

壳聚糖微花的制备及影响其形貌的因素

焦思宇, 许丁予, 姚先超*, 何丽欣, 林日辉*

(广西民族大学化学化工学院, 林产化学与工程国家部委重点实验室暨广西林产化学与工程重点实验室,
广西林产化学与工程协同创新中心, 广西 南宁 530006)

摘要: 以壳聚糖(chitosan, CS)为原料, 在其溶解过程中通过超声和过氧化氢对其进行辅助溶解, 之后通过离子交联法, 将三聚磷酸钠(sodium tripolyphosphate, TPP)由下而上地注入到CS溶液中, 并通过冷冻干燥得到了壳聚糖微花(chitosan microflower, CSMF), 并对其一系列表征, 研究影响其成花的因素。结果发现CSMF粒径在1~2 μm; CSMF的傅里叶红外变换光谱在532 cm⁻¹出现了磷酸根基团的振动峰; CSMF的晶型由CS的半结晶结构变为了水合多晶型结构; CSMF的X射线光电子能谱结果显示其产生了C-N⁺键; 而热重分析结果显示CSMF的热稳定性较CS稍有降低; 并且发现预处理方式、超声时间、CS溶液温度和CS与TPP质量比会影响CSMF的花状结构, 而超声功率和过氧化氢添加量不会影响其花状结构, 进而推测其成花机理为将原CS降解成在一定分子质量范围内的短长链CS, 然后在一定的温度下TPP与降解后相对较长的CS链交联形成微花结构的底座, 与降解后相对较短的CS链交联形成纳米片, 最后再通过CS结构上面的一NH₃⁺与磷酸根离子之间的相互作用, 将纳米片自组装到底座上, 进而生成了微花结构。

关键词: 壳聚糖; 三聚磷酸钠; 壳聚糖微花

Preparation of Chitosan Microflower and Factors Affecting Its Morphology

JIAO Siyu, XU Dingyu, YAO Xianchao*, HE Lixin, LIN Rihui*

(State Ethnic Affairs Commission Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products,
Guangxi Collaborative Innovation Center for Chemistry and Engineering of Forest Products,
School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Minzu University, Nanning 530006, China)

Abstract: Chitosan (CS) was dissolved with the aid of ultrasound and hydrogen peroxide treatment. Then, sodium tripolyphosphate (TPP) was introduced as a crosslinker into CS solution from bottom to top. Finally, chitosan microflower (CSMF) was obtained by collecting the resulting precipitate and freeze-drying it. CSMF was characterized and the factors affecting its formation were studied. The results showed that the size of CSMF was 1–2 μm in diameter. The Fourier transform infrared (FTIR) spectrum of CSMF showed a vibration peak of phosphate group at 532 cm⁻¹. The crystal form of CS changed from semi-crystalline structure to hydrated polycrystalline structure after conversion into CSMF. X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) showed that CSMF produced C-N⁺ bond, and thermogravimetric analysis (TGA) showed that the thermal stability of CSMF was slightly lower than that of CS. Also, it was found that pretreatment method, ultrasonic time, CS solution temperature and CS/TPP ratio (*m/m*) but not ultrasound power or hydrogen peroxide addition could affect the flower-shaped structure of CSMF. Furthermore, it was inferred that the formation mechanism of CSMF was related to that fact that after the degradation of CS into short- or long-chain CS within a certain molecular mass range, relatively longer and shorter degraded CS chains were crosslinked by TPP to respectively form the pedestal of the microflower structure and

收稿日期: 2023-03-16

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(21766004); 广西自然科学基金项目(2019GXNSFAA185008);
广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2023KY0175)

第一作者简介: 焦思宇(1997—)(ORCID: 0000-0003-1936-9513), 男, 硕士研究生, 研究方向为化学与生物转化。
E-mail: JSY926926@163.com

*通信作者简介: 姚先超(1984—)(ORCID: 0000-0002-7200-4057), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为生物质资源开发与利用。E-mail: yaoxch@gxmzu.edu.cn

林日辉(1972—)(ORCID: 0000-0002-3928-0439), 男, 研究员, 博士, 研究方向为化学、蛋白质与酶工程。
E-mail: rihuilin@163.com

nanosheets which were self-assembled on the substrate through the interaction between the $-\text{NH}_3^+$ and phosphate ions in the structure of CS.

Keywords: chitosan; sodium tripolyphosphate; chitosan microflower

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230316-163

中图分类号: O636.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 01-0173-08

引文格式:

焦思宇, 许丁予, 姚先超, 等. 壳聚糖微花的制备及影响其形貌的因素[J]. 食品科学, 2024, 45(1): 173-180. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230316-163. <http://www.spkx.net.cn>

JIAO Siyu, XU Dingyu, YAO Xianchao, et al. Preparation of chitosan microflower and factors affecting its morphology[J]. Food Science, 2024, 45(1): 173-180. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230316-163. <http://www.spkx.net.cn>

甲壳素是一种维持和保护甲壳动物和微生物躯体的线性氨基多糖, 广泛存在于节足动物类(蜘蛛类、甲壳类)的翅膀或外壳中, 也存在于真菌和藻类的细胞壁中^[1], 其化学名为 β -(1,4)-2-乙酰氨基-2-脱氧-D-葡萄糖。在天然高分子中的贮存量居于第二, 仅次于纤维素。壳聚糖(chitosan, CS)是壳素脱除55%以上的乙酰基后得到的产物^[2], 其化学名为 β -(1,4)-2-氨基-2-脱氧-D-葡萄糖, 是自然界中的唯一大量存在的阳离子碱性多糖^[3], 也是仅次于蛋白质的第二大氮源。它有良好的可降解性、抗菌性、成膜性、生物相容性等特性, 故被广泛的研究与应用在农业^[4]、医药^[5]、食品^[6]、水处理^[7]、抗菌剂^[8]等方面。虽然CS有这些优良的性能, 但是它的分子质量大、比表面积较小和水溶性差等特性, 一定程度上限制了其应用范围。

纳米技术是研究在微观纳米的角度上制造特殊定位的功能产品, 以此来达到生产方式的进一步飞跃。纳米材料与其他功能性材料不同, 具有特殊的表面效应、体积效应与宏观量子隧道效应, 表现出许多卓越的特性和新颖的功能, 应用前景十分广阔。基于CS本身的巨大应用前景与其丰富的来源以及它独特良好的化学特性, 结合纳米材料的卓越特性和诸多功能, 将CS进行纳米化可以使其在原先的应用领域上再进行突破, 小尺寸的粒径为纳米颗粒与基质的接触提供了更大的比表面积, 从而提高了纳米CS的生物活性^[9]。而且纳米CS在抗氧化性、抗菌性、渗透性和吸收性等方面也得到了显著提高^[10]。目前纳米CS的制备一般采用离子交联法^[11]、乳化交联法^[12]和喷雾干燥法^[13]等。在通过离子交联法制备纳米CS的过程中加入 Ca^{2+} 后会得到一种形貌类似于花朵状的CS基材料, 简称为壳聚糖微花(chitosan microflower, CSMF), 而CSMF在吸附染料和酶催化方面表现出高效率^[14]。由于CSMF特殊的形貌及其具有较大的比表面积, 引起了众多学者的广泛研究。如Liu Shangpeng等^[15]用聚多巴胺包裹CS/焦磷酸钙杂化微花作为止血剂, 结果发现经聚多巴胺包裹的微花可诱导血细

胞和血小板聚集, 促进血液凝固, 实现体外和体内出血控制。Maurya等^[16]用CS/焦磷酸钙杂化微花固定了 α -淀粉酶, 固定化的 α -淀粉酶比游离态的 α -淀粉酶对玉米、小麦和马铃薯淀粉水解能力更强。

目前CSMF的制备方法单一, 基本制备方式为以CS-三聚磷酸钠(sodium tripolyphosphate, TPP)络合物为模板, 诱导焦磷酸钙在其上面仿生矿化, 进而焦磷酸钙晶体进行生长, 最终得到了CS/焦磷酸钙杂化微花。探究一种新型的CSMF的制备方法就显得尤为重要。因此本研究对离子交联法进行改进, 将CS原料进行超声/过氧化氢预处理, 并将TPP由下而上地注入到CS溶液中, 通过冷冻干燥的方式得到了CSMF, 并结合扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)、X射线衍射(X-ray diffraction, XRD)仪、傅里叶红外变换光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)、X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)、热重分析(thermogravimetric analysis, TGA)技术, 对其形貌、结构和性质等进行分析。通过改变制备条件, 探究影响其形貌的因素, 以期CS特殊形貌的构筑提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

CS(脱乙酰度 $\geq 95\%$)、TPP(分析纯) 上海麦克林生化有限公司; 冰醋酸(分析纯) 上海阿拉丁生化技术有限公司; 过氧化氢(分析纯) 天津致远化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

JY92-IIN超声波细胞粉碎机 宁波新芝生物科技股份有限公司; FD-A10N-50冷冻干燥机 上海皓庄仪器有限公司; TG1650-WS型台式高速离心机 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; SUPRA 55 Sapphire型场发射SEM 德国卡尔蔡司公司; MiniFlex600 XRD仪

日本理学公司; TGA55 TGA仪 美国TA仪器公司;
K-Alpha XPS仪、MAGNA-1R 550 FTIR仪 美国赛默飞
世尔科技公司。

1.3 方法

1.3.1 CSMF的制备

通过离子交联法制备CS-TPP微花。首先,在磁力搅拌下将1.0 g CS溶解在质量分数为1%的乙酸溶液中。并向CS溶液中加入10 mL质量分数为6%的H₂O₂溶液进行辅助溶解,在45 °C条件下磁力搅拌20 min。其次,将完全溶解的CS溶液超声粉碎(功率为100%) 30 min。然后,在超声粉碎的条件下将质量分数为5%的TPP溶液由下而上地加入到CS溶液中(此时CS溶液温度为40 °C)。通过离心(6 000 r/min)法收集微花,并用乙醇洗涤3次,用蒸馏水洗涤一次。最后,冷冻干燥后得到CSMF粉末。

1.3.2 SEM观察

取一定量干燥的CS和CSMF通过导电胶均匀地分散到样品台上,轻轻吹去多余的浮样,置于真空镀膜仪下喷镀钨金,制成观察样品,在SEM下拍摄具有代表性的不同放大倍数下的淀粉颗粒性形貌,加速电压为10 kV。

1.3.3 FTIR分析

采用KBr压片法^[17],取1~2 mg样品与干燥KBr粉末按照质量比1:50混合并压制成薄膜层,然后通过FTIR仪进行测量。样本扫描波数范围为4 000~400 cm⁻¹,平均扫描32次,分辨率为4 cm⁻¹。

1.3.4 XRD分析

使用MiniFlex600型XRD仪对样品进行分析,Cu(K α)射线,Ni片滤波,电压40 kV,电流15 mA,扫描范围2 θ 为4°~60°,扫描速率为2°/min,扫描步长为0.02°。

1.3.5 热稳定性分析

使用TGA仪研究粉末样品的热稳定性,即在氮气气氛下,将大约10 mg样品以20 °C/min的升温速率从35 °C加热到800 °C,得到CS和CSMF的热重(thermogravimetry, TG)、热重微分(differential thermal gravity, DTG)曲线。

1.3.6 XPS分析

XPS数据是使用工作在6 mA和12 kV的消色差AlK α X射线源获得。使用平均10次扫描收集全元素光谱,通过能量为100 eV,扫描范围1 400~0 eV。使用平均5次扫描收集单元素光谱,通过能量为50 eV,步长为0.05 eV。

1.3.7 影响CSMF形貌的因素考察

为探究影响CSMF形貌的因素,做了一系列单因素试验,见表1。

表1 单因素试验设计

试验号	预处理条件	H ₂ O ₂ 质量分数/%	超声时间/min	超声功率/%	CS溶液温度/°C	CS与TPP质量比
1	仅超声		30	100	40	1:5
2	仅H ₂ O ₂	7.0			40	1:5
3	协同	7.0	30	100	40	1:5
4	协同	4.6	30	100	40	1:5
5	协同	9.3	30	100	40	1:5
6	协同	7.0	10	100	40	1:5
7	协同	7.0	60	100	40	1:5
8	协同	7.0	30	70	40	1:5
9	协同	7.0	30	80	40	1:5
10	协同	7.0	30	100	0	1:5
11	协同	7.0	30	100	25	1:5
12	协同	7.0	30	100	50	1:5
13	协同	7.0	30	100	40	1:2.5
14	协同	7.0	30	100	40	1:10
15	协同	7.0	30	100	40	1:15

1.4 数据处理

所有实验均进行3次重复,采用Excel 2010进行实验数据统计,采用Origin (Pro 9.0)软件对实验参数和结果进行拟合分析及作图。

2 结果与分析

2.1 SEM观察结果

由图1A可知,CS本身为二维片层结构,CS紧密排列在一起,表面相对光滑,没有孔洞,且整体黏连在一起,粒径较大。而经过H₂O₂和超声协同处理后得到的CSMF(图1B)呈现三维花瓣形状,花瓣直径约为1.5~2.0 μ m,是由厚度约为30~70 nm的纳米片组成,并且CSMF相互之间没有黏连,整体分散均匀;花瓣之间有一定的空隙,使一些活性位点裸露出来,并通过氮气吸附脱附仪测试得知CSMF的比表面积为48.9 m²/g,因此更容易对其进行改性或者是充当吸附剂。

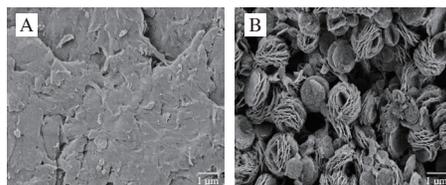


图1 CS(A)与CSMF(B)的SEM图

Fig. 1 Scanning electron microscope (SEM) images of CS (A) and CSMF (B)

2.2 FTIR分析结果

由图2可知,CS在3 374 cm⁻¹处的峰归因于CS结构单元上—NH₂与—OH伸缩振动共同作用的结果^[18]; 2 877 cm⁻¹处的峰为CS未去除的乙酰基上—CH₃的伸缩振动峰; 1 662、1 592 cm⁻¹和1 311 cm⁻¹处的峰分别归因于酰胺I振动(C=O伸缩振动)、酰胺II振动

(-NH_2 弯曲振动)和酰胺III振动(C-N 伸缩振动)^[19];
 $1\ 427\text{cm}^{-1}$ 处的峰为CS C6位上 -CH_2 中的 C-H 弯曲振动峰;
 $1\ 380\text{cm}^{-1}$ 处的峰为乙酰基上 -CH_3 中的 C-H 弯曲振动峰;
 $1\ 080\text{cm}^{-1}$ 处的峰为 C-O 伸缩振动峰,这与纪建华^[20]的报道相似。
 对比分析CSMF的FTIR图谱可知:CS结构单元上 -NH_2 与 -OH 伸缩振动共同作用的峰从
 $3\ 374\text{cm}^{-1}$ 处位移到 $3\ 243\text{cm}^{-1}$,造成此峰偏移的原因是,首先CS在形成CSMF的过程中,
 糖苷键断裂,使 -OH 含量有所增加,其次在CS溶解的过程中 -NH_2 带上了
 正电荷形成了 -NH_3^+ ,因此 N-H 键的含量也有所增加,最后,CS溶解过程中又进一步
 去除了乙酰基,同时也是一 -NH_2 含量增加,所以多种原因共同作用使此处的峰
 发生了显著的偏移;同时CSMF在 $2\ 881\text{cm}^{-1}$ 处 -CH_3 伸缩振动峰减弱,但还存在
 $1\ 643\text{cm}^{-1}$ 处酰胺I振动(C=O 伸缩振动)、 $1\ 538\text{cm}^{-1}$ 处酰胺II振动(-NH_2 弯曲振动)和
 $1\ 380\text{cm}^{-1}$ 处乙酰基上 -CH_3 中的 C-H 弯曲振动峰,也证明了在形成CSMF的过程中
 CS上乙酰基又脱除了一部分,其次CSMF在 $1\ 087$ 、 894cm^{-1} 和 532cm^{-1} 处的峰
 分别为 C-O 伸缩振动峰、糖苷键上的 C-O 伸缩振动峰和磷酸基团的特征峰^[14],
 而 532cm^{-1} 处的峰也证明了CS-TPP杂交微花的形成。

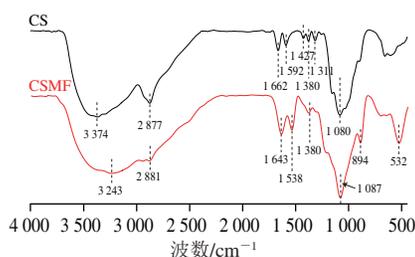


图2 CS与CSMF的FTIR图谱
 Fig. 2 FTIR spectra of CS and CSMF

2.3 XRD分析结果

如图3所示,CS在 20.1° 处有一个尖锐的特征衍射峰,这是典型的CS指纹图谱,具有明显的半结晶结构^[21]。CSMF的特征峰为 2θ 11.9° 、 19.08° 和 23.94° ,这些特征峰表明了CSMF是一种多晶型结构,在文献中被称为“肌腱”水合多晶型^[22]。其产生原因为TPP改变了CS的晶体结构,影响了CS分子间和分子内氢键的排列,进而出现了这些新的衍射峰^[22]。CSMF改变了CS的结晶状态,使其从无定形结晶向有序晶型排列。

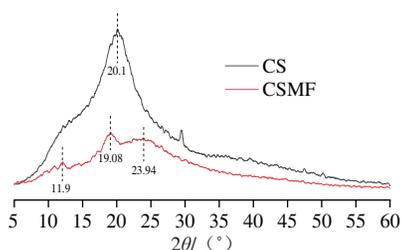
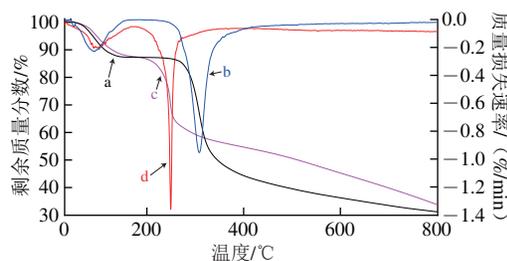


图3 CS和CSMF的XRD图
 Fig. 3 X-ray diffraction patterns of CS and CSMF

2.4 TGA结果

如图4曲线a、b所示,CS有两个质量损失阶段,CS第1阶段质量损失发生在温度为 $60\sim 150^\circ\text{C}$ 范围内,质量损失约12.7%,其原因是CS表面的自由水和结合水的溢出,这一阶段的最大质量损失速率温度约为 92°C ;第2阶段发生在 $220\sim 430^\circ\text{C}$,质量损失约为46.6%,这与CS糖苷键的断裂有关,这一阶段的最大质量损失速率温度约为 308°C ,这与侯文龙等^[23]的研究结果一致。对比分析图4曲线c、d可知,CSMF有两个质量损失阶段,CSMF第1阶段质量损失发生在温度为低于 150°C 范围内,质量损失约12%。其原因是CSMF表面的自由水和结合水的溢出,这一阶段的最大质量损失速率温度约为 97°C 。第2阶段发生在 $175\sim 320^\circ\text{C}$,质量损失约为30%,这与CS糖苷键的断裂有关,这一阶段的最大质量损失速率温度约为 249°C ^[24-26]。通过对比可知CSMF的热稳定性要略差于CS,其原因可能是由于TPP的引入,改变了CS的氢键排列,使之形成微花结构,而CS由于分子间和分子内氢键,使之排列十分紧密(图1A),因此这种片层结构的热稳定性就要优于微花结构。



a、b为CS的TG、DTG曲线; c、d为CSMF的TG、DTG曲线。
 图4 CS和CSMF的TGA-DTG图
 Fig. 4 TGA-DTG profiles of CS and CSMF

2.5 XPS分析结果

XPS主要是对样品表面元素组成及状态的分析手段,因此为了解CS和CSMF的表面元素组成,对CS和CSMF进行XPS分析,结果如图5所示。对比图5A和E可知,经TPP交联后的CS表面C原子含量从之前的65.57%降低到了50.81%;而N原子和O原子含量分别从之前的5.93%和28.5%增加到了6.41%和38.84%,并且交联后CSMF表面含有3.95%的P原子,这是因为TPP本身含有大量的O原子和P原子,因此当形成CSMF时会使CS表面的O原子含量增加而C原子含量减少,并且会使CSMF表面含有少量的P原子,而CSMF表面N原子的增加可能与CSMF的形貌有关,CSMF的微花结构使更多的N原子裸露出来,进而使CSMF的表面N原子含量增加,而CSMF表面N原子的增加使其更容易进行表面改性。

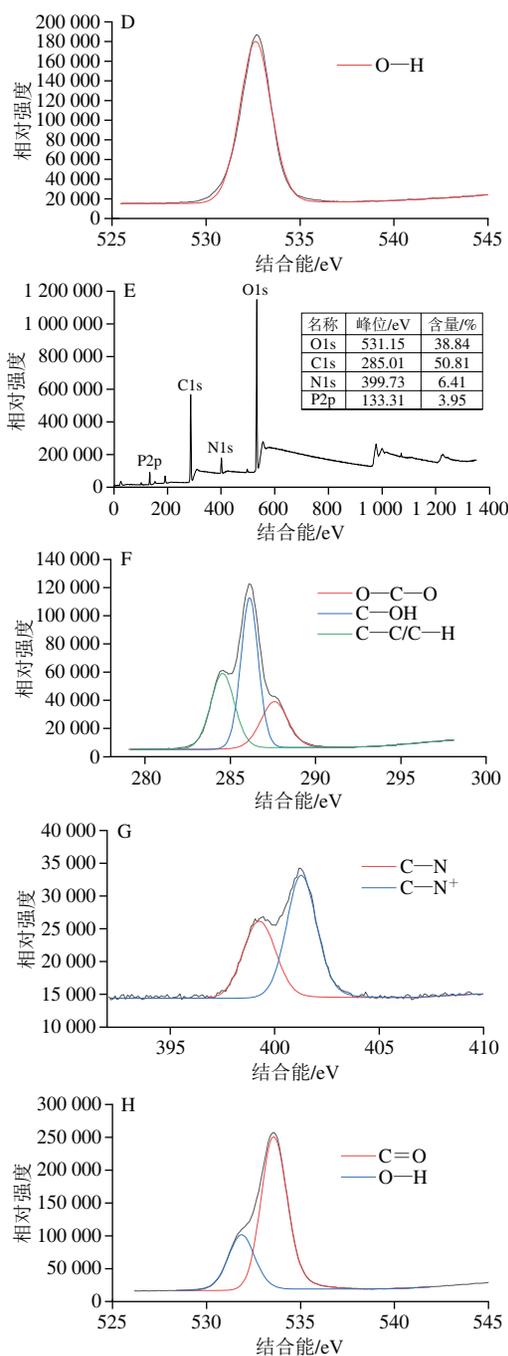
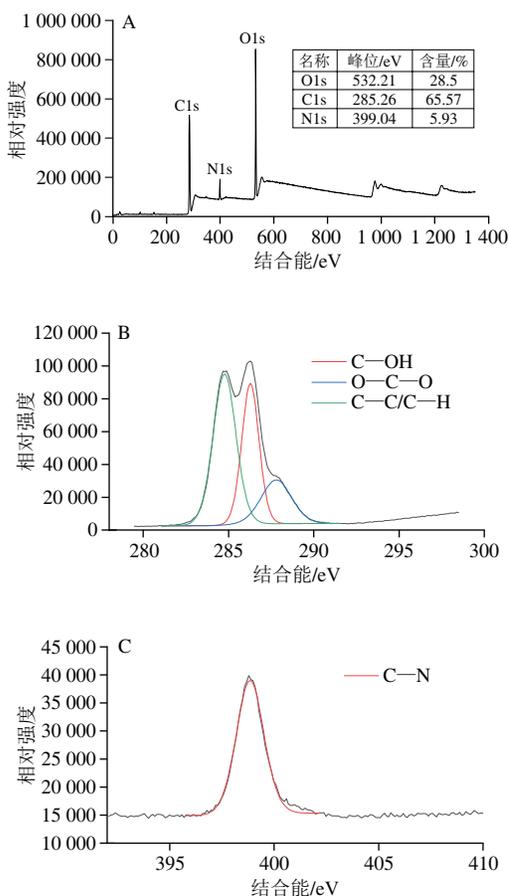
对比图5B和F,CS的 $\text{C}1s$ 的XPS光谱在结合能为284.78、286.29、287.78 eV处分为3个峰,每个峰分别归

由于C—C/C—H、C—OH和O—C—O键；CSMF的C1s光谱在结合能为284.84、286.42、287.86处分为3个峰，每个峰分别归因于C—C/C—H、C—OH和O—C—O键^[27]。

对比发现交联后CSMF的C—OH含量显著提高，而C—C/C—H的含量有所下降，产生此现象的原因可能是CS在溶解过程中糖苷键断裂，从而在糖苷键断裂处又形成了新的一OH，进而使C—OH含量增加，其次因为CSMF是一个三微的微花结构，因此C—C可能在这个微花结构内部含量较多，进而表面含量减少。

对比图5C和G N1s XPS光可知，CS的N1s XPS仅在398.46 eV处有唯一的一个C—N键峰，而CSMF的N1s XPS有两个峰，在398.45 eV处为C—N键峰，在400.56 eV处为C—N⁺键峰^[28]。对比可知CSMF表面比CS多了一个新键C—N⁺，这个新键产生的原因是CS溶解过程就是—NH₂得质子的过程，进而生成—NH₃⁺，从而产生了C—N⁺键。

最后对比图5D和H O1s可知，CS的O1s XPS仅有一个O—H键的峰，在532.63 eV处，而CSMF的O1s XPS有两个峰，在531.86 eV处为O—H键的峰，在533.56 eV处为O=C键的峰^[29]。CSMF的C=O键来源于CS未去除的那部分乙酰基，之所以在CSMF的O1s XPS显示出来可能也是因为CSMF的微花结构。



A. CS全谱图；B. CS精细C谱图；C. CS精细N谱图；D. CS精细O谱图；E. CSMF全谱图；F. CSMF精细C谱图；G. CSMF精细N谱图；H. CSMF精细O谱图。

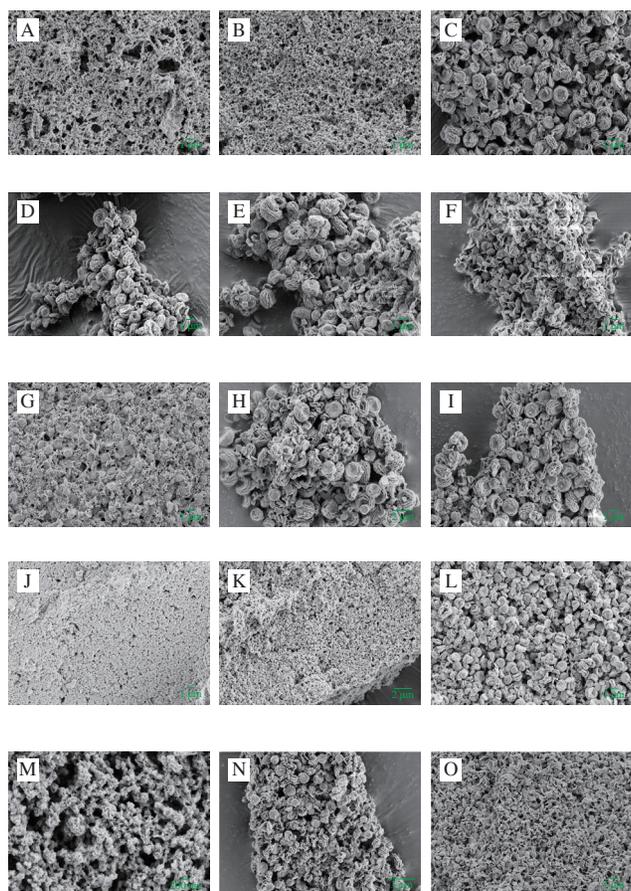
图5 CS和CSMF的XPS光谱对比

Fig. 5 Comparison of XPS spectra between CS and CSMF

综上所述，CS经TPP交联后形成的CSMF表面多了一种新原子P，且表面也产生了一种C—N⁺新键；而CSMF表面C—OH和C=O键含量增加，C—C键含量减少，可能是因为其三维的微花结构。

2.6 影响CSMF形貌的因素

为探究影响CSMF形貌的因素，单因素试验（1.3.7节）对应的SEM图如图6所示。



A~O分别对应单因素试验1~15。

图6 单因素试验1~15所对应的SEM图

Fig. 6 SEM images of samples obtained in single factor experiments 1-15

对比单因素试验1~3可知,当CS仅只经过超声处理时,CS-TPP的络合物呈现三维网络状结构,并且CS-TPP络合物分散效果不好,不成颗粒,全部都黏连在一起;而当CS仅经过 H_2O_2 处理时,CS-TPP的络合物也呈现三维网络状结构,但是其孔隙较仅超声处理的小一点,虽然也黏连在一起,但分散效果要优于仅超声处理的;而将CS经过超声和 H_2O_2 协同处理后的CS-TPP络合物呈现微花结构,且分散均匀直径在 $1.5\sim 2.0\ \mu\text{m}$ 左右。推测产生这样现象的原因可能是当CS仅通过超声或 H_2O_2 处理时,CS的分子质量下降程度有限,整体黏度较大,使之与TPP交联后,团聚在一起,难以形成单独的、分散性较好的颗粒,而当CS经过超声和 H_2O_2 协同处理后,其分子质量降低明显,此时的黏度较小和流动性较好,使之与TPP络合后能形成均匀的颗粒。为验证其黏度的大小,用乌氏黏度计测量3种不同处理条件下CS溶液的相对黏度,结果依次为29.54、18.03和1.65,因此黏度越小越有利于颗粒的生成。

对比分析单因素试验3~5可知, H_2O_2 添加量并不会影响CSMF的形成,但仔细对比发现7%的 H_2O_2 处理过的CSMF整体上大小均匀,而经9.3%的 H_2O_2 处理过的CSMF大多数花朵的花瓣密集,且微花直径也有所增大。

对比分析单因素试验3、6、7可知,超声时间对CSMF的形貌有显著影响。当超声10 min时,CS-TPP络合物形成了颗粒,分散性较好,也比较均匀,并且部分颗粒具有三维结构,但是不成花,却有成花的趋势;而当超声60 min时,由单因素试验7可知,CS-TPP络合物也形成颗粒,分散效果不如前两者,且颗粒呈现为二维的片状结构,而且颗粒排列的十分致密,推测出现这样现象的原因是超声和 H_2O_2 对CS糖苷键断裂后形成的小分子CS链长度是随机的,当超声时间太短时,CS没有得到充分地降解,此时的CS溶液中降解后的CS链的长度较大,此时CS与TPP交联后多以花状结构的底座形态存在;当超声时间太长时,CS得到了充分地降解,此时CS溶液中的CS链长较小,而CS与TPP交联后主要形成CS-TPP纳米片,此时纳米片少了花状结构的底座,所以也形不成微花结构。因此,形成微花结构必须满足既要有CS长链与TPP交联形成底座,又要有CS短链与TPP交联形成纳米片及花瓣。

在对比分析单因素试验3、8、9可知,超声的功率对CSMF的形成没有太大的影响,仔细对比发现超声功率越大CSMF分散的效果越好,大小越均匀。

在对比单因素试验10~12可知,温度对CSMF的形成有着显著的影响,当CS溶液温度为 $0\ ^\circ\text{C}$ 时,CS-TPP所形成的络合物紧密地排列在一起,也是三维的网络结构,但是其孔隙率较低,并且表面相对光滑;而当温度升到 $25\ ^\circ\text{C}$ 时,CS-TPP所形成的络合物也呈现三维网络结构,也紧密的排列在一起,但与 $0\ ^\circ\text{C}$ 的形貌相比孔隙率要高,表面要粗糙;而在当温度升到 $50\ ^\circ\text{C}$ 时,CS与TPP交联后就形成了CSMF,此时的CSMF粒径在 $1.0\sim 1.5\ \mu\text{m}$ 左右,比 $40\ ^\circ\text{C}$ 条件下的CSMF粒径要小一点,且分散得也十分均匀,大小也十分均匀。推测产生此现象的原因是当温度较低时,CS的流动性较差且黏度较高,所以此时CS与TPP交联后就难以形成颗粒,直接黏连在一起形成网络结构,而当温度上升到一定值后,CS溶液的流动性和黏度就得到了显著的改善,继而与TPP交联后能够形成微花结构。

最后对比分析单因素试验13~15可知,CS与TPP的比例也会对微花的形成产生巨大的影响。当CS与TPP质量比为1:2.5时,此时CS与TPP交联后有形成颗粒的趋

势, 但还黏连在一起形成网络结构; 当CS与TPP质量比为1:10时, 此时CS与TPP交联后虽然也形成微花结构, 但是花状结构不如1:5时的完整, 且此时的分散性也不如1:5时的好; 当CS与TPP质量比为1:15时, 此时CS与TPP交联后形成片状颗粒。推测出现这样现象的原因是TPP水溶液呈弱碱性, 当TPP含量减少时, 溶液体系pH值偏小, 此时CS的 -NH_3^+ 基团含量较多, 与磷酸根离子交联的次数也就较多, 所以可能形成网络结构, 而当TPP含量较多时, 溶液体系pH值偏大, 此时CS的 -NH_3^+ 基团含量减少, 与磷酸根离子交联的次数也就减少了, 所以可能形成片层结构。

综上所述, 影响CSMF的形貌的因素有预处理方式、超声时间、CS溶液温度和CS与TPP的添加比例。结合Sasidharan^[30]和Wang Xiaoli^[14]等的成花机理, 推测CSMF的形成机理可能为将原CS降解成在一定分子质量范围内的短长链CS, 然后TPP与降解后相对较长的CS链交联形成微花结构的底座, 与降解后相对较短的CS链交联形成纳米片, 然而底座和纳米片的形成需要一定的温度和能量维持, 最后再通过CS结构上面的一 NH_3^+ 与磷酸根离子之间的相互作用, 将纳米片自组装到底座上, 进而生成微花结构。

3 结论

本研究以离子交联法为基础, 通过对CS进行超声和 H_2O_2 预处理后与TPP交联形成了一种微花结构, 并且CSMF的比表面积为 $48.9 \text{ m}^2/\text{g}$, 极大地增加了CS的比表面积。对CS与CSMF进行FTIR、XRD、TGA和XPS表征, 研究影响CSMF形貌的因素。结果表明: 经FTIR和XPS对比可知, CSMF比CS多出了磷酸根基团和 C-N^+ 键, 表明CS成功与TPP交联; 并且CSMF的结晶度较CS有所下降, 但晶体组成和有序性得到了增强; 而CSMF的热稳定性也较CS有所降低; 得知了影响CSMF形貌的因素有预处理方式、超声时间、CS溶液温度和CS与TPP质量比, 推测了CSMF的成花机理, 可能为将原CS降解成在一定分子质量范围内的短长链CS, 然后TPP与降解后相对较长的CS链交联形成微花结构的底座, 与降解后相对较短的CS链交联形成纳米片, 然而底座和纳米片的形成需要一定的温度和能量维持, 最后再通过CS结构上面的一 NH_3^+ 与磷酸根离子之间的相互作用, 将纳米片自组装到底座上, 进而生成了微花结构。因此本实验不同于Wang Xiaoli等^[14]CS微花的构筑(通过 Ca^{2+} 在CS上仿生矿化所得), 为CS特殊形貌的构筑提供了新思路。

参考文献:

- [1] 陈天, 严俊, 徐荣南, 等. 甲壳素及其衍生物在生物医学上的应用[J]. 生物医学工程杂志, 1989(1): 60-64.
- [2] CHANPHAI P, TAJMIR-RIAAHI H A. Conjugation of tea catechins with chitosan nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 84: 561-570. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.06.043.
- [3] AGBOH O C, QIN Y. Chitin and chitosan fibers[J]. Polymers for Advanced Technologies, 1997, 8(6): 355-365. DOI:10.1002/(sici)1099-1581(199706)8:6<355::Aid-pat651>3.0.Co;2-t.
- [4] 刘均, 吕杨俊, 潘俊娴, 等. 茶多酚复配壳聚糖对三文鱼货架期的影响[J]. 中国茶叶加工, 2019(4): 66-71. DOI:10.15905/j.cnki.33-1157/ts.2019.04.016.
- [5] DENG X, GOULD M, ALI M A. Fabrication and characterisation of melt-extruded chitosan/keratin/PCL/PEG drug-eluting sutures designed for wound healing[J]. Materials Science & Engineering C, 2021, 120: 111696. DOI:10.1016/j.msec.2020.111696.
- [6] 王贤波, 余霞奎, 刘军波, 等. 壳聚糖及羧甲基壳聚糖对螺蛳体内铅镉的脱除[J]. 浙江农业科学, 2019, 60(11): 2087-2088; 2093.
- [7] 江君, 王平. 壳聚糖的物理/化学改性及其对含酚废水的处理[J]. 环境工程学报, 2011(5): 121-126.
- [8] 顾振宇, 王春梅, 周光华, 等. 壳聚糖整理棉织物的抗菌性能研究[J]. 棉纺织技术, 2022, 50(9): 24-27.
- [9] DIVYA K, SMITHA V, JISHA M S. Antifungal, antioxidant and cytotoxic activities of chitosan nanoparticles and its use as an edible coating on vegetables[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 114: 572-577. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.03.130.
- [10] GOKCE Y, CENGIZ B, YILDIZ N, et al. Ultrasonication of chitosan nanoparticle suspension: influence on particle size[J]. Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects, 2014, 462: 75-81. DOI:10.1016/j.colsurfa.2014.08.028.
- [11] SINHA V R, TREHAN A. Development, characterization, and evaluation of ketorolac tromethamine-loaded biodegradable microspheres as a depot system for parenteral delivery[J]. Drug Delivery, 2008, 15(6): 365-372. DOI:10.1080/10717540500398092.
- [12] RIEGGER B R, BAURER B, MIRZAYEVA A, et al. A systematic approach of chitosan nanoparticle preparation via emulsion crosslinking as potential adsorbent in wastewater treatment[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 180: 46-54. DOI:10.1016/j.carbpol.2017.10.002.
- [13] LI Y, AI L Z, YOKOYAMA W, et al. Properties of chitosan-microencapsulated orange oil prepared by spray-drying and its stability to detergents[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(13): 3311-3319. DOI:10.1021/jf305074q.
- [14] WANG X L, SHI J F, LI Z, et al. Facile one-pot preparation of chitosan/calcium pyrophosphate hybrid microflowers[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(16): 14522-14532. DOI:10.1021/am503787h.
- [15] LIU S P, ZHENG Z Q, WANG S, et al. Polydopamine-coated chitosan/calcium pyrophosphate hybrid microflowers as an effective hemostatic agent[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 224: 115175. DOI:10.1016/j.carbpol.2019.115175.
- [16] MAURYA S S, NADAR S S, RATHOD V K. A rapid self-assembled hybrid bio-microflowers of alpha-amylase with enhanced activity[J].

- Journal of Biotechnology, 2020, 317: 27-33. DOI:10.1016/j.jbiotec.2020.04.010.
- [17] KROLIKOWSKA K, FORTUNA T, PIETRZYK S, et al. Effect of modification of octenyl succinate starch with mineral elements on the stability and rheological properties of oil-in-water emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 66: 118-127. DOI:10.1016/j.foodhyd.2016.12.012.
- [18] 赵婧, 崔璐, 李映璐, 等. 壳聚糖复合纳米载药体系的构建及其释药性能[J]. 纺织高校基础科学学报, 2022, 35(3): 45-55. DOI:10.13338/j.issn.1006-8341.2022.03.006.
- [19] GOMATHI T, PRASAD P S, SUDHA P N, et al. Size optimization and *in vitro* biocompatibility studies of chitosan nanoparticles[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 104: 1794-1806. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2017.08.057.
- [20] 纪建华. 直接测定壳聚糖脱乙酰度分析方法的比较[J]. 当代化工, 2016, 45(12): 2727-2729. DOI:10.13840/j.cnki.cn21-1457/tq.2016.12.004.
- [21] KHOERUNNISA F, NURHAYATI M, DARA F, et al. Physicochemical properties of TPP-crosslinked chitosan nanoparticles as potential antibacterial agents[J]. Fibers and Polymers, 2021, 22(11): 2954-2964. DOI:10.1007/s12221-021-0397-z.
- [22] YAZDI F, ANBIA M, SALEHI S. Characterization of functionalized chitosan-clinoptilolite nanocomposites for nitrate removal from aqueous media[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 130: 545-555. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.02.127.
- [23] 侯文龙, 杨婷, 杨越冬. 马来酰化壳聚糖的红外光谱与热重分析[J]. 理化检验(化学分册), 2013, 49: 1163-1165.
- [24] LV L, CHEN N, FENG C P, et al. Xanthate-modified magnetic chitosan/poly (vinyl alcohol) adsorbent: Preparation, characterization, and performance of Pb(II) removal from aqueous solution[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2017, 78: 485-492. DOI:10.1016/j.jtice.2017.06.009.
- [25] MARTINEZ-CAMACHO A P, CORTEZ-ROCHA M O, EZQUERRA-BRAUER J M, et al. Chitosan composite films: thermal, structural, mechanical and antifungal properties[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(2): 305-315. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.04.069.
- [26] OU C Y, ZHANG C H, LI S D, et al. Thermal degradation kinetics of chitosan-cobalt complex as studied by thermogravimetric analysis[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(4): 1284-1289. DOI:10.1016/j.carbpol.2010.07.010.
- [27] 张丽辉, 段文猛, 邓春萍, 等. 改性壳聚糖复合材料对亚甲基蓝吸附性能研究[J]. 应用化工, 2022, 51(7): 1954-1959. DOI:10.16581/j.cnki.issn1671-3206.20220616.002.
- [28] NICOMEL N R, OTERO-GONZALEZ L, FOLENS K, et al. Selective and enhanced nickel adsorption from sulfate- and calcium-rich solutions using chitosan[J]. Separation and Purification Technology, 2021, 276: 119283. DOI:10.1016/j.seppur.2021.119283.
- [29] XU F J, PING Y, MA J, et al. Comb-shaped copolymers composed of hydroxypropyl cellulose backbones and cationic poly((2-dimethyl amino)ethyl methacrylate) side chains for gene delivery[J]. Bioconjugate Chemistry, 2009, 20(8): 1449-1458. DOI:10.1021/bc900044h.
- [30] SASIDHARAN S, P C S, CHAUDHARY N, et al. Single crystal organic nanoflowers[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 17335. DOI:10.1038/s41598-017-17538-0.