

功能材料

CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶的制备与性能

金泽天, 程青, 毛黎, 罗立新*

(武汉大学 化学与分子科学学院, 湖北 武汉 430072)

摘要: 以壳聚糖 (CS) 和丙烯酸 (AA) 为原料、Zn²⁺ 为配位离子, 采用紫外光照射法制备了 CS-聚丙烯酸 (PAA)/Zn²⁺ 复合网络水凝胶。通过 FTIR、XRD、SEM 对样品进行了表征, 考察了 AA 与 CS 上的氨基 (—NH₂) 物质的量比、Zn²⁺ 溶液加入量对 CS-PAA/Zn²⁺ 溶胀能力、拉伸性能、细胞毒性和抗菌性能的影响。结果表明, CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶是以 CS 链为主链, —NH₂ 为第一位点交联较短的 PAA 短链, 减少了 PAA 的生成, 形成第一网络; PAA 短链上的 —COOH 为第二位点, 利用 Zn²⁺ 的动态金属配位作用, 形成第二网络。CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶存在较均匀、平整的外侧结构和富有管道空间及孔隙的内部结构; 当使用 1.0 g CS 为原料、 $n(\text{AA}) : n(\text{—NH}_2) = 1.0 : 1$ 、0.01 mol/L 的 Zn²⁺ 溶液加入量为 4.0 mL 时, 制备的 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶溶胀能力和拉伸能力最强, 在 pH=1 的溶液中, 最大溶胀度为 87.2%, 断裂伸长率为 331.265%, 同时保持了较好的细胞 (MDA-MB-231 细胞) 活性与抗菌 (大肠杆菌) 性能, 其细胞毒性低, 细胞增殖率最低可达 327.9%, 具有良好的抗菌性能, 添加 Zn²⁺ 后抑菌圈直径最大可达 5 mm。

关键词: 壳聚糖; 水凝胶; 复合网络; 伤口敷料; 低毒性; 功能材料

中图分类号: TQ427.26 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 10-2199-07

Preparation and properties of CS-PAA/Zn²⁺ composite network hydrogels

JIN Zetian, CHENG Qing, MAO Li, LUO Lixin*

(College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, Hubei, China)

Abstract: CS-polyacrylic acid (PAA)/Zn²⁺ composite network hydrogels were synthesized from raw materials chitosan (CS) as well as acrylic acid (AA) and ligand Zn²⁺ via UV illumination method, and characterized by FTIR, XRD and SEM. The effects of AA to amino group (—NH₂) on CS molar ratio and addition amount of Zn²⁺ solution on swelling capacity, tensile properties, cytotoxicity and antibacterial properties of CS-PAA/Zn²⁺ were evaluated and analyzed. The results showed that CS-PAA/Zn²⁺ composite network hydrogel was formed using CS chain as main chain and —NH₂ as the first site to cross-link the shorter PAA short chain, which reduced the generation of PAA and formed the first network. —COOH on the short chain of PAA was used as the second site, which utilized the dynamic metal coordination effect of Zn²⁺ to form the second network. CS-PAA/Zn²⁺ composite network hydrogel exhibited a relatively uniform and flat outer structure and an inner structure rich in piping spaces and pores. Under the conditions of 1.0 g CS, $n(\text{AA}) : n(\text{—NH}_2) = 1.0 : 1$, 0.01 mol/L Zn²⁺ solution of 4.0 mL, the CS-PAA/Zn²⁺ composite network hydrogel obtained showed the strongest swelling and stretching ability, with the maximum swelling degree of 87.2% and elongation at break of 331.265% in pH=1 solution. Meanwhile, the CS-PAA/Zn²⁺ composite network hydrogel displayed good cellular (MDA-MB-231 cells) activity and antibacterial (*Escherichia coli*) properties, with the lowest cell proliferation rate of 327.9% and a diameter of inhibition zone of 5 mm.

Key words: chitosan; hydrogels; composite network; wound dressing; low toxicity; functional materials

壳聚糖 (CS) 是由甲壳素脱除 N-乙酰基得到的产物^[1], 具有优异的生物可降解性^[2]、生物相容性^[3-5]

和止血性能^[6], 被广泛应用于生物医药的多种产业中^[7], 例如: 水凝胶敷料^[8]、生物传感器^[9]、人造骨

收稿日期: 2023-10-20; 定用日期: 2023-11-27; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230887

作者简介: 金泽天 (1997—), 男, 硕士生, E-mail: 951583115@qq.com. 联系人: 罗立新 (1966—), 男, 副教授, E-mail: chem200809@126.com.

糖^[10-11]、细胞培养基^[12]等,在其他行业也具有很大的应用潜力^[13]。水凝胶是呈固体形态的三维聚合物网络^[14-15]。当前,壳聚糖水凝胶的合成方法主要是自由基聚合法,其中,以光引发聚合^[16]和添加交联剂的一锅法合成为主^[17]。然而,添加交联剂的合成方法不可避免地会造成化学药剂的残留^[18-19],导致水凝胶对皮肤刺激性和细胞毒性的上升。而通过光引发聚合的方法不需要额外添加交联剂,在制备生物材料方面具有优势^[20-21]。

ZHOU 等^[22]通过壳聚糖与甲基丙烯酸乙二醇酯的 Michael 加成反应制备了水溶性(甲基丙烯酰氧基)乙基羧乙基壳聚糖光交联大分子单体,将其用于制作组织工程支架。LIU 等^[23]利用生物相容性光交联壳聚糖水凝胶膜,开发了一种甲硝唑控释葡萄糖敏感给药系统。在以往对 CS-聚丙烯酸(PAA)水凝胶的研究中,研究人员使用大量的丙烯酸(AA)^[24]或以添加交联剂的方法^[25]来保证水凝胶的物理性能,大量丙烯酸的添加会使壳聚糖本身卓越的生物相容性受限,水凝胶的性能极大地偏向聚丙烯酸为主体的单网络凝胶;而交联剂的使用会提高水凝胶的毒性,使其在伤口敷料上的应用受限。

本文拟通过紫外光自由基聚合的方法,制备以 CS-PAA 网络为第一网络, PAA-Zn²⁺络合网络为第二网络的低毒性复合网络水凝胶 CS-PAA/Zn²⁺。在聚合过程中,为避免聚丙烯酸单体的残留,降低水凝胶作为伤口敷料对皮肤的刺激性,采用尽可能少量的丙烯酸为原料来控制聚丙烯酸链的链长;引入具有杀菌作用的 Zn²⁺作为配位离子,利用动态金属配位作用来增强凝胶的物理特性,同时赋予其潜在的自愈合能力;并且,使用浸泡法制备脱水凝胶,可以有效增强凝胶的物理强度,获得可应用于伤口敷料领域的低毒性复合网络水凝胶,以期拓宽 CS-PAA 水凝胶的应用途径。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

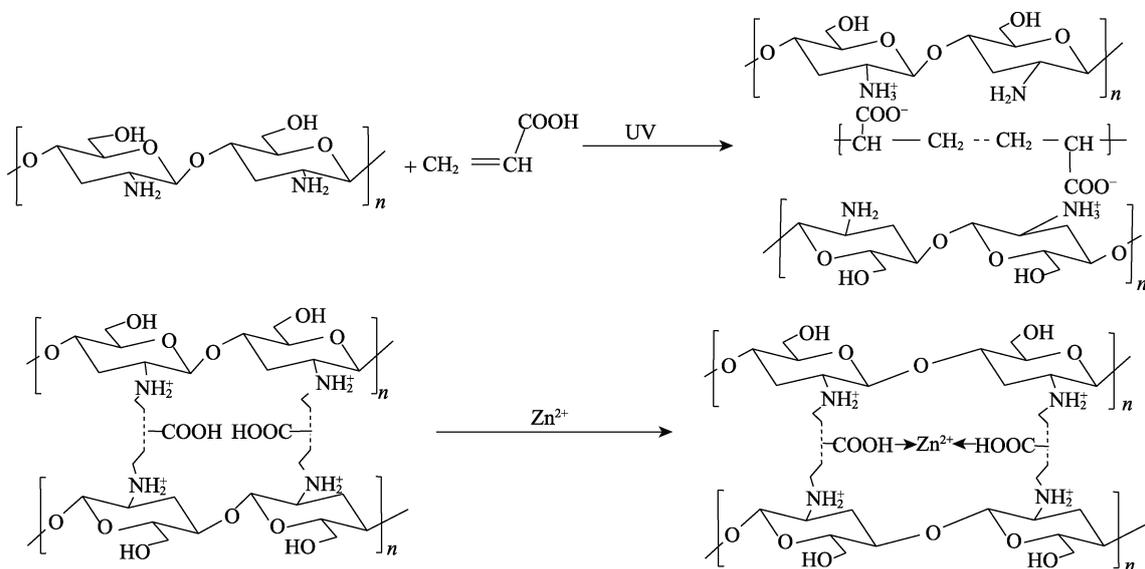
CS(数均相对分子质量 50000,脱乙酰度 >70%)、丙烯酸,分析纯,天津市华东试剂厂; ZnSO₄·7H₂O,化学纯,天津市化学试剂三厂; 2-异丙基硫杂蒽酮(ITX),分析纯,巴斯夫化工有限公司; 磷酸盐缓冲液(PBS, pH=6); L-15 培养基、MDA-MB-231 细胞、增强型细胞活力检测试剂盒(CCK-8),普诺赛生命科技有限公司; LB 肉汤培养基、琼脂粉、大肠杆菌固体培养基、大肠杆菌(编号: ATCC25922),生工生物工程(上海)股份有限公司。

Instron 5967 型万能试验机,英国 Instron 公司; Nicolet iS5 型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR),美国 Thermo Fisher Scientific 公司; D8 Advance 型 X 射线衍射仪(XRD),德国 Bruker 公司; FEI QUANTA FEG250 型场发射扫描电子显微镜(SEM),美国 FEI 公司; 550 型 ELSA 平板读取器,德国 ELSA 科技公司。

1.2 样品的制备

将 1.0 g CS 加入到 40 mL 质量浓度为 1.1 g/mL 的丙烯酸水溶液中,丙烯酸与壳聚糖上的氨基(—NH₂)物质的量比为 1.0 : 1。磁力搅拌 3 h,盖上保鲜膜放置 3 h 至均匀澄清。预先滴入 4.0 mL 浓度 0.01 mol/L 的 Zn²⁺溶液(由 ZnSO₄·7H₂O 配制),搅拌均匀后,滴入 0.4 mL 0.786 mol/L 的光引发剂 ITX 甲醇溶液,边滴边搅拌,得到乳白色的黏稠液体。以 4000 r/min 转速离心去除气泡,得到预聚溶液。

水凝胶样品的制备:将预聚溶液放入样品管中,紫外灯(365 nm, 1 kW)下光照 15 min,得到以 CS-PAA 网络为第一网络, PAA-Zn²⁺络合网络为第二网络的低毒性复合网络水凝胶 CS-PAA/Zn²⁺。其合成路线如下所示:



固定丙烯酸水溶液体积为 40 mL, 保持 0.01 mol/L Zn²⁺溶液加入量 4.0 mL, 调整丙烯酸与 1.0 g CS 上的氨基物质的量比为 0.5 : 1、1.5 : 1、2.0 : 1, 其他条件不变, 得到不同 $n(\text{AA}) : n(-\text{NH}_2)$ 的 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶; 固定丙烯酸水溶液体积为 40 mL, 保持丙烯酸与 1.0 g 壳聚糖上的氨基物质的量比为 1.0 : 1, 调整滴入的浓度为 0.01 mol/L 的 Zn²⁺ 溶液 1.0、2.0、3.0、5.0、6.0 mL, 其他条件不变, 得到不同 Zn²⁺ 溶液加入量的 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶。

固定丙烯酸水溶液体积为 40 mL, 未加入 0.01 mol/L Zn²⁺ 溶液, 保持丙烯酸与 1.0 g 壳聚糖上的氨基物质的量比为 1.0 : 1, 制备得到 CS-PAA 水凝胶。

如无特殊说明, 后文表征和测试中, CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶指的是在 $n(\text{AA}) : n(-\text{NH}_2) = 1.0 : 1$ 、Zn²⁺ 溶液加入量为 4.0 mL 条件下制备的样品。

1.3 表征方法与性能测试

将水凝胶样品放入 -20 °C 冰箱冷冻 12 h 后, 再在 -50 °C 真空冻干 48 h 进行 FTIR、XRD、SEM、溶胀能力测试。

1.3.1 FTIR 测试

分别取 1 mg 干燥的 CS、冻干的 CS-PAA 水凝胶和 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶, 在红外灯下与 100 mg 干燥的 KBr 充分研磨, 然后将研磨好的粉末转移到洁净的压片磨具中制片, 最后将制作的晶片进行 FTIR 检测, 波数范围 4000~500 cm⁻¹。

1.3.2 XRD 测试

分别取适量干燥的 CS、冻干 CS-PAA 水凝胶和冻干 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶样品平铺在玻璃片上, 置于 XRD 内样品台上, 待仪器稳定后扫描测试。测试条件为: Cu 靶 K_α 射线, 管电压 45 kV, 管电流 200 mA, 扫描速率 8 (°)/min, 扫描范围 $2\theta = 5^\circ \sim 80^\circ$ 。

1.3.3 SEM 测试

用干净的药勺在冻干水凝胶表面及内部刮下碎末, 均匀分散在导电胶上, 表面喷 Pt, 通过 SEM 观察记录样品形貌。

1.3.4 溶胀能力测试

在培养皿中倒入适量 0.1 mol/L 的 PBS, 用 0.1 mol/L 的盐酸调节 pH 为 1。切取大小合适、质量为 m_a (g) 的冻干水凝胶放入培养皿溶液中, 保证完全浸没。每 5 min 取出, 擦去表面水溶液, 称量, 记为 m_b (g), 重复操作直至溶胀平衡 3 次。每组实验重复 3 次, 取平均值。根据式 (1) 计算最大溶胀度 (SR_{max}):

$$\text{SR}_{\text{max}}/\% = (m_b - m_a)/m_a \times 100 \quad (1)$$

重复上述实验, 其他条件不变, 分别用 0.1 mol/L

的 NaOH 溶液或 0.1 mol/L 盐酸调节 PBS 缓冲液至 pH 分别为 3、5、7、9、11, 计算不同 pH 溶液浸泡的水凝胶的 SR_{max}。

1.3.5 拉伸能力测试

将水凝胶样品在去离子水中浸泡 72 h, 期间每隔 24 h 换 1 次水。利用凝胶内部和外部的极性差异排出凝胶内的水分, 使凝胶收缩成白色橡胶条状, 得到脱水收缩的水凝胶样品。使用带有 500 N 负荷传感器的万能试验机对样品进行了机械测试, 拉伸速率为 10 mm/min。实验重复 5 次。

1.3.6 细胞毒性测试

将水凝胶样品按 100 μL/孔铺于 96 孔板, 加入等量 L-15 培养 12 h, 弃掉上清液, 将 MDA-MB-231 细胞接种于凝胶表面, 细胞密度 5×10^4 个/mL, 培养 24 h。随后加入 10 μL CCK-8, 培养 2 h。在 ELSA 平板读取器中用分光光度法 (450 nm 波长) 测量光密度 (OD)。设置生理盐水为对照组, 根据式 (2) 计算细胞增殖率 (%):

$$\text{细胞增殖率}/\% = (\text{OD}_{\text{对照组}} - \text{OD}_{\text{实验组}}) / \text{OD}_{\text{对照组}} \times 100 \quad (2)$$

1.3.7 抗菌性能测试

采用抑菌圈法测试样品的抗菌性能。

称取 2.5 g LB 肉汤培养基和 100 mL 蒸馏水, 在 250 mL 试剂瓶中混合配制 LB 液体培养基。重复上述操作, 在 LB 液体培养基中加入 1.5 g 琼脂粉, 配制 LB 固体培养基。将 LB 液体培养基和 LB 固体培养基于高温高压蒸汽灭菌锅中 121 °C、15 min 灭菌后待用。待 LB 液体培养基冷却至 40~50 °C, 用电动移液器吸取 15 mL 到一次性无菌平皿中。取两支 12 mL 细菌培养管, 各加入 3 mL LB 液体培养基, 从大肠杆菌固体培养基上挑取单菌落加入其中一支细菌培养管中, 另一支作为空白对照。将两支细菌培养管放于恒温振荡器 (37 °C, 200 r/min) 中振荡培养 15 h, 得到细菌悬液备用。取不同 0.01 mol/L Zn²⁺ 溶液加入量 (分别为 0、2.0、4.0 和 6.0 mL) 的 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶, 切成大小合适的小块, 紫外灭菌 30 min 备用。用无菌 PBS 将制得的大肠杆菌悬液稀释至 1×10^5 CFU/mL, 然后吸取 100 μL 均匀涂布于 LB 固体培养基上, 用 10 mm 打孔器打孔, 取紫外灭菌完成的样品分别加至孔内, 将添加大肠杆菌悬液和凝胶样品的 LB 固体培养基放于恒温培养箱中 37 °C 培养 24 h。培养完成后取出, 用普通相机拍照并测量记录抑菌圈大小, 每组取 3 个样品, 结果取平均值。

2 结果与讨论

2.1 溶胀能力分析

水凝胶的溶胀能力对其在伤口敷料领域上的应

用至关重要，其影响着水凝胶对伤口渗出液的吸收能力。图 1 为 pH 对不同 $n(\text{AA}) : n(-\text{NH}_2)$ 制备的 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶最大溶胀度的影响。

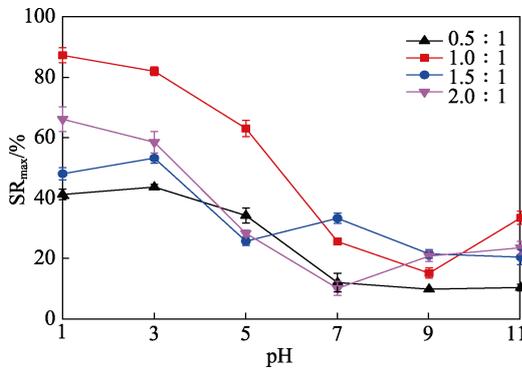


图 1 pH 对不同 $n(\text{AA}) : n(-\text{NH}_2)$ 制备的 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶的影响

Fig. 1 Effect of pH on maximum swelling degree of CS-PAA/ Zn^{2+} composite network hydrogels prepared with different $n(\text{AA}) : n(-\text{NH}_2)$

从图 1 可以看出，随着 pH 的增大，所有 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶的 SR_{max} 均呈现减小并逐渐平稳或小幅回升的趋势，说明 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶在酸性条件下具有较好的吸水能力。原因可能是，强酸条件下壳聚糖的游离氨基电离程度高，电荷斥力使凝胶内部空间增大，增强了吸水能力。随着 pH 的升高，氨基电离程度降低，凝胶内部空间减小，溶胀能力减弱。而随着 pH 的继续升高至碱性，羧基的电离程度增加，由于渗透压和电荷斥力的原因，凝胶溶胀能力回升。从图 1 还可以看出， $n(\text{AA}) : n(-\text{NH}_2) = 1.0 : 1$ 时，制备的 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶具有最强的溶胀能力（pH=1 时， $\text{SR}_{\text{max}} = 87.2\%$ ）。原因可能是， $n(\text{AA}) : n(-\text{NH}_2) = 1.0 : 1$ 时，丙烯酸用量足够使壳聚糖链交联，凝胶结构稳定，具有较好的保水能力。而当 $n(\text{AA}) : n(-\text{NH}_2)$ 增大时，丙烯酸用量的增加导致凝胶内部的羧基数量增加，过多的亲水羧基排列在凝胶外侧，疏水氨基在内侧，内外的极性差异使凝胶的吸水能力减弱。

2.2 拉伸性能分析

作为伤口敷料，水凝胶的拉伸能力也很重要，因为人体运动时会对敷料产生拉扯使其延长，而较好的拉伸能力能够保证其在被拉扯时不会断裂。图 2 为 CS-PAA 水凝胶和 Zn^{2+} 溶液加入量为 2.0、4.0 和 6.0 mL 制备的 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶的拉伸性能。

从图 2 可以看出，没有加入 Zn^{2+} 制备的 CS-PAA 水凝胶，断裂伸长率为 106.228%，拉伸应力为 0.045 MPa。随着 Zn^{2+} 溶液加入量的增加，CS-PAA/ Zn^{2+}

复合网络水凝胶断裂伸长率先升后降；当 Zn^{2+} 溶液加入量为 4.0 mL 时，断裂伸长率达到峰值，为 331.265%；当 Zn^{2+} 溶液加入量增至 6.0 mL 时，断裂伸长率降低至 218.746%；而拉伸应力随着 Zn^{2+} 溶液加入量的增加而上升，最高达到 0.129 MPa（ Zn^{2+} 溶液加入量为 6.0 mL）。另外，从引入 Zn^{2+} 后的应力-应变曲线能观察到较为明显的“屈服成颈”现象，此现象说明， Zn^{2+} 的加入在凝胶内部形成了第二种交联形式。其原因可能是，加入的 Zn^{2+} 和游离的羧基形成配位，使羧基成为第二交联位点，加强了凝胶的网状结构，进而增强了凝胶拉伸性能；而加入过量的 Zn^{2+} 后影响了自由基的聚合，使凝胶整体分子量降低^[25]，导致拉伸能力下降。总之， Zn^{2+} 的加入使凝胶的拉伸性能得到了极大的加强，这归功于 Zn^{2+} 的动态金属配位作用。

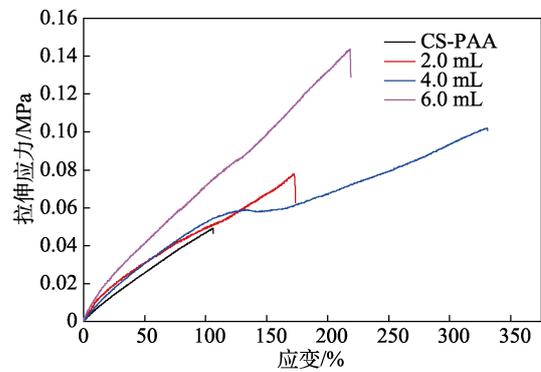


图 2 CS-PAA 和不同 Zn^{2+} 溶液加入量制备的 CS-PAA/ Zn^{2+} 的应力-应变曲线

Fig. 2 Stress-strain curves of CS-PAA and CS-PAA/ Zn^{2+} prepared with different addition amounts of Zn^{2+} solution

2.3 FTIR 分析

图 3 为 CS、CS-PAA、CS-PAA/ Zn^{2+} 的 FTIR 谱图。

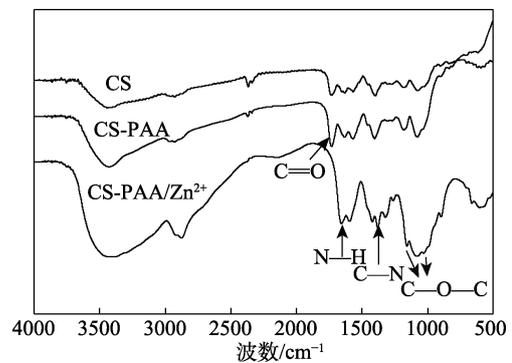


图 3 CS、CS-PAA 和 CS-PAA/ Zn^{2+} 的 FTIR 谱图
Fig. 3 FTIR spectra of CS, CS-PAA and CS-PAA/ Zn^{2+}

从图 3 可以看出，CS 在 $3500 \sim 3250 \text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰为 $-\text{OH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 的伸缩振动，而 CS-PAA 和 CS-PAA/ Zn^{2+} 上此处的吸收峰明显减弱，原因是聚合

后凝胶内部的氢键作用被大幅削弱; CS-PAA 在 1750 cm⁻¹ 处的吸收峰归属于丙烯酸中的 C=O 键的伸缩振动, CS 在此处不存在吸收, 而 CS-PAA/Zn²⁺ 在此处的峰透过率明显减弱, 说明 Zn²⁺ 的引入消耗了凝胶内部的羧基, 与 Zn²⁺ 形成了配位; CS 中 1640 cm⁻¹ 处的吸收峰为 N—H 键的伸缩振动, 而 CS-PAA 和 CS-PAA/Zn²⁺ 中 N—H 键的伸缩振动红移至 1618 cm⁻¹, 且峰透过率明显减弱。CS-PAA 和 CS-PAA/Zn²⁺ 在 1450 cm⁻¹ 处 C—N 键的吸收峰透过率比 CS 强, 这两处峰值的变化说明水凝胶内部的氢键作用被削弱, PAA 与 CS 的结合位点在 CS 中的 —NH₂ 上。1050 和 1250 cm⁻¹ 两处的吸收峰归属于 C—O—C 键的伸缩振动, 3 种样品在此处均有吸收, 且透过率无明显变化, 说明聚合反应发生后 CS 链没有断裂, 可以保持较大的相对分子质量。综上所述, CS 和 PAA 成功通过离子相互作用力结合形成水凝胶, 引入的 Zn²⁺ 与羧基形成配位, 成功制备了 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶。

2.4 XRD 分析

图 4 为 CS、CS-PAA、CS-PAA/Zn²⁺ 的 XRD 谱图。

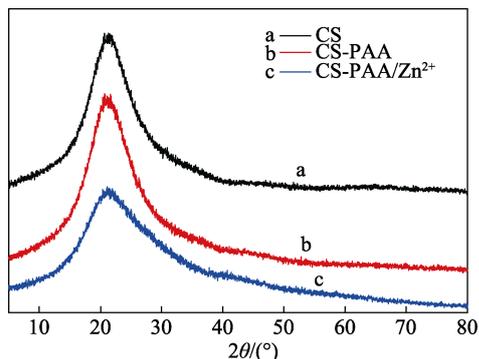


图 4 CS、CS-PAA、CS-PAA/Zn²⁺ 的 XRD 谱图
Fig. 4 XRD patterns of CS, CS-PAA and CS-PAA/Zn²⁺

从图 4 可以看出, 所有样品在 $2\theta=22^\circ$ 左右存在宽且钝的峰, 说明所有样品都是无定形的, 随着 Zn²⁺ 的引入, 此峰强度减弱, 且峰变宽, 说明 Zn²⁺ 的加入降低了凝胶的结晶度, 同时减弱了凝胶内部氢键的强度。这与 FTIR 表征结果相互印证, 证明 Zn²⁺ 确实参与了 CS-PAA 水凝胶的交联, 形成了以羧基和 Zn²⁺ 之间的配位键为主的交联网络, 进而使凝胶内部的交联形式复杂化, 结晶度降低。

2.5 SEM 分析

图 5 为 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶在 SEM 观察下外表面与斜截面的形貌。

从图 5 可以看出, CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶具有较为平整且具有小孔隙的外层结构(图 5a), 这归因于 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶外层的亲水性。CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶内部具有大量的管

道, 斜截面呈现复杂的多孔形貌(图 5b~d)。造成内外部形貌不同的原因来自于凝胶内外侧的极性差异, 亲水性强的外侧形成均匀的凝胶壁, 而内侧由于亲水性较弱, 聚合时留在内部的水分在凝胶内侧蓄出较大的管道空间。与 CS-PAA 水凝胶相比^[24], CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶存在较为均匀平整的外侧结构, 可以隔绝外部细菌; 而富有管道空间及孔隙的内部结构可以吸收大量体液, 适合作为水凝胶伤口敷料。

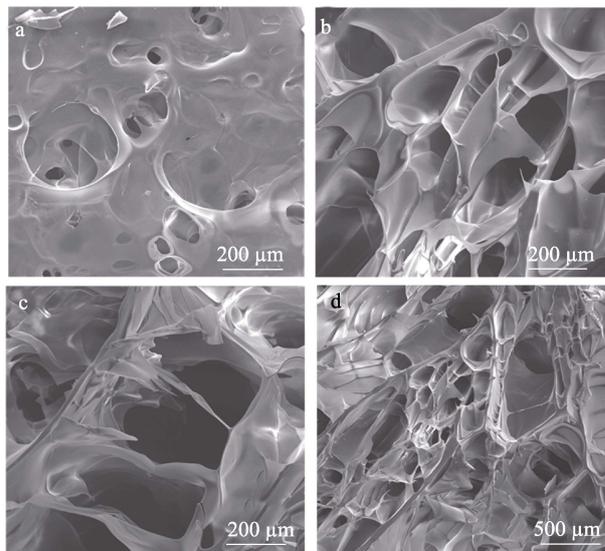


图 5 CS-PAA/Zn²⁺ 表面 (a)、斜截面 (b~d) 的 SEM 图
Fig. 5 SEM images of CS-PAA/Zn²⁺ surface (a) and oblique cross-section (b~d)

2.6 细胞毒性分析

图 6 为不同 Zn²⁺ 溶液加入量制备的 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶细胞毒性测试结果。

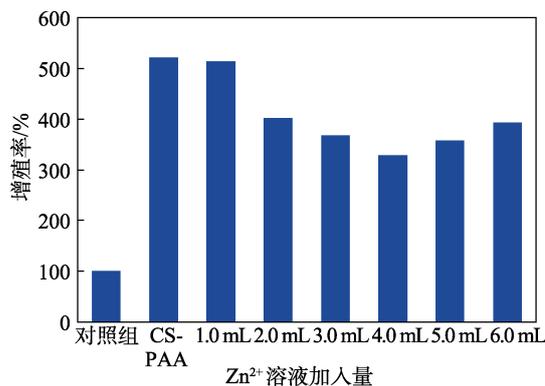


图 6 不同 Zn²⁺ 溶液加入量制备的 CS-PAA/Zn²⁺ 复合网络水凝胶的细胞毒性

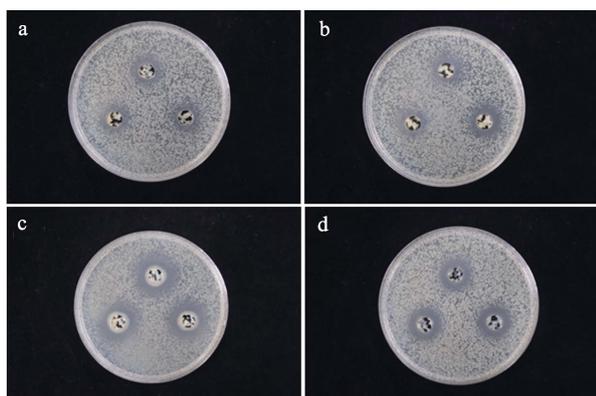
Fig. 6 Cytotoxicity of CS-PAA/Zn²⁺ composite network hydrogels prepared with different additive amounts of Zn²⁺ solution

从图 6 可以看出, 与对照组相比, CS-PAA 水凝胶对细胞增殖有明显的促进作用, 细胞增殖率达到 509.0%; 而随着 Zn²⁺ 溶液加入量的增加, 细胞增

殖率先降低后上升,当 Zn^{2+} 溶液加入量为 4.0 mL 时制备的 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶对细胞增殖的抑制能力最强,细胞增殖率最低,为 327.9%。这是因为,逐渐升高的 Zn^{2+} 含量引发细胞线粒体损伤,导致细胞增殖率处于较低水平^[26]。但与对照组相比,CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶仍然显示出较高的细胞增殖率,细胞毒性低,表明 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶对伤口愈合有促进作用。

2.7 抗菌性能分析

图 7 和表 1 为 CS-PAA 和 3 种 CS-PAA/ Zn^{2+} 大肠杆菌的抗菌性能测试结果。



a—CS-PAA; b, c, d— Zn^{2+} 溶液加入量分别为 2.0、4.0、6.0 mL
图 7 CS-PAA 和不同 CS-PAA/ Zn^{2+} 水凝胶的抗菌性能测试照片

Fig. 7 Photos of antibacterial performance test of CS-PAA and different CS-PAA/ Zn^{2+} hydrogels

表 1 水凝胶抗菌性能测试数据

Table 1 Test data of antibacterial properties of hydrogels

水凝胶	平均抑菌圈直径/mm
CS-PAA	0
2.0 mL	3
4.0 mL	4
6.0 mL	5

注: 2.0、4.0、6.0 mL 分别代表 Zn^{2+} 溶液的加入量为 2.0、4.0、6.0 mL 制备的 CS-PAA/ Zn^{2+} 水凝胶。

从图 7 与表 1 可以看出, CS-PAA 水凝胶具有一定的抗菌能力,但无法完全抑制大肠杆菌的生长,没有形成清晰、完整的抑菌圈;当引入 Zn^{2+} 后,CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶具备了较好的抗菌效果,形成了清晰明显的抑菌圈,且抑菌圈直径随着 Zn^{2+} 水溶液加入量的增多而逐渐增大,最大可达 5 mm。这主要归功于 Zn^{2+} 的抑菌能力。这表明 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶具有一定的抗菌能力,可以作为防止伤口细菌感染材料进一步研究。

与以往研究^[27]相比,本文制备 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶减少了 90% 以上的丙烯酸用量,发挥壳聚糖水凝胶可降解性与生物相容性的优点,避免

了化学交联剂的使用,降低了水凝胶的细胞毒性和皮肤刺激性。

3 结论

(1) 通过紫外光射法在常温下成功制备了 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶。

(2) 1.0 g 壳聚糖、 $n(AA) : n(-NH_2) = 1.0 : 1$ 、0.01 mol/L 的 Zn^{2+} 溶液加入量为 4.0 mL 制备的 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶溶胀能力和拉伸能力最强,在 pH=1 的溶液中,最大溶胀度 87.2%,断裂伸长率 331.265%,同时保持了较好的细胞 (MDA-MB-231 细胞) 活性与抗菌 (大肠杆菌) 性能。

(3) 制备 CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶减少了 90% 以上的丙烯酸用量,发挥壳聚糖水凝胶可降解性与生物相容性的优点,避免了化学交联剂的使用,降低了水凝胶的细胞毒性和皮肤刺激性。

CS-PAA/ Zn^{2+} 复合网络水凝胶制备方法简单,性能优异,生物相容性高,适合用作水凝胶敷料。

参考文献:

- [1] JAMES C, ALEXANDER H. The conversion of D-glucosamine into D-glucose[J]. *Journal of the Chemical Society, Transactions*, 1912, 101: 1128-1146.
- [2] XIA L X, WANG S, JIANG Z W, *et al.* Hemostatic performance of chitosan-based hydrogel and its study on biodistribution and biodegradability in rats[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 264: 117965.
- [3] ALI A, AHMED S. A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 109: 273-286.
- [4] MOJALLY M, SHARMIN E, OBAID N A, *et al.* Polyvinyl alcohol/corn starch/castor oil hydrogel films, loaded with silver nanoparticles biosynthesized in *Mentha piperita* leaves' extract[J]. *Journal of King Saud University-Science*, 2022, 34(4): 101879.
- [5] ABOUREHAB M A S, PRAMANIK S, ABDELGAWAD M A, *et al.* Recent advances of chitosan formulations in biomedical applications[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(18): 10975.
- [6] TANG W, WANG J, HOU H W, *et al.* Review: Application of chitosan and its derivatives in medical materials[J]. *International Journal of Biological Macromolecules* 2023, 240: 124398-124398.
- [7] LIU C X (刘长霞), JIN R Y (金儒颖), DONG C F (董翠芳), *et al.* Research progress in construction and property of aldehyde-imine-chitosan hydrogel[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(5): 865-873.
- [8] MIAO Y, CHIA L S, GOH N K, *et al.* Amperometric glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in chitosan matrix cross-linked with glutaraldehyde[J]. *Electroanalysis*, 2001, 13(4): 347-349.
- [9] KIM C H, PARK S J, YANG D H, *et al.* Chitosan for tissue engineering[J]. *In Novel Biomaterials*, 2018, 1077: 475-485.
- [10] LI Y, YANG H Y, LEE D S. Advances in biodegradable and injectable hydrogels for biomedical applications[J]. *Journal of Controlled Release*, 2021, 330: 151-160.
- [11] GAO H C, YU C X, LI Q T, *et al.* Injectable DMEM-induced phenylboronic acid-modified hyaluronic acid self-crosslinking hydrogel for potential applications in tissue repair[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 258: 117663.

- [12] LI J W, YANG Z L, JIANG Z C, *et al.* A self-healing and self-adhesive chitosan based ion-conducting hydrogel sensor by ultrafast polymerization[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 209: 1975-1984.
- [13] YANG Y D, AGHBASHLO M, GUPTA V K, *et al.* Chitosan nanocarriers containing essential oils as a green strategy to improve the functional properties of chitosan: A review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 236: 123954.
- [14] ZHAO Y L, ZHOU S Y, XIA X D, *et al.* High-performance carboxymethyl cellulose-based hydrogel film for food packaging and preservation system[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 223: 1126-1137.
- [15] CHEN X (陈旭), WANG S (王硕), TANG X Y (汤相宇), *et al.* Study on preparation of cellulose methacrylate hydrogels and their adsorption performance of heavy metal ions[J]. *Forest Engineering (森林工程)*, 2023, 39(1): 82-91.
- [16] YAO H Y, LIN H R, SUE G P, *et al.* Chitosan-based hydrogels prepared by UV polymerization for wound dressing[J]. *Polymers & Polymer Composites*, 2019, 27(3): 155-167.
- [17] SONG F Y, KONG Y, SHAO C Y, *et al.* Chitosan-based multifunctional flexible hemostatic bio-hydrogel[J]. *Acta Biomaterialia*, 2021, 136: 170-183.
- [18] KURINOMARU T, KOJIMA N, KURITA R. An alkylating immobilization linker for immunochemical epigenetic assessment[J]. *Chemical Communications*, 2017, 53(57): 8308-8311.
- [19] SINGH R K, JYOTI, SRIVASTAVA P K, *et al.* Biosynthesis of gold nanoparticles using leaf extract of *Salvadora persica* and its role in boosting urease performance *via* immobilization[J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2021, 30(3): 623-628.
- [20] LEE J Y, KANG J K, JEONG N Y, *et al.* A morphometric study of the semicircular canals using micro-CT images in three-dimensional reconstruction[J]. *The Anatomical Record Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology*, 2013, 296(5): 834-839.
- [21] WELKER K L, ORKIN J D, RYAN M. Analysis of intraindividual and intraspecific variation in semicircular canal dimensions using high-resolution X ray computed tomography[J]. *Journal of Anatomy*, 2009, 215(4): 444-451.
- [22] ZHOU Y S, MA G P, SHI S Q, *et al.* Photopolymerized water-soluble chitosan-based hydrogel as potential use in tissue engineering[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2011, 48(3): 408-413.
- [23] LIU J Y, XIAO Y, WANG X Y, *et al.* Glucose-sensitive delivery of metronidazole by using a photo-crosslinked chitosan hydrogel film to inhibit *Porphyromonas gingivalis* proliferation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 122: 19-28.
- [24] LIU J Y, GAO Y, GAO G H, *et al.* A self-adhesive strain sensor based on the synergy of metalcomplexation and chemical cross-linking[J]. *Polymer*, 2022, 249: 124830.
- [25] ZHONG M, LIU Y T, LIU X Y, *et al.* Dually cross-linked single network poly(acrylic acid) hydrogels with superior mechanical properties and water absorbency[J]. *Soft Matter*, 2016, 12(24): 5420-5428.
- [26] GAO Y Y, ZHONG T, WANG L Q, *et al.* Zinc enhances liquid-liquid phase separation of Tau protein and aggravates mitochondrial damages in cells[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 209: 703-715.
- [27] LU C C (鲁程程), YU Z K (于振坤), YANG Y Y (杨园园), *et al.* Preparation and performances of polyacrylic acid-Al³⁺/chitosan composite double network hydrogel[J]. *Acta Materiae Compositae Sinica (复合材料学报)*, 2022, 39(12): 5901-5911.
- (上接第 2198 页)
- [20] YU J F, FENG H P, TANG L, *et al.* Metal-free carbon materials for persulfate-based advanced oxidation process: Microstructure, property and tailoring[J]. *Progress in Materials Science*, 2020, 111: 100654.
- [21] MANEERUNG T, LIEW J, DAI Y J, *et al.* Activated carbon derived from carbon residue from biomass gasification and its application for dye adsorption: Kinetics, isotherms and thermodynamic studies[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 200: 350-359.
- [22] BU X Y (卜鑫淼), HUANG Q L (黄权龙), ZHAO X L (赵西连), *et al.* WO₃/C/Ag₃PO₄ composites for photocatalytic degradation of bisphenol A[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(3): 496-503.
- [23] ZHEN W L, NING X F, YANG B J, *et al.* The enhancement of CdS photocatalytic activity for water splitting *via* anti-photocorrosion by coating Ni₂P shell and removing nascent formed oxygen with artificial gill[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2018, 221: 243-257.
- [24] ZHU K M, WANG X S, GENG M Z, *et al.* Catalytic oxidation of clofibric acid by peroxydisulfate activated with wood-based biochar: Effect of biochar pyrolysis temperature, performance and mechanism[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 374: 1253-1263.
- [25] WANG R X, ZHU P F, DUAN M, *et al.* Synthesis and characterization of successive Z-scheme CdS/Bi₂MoO₆/BiOBr heterojunction photocatalyst with efficient performance for antibiotic degradation[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2021, 870: 159385.
- [26] XIANG Z Q, NAN J X, DENG J X, *et al.* Uniform CdS-decorated carbon microspheres with enhanced photocatalytic hydrogen evolution under visible-light irradiation[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2019, 770: 886-895.
- [27] ZHAO N, HU Y, DU J L, *et al.* Ti₃C₂T_x MXene-derived amorphous TiO₂-C nanosheet cocatalysts coupled CdS nanostructures for enhanced photocatalytic hydrogen evolution[J]. *Applied Surface Science*, 2020, 530: 147247.
- [28] ZHANG Z Z, JI R, SUN Q M, *et al.* Enhanced photocatalytic degradation of 2-chlorophenol over Z-scheme heterojunction of CdS-decorated oxygen-doped g-C₃N₄ under visible-light[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2023, 324: 122276.
- [29] WEN N (文娜), HU M F (胡美凤), LI D L (李德丽), *et al.* Photocatalytic degradation of Methyl Orange by polyethyleneimine modified palygorskite/CaIn₂S₄ composites[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2023, 40(5): 1055-1064.
- [30] LI G M, WANG B, ZHANG J, *et al.* Rational construction of a direct Z-scheme g-C₃N₄/CdS photocatalyst with enhanced visible light photocatalytic activity and degradation of erythromycin and tetracycline[J]. *Applied Surface Science*, 2019, 478: 1056-1064.
- [31] HASANVANDIAN F, SHOKRI A, MORADI M, *et al.* Encapsulation of spinel CuCo₂O₄ hollow sphere in V₂O₅-decorated graphitic carbon nitride as high-efficiency double Z-type nanocomposite for levofloxacin photodegradation[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 423: 127090.
- [32] SENASU T, LORWANISHPAISARN N, HEMAVIBOOL K, *et al.* Construction of g-C₃N₄/BiOCl/CdS heterostructure photocatalyst for complete removal of oxytetracycline antibiotic in wastewater[J]. *Separation and Purification Technology*, 2023, 306: 122735.
- [33] ZHANG Z Z, LIU J D, GU P Y, *et al.* Preparation of a Bi₁₂O₁₅C₁₆@W₁₈O₄₉@g-C₃N₄/PDI heterojunction with dual charge transfer paths and its photocatalytic performance for phenolic pollutants[J]. *Separation and Purification Technology*, 2022, 287: 120539.
- [34] NIU J F, LI Y, WANG W L. Light-source-dependent role of nitrate and humic acid in tetracycline photolysis: Kinetics and mechanism[J]. *Chemosphere*, 2013, 92(11): 1423-1429.
- [35] WANG H (汪华), FANG C R (方程冉), WANG Q (王群), *et al.* Effects of humic acid on the adsorption of tetracycline by biochar[J]. *Environmental Pollution & Control (环境污染与治理)*, 2018, 40(4): 423-428.