

NGHIÊN CỨU QUÁ TRÌNH HÌNH THÀNH VÀ HÌNH THÁI HỌC BỀ MẶT CỦA CÁC MÀNG ĐA LỚP CHỨA POLYSACCHARIDE

Đinh Thị Thu Thủy¹, Lưu Văn Chính^{1, *}, Lê Thị Mai Hương², Bùi Công Trình²,
A. N. Kraskouski³, V. I. Kulikouskaya³, E. A. Gracheva³, V. A. Dobush³,
V. E. Agabekov³

¹Viện Hóa học các hợp chất thiên nhiên-Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam,
18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội

²Viện Công nghệ xạ hiếm, 48 Láng Hạ, Đống Đa, Hà Nội

³Viện Hóa học Vật liệu mới, Viện Hàn lâm Khoa học Belarus,
Ul.F. Skoriny 36, Minsk 220141, Belarus

*Email: chinhluuvan@gmail.com

Đền Tòa soạn: 15/6/ 2016; Chấp nhận đăng: 29/10/2016

TÓM TẮT

Bằng phương pháp kết tủa theo lớp đã thu được màng đơn và đa lớp chứa polyhexamethylguanidine, chitosan, dimethylchitosan và carboxymethylcellulose. Hình thái học của các màng phủ này được nghiên cứu với việc sử dụng kính hiển vi nguyên tử (AFM), góc tiếp xúc được xác định bởi phương pháp giọt tĩnh. Đã chỉ ra được khả năng hình thành các màng phủ đa lớp chứa các polysaccharide với bề mặt nhẵn đồng nhất và không khiếm khuyết (chỉ số độ nhám < 0,5 nm). Đã xác lập được rằng, tất cả các đơn và đa màng có tính háo nước: góc biên thấm ướt < 40 grad.

Từ khóa: màng mỏng, polysaccharide; polyhexamethyleneguanidine, AFM, độ nhám, góc biên thấm ướt.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, việc bảo vệ các vật liệu và các chi tiết khỏi sự phá hủy của vi sinh là nhiệm vụ quan trọng trong các ngành công nghiệp. Đối với các nước phát triển, chi phí cho việc khắc phục các sự cố do quá trình phá hủy sinh học tốn hàng tỷ USD [1] trong đó có tới gần 40 % trường hợp phá hủy sinh học xảy ra do vi sinh.

Hiện nay, nghiên cứu chế tạo màng có tác dụng kháng khuẩn bảo vệ bề mặt vật liệu khỏi sự phá hủy sinh học là một phương pháp bảo vệ vật liệu hiệu quả và đang thu hút được nhiều nhà hóa học và sinh học [2 - 7]. Theo báo cáo, quá trình chế tạo màng bọc này được tiếp cận theo hai hướng [2]. Hướng thứ nhất được các nhà khoa học quan tâm là chế tạo các màng đa lớp có chứa các biocide khác nhau, các biocide này hoặc là liên kết chặt chẽ với bề mặt vật liệu - qua đó bảo vệ bề mặt khỏi vi khuẩn, hoặc là có khả năng kháng vi sinh vật, tự phân hủy sinh học và đào thải ra ngoài môi trường. Để thực hiện chức năng bảo vệ bề mặt khỏi sự phá hủy

sinh học, các biocide được hoạt hóa dưới dạng các polycation (hydrochloride polyallylamine, polyvinylamine, hydrochloride polydiallyldimethylammonium, polyethyleneimine, chitosan), qua đó chúng (biocide) được tiếp nhận điện tích dương. Khi tiếp xúc với bề mặt này, các vi khuẩn bị tiêu diệt [2] do tác động của chúng với các màng tế bào, đồng thời tạo ra sự phân chia, kết dính nhờ đó kích thích quá trình hấp thụ vi sinh vật lên bề mặt màng. Tác dụng kháng khuẩn của các màng bọc này kéo dài so hơn với các màng – mà tại đó biocide được thải ra môi trường ngoài. Hướng thứ hai cũng được quan tâm nghiên cứu là quá trình tạo ra các màng vi sinh dùng để phủ lên bề mặt vật liệu chức năng chống lại sự sinh sôi của vi sinh. Ở đây, các tính chất vật lý của màng được đặc biệt quan tâm và sự tạo thành các màng vi sinh sẽ được điều chỉnh để làm thay đổi các tính chất vật lý có ảnh hưởng tới tính bám dính vi sinh của bề mặt (như tính thấm ướt, độ nhám v.v...) [2], trong đó thông số độ nhám bề mặt vật liệu thường có vai trò quyết định tới khả năng bám dính của vi khuẩn và sự hình thành màng sinh học [8, 9].

Trong bài báo này, chúng tôi trình bày quá trình tổng hợp lớp phủ siêu mỏng dựa trên các chất điện li cao phân tử có chứa các gốc amide và amine như chitosan, dimethylchitosan, polyhexamethyleneguanidine và xác định hình thái học bề mặt cũng như góc biên thấm ướt của chúng.

2. THỰC NGHIỆM

Các lớp phủ siêu mỏng được hình thành bởi quá trình hấp thụ luân phiên của các polyelectrolyte từ dung dịch của chúng với nồng độ 1 - 2 mg/ml trên bề mặt của Silic ưa nước và được sấy khô trong không khí 24 giờ [10]. Những polyme được dùng để chế tạo màng bao gồm: chitosan với khối lượng phân tử trung bình (Chit, $M \sim 8 \cdot 10^5$), dimethylchitosan (DMChit), polyhexamethyleneguanidine (PHMG), carboxymethylcellulose (CMC). Dung dịch của Chit và DMChit được chuẩn bị trong axit axetic 2 %, còn dung dịch của PHMG và CMC – trong nước cất.

Các nghiên cứu hình thái học bề mặt màng được xác định bằng kính hiển vi lực nguyên tử (atomic force microscopy- AFM) trong không khí tại chế độ tiếp xúc gián đoạn trên kính hiển vi điện tử quét *MultiMode III (Veeco, USA)*. Chế độ quét: tốc độ 1 Hz, khuôn dùng tạo màng cấu tạo từ Silic – được pha trộn với Phospho, tần số cộng hưởng 294 – 360 kHz, hệ số độ cứng 20 - 80 N/m. Các hình ảnh được xử lý bằng phần mềm «*Nanoscope 5.31r1*».

Độ nhám bề mặt (*Rms*) được tính theo công thức:

$$Rms = \sqrt{\frac{\sum Z_i^2}{n}}$$

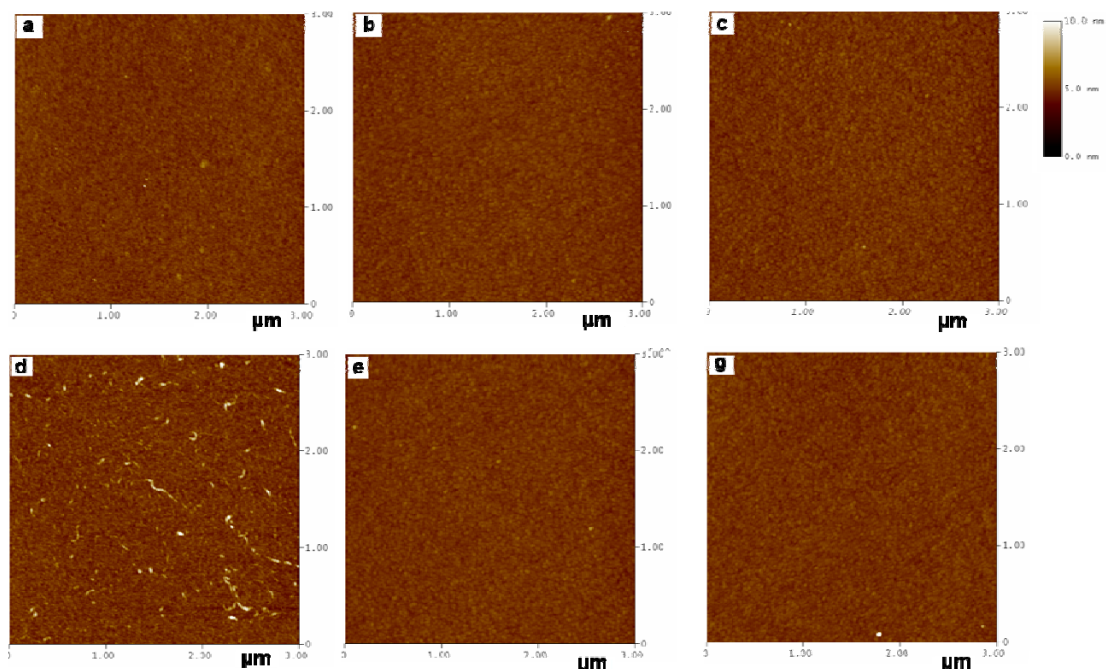
trong đó: Z_i – độ cao theo trục Z đối với điểm được xem xét, n - số lượng điểm trong ảnh với kích thước $5 \times 5 \mu\text{m}$.

Góc biên thấm ướt (Θ) của màng được xác định bởi phương pháp giọt tĩnh theo đường kính (d) và độ cao (h) của giọt nước chưng cất với thể tích $5 \mu\text{l}$ được sử dụng trên mẫu [11]. Hình ảnh giọt nước trên bề mặt các mẫu được thu lại bởi camera quang kỹ thuật số DIGI MICROSCOPE

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Đơn lớp mang điện tích dương của các polyelectrolyte chứa gốc amide và amine có bề mặt trơn không khiếm khuyết, chỉ số độ nhám của bề mặt $\leq 0,4 \text{ nm}$ (Hình 1 a-c, Bảng 1). Trong quá

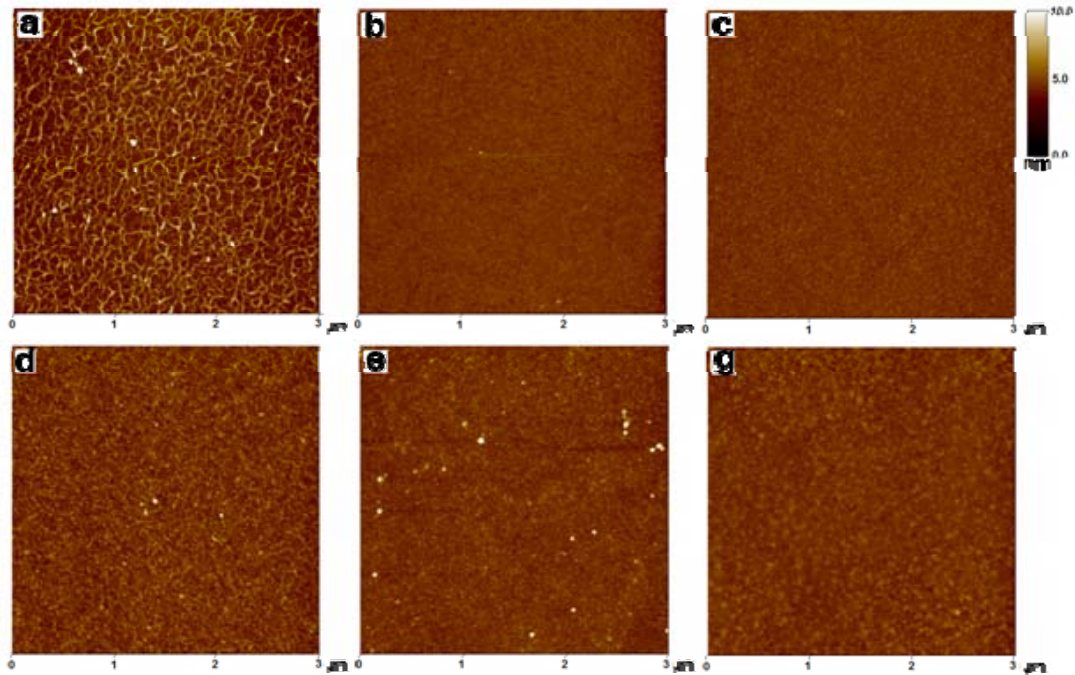
trình hấp thụ tiếp theo trên các đơn lớp của ion trái dấu (như của polysaccharide carboxymethylcellulose mang điện tích âm) không quan sát thấy sự thay đổi lớn của hình thái học bề mặt: hệ lớp kép cũng đồng đều và không khuyết tật (hình 1 d-g). Giá trị R_{ms} của các màng này không vượt quá 0,5 nm (Bảng 1).



Hình 1. AFM – đơn lớp của Chit (a), DMChit (b), PHMG (c) và lớp kép Chit/CMC (d), Chit/CMC (e), PHMG/CMC (g).

Trong quá trình hấp thụ luân phiên của dimethylchitosan hoặc polyhexamethyleneguanidine với carboxymethylcellulose, trong quá trình hình thành các hệ đa lớp $(DMChit/CMC)_n/DMChit$ và $(PHMG/CMC)_n/PHMG$ ($n \leq 9$) không quan sát thấy sự thay đổi lớn về hình thái học của bề mặt (Hình 2 b, c, e, g). Các màng đồng đều và không có khuyết tật, và giống như đối với hệ kép – chỉ số độ nhám R_{ms} không vượt quá 0,5 nm (Bảng 1). Ngoài ra, hình thái bề mặt của màng thu được trên cơ sở chitosan và carboxymethylcellulose phụ thuộc vào số lượng lớp bị hấp thụ. Đối với hệ kép Chit/CMC quan sát thấy sự hình thành phức chất điện li đồng trùng hợp giữa các phân tử chitosan lớn và carboxymethylcellulose ở dạng “sợi chỉ” với kích thước không lớn, trong khi đó phức chất của DMChit, PHMG với CMC có hình dạng tròn (Hình 1 d-g). Màng đa lớp $(Chit/CMC)_4/Chit$ có cấu trúc “lưới” được tạo thành từ các “sợi chỉ” với chiều cao không vượt quá 5 nm (Hình 2a). Trong đó, chỉ số độ nhám R_{ms} so với hệ kéo tăng lên 2 lần và đạt tới giá trị $1,0 \pm 0,1$ nm (Bảng 1). Trong quá trình hấp thụ các chất kế tiếp và quá trình hình thành đa lớp $(Chit/CMC)_9/Chit$ bề mặt màng được kéo ra và trở lại nhẵn trơn - đồng nhất, còn chỉ số độ nhám giảm khoảng 2 lần từ giá trị 1,0 nm (tại $n = 4$) cho tới 0,6 nm (tại $n = 9$). Sự hình thành cấu trúc lưới của màng $(Chit/CMC)_4/Chit$ có thể liên quan tới hiện tượng chitosan được hấp thụ từ dung dịch trong axit CH_3COOH 2%. Giá trị pH của dung dịch mà Chit được hấp thụ, có thể gây ảnh hưởng lên lớp CMC đã được hình thành trước đó. Trong môi trường axit (pH 2,6) mức độ ion hóa gốc carboxyl của CMC bị giảm, có thể dẫn tới sự phân bố không đồng đều điện tích trên bề mặt, dẫn tới sự hình thành các phức chất điện li đồng trùng hợp CMC/Chit phân bố không đồng nhất. Xu hướng của các màng (trong thành phần

màng chứa CMC và polyme gốc amine) với sự tạo thành cấu trúc lưới khi có mặt axit axetic được nêu ra tại nghiên cứu [12], trong đó có kết luận rằng màng (polyethyleneimine/CMC)₄/polyethyleneimine nhẵn và đồng nhất – được hình thành bởi quá trình hấp thụ từ các dung dịch nước khi có mặt hơi axit axetic, chịu sự tái tổ chức với việc hình thành các mạng nhỏ. Cần lưu ý rằng, đối với các màng dày hơn (polyethyleneimine/CMC)₉/polyethyleneimine sự tái tổ hợp này dưới tác động của hơi CH₃COOH không được quan sát thấy [12], và điều đó phù hợp với các kết quả thu được của chúng tôi: bề mặt màng (Chit/CMC)₉/Chit đồng nhất và không có cấu trúc lưới.



Hình 2. AFM – màng đa lớp: (Chit/CMC)₄/Chit (a), (DMChit/CMC)₄/DMChit (b), (PHMG/CMC)₄/PHMG (c), (Chit/CMC)₉/Chit (d), (DMChit/CMC)₉/DMChit (e), (PHMG/CMC)₉/PHMG (g).

Bảng 1. Giá trị độ nhám và góc biên thấm ướt của các màng đơn và đa lớp.

Loại màng	Độ nhám Rms, nm	Góc biên thấm ướt, grad.
Chit	0,3±0,1	25,7±4,2
Chit/CMC	0,5±0,1	25,4±2,0
(Chit/CMC) ₄ /Chit	1,0±0,1	32,1±2,2
(Chit/CMC) ₉ /Chit	0,6±0,1	32,4±3,3
DMChit	0,4±0,1	22,0±2,1
DMChit/CMC	0,3±0,1	10,2±3,3
(DMChit/CMC) ₄ /DMChit	0,4±0,1	16,3±2,6
(DMChit/CMC) ₉ /DMChit	0,4±0,1	20,7±4,2
PHMG	0,3±0,1	39,1±1,4
PHMG/CMC	0,3±0,1	36,1±1,8
(PHMG/CMC) ₄ /PHMG	0,2±0,1	30,8±2,4
(PHMG/CMC) ₉ /PHMG	0,3±0,1	28,0±1,8

Đối với hoạt tính kháng vi sinh vật của màng, tính kỵ nước của bề mặt chất là một trong những tính năng quan trọng có ảnh hưởng đến quá trình bám dính của vi khuẩn [13]. Trong một loạt nghiên cứu [14 - 16] đã chỉ ra rằng, vật chất háo nước bên với sự bám dính của vi sinh hơn vật chất kỵ nước. Đối với các màng đơn và đa lớp được tổng hợp (Bảng 1), góc biên thấm ướt có giá trị trong vùng 10 – 40 grad. Như vậy, tất cả các màng phủ đơn và đa lớp thu được có tính háo nước và phù hợp cho việc sử dụng để chế tạo vật liệu chống vi khuẩn. Ngoài ra, độ nhám bề mặt cũng ảnh hưởng tới góc biên thấm ướt. Tuy nhiên, đối với các màng trong nghiên cứu này, độ nhám không vượt quá 1 nm. Bởi vậy, tính kỵ nước hay háo nước của các màng thu được phụ thuộc vào tính chất của các thành phần cấu tạo nên màng, đặc biệt là polyelectrolyte – chất nằm trên cùng của lớp. Cần lưu ý rằng, các màng sẽ thể hiện tính kỵ nước rõ rệt hơn khi trong thành phần chứa polyhexamethyleneguanidine – chất khác biệt với chitosan và dimethylchitosan bởi cấu trúc nhánh của mạch polyme.

4. KẾT LUẬN

Bằng phương pháp kết tủa theo lớp các màng đồng đều không khuyết tật (chỉ số độ nhám < 0,5 nm) với số lớp không nhỏ hơn 9,5 được tạo thành bởi quá trình hấp thụ luân phiên của dimethylchitosan hoặc của polyhexamethylguanidine với carboxymethylcellulose. Các nghiên cứu cũng chỉ ra rằng, khi sử dụng chitosan với vai trò là một polycation, hình thái học bề mặt phụ thuộc vào số lượng lớp và chỉ số độ nhám không vượt quá 1,0 nm. Toàn bộ màng bọc chứa polysaccharide thu được có tính háo nước ($\Theta = 10\text{--}40$ grad).

Lời cảm ơn. Công trình này được hỗ trợ bởi Quỹ dành cho nghiên cứu cơ bản Cộng hòa Belarus (hợp đồng № X15B-002 от 04.05.2015) và Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam (đề tài VAST.HTQT.BELARUS.04/15-16).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Terentev V. I., Karavan S. V., Pavlovech N. M. - Corrosion control in water supply systems, Saint Peterburg: Prospekt Nauki, 2007, pp. 336.
2. Zhu X., Jun X. L. - Layer-by-layer assemblies for antibacterial applications, *Biomater. Sci.* **3** (2015) 1505-1518.
3. Bao H., Jiang Y., Liu J. - Antioxidant and Antimicrobial Properties of Chitosan-PE Bi-Layer Films by Incorporating Oregano Essential Oil, *Applied Mechanics and Materials* **469** (2014) 140-147.
4. Urrutia A., Rivero P. J., Ruete L., Goicoechea J., Fernández V. C., Arregui F. J., MatíasPhys I. R. - An antibacterial surface coating composed of PAH/SiO₂ nanostructured films by layer by layer, *Status Solidi C* **7** (2010) 2774–2777.
5. Zhou B., Li Y., Deng H., Hu Y., Li B. - Antibacterial multilayer films fabricated by layer-by-layer immobilizing lysozyme and gold nanoparticles on nanofibers, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **116** (2014) 432–438.
6. Gomes A. P., Mano J. F., Queiroz J. A., Gouveia I. C. - Layer-by-layer deposition of antimicrobial polymers on cellulosic fibers: a new strategy to develop bioactive textiles, *Polymers for Advanced Technologies* **24** (2013) 1005–1010.

7. Lu Y., Wu Y., Liang J., Libera M. R., Sukhishvili S. A. - Self-defensive antibacterial layer-by-layer hydrogel coatings with pH-triggered hydrophobicity, *Biomaterials* **45** (2015) 64-71.
8. Scheuerman T. - Effects of Substratum Topography on Bacterial Adhesion, *J. Colloid Interface Sci.* **208** (1998) 23-33.
9. Katsikogianni M., Missirlis Y. F. - Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions, *Eur. Cell. Mater* **8** (2004) 37-57.
10. Hileuskaya K., Agabekov V. E. - Formation and Properties of Protamine/Pectin LbL-Coatings, *Physics Procedia* **40** (2013) 84-92.
11. Sergeichenko A. V., Lisovskaya G. B., Trizhik S. A. - Software for determining the surface free energy of solids, *Proceedings of the 2nd International Scientific and Technical Conference "Instrumentation"*, Minsk, Editor Board: R. I. Vorobei et al, 2009, pp. 225-226.
12. Paribok I. V., Agabekov V. E. - ACM-study on the morphology of the surface of polyethylenimine/carboxymethylcellulose multilayers, *Methodological Aspects of Scanning Probe Microscopy: Proceedings of the XI International Conference*, National Academy of Sciences, Minsk, AV Luikov Heat and Mass Transfer Institute, 2014, pp. 118-123.
13. Wiencek K. M., Fletcher M. - Effects of substratum wettability and molecular topography on the initial adhesion of bacteria to chemically defined substrata, *Biofouling* **11** (1997) 293-311.
14. Séon L., Lavalle P., Schaaf P., Boulmedais F. - Polyelectrolyte Multilayers: A Versatile Tool for Preparing Antimicrobial Coatings, *Langmuir* **31** (2015) 12856-12872.
15. Fletcher M. - The effects of proteins on bacterial attachment to polystyrene, *J. Gen. Microbiol.* **94** (1976) 400-404.
16. Bridgett M. J. - Control of staphylococcal adhesion to polystyrene surfaces by polymer surface modification with surfactants, *Biomaterials* **13** (1992) 411-416.

ABSTRACT

STUDY OF THE MORPHOLOGY OF THE POLYSACCHARIDE CONTAINING MULTILAYER FILMS CONTAINING POLYSACCHARIDE

Dinh Thi Thu Thủy¹, Lưu Văn Chính¹, Lê Thị Mai Hương², Bui Cong Trinh², A. N. Kraskouski³,
V. I. Kulikouskaya³, E. A. Gracheva³, V. A. Dobush³, V. E. Agabekov³

¹*Institute of Natural Products Chemistry, VAST, 18 Hoang Quoc Viet, Cau Giay, Hanoi*

²*Institute for Technology of Radioactive and Rare Elements, 48 Lang Ha, Dong Da, Hanoi*

³*The Institute of Chemistry of New Materials of NAS Belarus, Minsk,
Ul.F. Skoriny 36, Minsk 220141, Belarus*

*Email: *chinhluuvan@gmail.com*

Mono- and multilayer films containing polyhexamethylene, chitosan, carboxymethyl cellulose and dimethylchitosan were formed by the layer-by-layer method. The morphology of the obtained films was investigated by atomic force microscopy and contact angle was determined by the Sessile drop technique. The possibility of a creating a polysaccharide containing multilayer coatings with a uniform smooth defect-free surface with a roughness $s < 0.5$ nm was shown. It was found that all formed mono- and multilayer films are hydrophilic: the value of contact angle less than 40 grad.

Keywords: film, polysaccharide, polyhexamethyleneguanidine, AFM, roughness, contact angle.