

丙烯酰胺均相改性甲壳素及共混膜研究

石 杰, 龚雪芹, 杨 超, 李艳琴, 夏 晋, 李国祥*

湖北民族学院化学与环境工程学院, 恩施 445000

摘要: 低温下将甲壳素直接溶于 8% 氢氧化钠/4% 尿素水溶液, 以丙烯酰胺为醚化剂, 均相合成丙烯酰胺改性甲壳素 (AMC)。产物用 ^1H NMR 和 FT-IR 进行了表征, 并初步研究了其稀溶液的粘度行为。然后采用相转化法制备了 AMC/壳聚糖共混膜, 研究了膜的力学性能、吸水率、透光率及对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌性能。结果表明: NaOH/尿素水体系下成功均相制备了 AMC, 其取代度为 0.49, 水溶性好, AMC 稀溶液表现出典型的聚电解质行为; AMC 和壳聚糖两种高分子具有较好的相容性, AMC 的加入明显改善了壳聚糖膜的拉伸强度和抗水性, 且所有的共混膜均有显著的抑菌效果。

关键词: 甲壳素; 丙烯酰胺; 均相反应; 共混膜

中图分类号: Q639.9

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2016.4.001

Homogenous Modification of Chitin with Acrylamide and Study on the Blend Membranes

SHI Jie, GONG Xue-qin, YANG Chao, LI Yan-qin, XIA Jin, LI Guo-xiang*

School of Chemistry and Environmental Engineering, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China

Abstract: Chitin is dissolved directly in 8% NaOH/4% urea aqueous solution at low temperature. Acrylamide modified chitin (AMC) was synthesized using acrylamide as etherifying agent. The products were characterized by ^1H NMR and FT-IR. The viscosity behavior of diluted solution was studied. AMC/chitosan blend membranes were prepared by a phase inversion methods. The mechanical properties, water absorption, transmittance and antibacterial action of the membranes were investigated respectively. The results showed that AMC was successfully prepared in NaOH/urea aqueous solution, and the substitution degree (DS) was 0.49. The AMC diluted solution showed typical polyelectrolyte behavior. Two polymers including AMC and chitosan had good compatibility. The tensile strength and water resistance of the membranes were improved significantly with the addition of AMC, and all of the blend membranes had significant antibacterial activity.

Key words: chitin; acrylamide; homogeneous reaction; blend membranes

甲壳素是一种重要的可再生资源, 它是由 N-乙酰-2-氨基-2-脱氧-D-吡喃葡萄糖单元通过 β -(1 \rightarrow 4) 糖苷键连接而成的线型高分子。甲壳素分子链存在羟基和乙酰氨基, 利用甲壳素糖残基上的两个活性羟基 (C6 位和 C3 位), 甲壳素可以发生与羟基有关的系列化学反应, 通过化学改性可在重复单元上引入不同基团, 一方面可改善它们的溶解性能, 更重要的是不同取代基的引入可赋予甲壳素更多的功能特性^[1]。

醚化改性是甲壳素化学改性的重要方法之一^[2]。由于甲壳素具有比纤维素更强的分子内和分子间氢键作用, 取向度和结晶度较高, 致使它不能在一般有机、无机溶剂中溶解, 因而现有甲壳素衍生物主要是通过气-固、液-固反应的异相合成方法进行^[3-5], 而均相合成方法鲜有报道。在异相反应过程中, 固态甲壳素仅悬浮于液态的反应介质中, 而甲壳素本身结构的不均匀性又使不同部位对同一化学试剂有着不同的反应可及度, 这种局部区域的不可及性妨碍反应的均匀进行, 局限于甲壳素的无定形区和结晶表面, 反应产品的纯度和均匀性受到一定的限制。但在均相条件下, 由于甲壳素整个分子溶解于溶剂中, 与异相醚化反应相比, 均相反应不存在醚化试剂渗入甲壳素的速度问题, 因而有利于提高反应速率, 有效地控制甲壳素醚类衍生物的取代度, 有

收稿日期: 2015-12-14 接受日期: 2016-01-26

基金项目: 国家自然科学基金(51563007); 湖北省自然科学基金(2012FFB01105); 湖北省高校优势特色学科群建设计划(鄂学位[2015]5号); 湖北省高校应用化学战略性新兴产业(支柱)产业人才培养计划; 湖北民族学院 2014 年大学生科研训练计划(2014Z006)

* 通讯作者 Tel: 86-718-8437531; E-mail: liguoxiang9541@163.com

规律地将取代基团引入到甲壳素主链上,能够比异相反应更好地控制产品的质量。本文将甲壳素直接溶于氢氧化钠/尿素体系,以丙烯酰胺为改性剂对甲壳素进行均相醚化改性。希望获得水溶性好、性能优异的甲壳素醚类衍生物(丙烯酰胺改性甲壳素, AMC)。然后将其和壳聚糖共混制备 AMC/壳聚糖共混膜,并初步探讨膜的性能。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂和仪器

甲壳素样品(蟹壳, α -甲壳素)由山东金湖甲壳素有限公司提供。将甲壳素烘干、粉碎,并过 40 目筛。粘均分子量(M_w)通过乌氏黏度计在 25 ± 0.1 $^{\circ}\text{C}$ 下于 NaOH/尿素水溶液中测定,并依 Mark-Houwink 方程^[6]: $[\eta] = 0.26M_w^{0.56 \pm 0.02}$ (mL/g) 计算为 2.1×10^6 。同时,根据文献报道的方法^[7]测得甲壳素乙酰度为 0.97。其它试剂均为国产分析纯。

170SX 傅立叶红外光谱仪(美国尼高力公司); Varian INOVA-600 核磁仪(美国瓦里安公司); CMT6104 型微机控制电子万能材料试验机(深圳市世纪天源仪器有限公司); UV757CRT 紫外-可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司)。

1.2 AMC 的均相制备

甲壳素溶液依据先前报道的方法制备^[8]:一定量的氢氧化钠、尿素和水按重量比 8:4:88 添加到 250 mL 烧杯,将所得溶液保存在冰箱预冷。大约 4 g 的甲壳素粉末分散于 200 mL 的 NaOH/尿素/水溶液中。将悬浮液于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,并在 36 h 内搅拌两次。将甲壳素溶液在 $5 \sim 10$ $^{\circ}\text{C}$ 下 4500 rpm 离心 20 min,除去极少的不溶成分,得到 2% 的甲壳素溶液。按 1:15 的物质的量之比,准确称取甲壳素溶液和丙烯酰胺,并将丙烯酰胺溶于蒸馏水后,逐滴滴加丙烯酰胺于反应体系,室温下使其充分反应。将反应所得混合溶液用盐酸调节 pH 至中性,转入透析袋中。经透析、抽滤、浓缩、冷冻干燥即得产品。

1.3 红外及核磁表征

将 AMC 粉末样品 60 $^{\circ}\text{C}$ 真空干燥 48 h,溴化钾压片,用 170SX 傅立叶光谱仪作红外光谱测试,扫描范围 $4000 \sim 400$ cm^{-1} 。另取干燥样品用 D_2O 溶解,通过 Varian INOVA-600 核磁仪作 ^1H NMR 测试,样品浓度约为 0.5% (质量比,下同),四甲基硅烷(TMS)为内标。

1.4 AMC /壳聚糖共混膜的制备

AMC 溶于水中,制得 3% 的 AMC 溶液;将壳聚糖溶于 2% (体积比) 的醋酸溶液中,得到 3% 的壳聚糖溶液。将上述两种溶液以一定比例混合均匀,得到 AMC 质量百分含量分别为 20%、30%、40%、50% 的四种混合溶液,溶液经离心脱泡后在 $15 \text{ cm} \times 15 \text{ cm}$ 洁净的玻璃板上流延成膜,室温自然干燥至恒重后取下备用,且分别标记为 M2、M3、M4、M5,壳聚糖膜记为 M0。

1.5 共混膜的力学性能

将膜切成 $1 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$ 的矩形条,采用 CMT6104 型微机控制电子万能材料试验机测定干态共混膜的拉伸强度(σ_b)和断裂伸长率(ε_b)。拉伸速率 15 mm/min,每个试样测三次,取平均值。

1.6 透光率(T)的测定

用 UV757CRT 紫外-可见分光光度计测定共混膜的透光率。将待测共混膜切成 $1 \text{ cm} \times 6 \text{ cm}$ 的矩形条贴于样品架的外侧,在 $400 \sim 800 \text{ nm}$ 范围内,以空气为对照组,分别测定膜的透光率,每个试样测三次。

1.7 吸水率(Q)的测定

将共混膜切成 $2 \text{ cm} \times 2 \text{ cm}$ 大小,吸水前称量,记为 W_1 。将切好的膜放入盛有蒸馏水的烧杯中,室温静置 1 h,小心取出膜片,用滤纸吸干表面的水分,称量,重复此操作直至恒重,记为 W_2 。吸水率(Q)按下式计算:

$$Q = \frac{(W_2 - W_1)}{W_2}$$

式中, W_1 为膜吸水前的质量, W_2 为膜吸水后的质量。每个试样测三次,取平均值。

1.8 抑菌性能测试

将牛肉浸膏、蛋白胨、NaCl、琼脂溶于计量蒸馏水后,将 pH 值用 NaOH 溶液调至 7.2,配制成 0.5% 牛肉浸膏、1% 蛋白胨、0.5% NaCl、2% 琼脂的固体培养基。采用类似方法配制 0.5% 牛肉浸膏、1% 蛋白胨、0.5% NaCl、pH 值为 7.2 的液体培养基,将金黄色葡萄球菌和大肠杆菌菌种接种于液体培养基中,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 12 h,使菌种进入稳定的对数生长期。将高温蒸汽灭菌后的固体培养基加热融化,冷却到 60 $^{\circ}\text{C}$ 后倒入培养皿中重新凝固;用接种环取一环菌液均匀点在培养基中央,用涂布棒涂匀。用灭菌后的移液管将铸膜液轻涂在培养基上,静置成膜,然后在 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 48 h,与空白对照平板

进行菌落直径比较,通过菌落直径的大小评价膜样的抗菌性能。

2 结果与讨论

2.1 AMC 的均相合成

丙烯酸胺可作为酰化试剂在碱性条件下与甲壳素反应,丙烯酸胺通过 Michael 加成与甲壳素反应得到氨基甲酰乙基醚;然后酰胺基在强碱作用下部分皂化水解成羧基,最终产物为羧乙基甲壳素。甲壳素与丙烯酸胺在 NaOH/尿素水溶液中的均相反应以及酰胺基的水解过程如图 1 所示。整个反应过程中,体系保持透明、均相;而且由于体系本身含有 NaOH,反应过程不需要额外加碱催化。且试样具有很好的水溶性,由于酰胺基团部分皂化水解为羧基。如图 2 所示,AMC 水溶液表现出典型的聚电解质行

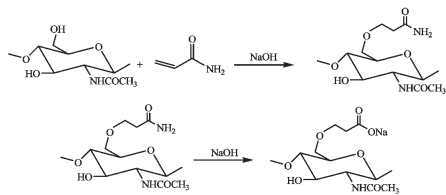


图 1 AMC 均相合成示意图

Fig. 1 Homogenous modification of Chitin with acrylamide in NaOH/urea aqueous solution

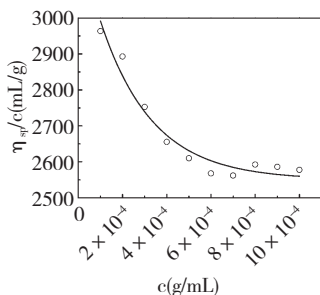


图 2 室温下 AMC 稀溶液比浓粘度 (η_{sp}/c) 与浓度 (c) 的关系

Fig. 2 η_{sp}/c vs c of AMC in aqueous solution at 25 °C

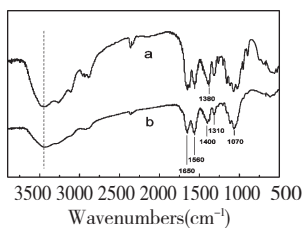


图 3 甲壳素 (a) 和 AMC (b) 的红外谱图

Fig. 3 IR spectra of chitin (a) and AMC (b)

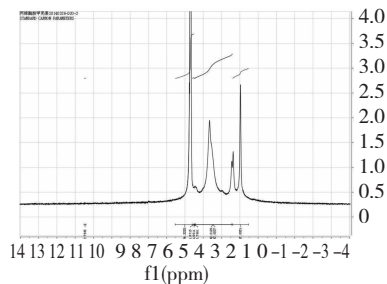


图 4 AMC 的核磁共振氢谱图

Fig. 4 ^1H NMR spectrum of AMC

为,即当聚合物浓度降低时, η_{sp}/c 显著增大,这可归因于聚电解质链的扩张以及链间的静电排斥作用^[9],分子链显示较刚性的链构象。

2.2 AMC 结构分析

AMC 和甲壳素的红外光谱如图 3 所示。对于 AMC 试样,1650 cm^{-1} 和 1380 cm^{-1} 分别代表酰胺 I 带 ($\text{C}=\text{O}$) 和酰胺 II 带 ($\text{C}-\text{N}$) 的伸缩振动,1560 cm^{-1} 和 1400 cm^{-1} 归因于 $-\text{COO}^-$ 的不对称和对称伸缩振动峰,说明产物成功引入了丙烯酸胺基团。同时,在 1070 cm^{-1} 附近的肩峰 1028 cm^{-1} 消失,这是一级羟基的特征峰,说明甲壳素的醚化改性主要发生在 C6 位。另外,位于 3100 ~ 3500 cm^{-1} 的强吸收峰归因于 $-\text{OH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 的伸缩振动,表明 AMC 试样中存在很强的氢键和静电相互作用。

图 4 为水溶性的丙烯酸胺甲壳素试样在 D_2O 中的 ^1H NMR 谱图。1.9 ppm 处是乙酰氨基中甲基的质子峰,2.3 ~ 2.5 ppm 处的双峰对应于与酰胺基相连的亚甲基上的质子和与羧基相连的亚甲基上的质子。2.8 ~ 4.5 ppm 对应于其它亚甲基上的质子和甲壳素骨架上的质子。酰胺基和羧基上的质子的化学位移通常在 7 ~ 12 ppm 处,由于它们高的活性而难以观测到。根据 2.3 ~ 2.5 ppm 的峰面积以及其它所有质子的峰面积 (2.8 ~ 4.5 ppm),可以计算出试样的总取代度 (DS) 为 0.49^[10],高于异相反应合成的羟乙基甲壳素醚的取代度 (0.15)^[4],且羟乙基甲壳素醚的反应体系碱的浓度大 (20% ~ 40%),甲壳素容易发生脱乙酰化的副反应^[4,5],对甲壳素醚产品质量有不利影响。因此,本工作室温下在 8% 氢氧化钠/4% 尿素水溶液体系均相合成丙烯酸胺改性甲壳素醚的方法体现了明显的优势,比非均相反应具有更高的反应效率。

2.3 AMC/壳聚糖共混膜的力学性能和吸水性

AMC 含量对共混膜的拉伸强度和断裂伸长率

的影响如表 1 所示。从表中可以看出,与壳聚糖膜 M0 相比,除 M2 以外,AMC 的加入使共混膜的拉伸强度明显提高,当 AMC 的含量为 50% 时最为显著,拉伸强度为 10.3 MPa,提高了 30%;而膜的断裂伸长率却有所降低。这可能是 AMC 的加入影响了壳聚糖分子的晶体结构所致。AMC 中的羧基和壳聚糖分子中的氨基之间有强的相互作用,能有效增强高分子链之间的联系,使分子链不易发生相对滑移,难以发生大的形变,强度增高,韧性下降。AMC 的加入使得共混膜的吸水率较纯壳聚糖膜有所降低,这可能是两种高分子链之间较强的相互作用改变了膜材料的聚集态结构,增强了膜的抗水性。

表 1 共混膜的力学性能 (σ_b , ε_b) 及吸水率 (Q)

Table 1 Mechanical properties (σ_b , ε_b) and percent water absorption (Q) of blend membranes

膜样 Membrane	拉伸强度 Tensile strength σ_b (MPa)	断裂伸长率 Elongation rate ε_b (%)	吸水率 Water absorption rate Q (%)
M0	7.9	4.5	73.9
M2	6.7	3.2	70.9
M3	8.2	2.9	62.9
M4	8.4	3.1	65.1
M5	10.3	3.9	65.5

2.4 AMC/壳聚糖共混膜的透光率

组成共混膜组分的相容性与材料的透明性关系密切。组分之间相容性好,共混膜材料透光率高;如果组分之间相容性差,存在相分离,则透射光在两种高分子界面的散射和反射都会引起光强的损失,从而导致透光率降低。如图 5 为共混膜在 400 ~ 800 nm 范围内的透光率曲线。从图中可以看出共混膜在可见光范围内的最大透光率都超过 90%,且均大于纯壳聚糖膜的透光率,表明共混膜的透明度比壳聚糖膜高,而且随 AMC 含量的增加透明度增强,显示共混膜具有较均一的结构,共混膜中 AMC 和壳聚糖两组分的相容性较好。

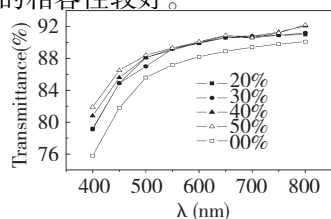


图 5 AMC/壳聚糖共混膜的透光率

Fig. 5 Transmittance of AMC/chitosan blend membranes

2.5 体外抑菌性能

对于壳聚糖的抗菌作用,目前主要认为是以细菌带有负电荷的细胞膜为作用靶的机理。本实验选取两种常见的具有代表性的大肠杆菌 (*E. coli*) 和金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*),对所制备的一系列膜进行抗菌实验。所有共混膜的体外抗菌效果见图 6。可以发现,和 AMC 膜相比,壳聚糖膜和所有共混膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有显著的抗菌效果,这可能是壳聚糖分子链上的 NH_3^+ 对细菌的细胞膜靶向破坏所致。而 AMC 分子链上主要是酰氨基团,故没有有效的抑菌性。

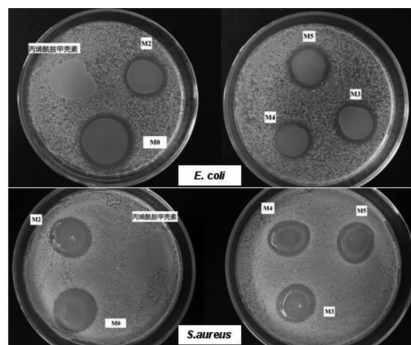


图 6 膜的抗菌效果

Fig. 6 Antibacterial effects of membranes

3 结论

在氢氧化钠/尿素-水体系下,基于 Michael 加成反应,以丙烯酰胺为醚化剂,成功均相合成了 AMC。AMC 具有较好的水溶性,AMC 稀溶液表现出典型的聚电解质行为。然后通过相转化法成功制备了 AMC/壳聚糖共混膜,两种高分子之间存在较强的相互作用,相容性好。AMC 的加入明显的改善了壳聚糖膜的拉伸强度和抗水性,且共混膜对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均具有较好的抑菌效果。该共混膜作为食品包装材料和生物医用材料具有广泛的应用前景。

参考文献

- Pillai CKS, Paul W, Sharma CP. Chitin and chitosan polymers: chemistry, solubility and fiber formation. *Prog Polym Sci*, 2009, 34: 641-678.
- Rinaudo M. Chitin and chitosan: properties and applications. *Prog Polym Sci*, 2006, 31: 603-632.
- Chen Q, Wu Y, Pu Y. Synthesis and characterization of quaternized β -chitin. *Carbohydr Res*, 2010, 345: 1609-1612.