 缓释微球的制备及性能

范燕香, 周红军, 周新华, 黄雪*

(仲恺农业工程学院 化学化工学院, 广东 广州 510225)

摘要: 以羧甲基壳聚糖 (CMCS)、蓖麻油 (CO) 和异佛尔酮二异氰酸酯 (IPDI) 为原料, 通过自乳化法制备了羧甲基壳聚糖-蓖麻油基聚氨酯微球 (CO-CMCS-PU), 通过分子自组装法负载阿维菌素 (AVM) 得到载药微球 (CO-CMCS-PU@AVM)。采用 FTIR、¹HNMR、SEM、TGA 对产品结构及形貌进行了表征, 并探究了不同药量载药微球的包封率、缓释性能、抗紫外性能、叶面接触角和黏附性能。结果表明, 相比 AVM 分散液, 紫外光照射后载药微球中 AVM 的保留率提高到 43% 以上, 说明 CO-CMCS-PU 载体的抗紫外性能良好; 载药微球溶液比 AVM 分散液在黄瓜叶面上的接触角降低了 21% 以上, 滞留量提高了 40% 以上, 说明其在叶面上有较好的黏附性和润湿性; 载药微球包封率可达 82% 以上, 具有良好的缓释和 pH 响应释放性能, 释药行为符合 First-order 动力学模型和 Korsmeyer Peppas 模型, 药物释放受 Fickian 扩散控制。

关键词: 羧甲基壳聚糖; 蓖麻油; 聚氨酯; 缓释; pH 响应; 功能材料

中图分类号: O636.1; TQ450.6 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2024) 01-0091-09

Preparation and properties of carboxymethyl chitosan-castor oil-based polyurethane pesticide sustained-release microspheres

FAN Yanxiang, ZHOU Hongjun, ZHOU Xinhua, HUANG Xue*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, Guangdong, China)

Abstract: Carboxymethyl chitosan (CMCS)-castor oil (CO)-based polyurethane (PU) microspheres (CO-CMCS-PU) were prepared from self-emulsification of CMCS, CO and isophorone diisocyanate (IPDI), and avermectin (AVM) drug-loaded microspheres (CO-CMCS-PU@AVM) were obtained by molecular self-assembly. The structure and morphology of the products obtained were characterized by FTIR, ¹HNMR, SEM and TGA, while the encapsulation efficiency, slow-release performance, anti-ultraviolet performance, leaf contact angle and adhesion performance of drug-loaded microspheres with different drug dosage were explored. The results showed that, compared with AVM dispersion, AVM-loaded microspheres solutions exhibited good ultraviolet resistance with an increased AVM retention rate of over 43% after ultraviolet irradiation, good adhesion and wettability on cucumber leaves with a decrease in the contact angle on cucumber leave by >21% and an increase in retention capacity by >40%, and good slow-release and pH-responsive release performance with the encapsulation efficiency >82%. The drug release behavior conformed to the First-order kinetic model and Korsmeyer Peppas model, while the drug release was controlled by Fickian diffusion.

Key words: carboxymethyl chitosan; castor oil; polyurethane; sustained release; pH response; functional materials

收稿日期: 2023-04-26; 定用日期: 2023-07-07; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230351

基金项目: 广东省普通高校重点领域专项 (2021ZDZX2056); 广州市科技计划项目 (201904010087); 大学生创新创业项目 (202111347022、X202211347363、X202211347376)

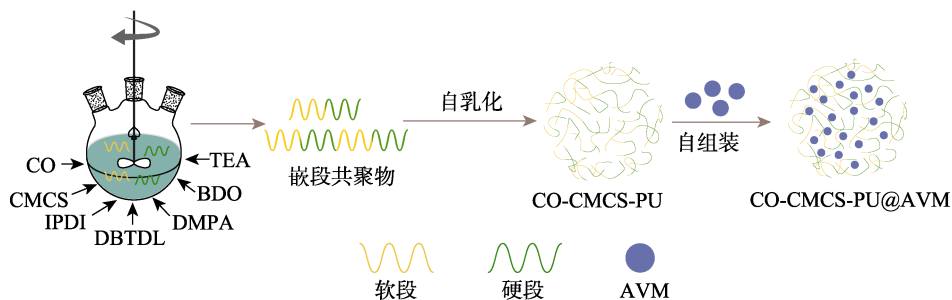
作者简介: 范燕香 (1999—), 女, 硕士生, E-mail: 1966170312@qq.com。联系人: 黄雪 (1982—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, E-mail: huangxue0206@126.com。

农药是农产品生长过程中的有力保障,在一定程度上可减少作物受到生物和非生物的危害,但农药使用不当又会产生如下问题:(1) 农药易流失进入土壤、空气和水中造成环境污染;(2) 在植物中存在潜在的化学残留造成食品安全问题,从而对人畜产生危害;(3) 对非靶标生物造成危害^[1-3],从而破坏生态环境。阿维菌素(AVM)是一种疏水性生物农药,具有低毒、高效、广谱和高选择性等优点,但不溶于水、自然环境下易光解氧化、对温度和微生物较为敏感^[4-5]。载药技术可增加疏水性药物的溶解度,减少有机溶剂的使用,延缓有效成分的释放,为农药的活性成分提供屏障作用^[6-7]。

聚氨酯(简称聚氨酯,PU)是指在分子主链段上含有大量重复氨基甲酸酯基团($-\text{NH}-\text{COO}-$)的一种高分子聚合物,主要由多异氰酸酯、小分子扩链剂组成的硬段和多元羟基化合物组成的软段共同形成,具有低毒、成膜性好、柔软等优点^[8]。蓖麻油(CO)是一种以含羧基酸为主的可再生植物油,可直接参与聚氨酯的合成,蓖麻油基聚氨酯在胶黏剂、涂料和织物涂层等领域研究广泛^[9]。以绿色、环保、廉价可再生的植物油代替紧缺的石油资源是目前工业生产主要探索的方向之一^[10],而用羧甲基壳聚糖(CMCS)制备缓释载体的最大优点是其具有生物降解性、水溶性、生物相容性、特殊的海绵状结构和膨胀性^[11]。ZHANG 等^[12]合成了一种蓖麻油基聚氨酯乳液用于负载 AVM,乳液喷洒在叶面上会

形成一层薄膜,增加药物在叶面上的黏附性能。ARÉVALO-ALQUICHIRE 等^[13]将壳聚糖(CS)和 CO 引入到多元醇聚氨酯中,合成的聚合物具有较好的溶解度和生物相容性,且细胞活性实验表明,聚合物无细胞毒性。ZHANG 等^[14]利用含有苯环结构的木质素磺酸钠对蓖麻油基聚氨酯进行改性,通过改变木质素磺酸钠的添加量来提高蓖麻油基聚氨酯对紫外光的吸收能力,但其酸碱敏感性不高。蓖麻油基聚氨酯作为农药载体材料具有较好的应用前景,但存在抗紫外照射能力弱,对 pH 敏感度不高,特别是对 AVM 等易光解的疏水性药物的保护作用不强等问题。

本文以异佛尔酮二异氰酸酯(IPDI)为硬段、CO 和 CMCS 为软段,2,2-二羟甲基丙酸(DMPA)为大分子亲水扩链剂,1,4-丁二醇(BDO)为小分子扩链剂,月桂酸二丁锡(DBTDL)为催化剂,三乙胺(TEA)为中和剂,通过自乳化法制备具有 pH 响应型羧甲基壳聚糖-蓖麻油基聚氨酯(CO-CMCS-PU)缓释微球,负载疏水性农药 AVM 得到载药微球 CO-CMCS-PU@AVM,CO-CMCS-PU@AVM 的合成示意图如下所示。考察不同药量载药微球的形貌、包封率、叶面黏附性、抗紫外性能及 pH 缓释性能。CO-CMCS-PU 载体具有酸碱敏感性和紫外吸色基团($-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$),既可实现 pH 响应释放,又可进一步提高蓖麻油基聚氨酯载体的抗紫外性能,有利于农药载体在农业和作物保护方面开辟新的应用领域。



1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

CO、CMCS(取代度 $\geq 80\%$,相对分子质量 2.01×10^4)、IPDI(质量分数 99%)、DMPA(质量分数 98%)、BDO(质量分数 98%)、DBTDL(质量分数 95%),上海麦克林生化科技有限公司;TEA,天津市永大化学试剂有限公司;乙酸乙酯(EA),天津市富宇精细化工有限公司;AVM原药(质量分数 95%)、AVM乳油(质量分数 5%),河北威远生物化工有限公司;无水乙醇,天津市大茂化学试剂有

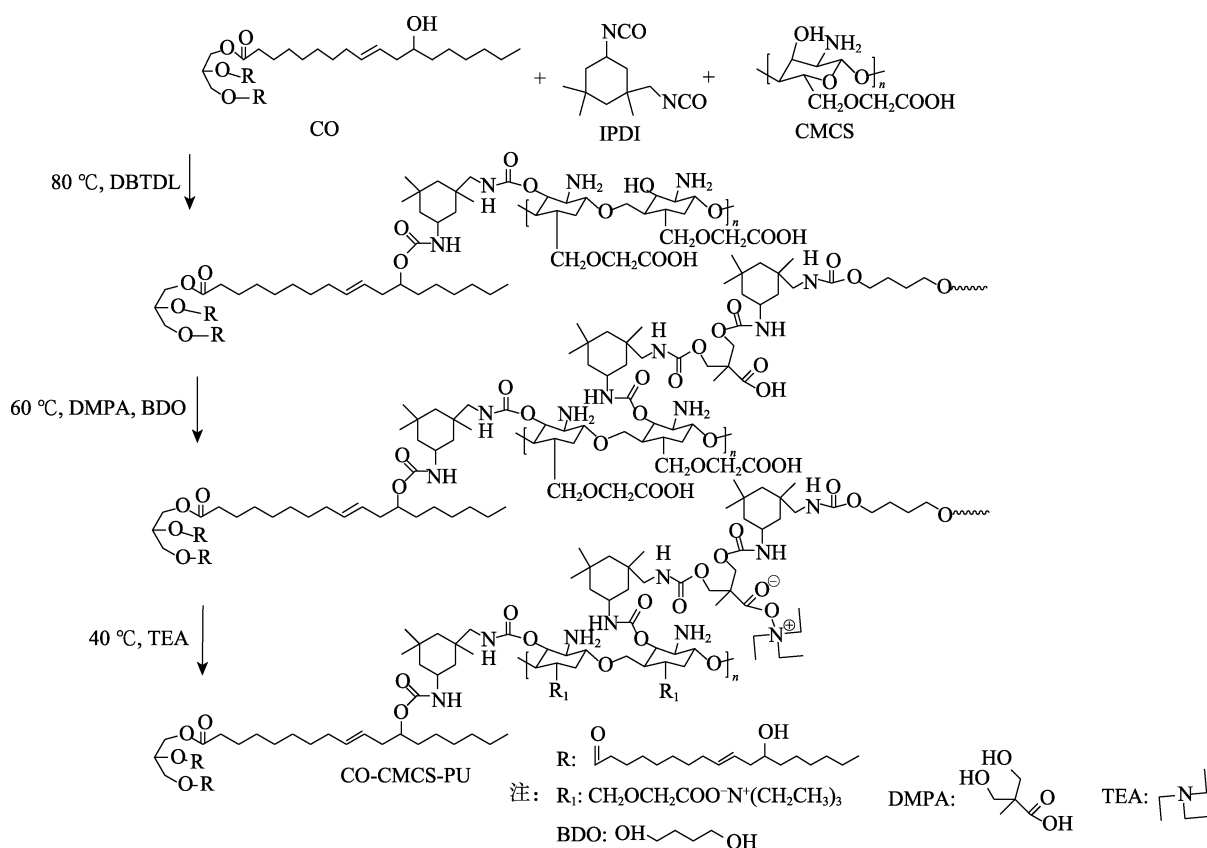
限公司。除 AVM 为工业品外,其余试剂均为分析纯。

Spectrum-100 型傅里叶变换红外光谱仪,美国赛默飞世尔科技公司;TGA2 型同步热分析仪,美国梅特勒-托利多仪器公司;90Plus 型激光粒度仪,美国布鲁克海文公司;Evo18 型扫描电子显微镜,德国卡尔蔡司股份公司;Theta 型光学接触角仪,瑞典百欧林科技有限公司;UV-1800 型紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;DS-GHX-V 型光化学反应器,上海杜斯仪器有限公司;Avance NEO 600 型核磁共振波谱仪,瑞士布鲁克公司。

1.2 CO-CMCS-PU 的制备

首先, 将 CO、DMPA 和 CMCS 放在 80 °C 烘箱中脱水 2 h, 称取 2.00 g (2.14 mmol) CO、4.50 g (20.24 mmol) IPDI 和 0.78 g (0.039 mmol) CMCS 加入装有搅拌桨、冷凝回流管的烧瓶中, 添加 3~5 mL 的乙酸乙酯, 滴加 1 滴 DBTDL, 氮气保护、油浴 80 °C、搅拌速度 600 r/min 下反应 2 h; 降温至 60 °C

加入 0.69 g (5.14 mmol) DMPA 反应 1 h; 接着加入 0.369 g (4.10 mmol) BDO 反应 30 min; 随后将温度降至 40 °C 加入 0.55 g (5.40 mmol) TEA 中和 30 min; 最后加入 90~100 mL 去离子水, 在 30 °C、1000 r/min 下乳化 2 h, 所得乳液旋蒸除去溶剂后冷冻 (-64.5 °C) 干燥 48 h 得到 CO-CMCS-PU 微球。合成路线如下所示。



1.3 CO-CMCS-PU@AVM 的制备

称取 0.25 g AVM 溶解在 25 mL 无水乙醇中, 配制质量浓度为 10 g/L 的 AVM 乙醇溶液。称取 0.2 g 冻干的 CO-CMCS-PU 样品溶解在 90 mL 去离子水中, 分别加入 3、4 和 5 mL 上述 AVM 乙醇溶液并用离子水定容至 100 mL。在水分散液中具有疏水性的 AVM 与 CO-CMCS-PU 的疏水链段相互吸引, 室温搅拌 1 h 后, AVM 因氢键和疏水作用进入到 CO-CMCS-PU 微球, 通过分子自组装机法得到不同药量的 CO-CMCS-PU@AVM-3、CO-CMCS-PU@AVM-4 和 CO-CMCS-PU@AVM-5。

1.4 结构表征与性能测试

1.4.1 结构表征

利用傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR) 分析样品的结构, 采用溴化钾压片法在 $4000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ 范围内进行扫描; 采用核磁共振波谱仪 ($^1\text{H NMR}$) 分析样品的化学结构, 在 400 MHz 下测试样品在氘代二甲

基亚砷中的核磁氢谱; 利用动态光散射技术 (DLS) 在 90° 的散射角下测量样品粒径, 重复测量 3 次取平均值; 使用扫描电子显微镜 (SEM) 观察样品的表面形貌, 样品表面喷金, 在 5 kV 的加速电压下测试; 利用同步热分析仪 (TGA) 测试样品热稳定性, 测试条件为氮气作保护气, 流速为 20 mL/min, 温度为 40~600 °C, 升温速率为 10 °C/min。

1.4.2 叶面接触角测试

分别取 3、4 和 5 mL 质量浓度为 10 g/L 的 AVM 乙醇溶液, 用去离子水定容至 100 mL, 配制不同质量浓度 (0.3~0.5 g/L) 的 AVM 分散液。研究 AVM 分散液、CO-CMCS-PU@AVM-3、CO-CMCS-PU@AVM-4 和 CO-CMCS-PU@AVM-5 溶液在干燥黄瓜叶片表面的静态接触角, 以表征农药对叶片的润湿性。具体步骤: 新鲜黄瓜叶片用去离子水洗净后在室温下干燥 20 min, 将干燥的黄瓜叶片固定在载玻片上, 用微量注射器将 7 μL 不同溶液滴在黄瓜叶片表面, 使用光学接触角仪记录液滴在叶面上的接触角, 每

个样品在黄瓜叶片的不同位置测试 3 次。

1.4.3 叶面黏附性能

用圆形打孔器将冲洗晾干的黄瓜叶片制成半径为 1 cm 的圆形, 将其完全浸泡在样品分散液或溶液中 30 s 后, 用镊子垂直提起直至没有液滴滴落, 放至分析天平称重, 每组样品重复 3 次。根据式 (1) 计算叶面滞留量 (LHC, mg/cm²)。

$$LHC = \frac{m_1 - m_0}{2S} \quad (1)$$

式中: m_0 和 m_1 分别为浸泡前后的叶片质量, mg; S 代表叶子的面积, cm²。

1.4.4 抗紫外性能测试

参照 1.4.2 节配制分散液的方法, 分别配制与 CO-CMCS-PU@AVM-3、CO-CMCS-PU@AVM-4 和 CO-CMCS-PU@AVM-5 相同质量浓度的 AVM 分散液、AVM 乳油分散液作为对照组 (分别取 0.6、0.8 和 1.0 g AVM 乳油用去离子水定容至 100 mL, 得到 AVM 乳油分散液)。各取 50 mL 样品于试管中, 放入光化学反应器中, 每个样品距离汞灯 (300 W, 最大辐射波长 365 nm) 5 cm 处照射。定时取 0.5 mL 样品于棕色容量瓶中, 并用无水乙醇定容至 10 mL, 在 245 nm 处使用紫外-可见分光光度计测定吸光度 A 。根据式 (2) 计算不同照射时间各样品中 AVM 的保留率 (R_j , %)。

$$R_j / \% = \frac{A_t}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: A_t 为照射不同时间后样品中 AVM 的吸光度; A_0 为照射前样品中 AVM 的吸光度。

1.4.5 包封率测试

各取 4 mL CO-CMCS-PU@AVM-3、CO-CMCS-PU@AVM-4 和 CO-CMCS-PU@AVM-5 溶液于离心管中, 在 10000 r/min 下离心 10 min。取 1 mL 上清液放入棕色容量瓶中用无水乙醇定容至 10 mL。使用紫外-可见分光光度计在 245 nm 波长下测试 AVM 的吸光度 A 。根据标准曲线 $A=28.99\rho-0.0007647$ ($R^2=0.9994$; ρ 为 AVM 的质量浓度, mg/L) 计算游离的 AVM 质量, 根据式 (3) 计算包封率 (EE, %)。

$$EE / \% = \frac{m_{\text{total,AVM}} - m_{\text{free,AVM}}}{m_{\text{total,AVM}}} \times 100 \quad (3)$$

式中: $m_{\text{total,AVM}}$ 为体系中 AVM 的总质量, mg;

$m_{\text{free,AVM}}$ 代表体系中游离的 AVM 质量, mg。

1.4.6 缓释性能测试

各取 5 mL CO-CMCS-PU@AVM-3、CO-CMCS-PU@AVM-4 和 CO-CMCS-PU@AVM-5 溶液置于截留相对分子质量为 2000 的透析袋中, 分别加入 45 mL 乙醇水溶液 (体积分数 40%) 作为缓冲液, 其中不同 pH 的缓冲液用盐酸或氢氧化钠进行调节,

在 25 °C 水浴下振荡, 每隔一段时间取 1 mL 缓释液并用无水乙醇定容至 10 mL, 在 245 nm 处测定吸光度, 同时向体系中补加相应体积的缓冲液, 按照标准曲线 $A=28.99\rho-0.0007647$ ($R^2=0.9994$) 计算 AVM 质量浓度, 并按式 (4) 计算 AVM 的累积释放量 (R_i , %)。

$$R_i = \begin{cases} \rho_i \times 0.05 / m_{\text{AVM}} (i = 1) \\ \rho_i \times \frac{0.05}{m_{\text{AVM}}} + \sum_{i=1}^{i-1} \frac{\rho_i \times 0.001}{m_{\text{AVM}}} (i > 1) \end{cases} \quad (4)$$

式中: ρ_i 为样品不同时间下 AVM 的质量浓度, mg/L; m_{AVM} 代表加入到透析袋中的 AVM 总质量, mg。

2 结果与讨论

2.1 FTIR 分析

CO、CMCS、CO-CMCS-PU 和 CO-CMCS-PU@AVM-4 (以下表征均用此样) 的红外光谱见图 1。

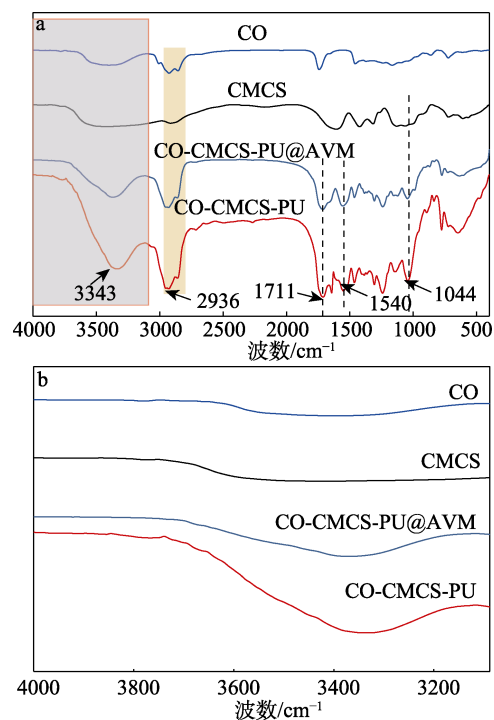


图 1 CMCS、CO、CO-CMCS-PU 和 CO-CMCS-PU@AVM 的 FTIR 谱图 (a) 和局部放大图 (b)

Fig. 1 FTIR spectra (a) and partial enlargement (b) of CMCS, CO, CO-CMCS-PU and CO-CMCS-PU@AVM

如图 1a 所示, 除 CMCS 外, 其他曲线在 2852~2942 cm⁻¹ 处均出现 CO 中 -CH₃、-CH₂- 的 C-H 键伸缩振动峰, 说明 CO 成功参与反应; 2240~2280 cm⁻¹ 处未出现异氰酸酯基团 (-N=C=O) 的特征吸收峰^[15], 说明 IPDI 完全参与反应; CO-CMCS-PU 在 1044 cm⁻¹ 出现脂肪族醚键 (C-O-C) 的振动吸收峰, 说明 CMCS 成功接在聚氨酯中; 1711 cm⁻¹

为氨基甲酸酯脂肪族的羰基—C=O 特征吸收峰, 1540 和 3343 cm^{-1} 分别为聚氨酯中 N—H 键的变形振动和伸缩振动峰^[16]。局部放大如图 1b 所示, 与 CO-CMCS-PU 相比, CO-CMCS-PU@AVM 在 3343 cm^{-1} 处的吸收峰变宽, 可能是 AVM 中甲氧基与 CO-CMCS-PU 中 N—H 键之间存在氢键作用所致^[17]。

2.2 ^1H NMR 分析

CO、CMCS 和 CO-CMCS-PU 的 ^1H NMR 谱图见图 2。由图 2 可知, δ 0.80~3.00 对应 CO 脂肪族长链上—CH—、—CH₂—和—CH₃ 的质子信号, δ 5.23~5.49 为 CO 中碳碳双键两侧氢原子的质子信号, CO-CMCS-PU 中也存在碳碳双键的化学位移 (δ 5.32~5.37)^[18]。 δ 2.67 为 CMCS 中—NH₂ 的化学位移, CO-CMCS-PU 中—NH₂ 的化学位移为 δ 2.71, CO-CMCS-PU 中—NH₂ 峰强度变大且化学位移有所偏移, 可能是受到碱性中和剂 TEA 的影响, δ 0.80~3.37 区域是 CMCS 骨架上氢原子的质子信号^[19], 且由于 CO 脂肪族长链与 CMCS 骨架的质子峰重叠, 导致 CO-CMCS-PU 在 δ 0.80~4.25 出现多重峰且峰强度变大。综上所述, CO 和 CMCS 都参与了 CO-CMCS-PU 的合成。

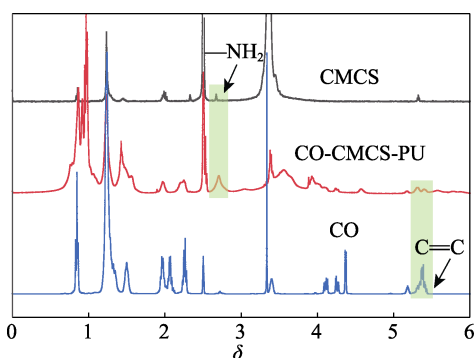


图 2 CMCS、CO、CO-CMCS-PU 的 ^1H NMR 谱图
Fig. 2 ^1H NMR spectra of CMCS, CO and CO-CMCS-PU

2.3 TGA-DTG 分析

CO、CMCS、CO-CMCS-PU 和 CO-CMCS-PU@AVM 的 TGA 和 DTG 曲线见图 3。由图 3a 可知, CMCS 初始分解阶段在 50~232 $^{\circ}\text{C}$, 主要是 CMCS 中结晶水和结合水的失去^[20], 在 232~313 $^{\circ}\text{C}$ 的失重率为 24.24%, 主要归因于碳骨架的分解; CO 初始分解温度为 265 $^{\circ}\text{C}$, 归因于酯键断裂, 在最大分解阶段 265~477 $^{\circ}\text{C}$ 的失重率为 98.97%, 这是由主碳链完全分解所致。结合图 3b DTG 曲线可知, CO-CMCS-PU 和 CO-CMCS-PU@AVM (以 CO-CMCS-PU@AVM-4 为例) 可分为 3 个分解阶段: 第一阶段 (195~268 $^{\circ}\text{C}$) 是小分子扩链剂、残余挥发物和 CMCS 的分解, 失重率分别为 20.82%和 20.78%;

第二阶段 (268~362 $^{\circ}\text{C}$) 是氨基甲酸酯键的分解, 失重率分别为 39.72%和 44.96%, 此阶段失重峰较明显, 这是由于 CO-CMCS-PU 中氢键和疏水作用遭到破坏引起的交换缔结^[21]; 第三阶段 (362~491 $^{\circ}\text{C}$) 是软段 CO 长链的分解, 失重率分别为 24.80%和 19.73%。结果表明, 由于 CO 本身具有较高的耐热性^[22-24], 将其代替传统多元醇合成的 CO-CMCS-PU 载体具有较好的热稳定性。

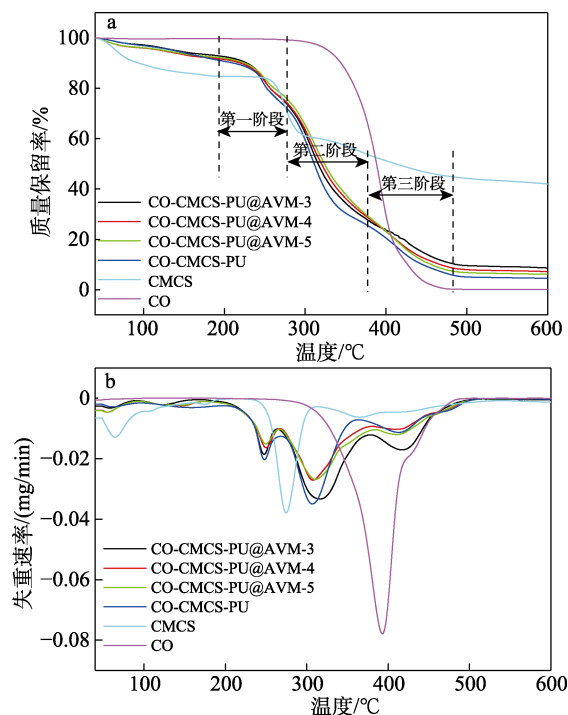


图 3 CMCS、CO、CO-CMCS-PU 和 CO-CMCS-PU@AVM 的 TGA 曲线 (a) 和 DTG 曲线 (b)
Fig. 3 TGA curves (a) and DTG curves (b) of CMCS, CO, CO-CMCS-PU and CO-CMCS-PU@AVM

2.4 SEM、粒径和 Zeta 电位分析

CO-CMCS-PU 和 CO-CMCS-PU@AVM 的 SEM 图见图 4。由图 4a 可知, 未载药的 CO-CMCS-PU 为规则的球形, 这是由于在高速剪切的作用下, CO-CMCS-PU 内部氢键的相互作用和网络结构使得聚合物蜷缩形成球形^[25]。由图 4b~d 可知, 载药后 CO-CMCS-PU@AVM 为椭球形, 这是聚氨酯中的疏水长链将 AVM 包裹所致。表 1 为 CO-CMCS-PU 和 CO-CMCS-PU@AVM 的粒径和 Zeta 电位。由表 1 可知, CO-CMCS-PU 的粒径为 $(4.116 \pm 1.64) \mu\text{m}$, CO-CMCS-PU@AVM 粒径在 1~2 μm 之间, 且随着载药量的增加, CO-CMCS-PU@AVM 粒径逐渐减小, 这可能是因为 AVM 的进入使得 CO-CMCS-PU 微球疏水作用增强, 粒子紧缩形成更小的椭球颗粒, 因此粒径减小, 这与 SEM 图中载药颗粒粒径大小结

果相吻合。随着载药量的增加, Zeta 电位的绝对值也相应增大, 说明 CO-CMCS-PU@AVM 在水中的稳定性有所增加。

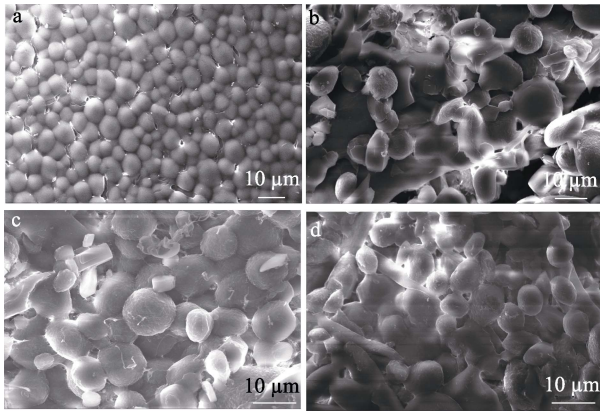


图 4 CO-CMCS-PU (a)、CO-CMCS-PU@AVM-3 (b)、CO-CMCS-PU@AVM-4 (c) 和 CO-CMCS-PU@AVM-5 (d) 的 SEM 图

Fig. 4 SEM images of CO-CMCS-PU (a), CO-CMCS-PU@AVM-3 (b), CO-CMCS-PU@AVM-4 (c) and CO-CMCS-PU@AVM-5 (d)

表 1 CO-CMCS-PU@AVM 和 CO-CMCS-PU 的粒径和 Zeta 电位

Table 1 Particle size and Zeta potential of CO-CMCS-PU@AVM and CO-CMCS-PU

样品	粒径/ μm	Zeta 电位/mV
CO-CMCS-PU	4.116 \pm 1.64	-38.26 \pm 0.45
CO-CMCS-PU@AVM-3	1.964 \pm 0.31	-38.41 \pm 0.18
CO-CMCS-PU@AVM-4	1.427 \pm 0.97	-38.46 \pm 0.09
CO-CMCS-PU@AVM-5	1.077 \pm 0.76	-38.54 \pm 0.05

2.5 叶面接触角和滞留量性能分析

润湿性是评判农药药效的指标之一。通过不同样品分散液或溶液在黄瓜叶片上的接触角和叶面滞留量来表征农药的润湿性。AVM 分散液和 CO-CMCS-PU@AVM 溶液在黄瓜叶面上的接触角和滞留量见图 5。由图 5a 可知, 与对照组 AVM 分散液相比, 相应质量浓度的 CO-CMCS-PU@AVM 在黄瓜叶面上的接触角分别降低了 21.16%、23.97%、21.49%, 均降低了 21% 以上, 其中 CO-CMCS-PU@AVM-4 的接触角最小, 为 59.37 \pm 0.58 $^\circ$, 明显小于 AVM 分散液。可见, CO-CMCS-PU@AVM 样品溶液的润湿性优于 AVM 分散液, 这是因为 CO-CMCS-PU 的加入降低了溶液的表面张力, 利于溶液在叶面上的铺展, 有效提高了 AVM 在叶面的润湿性。

以滞留量考察农药在黄瓜叶片表面的黏附性能, 结果见图 5b。由图 5b 可知, 与对照的 AVM 分散液相比, 相应质量浓度的 CO-CMCS-PU@AVM 在黄瓜叶面上的滞留量分别增加了 46.73%、54.03%、

40.61%, 均增加了 40% 以上, 这说明 CO-CMCS-PU@AVM 具有良好的黏附性能。这是因为 CO-CMCS-PU 载体中的一 NH₂、—COO— 基团与黄瓜叶面上的一 OH、—COOH、—CHO 基团通过氢键和静电作用, 增加了液滴与叶面之间的黏附力^[26], 由于 CMCS 含有的亲水基团可以降低液滴在叶面上的表面张力^[13], 减小接触角, 增加叶面滞留量。当 AVM 的负载量较少时, 可能会因为 CO-CMCS-PU@AVM 粒径较大造成农药滚落; 当 AVM 负载量较大时, 部分游离的 AVM 会增加载药样品与叶面的疏水性, 不利于 CO-CMCS-PU@AVM 的铺展。由此可知, 样品 CO-CMCS-PU@AVM-4 载体材料有助于降低接触角, 增加叶面滞留量, 提高农药在叶片上的润湿性, 起到对农药的增效作用。

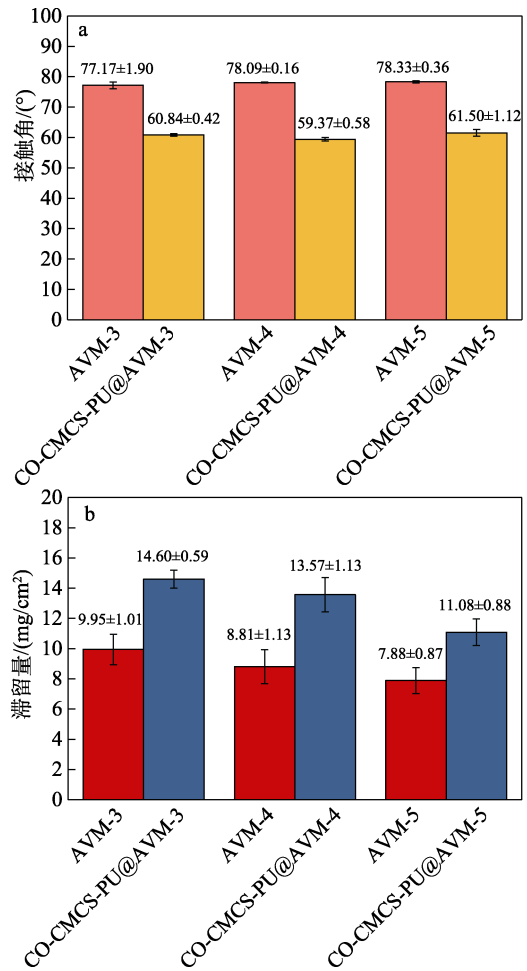


图 5 AVM 分散液和 CO-CMCS-PU@AVM 溶液在黄瓜叶面上的接触角 (a) 和滞留量 (b)

Fig. 5 Contact angle (a) and retention (b) of AVM dispersion and CO-CMCS-PU@AVM solutions on cucumber leaves surface

2.6 抗紫外性能分析

不同质量浓度的 AVM 分散液、AVM 乳油分散液和 CO-CMCS-PU@AVM 中 AVM 的抗紫外性能见图 6。

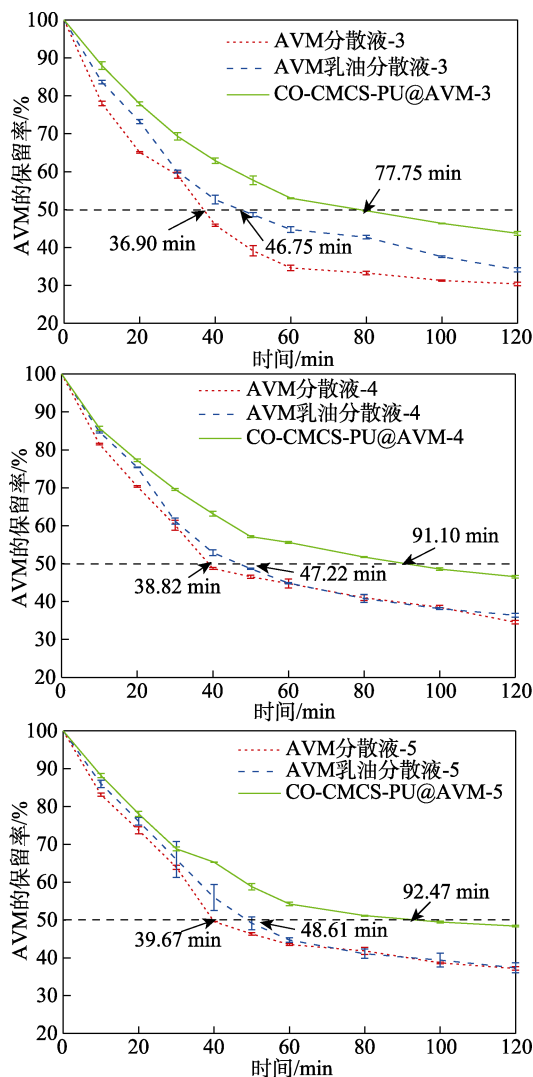


图 6 不同质量浓度 AVM 分散液、AVM 乳油分散液和 CO-CMCS-PU@AVM 在紫外照射下 AVM 的保留率
Fig. 6 Different mass concentrations of AVM dispersions, AVM emulsion dispersions, and CO-CMCS-PU@AVM retention rates of AVM under ultraviolet irradiation

由图 6 可知, 在紫外灯照射 2 h 后, CO-CMCS-PU@AVM-3、CO-CMCS-PU@AVM-4 和 CO-CMCS-PU@AVM-5 保留率分别为 $43.75\% \pm 0.52\%$ 、 $46.55\% \pm 0.37\%$ 和 $48.39\% \pm 0.20\%$, 均提高到 43% 以上。与相同质量浓度的 AVM 分散液和 AVM 乳油分散液相比, 分解速率明显降低。AVM 分散液的半衰期在 36~40 min, AVM 乳油分散液的半衰期在 46~49 min, CO-CMCS-PU@AVM-3、CO-CMCS-PU@AVM-4、CO-CMCS-PU@AVM-5 的半衰期分别为 77.75、91.10、92.47 min。结果表明, AVM 直接暴露在光照条件下易光解, 添加各种表面活性剂的 AVM 乳油虽然对 AVM 具有一定的保护作用, 但是效果并不明显, 利用改性后的 CO-CMCS-PU 包覆 AVM 后, 药物的半衰期明显延长。因此, CMCS 改性后的蓖麻油基聚氨酯对紫外线具有一定的屏蔽作用, 这是由

CMCS 中的氨基和羟基等发色基团的吸收作用所致, 这与 GAO 等^[27]合成的壳聚糖基聚氨酯得出的结论一致。抗光解性能的提高减弱了 AVM 在紫外光照射下的分解, 从而延长了 CO-CMCS-PU@AVM 微球的使用寿命。

2.7 包封率和缓释性能

不同药量 CO-CMCS-PU@AVM 的包封率见表 2。由表 2 可知, CO-CMCS-PU 对 AVM 的包封率均高于 82%, 具有较好的包封效果, 这是由于载体材料中 CO 的疏水长链对疏水性的 AVM 起到较好的束缚作用。CO-CMCS-PU@AVM-3 的包封率达 $92.40\% \pm 0.33\%$, 而 CO-CMCS-PU@AVM-4 的包封率为 $82.31\% \pm 0.18\%$, 可知包封率与药量之间无正相关关系。原因是 AVM 与 CO-CMCS-PU 之间是通过疏水作用结合, CO-CMCS-PU@AVM-3 药量较低, 包封效果最佳; 与 CO-CMCS-PU@AVM-4 相比, CO-CMCS-PU@AVM-5 的药量过大, 定量载体中的疏水基团并不能将药物全部包覆, 导致部分 AVM 暴露在载体表面发生聚集现象, 致使包封率增大。

表 2 CO-CMCS-PU@AVM 的包封率
Table 2 Encapsulation rate of CO-CMCS-PU@AVM

样品	EE/%
CO-CMCS-PU@AVM-3	92.40 ± 0.33
CO-CMCS-PU@AVM-4	82.31 ± 0.18
CO-CMCS-PU@AVM-5	87.78 ± 0.14

药物释放的影响因素主要有药物及载体自身的化学性质、药物与载体之间的相互作用以及外界释放介质的影响^[28]。包封 AVM 后的载药微球越稳定, 越有利于 AVM 的持续释放。在 25 °C、pH=7、乙醇水溶液 (体积分数 40%) 条件下, 负载不同药量 CO-CMCS-PU@AVM 的累积释放量见图 7。

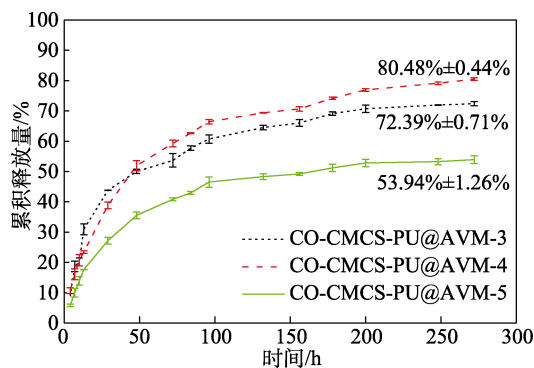


图 7 CO-CMCS-PU@AVM 中 AVM 释放曲线
Fig. 7 AVM release curves of CO-CMCS-PU@AVM

由图 7 可知, 在释放初期的前 50 h, 3 种载药体系的释放过程为突释过程, 主要是未封装的 AVM

释放。持续释放 200 h 后, AVM 的释放呈现稳定趋势, 这是包覆在微球内部的 AVM 受到缓冲液的影响而缓慢溶出。释放 270 h 后, CO-CMCS-PU@AVM-3、CO-CMCS-PU@AVM-4 和 CO-CMCS-PU@AVM-5 的累积释放量分别为 $72.39\% \pm 0.71\%$ 、 $80.48\% \pm 0.44\%$ 、 $53.94\% \pm 1.26\%$ 。包封率与释放量之间存在差异是因为载体与药量的比例对药物释放速率有影响, 包封率较低时, AVM 由于浓度差进行扩散, 累积释放量较高; 而添加药量过高时, 未被包覆的 AVM 由于范德华力容易聚集, CO-CMCS-PU@AVM 与 AVM 形成的氢键作用增强, 阻碍了药物释放, 因此降低了 AVM 的释放速率^[29]。

2.8 pH 响应性能及释放机理分析

图 8 为 CO-CMCS-PU@AVM-4 在不同 pH 下的 AVM 释放曲线。将 CO-CMCS-PU@AVM-4 样品放在 25 °C, pH 分别为 3.0、5.0、7.0 和 9.0 的缓冲液下振荡 155 h, 得到 AVM 的累积释放量分别为 $83.84\% \pm 0.52\%$ 、 $72.58\% \pm 0.47\%$ 、 $69.64\% \pm 0.06\%$ 、 $55.88\% \pm 1.27\%$ 。可见 pH 越高, AVM 的释放速率越慢, AVM 在酸性条件比在碱性条件下释放速率更快, 原因是酸性条件下氨基会转换成 NH_3^+ , 羧酸盐基团质子化使得 CO-CMCS-PU 微球表面电荷发生变化, 静电相互作用减弱, 疏水作用增强, 聚合物长链部分松散促使 AVM 释放^[30-31]。

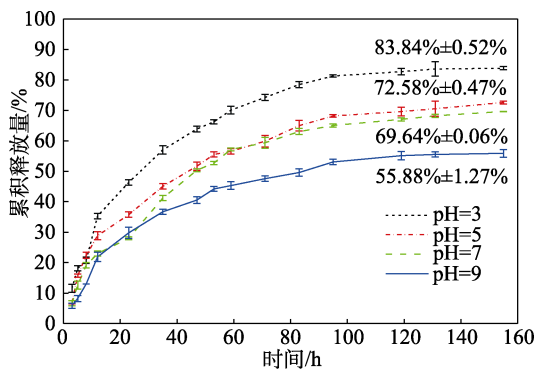


图 8 CO-CMCS-PU@AVM-4 在不同 pH 下 AVM 释放曲线
Fig. 8 Release curves of CO-CMCS-PU@AVM-4 AVM at different pH

为进一步验证 CO-CMCS-PU@AVM 的 pH 敏感释药机理, 使用 Zero-order、First-order、Higuchi、Korsmeyer Peppas 和 Hixson Crowell 模型^[32-33]对 CO-CMCS-PU@AVM-4 中 AVM 的释放曲线进行拟合, 结果见表 3。由表 3 可以看出, 在不同 pH 缓冲液下, CO-CMCS-PU@AVM-4 释放曲线与 First-order 和 Korsmeyer Peppas 模型的拟合度较高 ($0.94 < R^2 < 0.99$), 释放指数 $b < 0.5$, 结合 Fickian 第一定律可知^[34], 药物释放机制为 Fickian 扩散, AVM 主要以扩散的方式释放。pH 响应释放可根据不同 pH 的

缓冲液达到精准释放, 例如: 植物体内的弱酸性组织、土壤的酸碱性以及昆虫的碱性胃液^[35]等, 实现防止病虫害, CO-CMCS-PU@AVM 在酸性条件下具有良好的响应性, 因此可以有效地调控农药释放速率和释放周期。

表 3 不同 pH 下 CO-CMCS-PU@AVM-4 中 AVM 释放曲线拟合结果

Table 3 AVM release curve fitting results in CO-CMCS-PU@AVM-4 at different pH

拟合模型	pH	拟合公式	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>R</i> ²
Zero-order	3	$y=ax$	0.7801	—	0.8798
	5		0.6523	—	0.8917
	7		0.6274	—	0.9020
	9		0.5109	—	0.8914
First-order	3	$y=a(1-e^{-bx})$	82.55	0.0354	0.9866
	5		70.08	0.0321	0.9748
	7		69.94	0.0274	0.9877
	9		55.10	0.0318	0.9908
Higuchi	3	$y=ax^{0.5}$	5.373	—	0.8155
	5		5.815	—	0.8977
	7		6.459	—	0.9445
	9		3.911	—	0.8785
Korsmeyer Peppas	3	$y=ax^b$	13.11	0.3912	0.9481
	5		10.25	0.4053	0.9654
	7		8.35	0.4418	0.9539
	9		7.51	0.4204	0.9486
Hixson Crowell	3	$y=(a-bx)^3$	3.312	-0.0088	0.6985
	5		3.085	-0.0087	0.7415
	7		2.988	-0.0091	0.7311
	9		2.824	-0.0081	0.7075

注: *a* 和 *b* 代表药物的溶出常数 (h^{-1}), 其中 Korsmeyer Peppas 模型中 *b* 为药物的释放指数; “—” 表示无数据。

3 结论

(1) 利用分子自组装法将 CO-CMCS-PU 负载 AVM 制备了具有 pH 响应、叶面亲和性的 CO-CMCS-PU@AVM 载药微球。通过 FTIR、¹HNMR 和 TGA-DTG 分析, 表明 CO 与 CMCS 参与合成了 CO-CMCS-PU, 且制得的载体材料具有良好的热稳定性。

(2) CO-CMCS-PU 负载 AVM 后, CO-CMCS-PU@AVM-4 与黄瓜叶片的接触角下降至 $59.37^\circ \pm 0.58^\circ$, 叶面滞留量相对于 AVM 分散液提升了 54.03%, 可有效屏蔽紫外光对 AVM 的降解, 延长半衰期, 提高载药体系中 AVM 的保留率。该缓释微球的药物释放曲线较符合 First-order 模型, 受 Fickian 扩散控制, 释放具有 pH 响应, 能通过调节 pH 调控药物

的释放, 当 pH=3 时释放速率最快。

综上所述, 本研究使用简单、低成本且高效的合成方法开发了一种 pH 响应缓释农药聚氨酯微球载体, 该特殊的农药输送体系在现代农业中可能具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] JIANG Q H, PENG M, YIN M Z, *et al.* Nanocarrier-loaded imidacloprid promotes plant uptake and decreases pesticide residue [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(12): 6651.
- [2] SUN Y, LIANG J, TANG L, *et al.* Nano-pesticides: A great challenge for biodiversity?[J]. *Nano Today*, 2019, 28: 100757.
- [3] AGATHOKLEOUS E, FENG Z, IAVICOLI I, *et al.* Nano-pesticides: A great challenge for biodiversity? The need for a broader perspective[J]. *Nano Today*, 2020, 30: 100808.
- [4] ZHAO M, LI P Q, ZHOU H J, *et al.* pH/redox dual responsive from natural polymer-based nanoparticles for on-demand delivery of pesticides[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 435(1): 134861.
- [5] DU P Q, WU X H, XU J, *et al.* Different residue behaviors of four pesticides in mushroom using two different application methods[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(9): 8377-8387.
- [6] ATHANASSIOU C G, KAVALLIERATOS N G, BENELLI G, *et al.* Nanoparticles for pest control: Current status and future perspectives[J]. *Journal of Pest Science*, 2018, 91(1): 1-15.
- [7] XIANG Y B, LU X, YUE J T, *et al.* Stimuli-responsive hydrogel as carrier for controlling the release and leaching behavior of hydrophilic pesticide[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 722: 137811.
- [8] LIU K, MIAO S D, SU Z G, *et al.* Castor oil-based waterborne polyurethanes with tunable properties and excellent biocompatibility [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2016, 118(10): 1512-1520.
- [9] SHI M Q, YANG J, WANG X W. Preparation castor oil-modified high bio-based waterborne polyurethane and its application[J]. *Journal of Polymer Research*, 2021, 28(9): 351.
- [10] ZHANG C Q, LIANG H Y, LIANG D S, *et al.* Renewable castor-oil-based waterborne polyurethane networks: simultaneously showing high strength, self-healing, processability and tunable multishape memory[J]. *Angewandte Chemie*, 2020, 133(8): 4335-4345.
- [11] XU C L, CAO L D, BILAL M, *et al.* Multifunctional manganese-based carboxymethyl chitosan hydrogels for pH-triggered pesticide release and enhanced fungicidal activity[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 262: 117933.
- [12] ZHANG H, QIN H, LI L X, *et al.* Preparation and characterization of controlled-release avermectin/castor oil-based polyurethane nanoemulsions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(26): 6552-6560.
- [13] ARÉVALO-ALQUICHIRE S, RAMÍREZ C, ANDRADE L, *et al.* Polyurethanes from modified castor oil and chitosan[J]. *Journal of Elastomers and Plastics*, 2018, 50(5): 419-434.
- [14] ZHANG W B, ZHANG Y, LIANG H Y, *et al.* High bio-content castor oil based waterborne polyurethane/sodium lignosulfonate composites for environmental friendly UV absorption application[J]. *Industrial Crops and Products*, 2019, 142: 111836.
- [15] HU J G (胡继广), ZHOU D J (周登健), YANG J J (杨建军), *et al.* Synthesis and antibacterial properties of UV-curable modified castor oil-based waterborne polyurethane UV[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(12): 2478-2484, 2538.
- [16] REZAEI H S, PARSAPOUR A, NOURI K S, *et al.* Wound dressing application of castor oil- and CAPA-based polyurethane membranes [J]. *Polymer Bulletin*, 2020, 77(6): 2945-2964.
- [17] FORTES A C, BEZZON V D N, DE ARAÚJO G L B, *et al.* Preparation and physicochemical characterization of drug loaded in castor oil-based polyurethane[J]. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2020, 139(3): 1949-1957.
- [18] CHEN Q, GAO Z H, BAI L, *et al.* Water-dispersible isocyanate modified using plant-based castor oil: Synthesis and application as crosslinking agent[J]. *Industrial Crops and Products*, 2021, 171: 113845.
- [19] QI X L, QIN J Y, FAN Y C, *et al.* Carboxymethyl chitosan-modified polyamidoamine dendrimer enables progressive drug targeting of tumors via pH-sensitive charge inversion[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2016, 12(4): 667-678.
- [20] ZHAO M, ZHOU H J, CHEN L, *et al.* Carboxymethyl chitosan grafted trisiloxane surfactant nanoparticles with pH sensitivity for sustained release of pesticide[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 243: 116433.
- [21] NARINE S S, KONG X H, BOUZIDI L, *et al.* Physical properties of polyurethanes produced from polyols from seed oils: I. Elastomers [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2007, 84(1): 55-63.
- [22] LYU Z, YI Y, ZHANG C, *et al.* Synthesis of castor oil-based cationic waterborne polyurethane emulsion and its application[J]. *Journal of Wuhan University of Technology: Materials Science Edition*, 2020, 35(4): 832-840.
- [23] XIA Y, LAROCK R C. Castor-oil-based waterborne polyurethane dispersions cured with an aziridine-based crosslinker[J]. *Macromolecular Materials and Engineering*, 2011, 296(8): 703-709.
- [24] GURUNATHAN T, MOHANTY S, NAYAK S K. Isocyanate terminated castor oil-based polyurethane prepolymer: Synthesis and characterization[J]. *Progress in Organic Coatings*, 2015, 80: 39-48.
- [25] CAO Y L, DING Y Y, ZHANG L P, *et al.* Preparation of surface-modified, micrometer-sized carboxymethyl chitosan drug-loaded microspheres [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2018, 135(4): 45731.
- [26] YU M L, YAO J W, LIANG J, *et al.* Development of functionalized abamectin poly(lactic acid) nanoparticles with regulatable adhesion to enhance foliar retention[J]. *RSC Advances*, 2017, 7(19): 11271-11280.
- [27] GAO Y, GENG X Y, WANG X J, *et al.* Synthesis and characterization of microencapsulated phase change materials with chitosan-based polyurethane shell[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 273: 118629.
- [28] VON HAARTMAN E, LINDBERG D, PRABHAKAR N, *et al.* On the intracellular release mechanism of hydrophobic cargo and its relation to the biodegradation behavior of mesoporous silica nanocarriers[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016, 95: 17-27.
- [29] FUNDUEANU G, CONSTANTIN M, ASCENZI P. Preparation and characterization of pH- and temperature-sensitive pullulan microspheres for controlled release of drugs[J]. *Biomaterials*, 2008, 29(18): 2767-2775.
- [30] SONG Y F, CHAI Y, XU K, *et al.* Functional polyurethane nanomicelle with pH-responsive drug delivery property[J]. *e-Polymers*, 2018, 18(5): 409-417.
- [31] XIE M, SHI H, MA K, *et al.* Hybrid nanoparticles for drug delivery and bioimaging: Mesoporous silica nanoparticles functionalized with carboxyl groups and a near-infrared fluorescent dye[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2013, 395: 306-314.
- [32] AKBARI A, WU J. Ovomucin nanoparticles: Promising carriers for mucosal delivery of drugs and bioactive compounds[J]. *Drug Delivery and Translational Research*, 2017, 7(4): 598-607.
- [33] KHAN M U A, RAZAQ S I A, MEHBOOB H, *et al.* Antibacterial and hemocompatible pH-responsive hydrogel for skin wound healing application: *In vitro* drug release[J]. *Polymers*, 2021, 13(21): 3703.
- [34] GULMEZ F, YERCAN A, KOCAAGA B, *et al.* pH-sensitive castor oil/PEG-based polyurethane films for drug delivery[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2020, 61(5): 102160.
- [35] GAO Y H, ZHANG Y H, HE S, *et al.* Fabrication of a hollow mesoporous silica hybrid to improve the targeting of a pesticide[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 364: 361-369.