

doi:10.3969/j.issn.1672-4348.2017.06.011

双醛羧甲基壳聚糖-SiO₂ 杂化材料改性胶原研究

丁翠翠¹, 郑志功¹, 杨加扬¹, 陈家煌¹, 张杨¹, 张敏²

(1. 福建工程学院 生态环境与城市建设学院, 福建 福州 350118; 2. 福建农林大学 材料工程学院, 福建 福州 350002)

摘要: 以羧甲基壳聚糖(CMCS)为原料,经氧化后得到双醛羧甲基壳聚糖(DAC),将DAC与氨基化二氧化硅(SiO₂-NH₂)进行杂化反应得到DAC-SiO₂杂化材料,用作胶原的交联改性剂。研究表明,不同杂化程度的DAC-SiO₂改性剂均不会破坏天然胶原的三股螺旋结构;与DAC-SiO₂杂化材料反应后,胶原的热稳定性提高,但当SiO₂-NH₂与DAC质量比超过1/5时,提高程度略有下降。

关键词: 双醛羧甲基壳聚糖; 二氧化硅; 胶原; 改性

中图分类号: TS727.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-4348(2017)06-0559-04

The study on the structure and properties of collagen modified by a hybrid material dialdehyde carboxymethyl chitosan-SiO₂

Ding Cuicui¹, Zheng Zhigong¹, Yang Jiayang¹, Chen Jiahuang¹, Zhang Yang¹, Zhang Min²

(1. School of Ecological Environment and Urban Construction, Fujian University of Technology, Fuzhou 350118, China

2. School of Materials Engineering, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: Carboxymethyl chitosan was oxidized to obtain dialdehyde carboxymethyl chitosan (DAC), and then DAC was reacted with SiO₂-NH₂ to get a hybrid material (DAC-SiO₂) which was used as a modifying agent for collagen. The studying results indicated that the triple helix structure of native collagen was not destroyed by all kinds of DAC-SiO₂, and the thermal stability of collagen was improved after reacting with DAC-SiO₂, but the improvement slightly weakened while the weight ratio of SiO₂-NH₂ and DAC was no less than 1/5.

Keywords: dialdehyde carboxymethyl chitosan; silicon dioxide; collagen; modification

羧甲基壳聚糖是一种水溶性壳聚糖衍生物,通过对羧甲基壳聚糖进行深度氧化可获得具有醛基的改性羧甲基壳聚糖。双醛羧甲基壳聚糖中的醛基,可直接与皮革中胶原的氨基、亚氨基等发生反应而产生鞣制效应。然而,胶原分子中氨基与双醛羧甲基壳聚糖的醛基反应活性较高,反应速度快,鞣制时容易发生皮表面过度交联而内部交联弱的现象,因此需要降低双醛羧甲基壳聚糖中醛基的含量,使反应更为温和。

纳米SiO₂粒子表面原子处于严重的缺位状态,因此其活性极高,很容易与蛋白质分子链的活性基团键合,从而赋予皮革高的湿热稳定性和特殊的物理、化学特性^[1-2]。同时,纳米SiO₂鞣皮革屑中不含铬,不需要进行脱铬处理,回收后的蛋白不含任何重金属成分。

本研究将双醛羧甲基壳聚糖与SiO₂-NH₂进行杂化反应,获得改性双醛羧甲基壳聚糖,将此改性剂与胶原反应,以提高胶原的热稳定性。此改

收稿日期: 2017-04-18; 修回日期: 2017-09-19

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(21606046);福建省自然科学基金面上项目(2016J01208);福建工程学院科研启动基金(GY-Z160002)

通讯作者: 张敏(1986-),男,江西赣州人,副教授,博士,研究方向:生物质资源化利用、天然高分子材料改性与应用。

性剂用于制革,可以避免铬对环境造成的污染,且鞣制废液可生物降解,符合环保要求。

1 实验原料及试验方法

1.1 实验试剂

实验试剂:羧甲基壳聚糖、盐酸、高碘酸钠、乙二醇、叔丁醇、乙醇、冰乙酸、N- β -(氨乙基)- γ -氨丙基三甲氧基硅烷(AEAPTS)、盐酸羟胺、甲醇、氢氧化钠、百里香酚蓝,均为分析纯;I型牛皮胶原,99%。

1.2 样品制备

1.2.1 双醛羧甲基壳聚糖(DAC)的制备

称取 25 g 羧甲基壳聚糖溶于 500 mL 去离子水中,加入 25 g 高碘酸钠,调整 pH 为 3.5,在温度为 40 ℃ 的条件下,避光搅拌 4 h。氧化反应完成后,向样品中加入乙二醇溶液,体积为 5 mL,并且在常温的条件下搅拌 0.5 h。用叔丁醇离心洗涤 3 次,然后真空冷冻干燥 24 h,研磨后得粉末状双醛羧甲基壳聚糖(DAC)。

1.2.2 SiO₂-NH₂ 的制备

将 50 mL 四乙基硅烷溶解于 250 mL、体积比为 50% 的乙醇-水溶液中,搅拌一段时间后加入 2.5 mL 冰乙酸,在 75 ℃ 下搅拌 15 min;然后将 5 mL 的 N- β -(氨乙基)- γ -氨丙基三甲氧基硅烷(AEAPTS)逐滴缓慢加入上述溶液中。出现凝胶后冷却 15 min,真空冷冻干燥 24 h,研磨后得粉末状 SiO₂-NH₂。

1.2.3 制备不同配比的改性双醛羧甲基壳聚糖(DAC-SiO₂)

称量 4 份质量为 3 g 的双醛羧甲基壳聚糖分别加入到 50 mL、50% (体积比) 的乙醇-水溶液中,然后依次称取 0.06、0.3、0.6、1.5 g 的 SiO₂-NH₂ 分别加入到上述溶液中,即 SiO₂-NH₂ 与双醛羧甲基壳聚糖的质量比分别为 1/50、1/10、1/5 及 1/2;在 65 ℃ 下搅拌反应 24 h;反应后用去离子水离心洗涤 3 次,洗净后进行真空冷冻干燥,得到一系列不同杂化程度的改性双醛羧甲基壳聚糖。

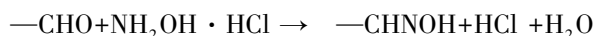
1.2.4 制备 DAC-SiO₂ 交联的改性胶原

分别称取 4 种不同配比的 DAC-SiO₂,质量均为 2.4 mg,并分别加入到 6 mg/mL 胶原溶液(20 mL)中,室温下搅拌反应 12 h,最终得到不同配比 DAC-SiO₂ 交联的胶原溶液,真空冷冻干燥后保

存于干燥器内。胶原及不同杂化改性剂交联的胶原分别命名为 COL、COL(1/50)、COL(1/10)、COL(1/5)及 COL(1/2)。

1.3 改性双醛羧甲基壳聚糖的醛基取代度测定

根据文献[3],用盐酸羟胺水溶液与醛基定量反应生成肟,释放出的盐酸用标准氢氧化钠水溶液滴定,反应式如下:



锥形瓶中加入 20 mg/mL 的盐酸羟胺甲醇溶液,体积为 100 mL,随后滴加 9 滴百里香酚蓝指示剂;加入 0.1 g 羧甲基壳聚糖(空白样),反应约 1.5 min 后,由 0.03 mol/L 的氢氧化钠甲醇溶液滴定至锥形瓶内,溶液显示蓝色,且在 15~20 s 内不褪色。同样的方法依次测定双醛羧甲基壳聚糖和配比为 1/50、1/10、1/5、1/2 的改性双醛羧甲基壳聚糖所消耗的氢氧化钠标准溶液的体积。醛基含量计算方法如下:

$$\text{醛基含量} = \frac{c_1 \times (v_1 - v_2) \times 162}{m_1 \times 1\,000} \times 100\%$$

式中,醛基含量为 100 个葡萄糖单元所含的醛基个数,%;162 为一个葡萄糖单元的相对分子质量; c_1 为氢氧化钠标准溶液的浓度, mol/L; v_1 为双醛羧甲基壳聚糖或不同杂化程度的改性双醛羧甲基壳聚糖消耗氢氧化钠标准溶液的体积, mL; v_2 为空白样羧甲基壳聚糖消耗氢氧化钠标准溶液的体积, mL; m_1 为试样质量, g。

1.4 天然胶原和改性胶原的热失重测定(TG)

称取约 2 mg 的样品于坩埚内,在氮气保护下,利用热重分析仪(TG 209 F3, NETZSCH)分别测试样品 COL、COL(1/50)、COL(1/10)、COL(1/5)及 COL(1/2)质量随温度的变化情况;测试温度范围为 35~600 ℃,升温速率为 10 ℃/min。

1.5 红外吸收光谱测定(FTIR)

利用 KBr 压片法制备样品。用红外光谱仪(iS50, thermo)进行检测,检测光谱范围为 4 000~400 cm⁻¹,光谱分辨率为 4 cm⁻¹,每个样品累计扫描 32 次并扣除背景干扰。

1.6 热稳定性测试(DSC)

称取约 2 mg 的样品于坩埚内,在氮气保护下,利用差示扫描量热仪(DSC 214, NETZSCH)分别测试样品 COL、COL(1/50)、COL(1/10)、COL(1/5)及 COL(1/2)的热变性温度;测试温度范围为 40~120 ℃,升温速率为 5 ℃/min。

2 结果与讨论

2.1 SiO₂—NH₂ 用量对 CMCS 醛基取代度影响

二氧化硅粒子的粒径小, 且其表面含有大量缺位原子, 因此与羧甲基壳聚糖等大分子的结合能力非常强^[4]。由表 1 可知, SiO₂—NH₂ 与双醛羧甲基壳聚糖的配比为 1/50 时, SiO₂ 对双醛羧甲基壳聚糖中醛基取代度达到了 63.2%; 继续增加 SiO₂ 的比例至 1/10 时, 醛基取代度迅速增加到 75.4%; 此时继续增加 SiO₂ 的含量时, 醛基取代度增加较少, 并未接近 100%, 这可能是受到双醛羧甲基壳聚糖分子中空间位阻的影响。

表 1 不同 DAC-SiO₂ 配比下 DAC 醛基取代度
Tab.1 Aldehyde substituted content of DAC under different DAC-SiO₂ ratios

不同 SiO ₂ /DAC 配比的样品	1/50	1/10	1/5	1/2
醛基取代度/%	61.2	75.4	78.5	81.7

2.2 红外吸收光谱分析

由图 1 可知, 天然胶原的红外光谱特征吸收峰主要包括 1 648 cm⁻¹ (酰胺 I 带)、1 549 cm⁻¹ (酰胺 II 带) 以及 1 241 cm⁻¹ (酰胺 III 带), 分别归属于 C=O 对称伸缩振动、N—H 摇摆振动和 N—H 面内变形振动^[5]; 此外, 天然胶原的红外吸收光谱图在 3 420 和 2 920 cm⁻¹ 处出现两个吸收峰, 分别为酰胺 A 带和酰胺 B 带; 酰胺 A 谱带主要由 N—H 的伸缩振动起, 酰胺 B 谱带是由酰胺 A 带与酰胺 II 带的一次泛频耦合的结果 (费米共振)。

图 1 中不同配比的 SiO₂—NH₂ 改性胶原与天然胶原特征吸收峰振动情况基本一致, 由此可知, DAC-SiO₂ 杂化材料对胶原改性并未破坏其天然结构。

2.3 热重分析

由图 2、3 可知, 天然胶原及用不同杂化程度的 DAC-SiO₂ 交联的胶原的热失重分为两个阶段, 第一阶段是因失去自由水重量减少; 第二阶段是天然胶原和不同配比的 DAC-SiO₂ 杂化材料的热分解温度, 由表 3 可知, 样品 COL、COL(1/50)、COL(1/10)、COL(1/5) 和 COL(1/2) 的最大热分解温度 (t_m) 分别为 312.9、314.6、320.3、317.7 和 318.0 °C, 即随着 DAC 中加入 SiO₂ 比例的增大, t_m

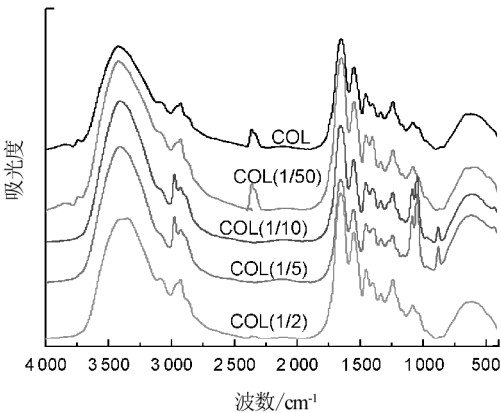


图 1 红外吸收光谱
Fig.1 IR spectra of samples

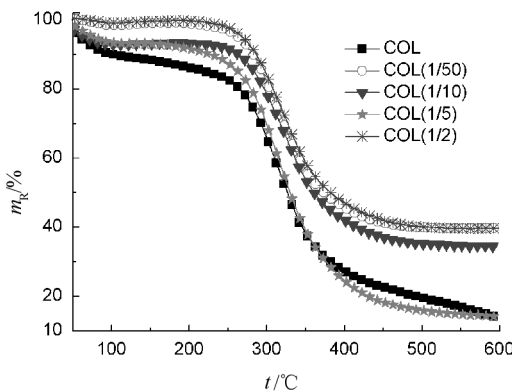


图 2 TG 扫描图
Fig.2 TG of samples

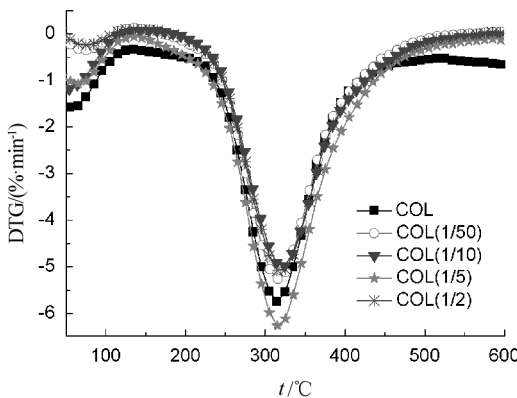


图 3 DTG 分析图
Fig.3 DTG of samples

总体呈先上升后下降的趋势; 结合醛基取代度结果可推测, SiO₂—NH₂ 与 DAC 质量比超过 1/10 时, 醛基取代度增加缓慢, 这时由于 DAC-SiO₂ 分子上活性醛基较少, 且由于空间位阻较大, 胶原分子链上的氨基不易于 DAC-SiO₂ 分子上的醛基结

合,因此 $\text{SiO}_2\text{—NH}_2$ 与 DAC 质量比超过 1/10 时,改性胶原的热稳定性反而有所下降。

不同配比的 $\text{SiO}_2\text{—NH}_2$ 改性胶原的 T_m 均比天然胶原的 t_m 高,这可能是由于接入 SiO_2 后,改性胶原可部分表现出无机材料的特性,因而热稳定性得到提高^[6]。

表 2 最大热分解温度 t_m

Tab.2 The maximum thermal decomposition temperature (t_m)

样品	COL	COL (1/50)	COL (1/10)	COL (1/5)	COL (1/2)
t_m	312.9	314.6	320.3	317.7	318.0

2.4 稳定性测试(DSC)

胶原分子由 3 条肽链按右手螺旋缠绕而成,其特殊结构在热变性后不可逆^[7-8]。由图 4 可知,天然胶原的热变性温度是 68.7℃,而改性胶原的热变性温度均高于天然胶原;而随着杂化改性剂中硅含量增加,改性胶原的热变性温度先上升后降低,这与 TG 结果完全吻合。由此可知: DAC-SiO₂ 中的醛基与胶原分子上的氨基发生了希夫碱反应生成共价键,使分子间产生交联,从而使胶原分子的热变性温度(t_d)升高^[9];但随着硅含量的升高, SiO₂ 对 DAC 中醛基的取代度也越高,使得胶原分子与 DAC-SiO₂ 的交联程度降低,

导致 T_d 降低。

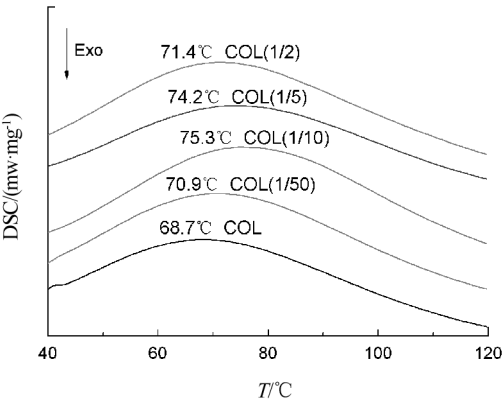


图 4 DSC 扫描图
Fig.4 DSC of samples

3 结论

提出了双醛羧甲基壳聚糖-纳米 SiO₂ 无铬鞣剂的杂化制备方法,即以双醛羧甲基壳聚糖和 SiO₂—NH₂ 为原料,通过两者的杂化反应得到胶原交联改性剂,并考察了不同比例的 SiO₂—NH₂ 与双醛羧甲基壳聚糖(DAC-SiO₂)对胶原性能的影响。结果表明,改性剂 DAC-SiO₂ 不会破坏天然胶原的分子结构,且能够提高胶原分子的热稳定性。该研究可为无铬鞣技术提供新的思路,相关理论研究成果有助于促进制革产业的清洁化、绿色化发展。

参考文献:

[1] 刘源森,范浩军,夏淳淳,等.以硅化学为基础的环境友好制革技术研究[J].中国皮革,2010,39(11):25-27.

[2] Ryshenkov AV, Klassen NV, Masalov VM. Features of structure and properties of biopolymer composites with inorganic nanoparticles[J]. Inorganic Materials: Applied Research,2014,5(4):312-317.

[3] 石磊,甄文娟,单志华.双醛纤维素的制备及表征[J].精细化工,2008,25(8):795-798.

[4] 郭明,姚珊珊,高小艳,等.新型双醛淀粉-SiO₂ 杂化材料固载纤维素酶及其酶学性能研究[J].高校化学工程学报,2015,29(6):1407-1414.

[5] 丁翠翠,田荟琳,李国英.利用粘度法和二维红外相关光谱法研究胶原/羟丙甲基纤维素共混物的相互作用[J].功能材料,2012,43(8):992-996.

[6] 康传红,郭桐,井立强,等.多孔 SiO₂ 与 TiO₂ 复合纳米材料的制备及光催化性能[J].无机材料学报,2009,24(2):229-233.

[7] Zhang M, Ding C, Huang L, et al. Interactions of collagen and cellulose in their blends with 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate as solvent[J]. Cellulose,2014,21(5):3311-3322.

[8] Zhang M, Ding C, Chen L, et al. Observation of liquid crystalline collagen with atomic force microscopy (AFM) [J]. Journal of Bioresources and Bioproducts,2016,1(3):139-144.

[9] Li C, Tian H, Duan L, et al. Characterization of acylated pepsin-solubilized collagen with better Surface activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2013,57:92-98.

(责任编辑:陈雯)