

李 良, 黄春阳, 王 哲, 等. 改性鸡肺、牛肺、猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶的制备及性能[J]. 江苏农业学报, 2024, 40(3): 552-561.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2024.03.018

改性鸡肺、牛肺、猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶的制备及性能

李 良^{1,2}, 黄春阳², 王 哲^{2,3}, 王灵娟^{2,3}, 张新笑^{2,3}, 邹 烨^{2,3}, 徐为民^{1,2,3}, 邵俊花¹

(1. 沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866; 2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014; 3. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013)

摘要: 为提高畜禽养殖效益、实现高附加值的畜禽肺资源化利用, 本研究以鸡肺、牛肺、猪肺及与羧甲基壳聚糖为原料, 在鸡肺、牛肺、猪肺明胶制备及改性的基础上, 将羧甲基壳聚糖分别与改性鸡肺、牛肺、猪肺明胶按1:1、1:2和2:1体积比进行交联反应制备复合水凝胶, 并进一步对复合水凝胶的关联度、凝胶强度、红外光谱、溶胀性、热变特征、微观结构及失水率等理化性质进行分析。结果表明, 当羧甲基壳聚糖分别与改性鸡肺、牛肺、猪肺明胶按1:2体积比时, 配制得到的复合水凝胶性质最好。其中, 羧甲基壳聚糖与改性牛肺明胶按1:2体积比配制得到的复合水凝胶交联度、凝胶强度、孔隙率和失水率分别为45.4%、5.24 N、64.58%和87.6%, 优于羧甲基壳聚糖分别与改性鸡肺明胶、改性猪肺明胶按1:2体积比配制得到的复合水凝胶。本研究结果为畜禽肺的高附加值资源化利用提供了新思路。

关键词: 改性畜禽肺明胶; 羧甲基壳聚糖; 水凝胶

中图分类号: TQ427.2⁺6

文献标识码: A

文章编号: 1000-4440(2024)03-0552-10

Preparation and properties of modified chicken, bovine and porcine lung gelatin/carboxymethyl chitosan composite hydrogels

LI Liang^{1,2}, HUANG Chun-yang², WANG Zhe^{2,3}, WANG Ling-juan^{2,3}, ZHANG Xin-xiao^{2,3}, ZOU Ye^{2,3}, XU Wei-min^{1,2,3}, SHAO Jun-hua¹

(1. Food Science College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 2. Institute of Agricultural Products Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 3. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: In order to improve the efficiency of livestock and poultry breeding and realize the resource utilization of high value-added livestock and poultry lung, this study used chicken lung, bovine lung, pig lung and carboxymethyl chitosan as raw materials. On the basis of the preparation and

modification of chicken lung, bovine lung and pig lung gelatin, carboxymethyl chitosan was cross-linked with the modified gelatin of chicken lung, bovine lung and pig lung at 1:1, 1:2 and 2:1 volume ratios to prepare composite hydrogels. The physical and chemical properties of the composite hydrogel, such as correlation degree, gel strength, infrared spectrum, swelling property, thermal

收稿日期: 2022-12-26

基金项目: 国家现代农业(肉鸡)产业技术体系建设专项(CARS-41); 江苏省重点研发计划(现代农业)项目(BE2020301)

作者简介: 李 良(1997-), 男, 湖北十堰人, 硕士研究生, 主要从事畜禽产品加工研究。(E-mail) liliang3935@126.com

通讯作者: 邹 烨, (E-mail) zouye@jaas.ac.cn; 邵俊花, (E-mail) shaojh024@163.com

change characteristics, microstructure and water loss rate, were further analyzed. The results showed that when the volume ratio of carboxymethyl chitosan to modified chicken lung, bovine lung and pig lung gelatin was 1 : 2, the prepared composite hydrogel had the best properties. Among them, the crosslinking degree, gel strength, porosity and water loss rate of the composite hydrogel prepared by carboxymethyl chitosan and modified bovine lung gelatin at a volume ratio of 1 : 2 were 45.4%, 5.24 N, 64.58% and 87.6%, respectively, which were better than those of the composite hydrogel prepared by carboxymethyl chitosan and modified chicken lung gelatin and modified pig lung gelatin at a volume ratio of 1 : 2. The results of this study provided a new idea for the high value-added resource utilization of livestock and poultry lung.

Key words: modified livestock and poultry lung gelatin; carboxymethyl chitosan; hydrogel

明胶是工业生产常用的蛋白质类水凝胶组分,具有良好的热可逆性、透明度、冷水不溶、体温溶点和促进细胞黏附等特征,且可以通过物理、化学和酶处理等方式转变为水凝胶^[1]。徐达达^[2]将改性明胶与大黄多糖、淫羊藿多糖混合制备的水凝胶可作为细胞外基质用于组织工程。张秀梅等^[3]利用谷氨酰胺转移酶和钙离子双交联的方法制备明胶/海藻酸钠水凝胶,再将制备好的水凝胶浸泡在单宁酸溶液中,使水凝胶发生进一步交联,进而得到黏附性高、可剥离性好的伤口敷料。

壳聚糖可抑制生物合成并破坏细胞壁之间的运输,导致细菌死亡^[4]。羧甲基壳聚糖作为壳聚糖衍生物,具有良好的胶凝性、抗菌性和生物相容性等特性,是近些年来广受关注的一种新型工业材料。Ouyang 等^[5]将罗非鱼皮肤中提取的肽与壳聚糖混合制备出可以增强细胞迁移、促进皮肤再生的水凝胶。张宝忠等^[6]用羧甲基壳聚糖与明胶交联,制得具有止血、保湿功能的水凝胶。Poverenov 等^[7]将壳聚糖/明胶复合水凝胶涂层于辣椒表面,发现涂层能抑制辣椒腐败、延长辣椒的货架期。

目前在鱼皮明胶及动物皮肤明胶的制备、改性及其与多糖类聚合物交联制备水凝胶方面已有较多研究,但在畜禽肺部改性明胶与羧甲基壳聚糖交联制备水凝胶的研究相对较少。近年来,中国畜禽屠宰量逐年上升,除了少量牛肺、猪肺用作烹饪材料外,大部分牛肺、猪肺与鸡肺被简单处理成饲料。李小勇等^[8]、王春焕等^[9]、潘佳昕等^[10]研究发现猪肺、牛肺和鸡肺中含有丰富的胶原蛋白,因此牛肺、猪肺与鸡肺的饲料化处理不但造成了资源浪费,还降低了畜禽养殖效益。本研究通过牛肺、猪肺、鸡肺明胶的改性及其与羧甲基壳聚糖不同混合比例交联制备水凝胶,利用物理和化学方法分析上述水凝胶的结构和性能,探讨牛肺、猪肺、鸡肺改性明胶与羧甲基壳聚糖混合比例对水凝胶性能的影响,以期建立畜

禽肺高附加值利用新方法。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

羧甲基壳聚糖购自上海麦克林生化科技有限公司,1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐、无水乙二胺购自上海源叶生物科技有限公司,牛肺明胶、猪肺明胶和鸡肺明胶参照潘佳昕等^[10]的方法制备。

MCR02 流变仪购自德国安东帕公司,TVT-300XP 质构仪购自瑞典 TexVol 公司,EVO-LS10 扫描电子显微镜购自德国 Zeisse Oberkochen 公司,Nicolet iS-5 傅里叶变换红外光谱仪购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,HH-4 数显恒温水浴锅购自常州国华仪器有限公司,STA-449C 差示扫描量热仪购自德国 Netzsch 公司,Alpha 1-2 LDplus 冷冻干燥机购自德国 Christ 公司。

1.2 试验与分析方法

1.2.1 明胶的改性 参照徐达达^[2]的方法进行实验室自制改性肺明胶。称取 5 g 肺明胶 60 ℃溶于 100 ml pH 为 5 的 0.1 mol/L 磷酸盐溶液,混匀后加入 16.1 ml 的乙二胺,搅拌均匀后用 6 mol/L 的 HCl 调整 pH 到 5.0,再加入 2.67 g 1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC),混合后用 0.1 mol/L 的磷酸盐溶液定容至 250 ml。37 ℃加热 2 h 后放至常温,使用相对分子质量为 3.5×10^6 的透析袋透析 3 d,冻干后获得改性肺明胶。

1.2.2 水凝胶的制备 称取 40 g 羧甲基壳聚糖,用去离子水定容至 1 L,得到 40 mg/ml 的羧甲基壳聚糖溶液;分别称取 150 g 鸡肺明胶、牛肺明胶、猪肺明胶、改性鸡肺明胶、改性牛肺明胶、改性猪肺明胶,60 ℃加热后用去离子水定容至 1 L,得到 150 mg/ml 的鸡肺明胶溶液、牛肺明胶溶液、猪肺明胶溶液和改性鸡肺明胶溶液、改性牛肺明胶溶液、改性猪肺明胶溶液。分别将上述羧甲基壳聚糖溶液和鸡肺明胶溶

液、牛肺明胶溶液、猪肺明胶溶液、改性鸡肺明胶溶液、改性牛肺明胶溶液、改性猪肺明胶溶液按体积比 1:1、2:1、1:2 混合,制得 3 种配比的肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶和改性肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶。

1.2.3 水凝胶交联度测定 基于材料中游离氨基含量与吸光度成正比的原理,参照李改莹^[11]的方法测水凝胶交联度。称取冻干状态下的鸡肺明胶、牛肺明胶、猪肺明胶、鸡肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶、牛肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶、猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶和改性鸡肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶、改性牛肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶、改性猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶各 2 mg,分别加入 1 ml 纯水,体温下溶解静置 8 h,待其充分反应后,加入 1.0 ml 茚三酮溶液,混匀后 100 ℃加热 20 min,用体积百分数 50% 的异丙醇溶液将其稀释 1×10^4 倍,并测定各处理 570 nm 处的吸光度。然后配制 0.75 mmol/L、1.00 mmol/L、1.25 mmol/L、1.75 mmol/L、2.50 mmol/L 和 5.00 mmol/L 的甘氨酸溶液,按照上述步骤,与茚三酮溶液加热反应,并测得混合液吸光度值得到标准曲线,进而根据各水凝胶试样的吸光度和标准曲线得到各水凝胶试样的游离氨基含量,再由式(1)计算水凝胶交联度:

$$\text{交联度} = \left(1 - \frac{OD_{\text{sample}}}{OD_{\text{gelatin}}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

式(1)中, OD_{sample} 表示鸡肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶、牛肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶、猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶和改性鸡肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶、改性牛肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶、改性猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶的游离氨基含量, OD_{gelatin} 为鸡肺明胶、牛肺明胶、猪肺明胶的游离氨基含量。

1.2.4 水凝胶强度测定 参照 Fan 等^[12]的方法进行水凝胶强度的测定。设置 TVT-300XP 质构仪的参数为探头型号 P36R、形变量 80%、检测速率 120 mm/min、起始力 0.15 N、返回速率 120 mm/min、2 次下压间隔时间 1.5 s、凝胶强度模式 TPA 进行水凝胶强度的测定。

1.2.5 水凝胶红外光谱特征分析 参照 Shi 等^[13]的方法,设置傅里叶变换红外光谱仪的光谱扫描范围为 4 000~500 cm^{-1} ,扫描次数 64 次,分辨率为 1

cm^{-1} 对水凝胶进行红外光谱特征分析,判断水凝胶是否发生交联反应。

1.2.6 水凝胶溶胀性能分析 参照 Fan 等^[14]的方法,将水凝胶制成直径为 1 cm 的圆片,冻干后称取质量,记为 m_0 ,在 37 ℃条件下用 pH 为 7.4 的 PBS 缓冲液浸泡溶胀,浸泡 10 min、20 min、30 min、60 min、90 min、120 min、240 min、360 min、480 min、600 min、720 min 后取出,吸干表面 PBS 缓冲液残液后再次称取水凝胶质量,记为 m_1 。由式(2)计算各时刻的溶胀率:

$$\text{溶胀率} = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \times 100\% \quad (2)$$

1.2.7 水凝胶微观结构分析 将冻干后的水凝胶抽真空后在其表面喷金,使用 EVO-LS10 扫描电子显微镜进行微观结构观察与分析。

1.2.8 水凝胶孔隙率测定 参照闫金鑫^[15]的方法测定水凝胶孔隙率。称取 v_1 体积无水乙醇倒入量筒,将适量改性肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶放进量筒中浸没,静置,直至摇晃量筒时无气泡冒出,记录两者混合体积 v_2 ,之后将水凝胶取出,记录此时无水乙醇的体积为 v_3 。由式(3)计算水凝胶的孔隙率:

$$\text{孔隙率} = \frac{v_1 - v_3}{v_2 - v_3} \times 100\% \quad (3)$$

1.2.9 水凝胶热变分析 将差示扫描量热仪升温模式设置为标准模式,温度范围 20~400 ℃,升温速度 10 ℃/min,氮气吹扫速率 60 ml/min,将 10 mg 精细研磨的水凝胶放入差示扫描量热仪进行热变分析。

1.2.10 水凝胶失水率测定 将质量为 m_1 的水凝胶在 37 ℃烘箱中干燥 24 h,记录烘干后的质量(m_2)。由式(4)计算水凝胶的失水率:

$$\text{失水率} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (4)$$

1.3 数据统计与分析

上述处理均 3 个重复,利用 SPSS V26.0 软件进行数据分析与处理。采用 Turkey 检验分析处理之间的差异显著性($P < 0.05$)。利用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与分析

2.1 羧甲基壳聚糖与肺明胶(改性肺明胶)混合比例对复合水凝胶交联度的影响

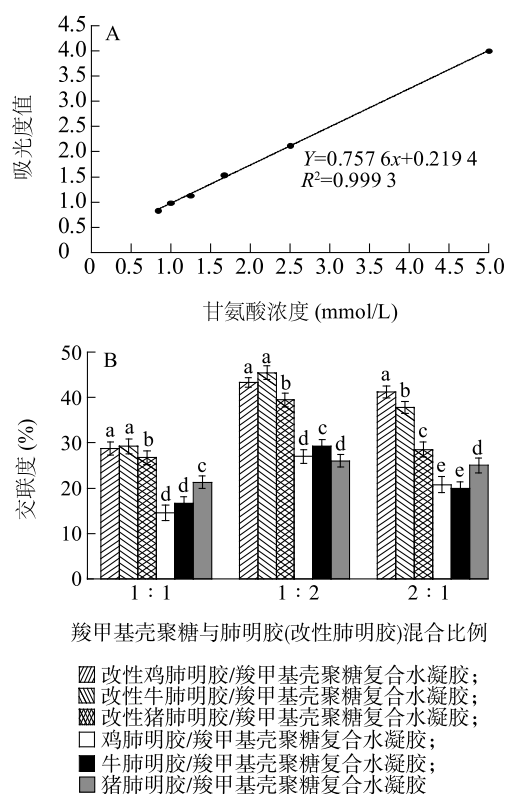
甘氨酸标准浓度曲线如图 1A 所示。从图中可以看出,甘氨酸浓度与吸光度之间存在较好的线性关系,决定系数(R^2)达 0.999 3。不同混合比例的水凝

胶交联度如图 1B 所示。从图中可以看出,改性鸡、牛、猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶的交联程度均高于鸡、牛、猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶。当羧甲基壳聚糖与改性肺明胶的比例由 1:1 增加到 1:2 时,改性肺明胶的添加比例增大,改性鸡、牛、猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶交联度也分别由 28.72%、29.24%、26.73% 增加到 43.26%、45.40%、39.46%。这可能是由于改性肺明胶的增加提高了复合水凝胶中氨基基团的含量,使得其与羧甲基壳聚糖上的羧基和羟基更充分发生交联,交联度上升^[16]。而当羧甲基壳聚糖与改性肺明胶比例由 1:1 变为 2:1 时,羧甲基壳聚糖的含量增加,改性鸡、牛、猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶交联度也分别由 28.72%、29.24%、26.73% 增加至 41.19%、37.76%、28.51%。可能是交联过程所需要的氨基更多,所以在同样增加反应基团的情况下,增加改性肺明胶比例对提升复合水凝胶交联度的效果更好。

2.2 羧甲基壳聚糖与肺改性明胶混合比例对复合水凝胶强度的影响

羧甲基壳聚糖与改性肺明胶混合比例对复合水凝胶强度的影响如图 2 所示。从图 2 可以看出,3 种混合比例的复合水凝胶中,改性牛肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶的凝胶强度最高,其次为鸡肺改性明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶,改性猪肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶的凝胶强度最低。而 3 个混合比例中,羧甲基壳聚糖与肺改性明胶按 1:2 配制得到的复合水凝胶凝胶强度最高,其次是比例为 2:1,1:1 配制得到的复合水凝胶凝胶强度最低。本试验中羧甲基壳聚糖与改性牛肺明胶按 1:2 配制得到的复合水凝胶凝胶强度显著高于其他两种比例的甲基壳聚糖与改性肺明胶混合得到的复合水凝胶,但低于刘佳炜等^[17]制得的明胶-壳聚糖-海藻酸钠复合水凝胶的凝胶强度(6.125 N),原因可能在于后者制备复合水凝胶的过程中加入了海藻酸钠,加深了交联反应。与罗穆潮等^[18]制备的壳聚糖/白芨胶复合水凝胶的凝胶强度(1.98 N)相比,本试验制备的 3 种混合比例的改性肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶的凝胶强度均高于前者。

从图 2 中还可以看出,羧甲基壳聚糖与改性肺明胶 1:1 配制得到的复合水凝胶的凝胶强度明显低于 1:2 和 2:1 配制得到的复合水凝胶,说明增加羧甲基壳聚糖或者改性肺明胶的含量都利于复合水



A: 甘氨酸标准浓度曲线; B: 交联度。图柱上不同小写字母表示同一混合比例下不同复合水凝胶间具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

图 1 羧甲基壳聚糖与肺明胶(改性肺明胶)不同混合比例制备的复合水凝胶的交联度

Fig.1 Crosslinking degree of composite hydrogels prepared by lung gelatin (modified lung gelatin) and carboxymethyl chitosan with different mixing ratios

凝胶凝胶强度的增加。熊拯^[19]在大豆分离蛋白-阴离子多糖复合体系水凝胶中增加多糖比例时,同样发现凝胶强度增加。其原因可能在于增加羧甲基壳聚糖或者改性肺明胶含量时,水凝胶的质量呈增加趋势,而水凝胶质量的增加,一方面会增加改性肺明胶分子上的氨基、羧基与羧甲基壳聚糖分子链上的羧基、羟基之间的静电交互作用及氢键相互作用,另一方面会提高水凝胶整体密度,导致水凝胶聚合物缠结更加紧密。水凝胶中分子链通常呈交织结构,这种结构不但能均匀传递与分散水凝胶所受外力^[20],还能消散或抵抗剪切能量^[21],因而,在水凝胶质量增加时,水凝胶分子链交织程度增加,进而表现为水凝胶的机械强度增强。

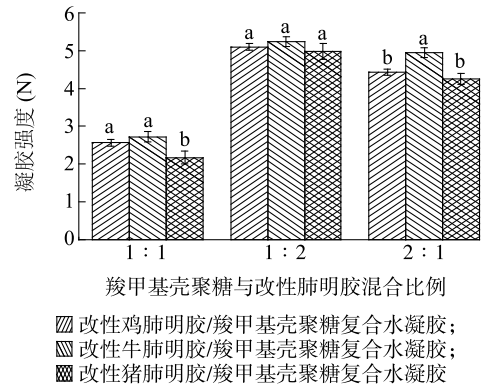
2.3 羧甲基壳聚糖与肺明胶(改性肺明胶)不同混合比例的复合水凝胶的红外光谱

图 3 为羧甲基壳聚糖、改性肺明胶及 2 者不同

混合比例制得的复合水凝胶的红外光谱。羧甲基壳聚糖在 $3\ 010\text{ cm}^{-1}$ 处有表示 $=\text{C}-\text{H}$ 和 NH^{3+} 不对称拉伸振动的特征峰,在 $1\ 589\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 411\text{ cm}^{-1}$ 处有分别表示羧基对称伸缩振动(与 $\text{N}-\text{H}$ 弯曲重叠)和羧基不对称伸缩振动的特征峰^[22]。改性牛肺、鸡肺明胶在大约 $3\ 279\text{ cm}^{-1}$ 存在与 NH 基团的拉伸振动、氢键有关的吸收峰, $1\ 638\text{ cm}^{-1}$ 处存在 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动峰, $1\ 576\text{ cm}^{-1}$ 处为 $-\text{NH}_2$ 的特征吸收峰, $1\ 416\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰为 $-\text{COO}^-$ 的对称伸缩振动, $1\ 236\text{ cm}^{-1}$ 处为 $\text{C}-\text{N}$ 吸收带^[23](图3a)。

改性肺明胶/羧甲基壳聚糖不同混合比例的3种复合水凝胶都没有显示羧甲基壳聚糖的羧基吸收峰($1\ 589\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\ 411\text{ cm}^{-1}$),且 $1\ 409\text{ cm}^{-1}$ 处的峰减弱,这说明复合水凝胶形成后羧基基团减少,羧酸根离子和铵离子之间发生了静电作用,从而以此为基础产生交联反应。3种复合水凝胶的 NH 基团拉伸振动吸收峰由 $3\ 279\text{ cm}^{-1}$ 偏移至 $3\ 000\text{ cm}^{-1}$ 附近,说明水凝胶的形成与氢键有关,且增强了分子间氢键。以上结果表明改性肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝

胶中羟基、氨基和羧基之间存在氢键和静电相互作用,已产生交联反应^[22](图3b、图3c、图3d)。



图柱上不同小写字母表示同一混合比例下不同复合水凝胶间具有显著性差异($P < 0.05$)。

图2 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶的凝胶强度

Fig.2 Gel strength of composite hydrogels prepared by modified lung gelatin and carboxymethyl chitosan with different mixing ratios

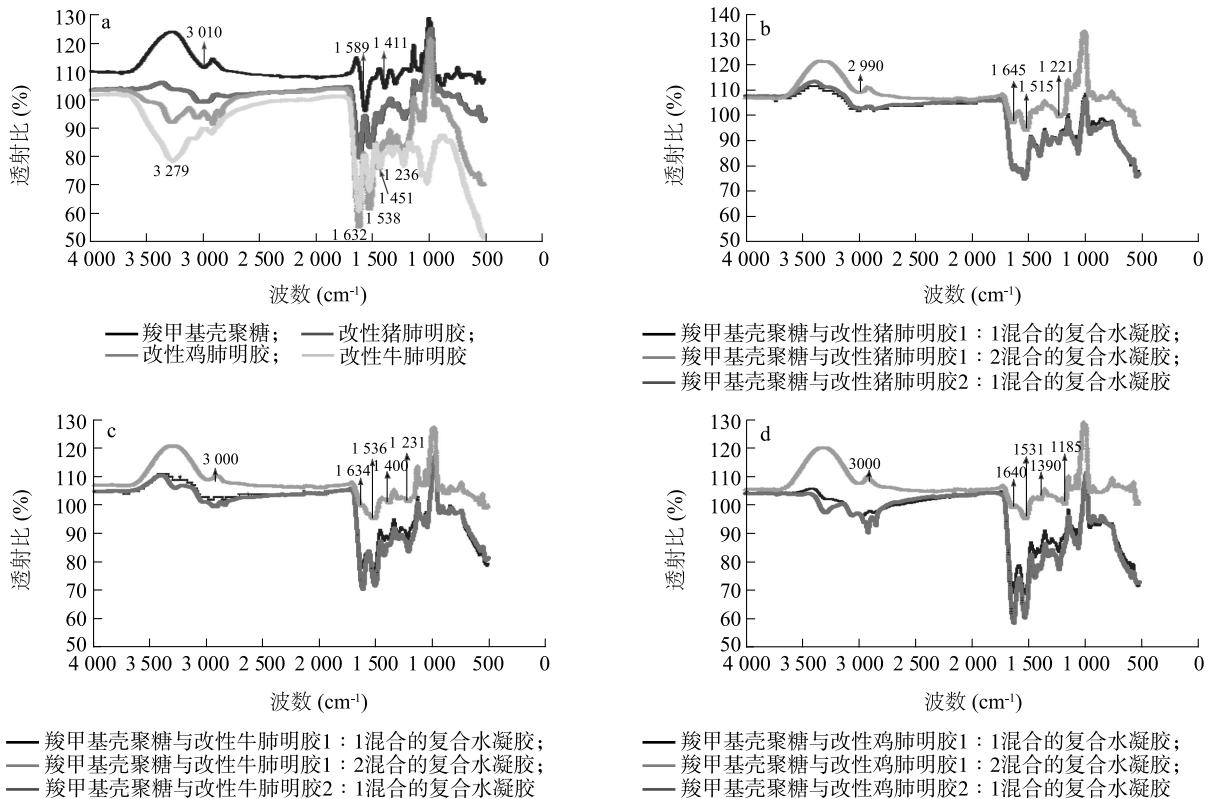


图3 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶的红外光谱

Fig.3 Fourier transform infrared spectromgrams of composite hydrogels prepared by modified lung gelatin and carboxymethyl chitosan with different mixing ratios

2.4 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶混合比例对复合水凝胶溶胀性的影响

羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶的溶胀特征如图4所示。随着浸泡时间的延长,0~120 min内,冻干复合水凝胶溶胀比例呈现快速增加的趋势;120 min后,不同混合比例的复合水凝胶的溶胀比例趋于平缓,500 min后不同混合比例的复合水凝胶溶胀比例趋于稳定,介于480%~550%,这说明改性肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶具有较强的吸水能力。其原因在于水凝胶中羟基、氨基和酰胺基具有大量的亲水基团,可使水凝胶吸水膨胀^[24]。在吸水膨胀期间,水凝胶内部的交联网络结构能够有效防止水凝胶过度膨胀造成的结构崩坏。当水凝胶溶胀比例达到最大时,饱和的水凝胶网络形成,水分子进出水凝胶达到动态平衡。

从图4还可以看出,交联度最高的羧甲基壳聚糖与改性牛肺明胶1:2配制的复合水凝胶溶胀率低于2:1配制的复合水凝胶,交联度最小的1:1配制的复合水凝胶溶胀率最低。其原因可能是随交联程度的加深,羧甲基壳聚糖和改性肺明胶之间的氢键相互作用逐渐增强,水凝胶网络结构更加坚固,从而限制了水凝胶的溶胀行为^[25]。此外,氢键的逐渐增加导致复合水凝胶内部形成更加均匀的三维网络结构,导致复合水凝胶的孔径减小,孔隙度变小,进而使得复合水凝胶的持水量降低,这个特征与Gilaraska等^[26]的研究结果一致。而交联度低的羧甲基壳聚糖与改性猪肺明胶1:1配制的复合水凝胶溶胀率低可能是该比例配制的复合水凝胶内部交联网络比较松散,水分子能够自由进出,且进去的水分无法被凝胶网络锁住,从而导致其溶胀率低。本研究中,羧甲基壳聚糖与改性猪肺明胶1:1配制的复合水凝胶溶胀率最低,稳定溶胀率约480%,远高于张晓亮等^[27]利用兔皮胶原与O-羧甲基壳聚糖混合制得的复合水凝胶的溶胀率(约160%)。

2.5 羧甲基壳聚糖与肺明胶(改性肺明胶)混合比例对复合水凝胶微观结构的影响

图5为羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶内部微观形态。从图中可以看出,本试验制备的所有复合水凝胶具有类似的多孔结构,孔洞直径大小不一,介于3~150 μm ,且孔洞相互贯穿相连。羧甲基壳聚糖与改性肺明胶1:2配比制备的复合水凝胶孔径(图5d、图5e、图5f)要小

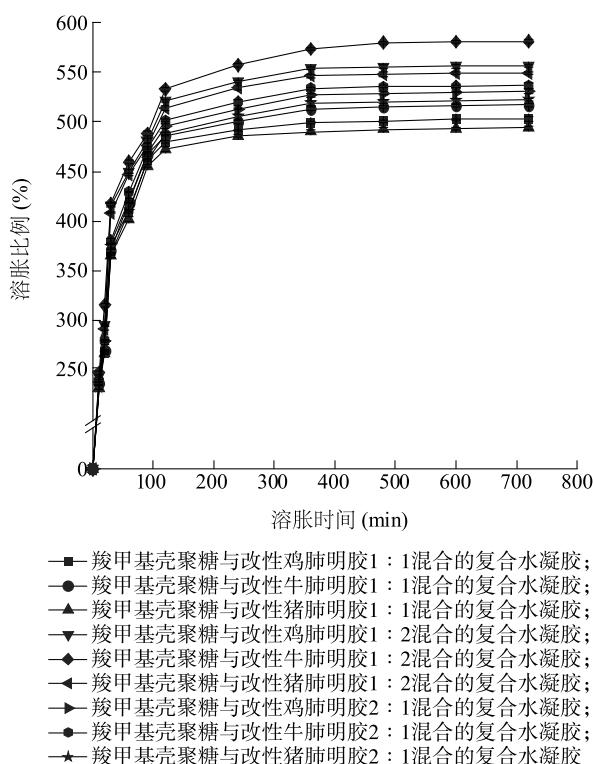
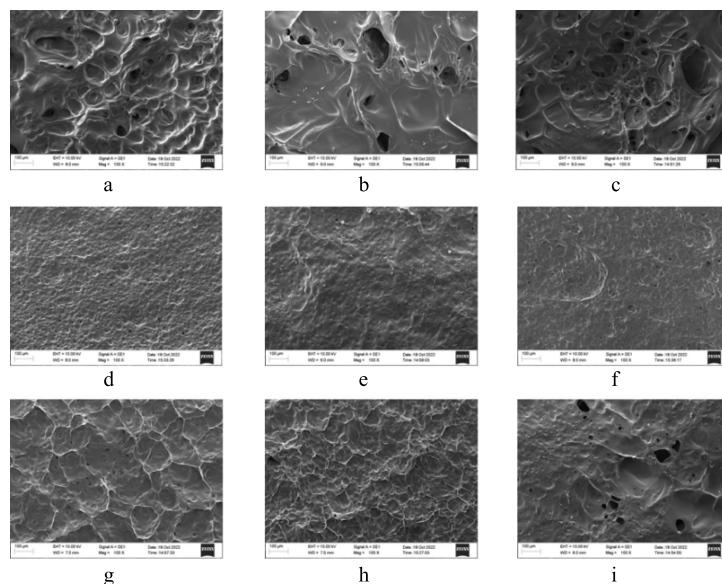


图4 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶的溶胀曲线

Fig.4 Swelling curves of composite hydrogels prepared by modified lung gelatin and carboxymethyl chitosan with different mixing ratios

于2:1配比制备的复合水凝胶(图5g、图5h、图5i)和1:1配比制备的复合水凝胶(图5a、图5b、图5c)。其原因可能是复合水凝胶交联程度的差异所导致的。随着水凝胶交联程度的增加,水凝胶内部不同结构之间的作用力增强,从而导致孔径逐渐缩小,结构更加紧密。

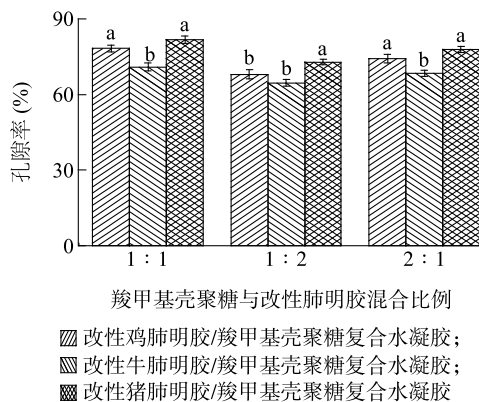
羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同配比制备的复合水凝胶孔隙率情况如图6所示。由图6可以看出,不同复合水凝胶孔隙率与微观结构的变化特征相一致。羧甲基壳聚糖与改性肺明胶1:2配比制备的复合水凝胶的孔径最小,相应的孔隙率也最小。改性肺明胶的来源对复合水凝胶孔隙率也有一定影响。改性牛肺明胶与羧甲基壳聚糖混合制得的复合水凝胶孔隙率要低于同配比的改性鸡肺明胶和改性猪肺明胶与羧甲基壳聚糖混合制得的复合水凝胶。本试验制备的复合水凝胶孔隙率均低于孙士儒等^[28]制得的海藻酸钠-明胶复合水凝胶,与任荣等^[29]制得的海藻酸钠-明胶复合水凝胶相似。



a:羧甲基壳聚糖与改性鸡肺明胶1:1混合的复合水凝胶;b:羧甲基壳聚糖与改性牛肺明胶1:1混合的复合水凝胶;c:羧甲基壳聚糖与改性猪肺明胶1:1混合的复合水凝胶;d:羧甲基壳聚糖与改性鸡肺明胶1:2混合的复合水凝胶;e:羧甲基壳聚糖与改性牛肺明胶1:2混合的复合水凝胶;f:羧甲基壳聚糖与改性猪肺明胶1:2混合的复合水凝胶;g:羧甲基壳聚糖与改性鸡肺明胶2:1混合的复合水凝胶;h:羧甲基壳聚糖与改性牛肺明胶2:1混合的复合水凝胶;i:羧甲基壳聚糖与改性猪肺明胶2:1混合的复合水凝胶。

图5 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶的微观结构

Fig.5 Microstructure of composite hydrogels prepared by modified lung gelatin and carboxymethyl chitosan with different mixing ratios



柱上不同小写字母表示同一混合比例下不同复合水凝胶间具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

图6 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶的孔隙率

Fig.6 Porosity of composite hydrogels prepared by modified lung gelatin and carboxymethyl chitosan with different mixing ratios

2.6 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同配比制备的复合水凝胶的热变特征

羧甲基壳聚糖、改性鸡肺明胶、改性牛肺明胶、

改性猪肺明胶以及羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶热变特征如图7所示。当改性肺明胶与羧甲基壳聚糖未发生交联时,在60~75℃有一个反应吸收峰,而当改性肺明胶与羧甲基壳聚糖混合交联后,之前的吸收峰消失,原因在于多糖与蛋白质之间形成了非共价键结合构建为更复杂、更稳定的网络结构,使得复合水凝胶变性需要更高的温度。

羧甲基壳聚糖与改性肺明胶3种不同混合比例制备的复合水凝胶具有相似的热变特征(图7b、7c、7d)。当温度从0℃升高到100℃时,样品质量的减少主要是水分的蒸发损失^[30]。之后,质量损失主要归因于暴露的羧甲基壳聚糖和改性肺明胶侧链的降解;在120℃左右出现的一个中心峰,可能是复合水凝胶内部结构中的静电作用力以及氢键、范德华力等被逐步破坏所致。这与应慧妍^[31]利用胶原蛋白-透明质酸制备的水凝胶热变特征一致。本试验中羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶峰面积和反应峰位置存在一定的偏差,这可能与复合水凝胶内部各作用力的强度差异相关;同一混合比例下不同改性肺明胶与羧甲基壳聚

糖制备的复合水凝胶峰面积和反应峰位置亦不完全相同,说明材料来源同样影响复合水凝胶峰面积和

反应峰位置。

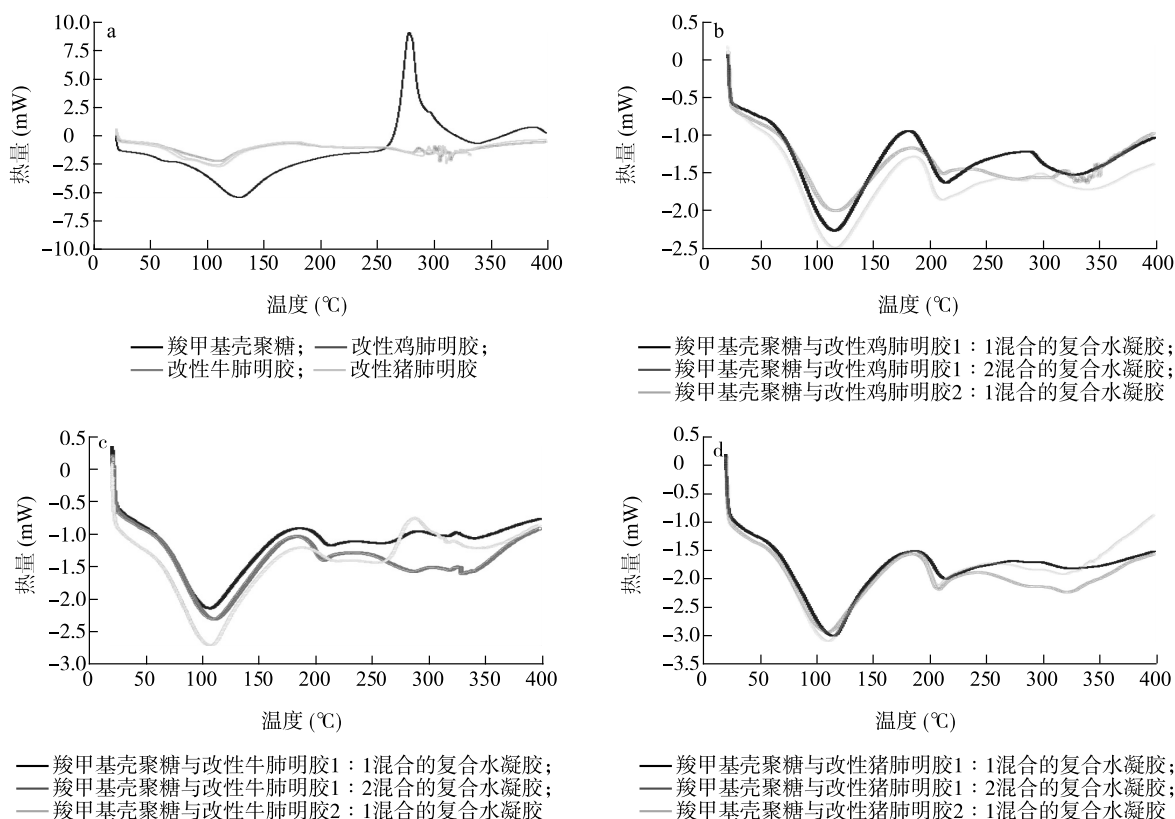


图7 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶热变图

Fig.7 Thermal change diagram of composite hydrogels prepared by modified lung gelatin and carboxymethyl chitosan with different mixing ratios

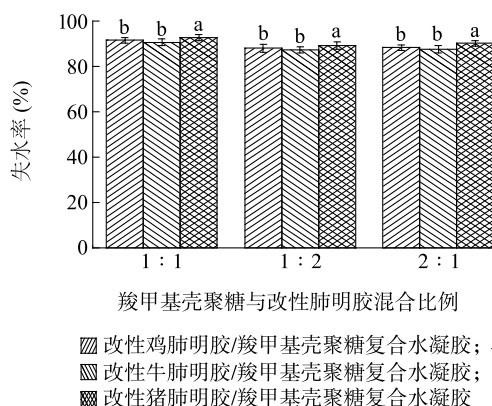
2.7 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶的失水率

羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶失水率变化特征如图8所示。1:1配比下,羧甲基壳聚糖与改性鸡肺明胶、改性牛肺明胶、改性猪肺明胶混合制得的复合水凝胶失水率分别为91.53%、90.64%、92.75%,1:2混合比例下复合水凝胶失水率分别为87.98%、87.27%、89.11%,2:1混合比例下复合水凝胶失水率分别为88.31%、87.60%、90.17%。随着改性肺明胶比例的增加或羧甲基壳聚糖比例的增加,复合水凝胶失水率都呈下降趋势,这一结果与孙萌^[32]利用金银花多糖与羧甲基壳聚糖制得的复合水凝胶失水率相似。其原因可能是随着羧甲基壳聚糖或改性肺明胶配比的提升,复合水凝胶内部分子间的交联更加紧密,孔径更小,锁水、保水能力更强,进而使得复合水凝胶

失水率降低。一般而言,复合水凝胶交联程度的高低与复合水凝胶失水率呈反比。

3 结论

本试验以羧甲基壳聚糖和牛肺、鸡肺、猪肺为主要原料,通过肺明胶的制作与改性,不同比例的羧甲基壳聚糖与改性肺明胶混合制备复合水凝胶。经理化性能分析,羧甲基壳聚糖与改性牛肺明胶1:2混合比例制备的复合水凝胶理化性能最好,其次为羧甲基壳聚糖与改性鸡肺明胶1:2混合比例制备的复合水凝胶和羧甲基壳聚糖与改性猪肺明胶制备的复合水凝胶。虽然改性鸡肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶的性质不是最优,但鸡肺的资源更广,成本更低,与牛肺相比还消除了造成疯牛病的隐患,所以在生产中可用改性鸡肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶替代改性牛肺明胶/羧甲基壳聚糖复合水凝胶。



图柱上不同小写字母表示同一混合比例下不同复合水凝胶间具有显著性差异 ($P < 0.05$)。

图8 羧甲基壳聚糖与改性肺明胶不同混合比例制备的复合水凝胶的失水率

Fig.8 The water loss rate of composite hydrogels prepared by modified lung gelatin and carboxymethyl chitosan with different mixing ratios

本试验利用改性肺明胶与羧甲基壳聚糖制备的复合水凝胶存在多孔结构,使得其在药物包埋缓释和细胞培养利用等生物工程领域有较好的应用前景。水凝胶高孔隙率带来的高比表面积,有望增强水凝胶的生物活性。羧甲基壳聚糖对一些非特异性蛋白和血小板的抗吸附特征,这使得本试验制备的复合水凝胶在医学领域具有一定的商用潜力。

参考文献:

- [1] GE S, LIU Q, LI M, et al. Enhanced mechanical properties and gelling ability of gelatin hydrogels reinforced with chitin whiskers [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 75: 1-12.
- [2] 徐达达. 共价交联大黄多糖、淫羊藿多糖明胶水凝胶及其性能评价[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2019.
- [3] 张秀梅, 黄 隼. 基于明胶/海藻酸钠复合水凝胶[J]. 医用生物力学, 2021, 36(S1): 388.
- [4] SAHARIAH P, MÁSSON M. Antimicrobial chitosan and chitosan derivatives: a review of the structure-activity relationship[J]. Biomacromolecules, 2017, 18(11): 3846-3868.
- [5] OUYANG Q Q, HU Z, LIN Z P, et al. Chitosan hydrogel in combination with marine peptides from tilapia for burns healing[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 1191-1198.
- [6] 张宝忠, 杜予民, 樊李红, 等. 羧甲基壳聚糖/明胶共混膜的结构表征与吸湿保湿性[J]. 分析科学学报, 2005, 21(3): 245-248.
- [7] POVERENOV E, ZAITSEV Y, ARNON H, et al. Effects of a

composite chitosan-gelatin edible coating on postharvest quality and storability of red bell peppers [J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 96: 106-109.

- [8] 李小勇, 李洪军. 猪肺胶原蛋白含量的测定[J]. 肉类研究, 2006(7): 35-37.
- [9] 王春焕, 刘学军, 吴 雪, 等. 牛肺管营养成分的测定[J]. 农产品加工, 2012(8): 131-134, 169.
- [10] 潘佳昕, 杨 恒, 时海波, 等. 高效酶提取鸡肺明胶及其结构与性质的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2021, 40(1): 75-81.
- [11] 李改莹. 明胶基抗菌黏附复合水凝胶的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2021.
- [12] FAN M, HU T, ZHAO S, et al. Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites[J]. Food Chemistry, 2017, 218: 221-230.
- [13] SHI P, LIU M, FAN F, et al. Characterization of natural hydroxyapatite originated from fish bone and its biocompatibility with osteoblasts [J]. Materials Science and Engineering: C, 2018, 90: 706-712.
- [14] FAN L, YANG H, YANG J, et al. Preparation and characterization of chitosan/gelatin/PVA hydrogel for wound dressings [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 146: 427-434.
- [15] 闫金鑫. 天花粉多糖/黄芪多糖水凝胶的制备及性能的评价 [D]. 兰州: 兰州理工大学, 2018.
- [16] 张莉弘, 窦 信, 邱 鹏, 等. 载刺五加/桂皮紫萁海藻酸钠/羧甲基壳聚糖水凝胶伤口敷料的制备及其性能研究[J]. 化学试剂, 2022, 44(11): 1577-1584.
- [17] 刘佳伟, 王 真, 江雪雪, 等. 明胶-壳聚糖-海藻酸钠凝胶包埋木瓜蛋白酶的研究[J]. 食品工业科技, 2018, 39(1): 1-5, 10.
- [18] 罗穆潮, 卓 阳, 杨 燕, 等. 新型创面用凝胶体系的制备及性能研究[J]. 中国医药工业杂志, 2013, 44(12): 1232-1235.
- [19] 熊 拯. 大豆分离蛋白-阴离子多糖复合体系凝胶质构特性研究[J]. 粮油加工, 2010(9): 133-136.
- [20] XIANG S, LI T, WANG Y, et al. Long-chain branching hydrogel with ultrahigh tensibility and high strength by grafting via photo-induced polymerization [J]. New Journal of Chemistry, 2016, 40(10): 8650-8657.
- [21] NA Y H, TANAKA Y, KAWAUCHI Y, et al. Necking phenomenon of double-network gels [J]. Macromolecules, 2006, 39(14): 4641-4645.
- [22] 裴大婷, 曾志文, 周小雁, 等. 原位酶交联羧甲基壳聚糖/葡萄糖水凝胶的制备与表征[J]. 化学研究与应用, 2022, 34(5): 1061-1069.
- [23] STAROSZCZYK H, SZTUKA K, WOLSKA J, et al. Interactions of fish gelatin and chitosan in uncrosslinked and crosslinked with EDC films; FT-IR study[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2014, 117: 707-712.
- [24] 刘 坤. 壳聚糖水凝胶的研制及其改性研究[D]. 武汉: 武汉理工大学, 2019.
- [25] 杨明成, 陈 阳, 张修强, 等. 聚乙烯醇/纳米纤维素水凝胶的辐射制备及其性能研究[J]. 化工新型材料, 2022, 50(5): 206-211.

- [26] GILARSKA A, LEWANDOWSKA L J, HORAK W, et al. Collagen/chitosan/hyaluronic acid-based injectable hydrogels for tissue engineering applications-design, physicochemical and biological characterization[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2018, 170: 152-162.
- [27] 张晓亮, 张 毅. 胶原/*O*-羧甲基壳聚糖复合水凝胶的制备及表征[J]. 高分子材料科学与工程, 2020, 36(11): 139-144.
- [28] 孙士儒, 刘 阳, 王景辉, 等. 具有不同拓扑结构的海藻酸钠-明胶复合水凝胶的 3D 打印制备及其性能[J]. 复合材料学报, 2022, 39(8): 4049-4056.
- [29] 任 荣, 张剑飞, 司家文, 等. 海藻酸钠/明胶复合水凝胶用于 3D 生物打印的初步研究[J]. 中国口腔颌面外科杂志, 2017, 15(5): 402-407.
- [30] 陈 功, 项舟洋, 宋 涛. 利用二醛木聚糖-锅法制备纳米银抗菌水凝胶[J]. 精细化工, 2022, 39(10): 2027-2034.
- [31] 应慧妍. 基于胶原蛋白-糖胺聚糖的生物材料研究及其在组织工程中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- [32] 孙 萌. 金银花多糖/薄荷多糖/*O*-羧甲基壳聚糖水凝胶伤口敷料的制备及表征[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2018.

(责任编辑: 石春林)