

功能材料

基于壳聚糖/银离子的可逆温敏水凝胶的制备与性能

徐世宽¹, 张弘妹¹, 戚鹏飞¹, 曹张军², 邢彦军^{1*}

(1. 东华大学 化学与化工学院, 上海 201620; 2. 东华大学 生物与医学工程学院, 上海 201620)

摘要: 以壳聚糖 (CS) 和 AgNO₃ 为主要原料, 通过 CS 与 Ag⁺ 的超分子络合作用制备了一系列可逆温敏 CS-Ag 水凝胶, 采用 FTIR、XRD、XPS、SEM 和 EDS 对 CS-Ag 水凝胶的结构和化学状态进行了表征。结果表明, 通过同时调节 AgNO₃ 用量和体系 pH 可制备具有相同凝胶温度的 CS-Ag 水凝胶。当 CS 用量为 0.60 g、AgNO₃ 用量为 0.19 g、体系总体积为 21 mL、保持水凝胶 pH=4.24 时, 制备的 CS-Ag-19 水凝胶凝胶温度为 50 °C, 具有最佳的热可逆性能, 至少可循环相变 5 次, 具有室温避光保存 5 个月的稳定性, 并表现出对大肠杆菌良好的抗菌性能。CS-Ag-19 的溶胶-凝胶转换是由 CS 的氨基在不同温度下的超分子相互作用控制, H⁺ 和 Ag⁺ 在温度、浓度变化的驱动下, 对游离氨基的竞争反应 (质子化和络合作用) 之间的平衡关系使水凝胶具有温敏可逆性。CS-Ag-19 水凝胶的可注射和温敏凝胶性能使其具有作为水凝胶抗菌敷料的应用潜力。

关键词: 可逆温敏水凝胶; 壳聚糖; 银离子; 抗菌性; 可注射性; 功能材料

中图分类号: TQ630; TQ427.26

文献标识码: A

文章编号: 1003-5214 (2024) 05-1036-07

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Preparation and properties of reversible thermoresponsive hydrogels based on chitosan and silver ion

XU Shikuan¹, ZHANG Hongmei¹, QI Pengfei¹, CAO Zhangjun², XING Yanjun^{1*}

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China; 2. College of Biological Science and Medical Engineering, Donghua University, Shanghai 201620, China)

Abstract: A series reversible thermoresponsive chitosan (CS)-Ag hydrogels were prepared from supermolecule complexation of CS with Ag⁺ of AgNO₃, and characterized by FTIR, XRD, XPS, SEM and EDS for structure and chemical state analyses. The results showed that the CS-Ag hydrogels with the same gelation temperature could be obtained by adjusting the AgNO₃ amount and pH simultaneously. CS-Ag-19 hydrogel, prepared under conditions of CS amount 0.60 g, AgNO₃ amount 0.19 g, total volume 21 mL, and hydrogel pH 4.24, exhibited the best thermoreversible property, with cycle phase transformation for at least 5 times and stability for 5 months when stored at room temperature away from light. Moreover, the hydrogel displayed good antibacterial performance against *Escherichia coli*. The reversible thermoresponsiveness of CS-Ag hydrogel was controlled by supramolecular interactions among amino group at different temperatures. The equilibrium relationship between H⁺ and Ag⁺, driven by changes in temperature and concentration, and competitive reactions (protonation and complexation) against free amino groups made the hydrogel temperature sensitive and reversible. The injectability and thermo sensitivity of CS-Ag-19 made it promising as antibacterial dressing.

Key word s: reversible thermoresponsive hydrogels; chitosan; silver ion; antibacterial performance; injectability; functional materials

JOHNSON 等^[1]最早报道了基于明胶的自组装可逆水凝胶, 可逆温敏水凝胶可对外界温度变化作

出响应, 在生物医药和化工等方面有较为广泛的应用, 如加速药物释放递送、提高生物酶的热稳定性、

收稿日期: 2023-06-16; 定用日期: 2023-08-28; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230491

作者简介: 徐世宽 (1997—), 男, 博士生, E-mail: 1212004@mail.dhu.edu.cn. 联系人: 邢彦军 (1971—), 男, 教授, E-mail: yjxing@mail.dhu.edu.cn.

3D 细胞培养等^[2-4]。

由于壳聚糖 (CS) 具有生物降解性、生物相容性和细菌抗性, 已被广泛用于制备温敏水凝胶^[5-6]。但由于高相对分子质量 (简称分子量, M_w) 的 CS 水溶性较差, 不利于水凝胶网络结构的形成。近年来, 众多研究者通过在 CS 体系中引入有机交联剂^[7-11]或无机交联剂^[12-15], 赋予 CS 新的凝胶性能, 构建了基于 CS 的智能水凝胶体系。CS 与过渡金属离子交联具有凝胶速度快、凝胶过程简单等优良特性, 形成的水凝胶也在多种领域显示出应用潜能并被广泛研究^[16-19]。SUN 等^[16]制备了一种 CS 由金属离子 (Ag^+ 、 Cu^{2+} 等) 交联的水凝胶, 可以对外界环境 (如 pH、化学氧化还原等) 作出多种响应, 该水凝胶通过快速原位凝胶化程序形成, 具有持久的形状保持能力和显著的可塑性, 虽然制备的 CS 水凝胶可以发生凝胶-溶胶转变, 但实际需另外添加化学物质推动可逆过程的发生。由金属 (Al^{3+} 、 Ni^{2+} 、 Pd^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Y^{3+} 、 Eu^{3+} 、 Tb^{3+} 等) 磷酸盐交联的 CS 水凝胶虽然可作为组织工程支架和可回收催化剂使用^[15], 但由于金属磷酸盐的溶解度低, CS 水凝胶的结构均匀性和再现性较弱, 其凝胶-溶胶可逆转变鲜见报道。XU 等^[20]报道了一种由金属阳离子 M^{2+} (Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ni^{2+}) 和 CS 制备的新型高含水量可逆温敏水凝胶 (CS-M), 该水凝胶在凝胶化温度 (T_g) 下为溶胶状态, T_g 以上变为凝胶状态, 其中, CS-Cu 水凝胶可在溶胶状态和凝胶状态之间多次可逆转换。

由于 CS 在生物医用方面的优越性, 基于 CS 开发抗菌的可逆温敏水凝胶越来越具有实用意义, 但采用 Ag^+ 交联制备可逆温敏抗菌水凝胶鲜见报道。 Ag^+ 能与生物体电子传递链中代谢酶的微生物脱氧核糖核酸 (DNA) 和巯基结合, 形成稳定的配位复合物, 有效杀灭病原体微生物的同时, 还可以有效避免其产生耐药性^[21-22]。

本文拟通过 CS 与 Ag^+ 的超分子络合作用来制备可逆温敏水凝胶 CS-Ag, 研究不同 Ag^+ 添加量、pH 对 CS-Ag 水凝胶性能的影响, 考察水凝胶的抑菌功效和可注射性; 通过对 CS-Ag 水凝胶的组成和性能进行表征和测试, 提出其可逆温度响应机理。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

CS [$M_w \approx 47000$, 聚合物分散性指数 (PDI) 为 2.09, 脱乙酰度为 82%]、氢氧化钠 (分析纯), 国药集团化学试剂有限公司; $AgNO_3$, 分析纯, 上海精细化工材料研究所; 乙酸, 分析纯, 阿达玛斯试剂有限公司; 大肠杆菌 (CGMCC 1.2168), 中国普通微生物菌种保藏管理中心; Luria-Bertani 培养基,

上海源叶生物科技有限公司。

Spectrum II 型傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR), 美国 Perkin-Elmer 公司; D8 型 ADVANCE X 射线衍射仪 (XRD), 德国 Bruker 公司; K-Alpha+ 型 X 射线光电子能谱仪 (XPS), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; SU8010 型场发射扫描电子显微镜 [SEM, 配备能量色散光谱仪 (EDS) 检测器], 日本 Hitachi 公司。

1.2 样品的制备

将 0.60 g CS 加入到 20 mL 质量分数为 2% 的乙酸水溶液中, 室温下搅拌 1.5 h, 得到均匀的 CS-乙酸溶液。分别将 0.09、0.15、0.19、0.25、0.30、0.35 和 0.40 g $AgNO_3$ 溶于 1 mL 蒸馏水, 并加入到 CS-乙酸溶液中, 室温搅拌 1 h。使用质量分数为 20% 的乙酸水溶液和浓度为 0.1 mol/L 的氢氧化钠水溶液调节溶液的 pH, 得到一系列不同 pH 的水凝胶体系。制备得到的水凝胶体系命名为 CS-Ag-x, 其中 $x=9$ 、15、19、25、30、35 和 40, 分别对应上述 $AgNO_3$ 用量的 100 倍。

1.3 表征与测试

本研究水凝胶的表征均采用常温状态下自然挥发的干燥方式, 干燥时间为 72 h。

FTIR: ATR 方式, 波数范围为 $4000 \sim 400 \text{ cm}^{-1}$ 。XRD: 电压设定为 40 kV, 电流为 40 mA, 扫描范围 $2\theta=3^\circ \sim 90^\circ$ 。XPS: $Al K_{\alpha}$ 单色 X 光源, 激发能恒定为 1486.6 eV, 以污染碳 C—C 结合能 284.8 eV 为基准进行校正, 数据使用 XPS PEAK41 软件进行分峰拟合。采用 EDS 和 SEM 测定水凝胶的元素分布。

采用抑菌圈法^[23]测定 CS-Ag 水凝胶的抗菌性能: 将样品在 -60°C 下冷冻干燥 12 h, 并切割成直径为 5 mm、厚度为 1 mm 的圆片, 将样品原片置于接种菌落的 Luria-Bertani 培养基上, 35°C 下培养 24 h, 拍照进行进一步评估。采用的菌种为大肠杆菌。

2 结果与讨论

2.1 CS-Ag 水凝胶的可逆温敏性能

图 1 为 CS-Ag 水凝胶因温度变化而产生相变的过程示意图。可以看出, 新制备形成的 CS-Ag 水凝胶体系为半透明状, 体系均匀稳定, 流动性良好。将其放置在热水浴中加热, 当温度升高至 50°C 时, 水凝胶迅速失去流动性, 发生溶胶-凝胶的相转变, 其相转变过程在升温至 50°C 后 2 min 内即可完成, 实验发现, 其相转变速度随水浴温度升高而加快; 将加热后的 CS-Ag 水凝胶在室温环境放置一段时间, 随着温度下降, 又可观察到凝胶恢复至初始的流动状态, 更低的温度可使 CS-Ag 水凝胶的相转变在更短的时间内完成, 若将水凝胶浸泡在冰水中大约 5 min 即可使其恢复初始的流动状态。

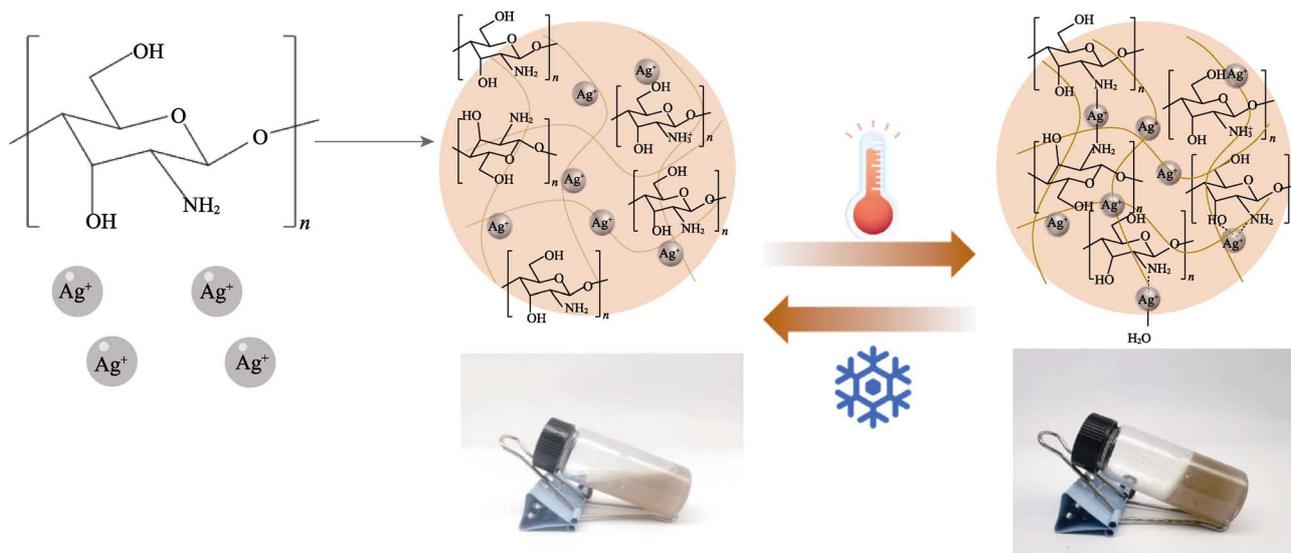


图 1 CS-Ag 水凝胶的溶胶-凝胶可逆相变示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sol-gel reversible phase transition of CS-Ag hydrogel

2.1.1 相转变影响因素分析

对 CS-Ag 水凝胶相转变过程的影响因素进行了探究, 结果见表 1。

表 1 不同 CS-Ag 水凝胶的合成条件及温敏性能

Table 1 Synthesis conditions and thermal sensitive properties of different CS-Ag hydrogels

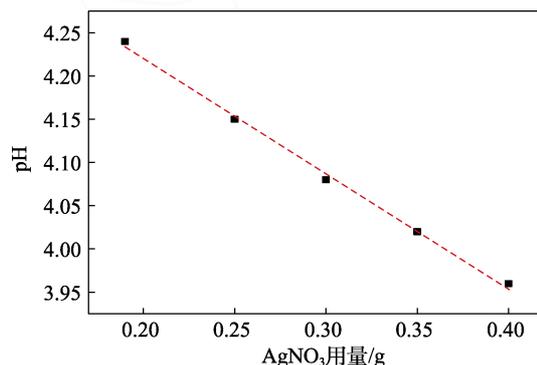
样品	AgNO ₃ /g	pH	凝胶温度/°C
CS-Ag-9	0.09	—	—
CS-Ag-15	0.15	—	—
CS-Ag-19	0.19	4.24	50
CS-Ag-25	0.25	4.15	50
CS-Ag-30	0.30	4.08	50
CS-Ag-35	0.35	4.02	50
CS-Ag-40	0.40	3.96	50

注：“—”表示加热后不形成凝胶。

从表 1 可以发现, 在所考察范围内, AgNO₃ 用量与体系 pH 共同影响水凝胶的相转变特性。为保持可逆的相转变, 当调整 AgNO₃ 用量时, 必须同时调节体系的 pH, 二者必须相互匹配。在制备的一系列可逆 CS-Ag 水凝胶中, AgNO₃ 用量与体系 pH 存在负相关关系: 当 AgNO₃ 用量增加时, 体系的 pH 减小; 当 AgNO₃ 用量减小时, 体系的 pH 增加。过低或过高的 AgNO₃ 用量, 以及过高或过低的体系 pH, 均导致水凝胶的相转变不可逆。当体系 AgNO₃ 用量在 0.19~0.40 g、pH 为 4.24~3.96 时, CS-Ag 水凝胶表现出良好的可逆性能。

对 AgNO₃ 用量 (x) 和 pH (y) 作图 (图 2), 并进行线性拟合, 得到线性方程: $y = -1.33x + 4.49$, $R^2 = 0.996$ 。在后续可逆水凝胶的制备过程中, 线性

方程可指导 AgNO₃ 用量和体系 pH 的相互匹配。

图 2 CS-Ag 水凝胶的 pH 与 AgNO₃ 用量的关系曲线Fig. 2 Relationship curve between pH and AgNO₃ dosage

研究表明, 控制 pH 和 Ag⁺ 用量可使样品具有温敏特性, 但凝胶转变温度均在 50 °C 附近, 变化很小。后续将对金属离子的类型和用量, 以及壳聚糖的结构、分子量与浓度等对凝胶的转化临界温度进行研究。

由于可逆 CS-Ag 水凝胶中, AgNO₃ 用量与体系 pH 存在负相关关系, 考虑到制备成本、工艺和未来应用环境的因素, 后续研究均以 CS-Ag-19 水凝胶为研究对象。

2.1.2 水凝胶的响应疲劳性和稳定性分析

图 3 是 CS-Ag-19 水凝胶的响应疲劳性测试结果。性能优良的可逆响应水凝胶应具备良好的可重复性。从图 3 可以看出, 在进行 5 次重复水浴加热和冷却后, 体系均能顺利地完成了溶胶-凝胶-溶胶的相转变过程, 这表明 CS-Ag-19 水凝胶具有良好的温敏可逆性和可重复性。在可重复性实验中还观察到,

随着加热次数的增多, 水凝胶的颜色逐渐变深。这可能是由于 AgNO_3 经多次加热或长时间见光分解

生成了 Ag_2O , 但水凝胶的颜色变化对水凝胶的可逆温敏响应性能并未产生显著的影响。



图 3 CS-Ag 水凝胶的可逆循环次数

Fig. 3 Reversible cycle times of CS-Ag hydrogel

经测试发现, 在所有可逆温敏 CS-Ag 水凝胶体系中, 当 CS 用量为 0.60 g、 AgNO_3 用量为 0.19 g, 体系 pH 为 4.24 时制备的 CS-Ag-19 水凝胶的稳定性最好。室温避光保存 5 个月后, CS-Ag-19 水凝胶仍然能够完成 5 次溶胶-凝胶-溶胶循环, 仍然具有良好的可逆温敏响应特性。

2.2 FT IR 分析

图 4 是 CS 和部分 CS-Ag 水凝胶的 FTIR 谱图。

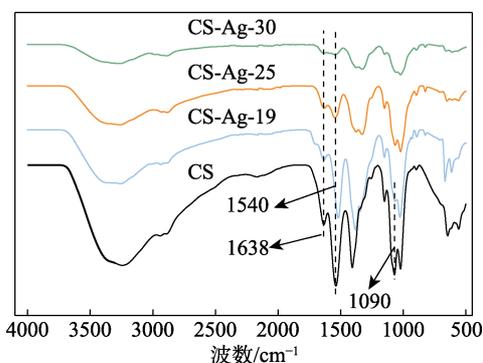


图 4 不同银含量的 CS-Ag 水凝胶 FTIR 谱图

Fig. 4 FTIR spectra of CS-Ag hydrogels with different silver content

从图 4 可见, 相比于 CS, CS-Ag-19 中氨基的两处特征吸收均发生了明显偏移, 分别由 1540、1411 cm^{-1} 偏移至 1510、1382 cm^{-1} , 这说明 CS 大分子中的氨基基团参与了 Ag^+ 的配位反应^[24]。CS 的 $-\text{CH}_2-\text{OH}$ 基团中 $\text{C}-\text{O}$ 的伸缩振动吸收峰 (1090 cm^{-1}) 未发生位移变化, 但强度有所降低。这表明 CS 中的 $-\text{CH}_2-\text{OH}$ 基团也可能部分参与了 Ag^+ 的配位。

虽然 CS-Ag-25 和 CS-Ag-30 水凝胶在 1540 cm^{-1} 处氨基的弯曲振动相对于 CS 没有明显位移变化, 但是它们在 1638 cm^{-1} (对应酰胺 I 带中的 $\text{C}=\text{O}$ 键

的伸缩振动) 和 1540 cm^{-1} (氨基的弯曲振动) 处的吸收峰强度比明显减小。在纯 CS 谱图中, 1540 cm^{-1} 处的吸收带要比 1638 cm^{-1} 处强得多, 但在 CS-Ag 水凝胶中, 随着 Ag^+ 用量的增加, 1540 和 1638 cm^{-1} 处吸收峰强度比 ($A_{1540} : A_{1638}$) 明显降低, 其中 CS-Ag-19 为 1.32, CS-Ag-25 为 1.05, CS-Ag-30 为 1.00。这一结果表明, 随着 Ag^+ 用量的增加, $-\text{NH}_2$ 与 Ag^+ 之间的配位作用逐渐增强。综上所述, CS-Ag 水凝胶网络的形成是由于 Ag^+ 与 CS 中 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{OH}$ 之间的配位反应, 并且 Ag^+ 与 $-\text{NH}_2$ 的配位反应为主导^[25]。

2.3 CS-Ag-19 水凝胶的 XRD 分析

图 5 为 CS-Ag-19 水凝胶的干凝胶 XRD 谱图。

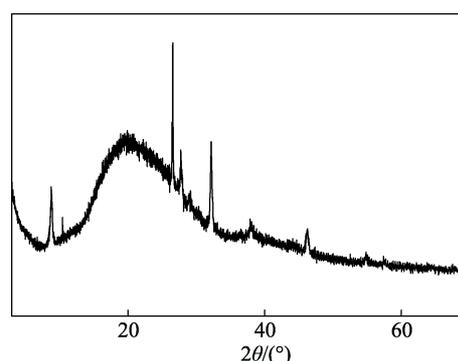


图 5 CS-Ag-19 水凝胶的干态 XRD 谱图

Fig. 5 XRD pattern of CS-Ag-19 xerogel

从图 5 可见, $2\theta=10.40^\circ$ 和 19.96° 两处位置的衍射峰为 CS 特征衍射峰, 对应 CS 高分子链形成的强的分子间和分子内氢键。 $2\theta=37.91^\circ$ 、 46.32° 和 54.84° 处衍射峰归因于 Ag_2O 的存在, 这可能是在干燥制备 XRD 样品过程中, AgNO_3 见光或加热后分解所致, 这也与之前观察到的变色现象一致 (图 3)。

$2\theta=8.79^\circ$ 处的明显尖峰为醋酸银的特征衍射峰, $2\theta=27.28^\circ$ 处的衍射峰则为 AgNO_3 的特征衍射峰。这表明, Ag 在该样品体系中以多种状态混合存在。这是因为, XRD 实际测试样品为干态凝胶, Ag 的状态受到了空气和阳光的影响, 而 CS-Ag-19 水凝胶体系中, Ag 主要以配位 Ag^+ 的形式存在。

2.4 XPS 分析

采用 XPS 测试 CS-Ag-19 水凝胶的元素组成和化学状态, 结果见图 6。

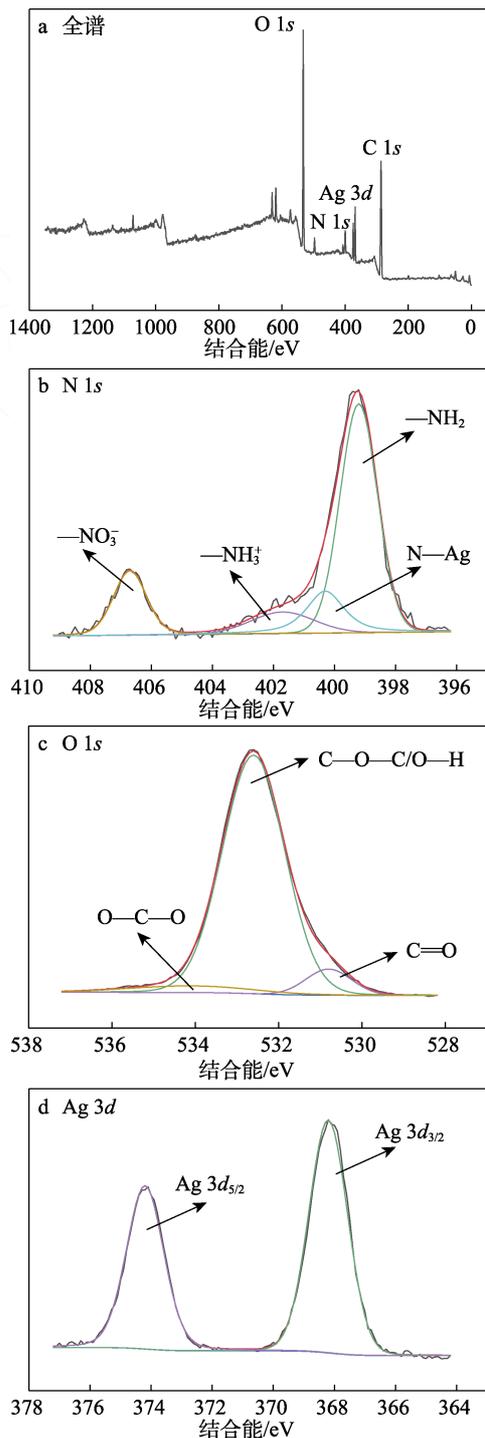


图 6 CS-Ag-19 水凝胶的 XPS 谱图
Fig. 6 XPS Spectra of CS-Ag-19 hydrogel

由样品的 XPS 全谱可见, 凝胶表面主要由 C、N、O、Ag 4 种元素组成。从 CS-Ag-19 的 N 1s 谱图可以看出, 在结合能 399.2、400.3、401.7 和 406.7 eV 处 4 个特征峰, 分别对应 $-\text{NH}_2$ 、 $\text{N}-\text{Ag}$ 、 $-\text{NH}_3^+$ 和 $-\text{NO}_3^-$ 4 种状态的 N 元素, 进一步证明了水凝胶的形成过程中存在 Ag^+ 与 CS 中 $-\text{NH}_2$ 基团的配位, 这与 FTIR 结果保持一致。由峰面积比例计算可得, CS 中参与 Ag^+ 配位的 N 占 CS 整体 N 的 17.11%。

CS-Ag-19 的 O 1s 谱图在结合能 532.6 eV 处显示出 1 个主峰, 在结合能 530.8、534.1 eV 处分解出两个弱峰。结合能 532.6 eV 的强峰为 $\text{C}-\text{O}-\text{C}/\text{O}-\text{H}$, 结合能 530.8 和 534.1 eV 的弱峰分别为酰胺基团的 $\text{C}=\text{O}$ 和吡喃糖环的 $\text{O}-\text{C}-\text{O}$ 。O 1s 谱图中未能明显观察到 $-\text{OH}$ 的配位作用, 由此可知, CS 中 $-\text{NH}_2$ 与 Ag^+ 的配位为主要作用。

CS-Ag-19 的 Ag 3d 谱图中, 在结合能 368.0 和 374.0 eV 的两个峰分别对应 $\text{Ag } 3d_{3/2}$ 和 $\text{Ag } 3d_{5/2}$, 为 +1 价 Ag 的特征峰, 这与 XRD 结果基本一致。XPS 未观测到 Ag 的其他价态, 可能是因为 XPS 的测试深度为 10 nm 左右, 无法检测到水凝胶内部 Ag 的形态。

2.5 EDS 分析

采用 EDS 能谱对 CS-Ag-19 水凝胶的均匀性进行分析, 结果见图 7。

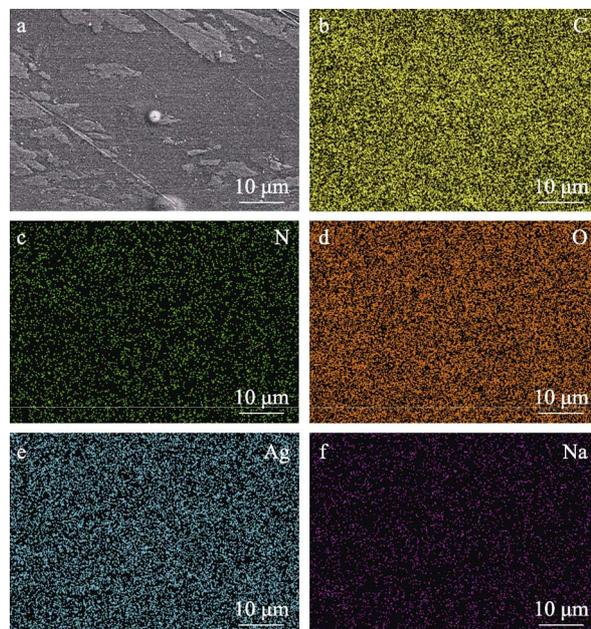


图 7 CS-Ag-19 干凝胶的表面形貌 (a) 及特征元素 (C、N、O、Ag、Na) 分布 (b~f)

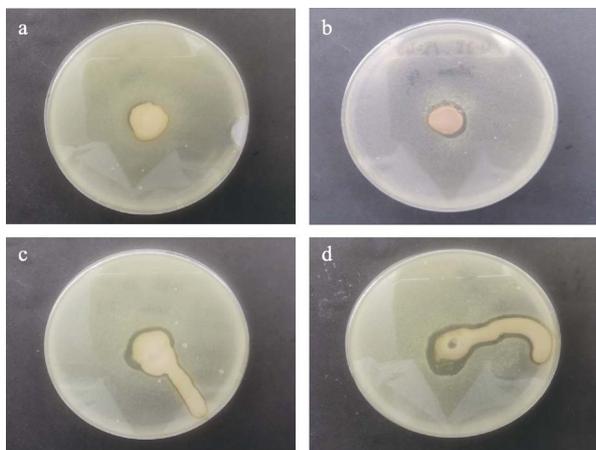
Fig. 7 Surface morphology (a) and characteristic element (C, N, O, Ag, Na) mapping (b~f)

图 7a 为干凝胶的表面形貌, 凝胶表面为致密结构。对 C、N、O、Ag、Na 5 种特征元素的分布状态进行表征, 结果表明, 5 种元素均在水凝胶表面

均匀散布, 制备得到的 CS-Ag-19 水凝胶是 1 个均一稳定的体系。

2.6 抗菌性能分析

对 CS 和部分 CS-Ag 水凝胶的抗菌性能进行测试, 结果见图 8。



a—CS; b—CS-Ag-19; c—CS-Ag-30; d—CS-Ag-35

图 8 冷冻干燥的 CS-Ag 水凝胶的抗菌性能

Fig. 8 Antibacterial performance of freeze-dried CS-Ag hydrogels

从图 8 可见, CS 在测试中并没有观察到明显的抑菌圈, 说明纯 CS 几乎没有抗大肠杆菌性能。无论是 Ag^+ 用量最低的 CS-Ag-19 和 Ag^+ 用量相对较高的 CS-Ag-30 和 CS-Ag-35, 都能观察到较明显的抑菌圈, 这说明所制备的水凝胶都具有抗菌性能。随着 Ag^+ 含量的提高, 抑菌圈增大, 说明水凝胶的抗菌性能增强。这也说明, Ag^+ 在制备的水凝胶中起到抗菌作用。这是因为, Ag^+ 可阻碍大肠杆菌细胞壁的合成, 并对其细胞膜造成损伤^[26]。

2.7 可注射性能分析

图 9 是 CS-Ag-19 水凝胶可注射性能测试结果。将 CS-Ag-19 水凝胶注射入 \geq 临界温度 ($50\text{ }^\circ\text{C}$) 的热水浴中, 它可迅速凝胶并保持独立的形状, 从水中捞出后不会立即液化。

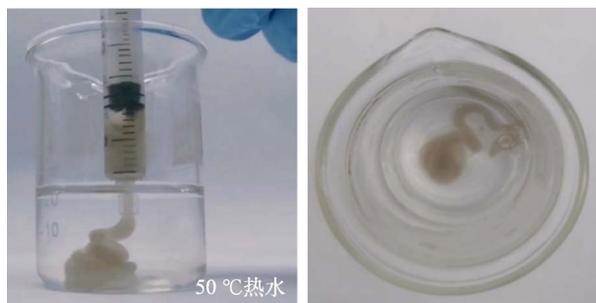


图 9 CS-Ag-19 水凝胶的可注射性能

Fig. 9 Injectable performance of CS-Ag-19 hydrogel

2.8 CS-Ag 水凝胶的可逆温敏响应机理分析

CS-Ag 可逆温敏响应水凝胶的形成可能与 CS

大分子中氨基参与的超分子作用力的可逆变化有关。在 CS-AgNO₃ 溶液中, 氨基可参与 3 种相互作用: 与水分子之间的氢键相互作用; 与氢离子的质子化作用; 与金属离子的络合作用。在加热或冷却过程中, 温度对以上 3 种作用进行可逆调节, 从而导致水凝胶相态发生变化, 其机理如图 10 所示^[15]。

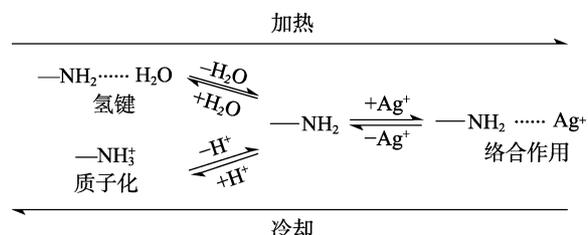


图 10 CS-Ag 可逆温敏响应水凝胶的溶胶-凝胶转变机理
Fig. 10 Sol-gel transition mechanism of CS-Ag reversible temperature-sensitive response hydrogel

在低温条件下, CS-AgNO₃ 溶液中的 H^+ 会与 CS 分子中大量的游离氨基结合, 形成质子化氨基 (—NH_3^+)^[27]。带正电的 —NH_3^+ 与 Ag^+ 之间的静电排斥作用阻止了两者的接近。同时, 还有部分氨基与体系中大量的水分子作用形成分子间氢键 ($\text{—NH}_2 \cdots \text{H}_2\text{O}$), 增大了空间位阻, 限制了氨基与 Ag^+ 的相互作用, 使得体系处于流动状态^[28]。当温度升高时, 氨基参与的相互作用发生变化, 氨基与水分子间的氢键作用被破坏, 与氢离子形成 —NH_3^+ 倾向于脱除质子。同时, 高温使得 CS 大分子链更加舒展^[29], 因此大量的游离氨基暴露出来, 并可与 Ag^+ 产生络合作用并形成网状结构, 所有的溶剂分子均被捕获在网格内无法自由移动。此时, 体系为凝胶状态。然而, 由于 Ag^+ 的浓度较低, 氨基与 Ag^+ 的络合作用无法完全控制 CS 的交联。因此, 当温度降低后, 平衡反应向左移动, 氨基与 Ag^+ 的络合作用减弱, 与水分子的氢键作用和与氢离子的质子化作用重新占据主导地位。此时, 体系恢复至初始的流动状态。

当 pH 升高时, H^+ 数量减少, 推动氨基与 H^+ 的质子化平衡反应向生成更多游离氨基的方向移动, 进而推动了游离氨基和 Ag^+ 的络合平衡正向移动, 在此情况下, 只有降低 Ag^+ 浓度, 才能使体系平衡状态回归, 从而保持水凝胶的温敏可逆性。反之亦然。从本质上看, 因为 H^+ 和 Ag^+ 对游离氨基的竞争反应 (质子化和络合作用) 之间的平衡关系使水凝胶具有温敏可逆性, 所以, H^+ 和 Ag^+ 只有同向变化 (增多或减少) 时, 才能维持游离氨基质子化和络合作用的平衡状态, 而 H^+ 的变化外在表现为 pH 的变化, 这就是 AgNO_3 用量和体系 pH 呈负相关的内在原因。

3 结论

通过步骤简单、成本低廉的实验方法制备了基于 CS 与 Ag⁺的可逆温敏响应 CS-Ag 水凝胶。结论如下:

(1) 在 CS-Ag 水凝胶中, AgNO₃ 用量与体系 pH 存在负相关关系。其中, 体系 AgNO₃ 用量在 0.19~0.40 g、pH 为 4.24~3.96 时, CS-Ag 水凝胶表现出良好的可逆性能。水凝胶 pH 为 4.24 时, 使用 0.60 g 的 CS 和 0.19 g 的 AgNO₃ 制备的 CS-Ag-19 水凝胶的凝胶温度为 50 °C, 至少可循环相变 5 次, 在室温避光保存 5 个月后仍能够进行循环相变。

(2) CS-Ag 水凝胶的可逆温敏响应是由 CS 中的氨基在不同温度下的超分子相互作用所致。H⁺和 Ag⁺对游离氨基的竞争反应之间存在的平衡关系, 因而赋予水凝胶温敏可逆性。

(3) CS-Ag-19 水凝胶还具有良好的抗菌性、可注射性。因此, 本文制备的可逆温敏响应水凝胶 CS-Ag 具有作为水凝胶抗菌敷料的应用潜力。

参考文献:

- [1] JOHNSON P, METCALFE J C. Physico-chemical studies on gelatin gels from soluble and insoluble collagens[J]. *European Polymer Journal*, 1967, 3(3): 423-430.
- [2] ZHANG Y J (张拥军), GUAN Y (关英), LUO Q F (罗巧芳), *et al.* Applications of thermosensitive PNIPAM microgels in biomedical field[J]. *Polymer Bulletin (高分子通报)*, 2013(1): 26-39.
- [3] JASIONOWSKI M, KRZYMINSKI K, CHRISLER W, *et al.* Thermally-reversible gel for 3D cell culture of chondrocytes[J]. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, 2004, 15(5): 575-582.
- [4] MARCO-DUFORT B, JANCZY J R, HU T J, *et al.* Thermal stabilization of diverse biologics using reversible hydrogels[J/OL]. *Science Advances*, 2022, 8(31). DOI: 10.1126/sciadv.abo0502.
- [5] HOFFMAN A S. Stimuli-responsive polymers: Biomedical applications and challenges for clinical translation[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2013, 65(1): 10-16.
- [6] SUN M M (孙苗苗), WEI P H (魏培贺), KANG C (康纯), *et al.* Preparation and drug loading properties of an injectable CS/PLLA-SA composite hydrogel[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(2): 358-365.
- [7] NORDBY M H, KJONIKSEN A L, NYSTROM B, *et al.* Thermoreversible gelation of aqueous mixtures of pectin and chitosan rheology[J]. *Biomacromolecules*, 2003, 4(2): 337-343.
- [8] MOURA M J, FANCA H, LIMA M P, *et al.* *In situ* forming chitosan hydrogels prepared via ionic/covalent co-cross-linking[J]. *Biomacromolecules*, 2011, 12(9): 3275-3284.
- [9] CHO J, HEUZEY M C, BEGIN A, *et al.* Effect of urea on solution behavior and heat-induced gelation of chitosan-beta-glycerophosphate[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2006, 63(4): 507-518.
- [10] CHO J Y, HEUZEY M C, BEGIN A, *et al.* Physical gelation of chitosan in the presence of beta-glycerophosphate: The effect of temperature[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(6): 3267-3275.
- [11] RADIVOJŠA M, GRABNAR I, GRABNAR P A. Thermoreversible *in situ* gelling poloxamer-based systems with chitosan nanocomplexes for prolonged subcutaneous delivery of heparin: Design and *in vitro* evaluation[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2013, 50(1): 93-101.
- [12] WANG T R, WUSIGALE, KUTTAPPAN D, *et al.* Polydopamine-coated chitosan hydrogel beads for synthesis and immobilization of silver nanoparticles to simultaneously enhance antimicrobial activity and adsorption kinetics[J]. *Advanced Composites and Hybrid Materials*, 2021, 4(3): 696-706.
- [13] WANKAR S, SAPRE N, GUMATHANAVAR R, *et al.* Silver-chitosan (Ag-CH) nanocomposite hydrogel for remediation of aqueous medium[J/OL]. *Materials Today: Proceedings*, 2022. DOI: 10.1016/j.matpr.2022.12.023.
- [14] HE W Z, ZHU Y J, CHEN Y, *et al.* Inhibitory effect and mechanism of chitosan-Ag complex hydrogel on fungal disease in grape[J]. *Molecules*, 2022, 27(5): 1688.
- [15] KOZICKI M, KOLODZIEJCZYK M, SZYNKOWSKA M, *et al.* Hydrogels made from chitosan and silver nitrate[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 240: 74-87.
- [16] SUN Z F, LYU F C, CAO L J, *et al.* Multistimuli-responsive, moldable supramolecular hydrogels cross-linked by ultrafast complexation of metal ions and biopolymers[J]. *Angewandte Chemie-International Edition*, 2015, 54(27): 7944-7948.
- [17] NIE J Y, WANG Z K, HU Q L. Chitosan hydrogel structure modulated by metal ions[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36005.
- [18] RAVISHANKAR K, KANNIYAPPAN H, SHELLY K M, *et al.* Facile, shear-induced, rapid formation of stable gels of chitosan through *in situ* generation of colloidal metal salts[J]. *Chemical Communications*, 2018, 54(82): 11582-11585.
- [19] LEE H, KANG S B, YOO H, *et al.* Reversible crosslinking of polymer/metal-ion complexes for a microfluidic switch[J]. *ACS Omega*, 2021, 6(51): 35297-35306.
- [20] XU S K, ZHANG H M, LI Y W, *et al.* Thermoreversible and tunable supramolecular hydrogels based on chitosan and metal cations[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 242(2): 124906.
- [21] WU J J, YU C, LI Q. Novel regenerable antimicrobial nanocomposite membranes: Effect of silver loading and valence state[J]. *Journal of Membrane Science*, 2017, 531: 68-76.
- [22] XING Y J, YANG X J, DAI J J. Antimicrobial finishing of cotton textile based on water glass by sol-gel method[J]. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 2007, 43(2): 187-192.
- [23] Standardization Administration (国家标准化管理委员会). Determination of antimicrobial activity for polypeptides-Inhibition zone method: GB/T 39101—2020[S]. Beijing: China Standard Press (中国标准出版社), 2020.
- [24] WANG H, WU Y, WU P C, *et al.* Environmentally benign chitosan as reductant and supporter for synthesis of Ag/AgCl/chitosan composites by one-step and their photocatalytic degradation performance under visible-light irradiation[J]. *Frontiers of Materials Science*, 2017 11(2): 130-138.
- [25] ISHIHARA M, NGUYEN V Q, MORI Y, *et al.* Adsorption of silver nanoparticles onto different surface structures of chitin/chitosan and correlations with antimicrobial activities[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(6): 13973-13988.
- [26] JUNG W K, KOO H C, KIM K W, *et al.* Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(7): 2171-2178.
- [27] XIA B H, CUI Q L, HE F, *et al.* Preparation of hybrid hydrogel containing Ag nanoparticles by a green *in situ* reduction method[J]. *Langmuir*, 2012, 28(30): 11188-11194.
- [28] SHAO W, SHEN Q. Dynamic dissolution behavior of chitosan in acetic acid[J]. *Journal of Cellulose Science and Technology*, 2007, 15(2): 30-33, 38.
- [29] CHO J, MARIE-CLAUDE H, BÉGIN A, *et al.* Physical gelation of chitosan in the presence of β-glycerophosphate: The effect of temperature[J]. *Biomacromolecules*, 2005, 6(6): 3267-3275.