

pH 敏感水凝胶微球的制备及二甲酸钾缓释和抗菌性能分析

Preparation of pH-sensitivity hydrogel microspheres and potassium diformate sustained-release and antibacterial performance analysis

郭小炜¹, 李玉妍¹, 王秀丽², 杨忠鑫¹, 陈南春¹, 解庆林³

(1 桂林理工大学 材料科学与工程学院, 广西 桂林 541004;

2 桂林理工大学 化学与生物工程学院, 广西 桂林 541006;

3 桂林理工大学 广西岩溶地区水污染控制与用水安全保障
协同创新中心, 广西 桂林 541006)

GUO Xiao-wei¹, LI Yu-yan¹, WANG Xiu-li², YANG Zhong-xin¹,
CHEN Nan-chun¹, XIE Qing-lin³

(1 School of Materials Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004, Guangxi, China; 2 School of Chemical and Biological Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541006, Guangxi, China; 3 Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and Water Safety in Karst Area, Guilin University of Technology, Guilin 541006, Guangxi, China)

摘要: 二甲酸钾(KDF)为抗生素的新型替代品,但在牲畜饲养中还未大量普及。采用水热法自制 P 型分子筛(Zeolite P),负载 KDF 分散在羧甲基纤维素(CMC)溶液中,与 FeCl₃ 交联,利用凝聚法制备壳聚糖-羧甲基纤维素-P 型分子筛-二甲酸钾 pH 敏感水凝胶抗菌微球。通过 FT-IR, TGA 和 SEM 分析可知,壳聚糖(CS)和 CMC 通过离子键形成结构稳定的聚电解质复合物, Zeolite P 镶嵌缠绕在 CMC 基质中。溶胀差异性表明水凝胶微球具有高 pH 敏感性,可以适用不同 pH 条件下的持续给药。缓释动力学研究表明:抗菌微球对 KDF 具有一定的缓释作用,且遵循一级动力学释放模型和 Higuchi 模型。体外抗菌实验发现,抗菌液浓度为 24 mg/mL 和 48 mg/mL 时对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有显著的抗菌性,可以有效地抑制细菌的生长。

关键词: 水凝胶; P 型分子筛; pH 敏感; 缓释; 抗菌

doi: 10.11868/j.issn.1001-4381.2020.000217

中图分类号: TQ332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-4381(2021)04-0142-08

Abstract: Potassium diformate (KDF) is a novel substitute for antibiotics, which is not widely used in livestock production. The P-type molecular sieve (Zeolite P) was prepared by hydrothermal method with loading KDF and dispersed in the carboxymethyl cellulose (CMC) solution. The dispersed CMC mixed solution was added dropwise to the FeCl₃ solution for cross-linking. Chitosan-carboxymethyl cellulose-Zeolite P-potassium diformate pH-sensitive hydrogel antibacterial microspheres were prepared by coacervation method. FT-IR, TGA and SEM results show that CS and CMC form the structurally stable polyelectrolyte complex through ionic bonds, and Zeolite P is included in the CMC matrix. The difference in swelling study indicates that the hydrogel microspheres have high pH-sensitivity and can be applied for sustained-release under different pH value. The slow-release kinetics study shows that antimicrobial microspheres have a certain sustained-release effect on KDF. The first-order kinetic model and the Higuchi model fits well with release data. *In vitro* antibacterial experiments, the antibacterial microspheres display significant antibacterial property against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in the concentration of the antibacterial solution at 24 mg/mL and 48 mg/mL. Antibacterial microspheres can effectively inhibit the growth of bacteria,

and the antimicrobial microsphere model provides a theoretical basis for the use of KDF.

Key words: hydrogel; Zeolite P; pH-sensitivity; sustained-release; bacteriostatic

水凝胶是聚合物链通过物理、离子或共价相互作用交联而合成的大分子聚合物凝胶,可通过氢键吸收大量的水^[1]。水凝胶可以设计成具有优选特性的药物递送系统,理想的水凝胶可以根据温度和 pH 等物理变化选择性释放药物^[2-3]。

复合水凝胶是巨大的三维网状聚合物,彼此通过化学或物理交联而结合,它们的水合和多孔结构可以模拟组织固有的特性、结构和微环境。可通过聚合物结构中的功能基团获得改进性能的复合水凝胶^[4]。沸石分子筛具有独特的孔结构、较大的比表面积、可调节的酸碱位点等特征。同时沸石分子筛有较好的生物相容性和无毒性,使其在药物递送中得到广泛的引用^[5],在聚合物中加入无机材料沸石分子筛,可以大大提高材料的力学性能^[6]。CMC 分子链中有多个羧基,与金属离子具有出色配位能力^[7]。由于 CMC 无毒性、良好的配位能力、可生物降解性和低成本优势,已经开发出许多基于 CMC 的水凝胶。壳聚糖^[8]是自然界中唯一的一个带正电荷的天然高分子,其分子链上存在着大量的氨基基团。CMC 和 CS 两者可以形成有效的结合,会使两种高分子在水溶液中交联,形成聚电解质复合物,壳聚糖(CS)^[9]和羧甲基纤维素(CMC)^[10]已被用作 pH 敏感的药物递送系统。

二甲酸钾(KDF)是一种略显负电性的新型的绿色抗菌剂,添加到动物饲料中具有降低胃肠道 pH 值、调节肠道微生物生态平衡、提高饲料营养物质的消化和吸收等功能^[11]。但直接饲喂 KDF 主要在小肠前端发挥作用,利用率不高,不能充分发挥二甲酸钾调节肠道的作用。为解决这一问题,本工作制备了全新的与 Fe^{3+} 交联的壳聚糖-羧甲基纤维素-P 型分子筛复合水凝胶微球,具有高 pH 敏感性,可使二甲酸钾稳定到达肠道释放并发挥抗菌作用。

因为 pH 因素是控制药物释放的关键,本工作为控制 KDF 的释放,提出了一种使用 CS,CMC 作为 pH 敏感聚合物的改进方法。通过凝聚法制备了 CS@CMC@Zeolite P@KDF 复合水凝胶抗菌微球,用于在生理 pH 条件下选择性释放药物,为 KDF 的有效利用提供了一种可行的模型。

1 实验材料与方法

1.1 试剂与仪器

壳聚糖(脱乙酰度: $>90.0\%$),羧甲基纤维素(黏

度: $800\sim 1200\text{ mPa}\cdot\text{s}$),国药集团化学试剂有限公司,化学纯 CP;氯化铁(FeCl_3),冰醋酸(CH_3COOH),西陇科学股份有限公司,分析纯 AR;二甲酸钾晶体($\geq 98\%$),武汉远成科技有限公司;PBS 磷酸盐粉剂(pH 7.2~7.4),Phygene Scientific 公司;Zeolite P 实验室^[12]和去离子水,实验室自制。

Zeolite P 表面和水凝胶微球内表面(剖开)微观形貌采用 JSM-6380LV 型扫描电子显微镜进行观察。Zeolite P 物相分析采用 X'Pert PRO 型 X 射线粉末衍射仪对样品进行测试。采用 ZS90 Zeta 电位仪对不同 pH 下 Zeolite P 电位进行测试。材料官能团变化采用 Thermo Nexus 470FT-IR 傅里叶变换红外光谱仪进行测试分析。材料的稳定性采用 Q500 TGA 热重分析仪进行测试表征。

1.2 水凝胶微球的制备

1.2.1 复合水凝胶微球的制备

Zeolite P(0%,0.5%,1.5%,质量分数,下同)于 100 mL 去离子水中超声分散 10 min,缓慢加入 3.0 g CMC,边加边搅拌,待 CMC 溶解后静置 12 h,得到溶液 A。称取 2.0 g CS 加入到 100 mL 冰醋酸(2%),溶解后静置 12 h 脱泡,得到溶液 B。用 5 mL 针筒缓慢把溶液 A 滴加到 4.0% FeCl_3 溶液中,交联 30 min,过滤洗涤,把 CMC@Zeolite P 凝胶微球放入溶液 B,搅拌 30 min,过滤洗涤,冷冻干燥即可得 CS@CMC@Zeolite P 复合水凝胶微球见图 1。



图 1 复合水凝胶微球

Fig. 1 Composite hydrogel microspheres

1.2.2 抗菌微球的制备

Zeolite P(0%,0.5%,1.5%)于 100 mL 去离子水中超声分散 10 min,加入 0.4 g KDF 搅拌 3 h,加入 3.0 g CMC,边加边搅拌,待 CMC 溶解后静置 12 h,得到溶液 C。用 5 mL 针筒缓慢把溶液 C 滴加到 4.0%

FeCl₃ 溶液中, 交联 30 min, 过滤洗涤, 把 CMC@Zeolite P@KDF 凝胶微球放入溶液 B, 搅拌 30 min, 过滤洗涤, 冷冻干燥即可得 CS@CMC@Zeolite P@KDF 复合抗菌微球。

1.3 测试分析

1.3.1 溶胀性分析

通过浸泡法测定水凝胶微球吸水性, 研究其溶胀行为。配置 3 种不同 pH 值分别为 1.2 (模拟胃液)、6.8 (模拟小肠液)、7.4 (模拟大肠液) 磷酸盐缓冲溶液。准确称量 0.02 g 干燥后均匀复合水凝胶微球颗粒, 浸泡在相应 pH 磷酸盐缓冲溶液中。缓慢搅拌, 间隔一定的时间, 取出微球, 用滤纸吸附表面黏附的液体, 立即称重。通过公式(1)计算微球的溶胀率(S):

$$S = \frac{M_t - M_0}{M_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中: M_t 为某一时间 t 水凝胶微球吸水膨胀后的质量; M_0 为水凝胶微球的初始质量。

1.3.2 KDF 释放行为

称取定量 KCl, 以去离子水为溶剂, 配制浓度为 0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0 mg/L 的钾离子标准溶液, 使用原子吸收分光光度计测定各浓度的吸光度, 得到钾离子的标准曲线。线性回归方程式(2)为:

$$y = 0.03116x + 0.01507 \quad (2)$$

式中: y 代表吸光度, x 代表钾离子浓度, 相关系数 $R^2 = 0.99676$ 。

称取 1.74 g NaH₂PO₄, 2.7 g Na₂HPO₄ 和 1.7 g NaCl, 溶解在 400 mL 去离子水溶液, 使用 NaOH 溶液调节 pH 为 7.4。将 0.4 g 抗菌微球碾碎置于 50 mL 温度为 37 °C 的磷酸盐缓冲溶液中 (pH=7.4, 不含钾离子), 缓慢搅拌, 使 KDF 充分溶出, 离心得到上清液。利用原子吸收分光光度计测定钾离子的吸收值, 根据标准曲线方程式(2), 计算抗菌微球中 KDF 的含量。并按式(3)计算包封率(E_E), 按式(4)计算载药率(L_C):

$$E_E = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (3)$$

$$L_C = \frac{m_1}{m_3} \times 100\% \quad (4)$$

式中: m_1 为抗菌微球中 KDF 含量, g; m_2 为 KDF 投加量, g; m_3 为抗菌微球的质量, g。

分别称取 0.4 g 形貌完整的复合抗菌微球, 置于 100 mL 磷酸盐缓冲溶液, 于常温缓慢搅拌, 每次取 1 mL 溶液适当稀释, 定时段通过原子吸收分光光度计测试, 每次取出溶液之后, 立刻添加相同体积、相同 pH 值的磷酸盐缓冲溶液, 根据钾离子标准曲线计算

KDF 的含量, 考察抗菌微球中 KDF 的释放情况。

1.3.3 体外抗菌测试

采用微孔板法进行体外抗菌测试, 用抗菌微球和液体培养液 (胰蛋白胨 1 g, 牛肉膏 0.5 g, 氯化钠 0.5 g, 100 mL 去离子水溶解, 调节 pH 为 7.2, 高温高压灭菌 20 min) 配制浓度为 48 mg/mL 抗菌液, 将 48 mg/mL 母液依次稀释为 24, 12 mg/mL。向样品测定孔中加入上述浓度的抗菌液和纯液体培养液各 200 μ L, 每个浓度重复 3 组实验, 依次加入大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌悬液 10 μ L, 于 37 °C 条件下, 在恒温振荡培养箱中振荡培养, 每隔 4 h 用酶标仪在波长为 630 nm 处测定其吸光度 (即 OD 630 nm 值), 每组实验结果取平均值^[13]。

2 结果与分析

2.1 Zeolite P 特征分析

图 2 为制备的 Zeolite P XRD 图谱, 与 Zeolite P 的标准卡片 JCPDS card No. 01-071-0962 表现出较高的匹配, 衍射峰位置基本一致^[14]。图 3 为制备的 Zeolite P 的 SEM 图, Zeolite P 平均粒径大小为 0.5 μ m。

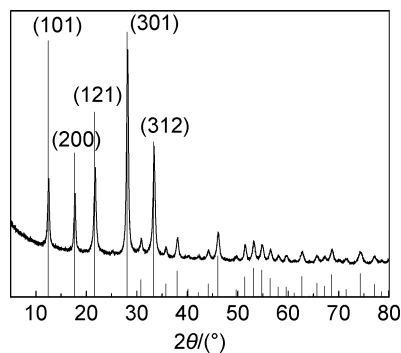


图 2 P 型分子筛 XRD 图谱

Fig. 2 XRD pattern of Zeolite P

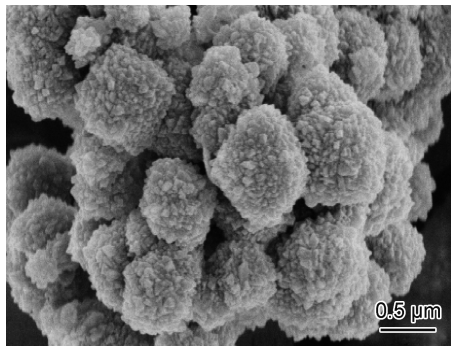


图 3 P 型分子筛的扫描图

Fig. 3 SEM image of Zeolite P

图 4 为随 pH 变化 Zeolite P 的 Zeta 电位图, 曲线与 0 电位的交点为 5.37, 当溶液 pH 值大于 5.37 时,

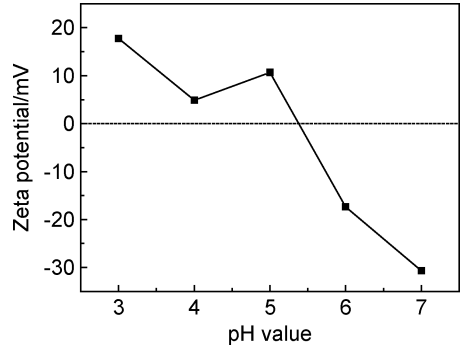


图 4 P 型分子筛的 Zeta 电位
Fig. 4 Zeta pattern of Zeolite P

Zeolite P 表面带负电荷,具有吸附阳离子的能力;当溶液 pH 值小于 5.37 时,Zeolite P 表面带正电荷,具有吸附溶液中阴离子的能力。当 pH 值在 3.0~5.37

之间,Zeolite P 表面呈正电位,同时由于其较高的比表面积,为吸附 KDF 提供了条件。结果表明,在 pH 值为 3.0~5.37 条件下,Zeolite P 和 KDF 有较好的结合能力。孟祥俭等^[15]利用 XPS 表征沸石分子筛与 KDF 的结合关系,结果表明 Al2p 周围化学环境发生了变化,周围电子云密度降低,应该是 KDF 与分子筛形成了氢键;同时分子筛中的钠周围的环境也发生变化,可能是 KDF 中的钾将分子筛中的钠取代。表明 Zeolite P 对 KDF 有较好的吸附作用。

2.2 复合水凝胶微球的形貌和结构分析

图 5 为复合水凝胶微球的内部图,内部为致密的结构,EDS 结果显示含有 Zeolite P 的特征元素 Al 和 Si,表明 Zeolite P 镶嵌在 CMC 三维网状结构中,对复合水凝胶微球骨架具有支撑作用。

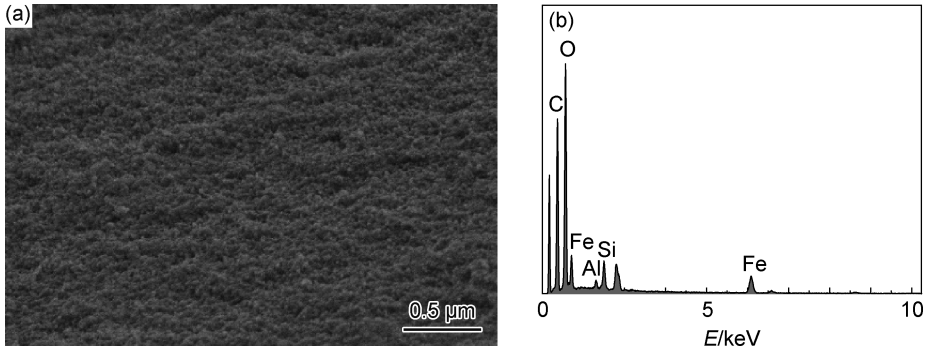


图 5 CS@CMC@Zeolite P 内部图(a)及其内表面 EDS 谱图(b)
Fig. 5 SEM image of CS@CMC@Zeolite P internal (a) and inner surface EDS spectra (b)

对原材料 Zeolite P, CMC, CS, CS@CMC@Zeolite P 进行红外分析,分析结果如图 6 所示。与 CMC 和 CS 中的 3458,3431 cm⁻¹ 处峰值相比,CS@CMC@Zeolite P 羟基峰特征峰变得宽且大,红移到 3420 cm⁻¹,说明 CS,CMC 和 Zeolite P 之间存在氢键用力;同时 CS@CMC@Zeolite P 中的特征峰衍射峰偏移到 1596 cm⁻¹,这是由于 CS 中—NH₂ 基团(1644

cm⁻¹)与 CMC 中的一COOH 基团(1623,1418 cm⁻¹)相互作用,CS 与 CMC 通过离子键与氢键形成聚电解质复合物。CS@CMC@Zeolite P 特征峰中存在 600~1000 cm⁻¹ Zeolite P 骨架震动特征峰,但是强度有所减小,说明 Zeolite P 被包覆在复合水凝胶微球中。

2.3 复合水凝胶微球的热稳定性分析

图 7 为 CMC,CS,CS@CMC,CS@CMC@Zeolite P 各组的热重分析曲线。可以发现 CS@CMC 与 CS@CMC@Zeolite P 在前期主要为结合水的蒸发,随后在 200 °C 开始缓慢分解。分解温度小于 CS 和 CMC 的裂解温度,这是由于两种高分子材料混合后产生的离子键作用力会削弱两种高分子本身分子内部以及同类分子之间的相互作用力^[16-17]。但是离子键的存在会提升整体的热稳定性,对比同时失重 50% 质量的温度可知:CS@CMC 在温度 455 °C 才损失一半质量,而 CS 与 CMC 分别在 325 °C 和 365 °C 已经损失一半质量,说明 CS@CMC 比天然高分子具有更高的热稳定性,这是由于聚合物结构的改变以及 CMC 与 Fe³⁺ 的相互作用。然而在加入 Zeolite P 后,观察到其在损失 50%

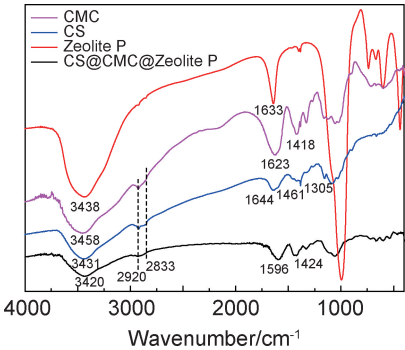


图 6 红外对比谱图
Fig. 6 Infrared contrast spectrum

质量时的温度低于 CS@CMC 体系,这可能是由于 Zeolite P 的塑化作用,增加了 CMC 基质中的孔隙度,降低了 CMC 基质在特定温度范围的稳定性。TGA 的分析结果可从侧面反映出两种高分子之间存在着离子键的结合,CS@CMC@Zeolite P 体系在常温是热稳定的。

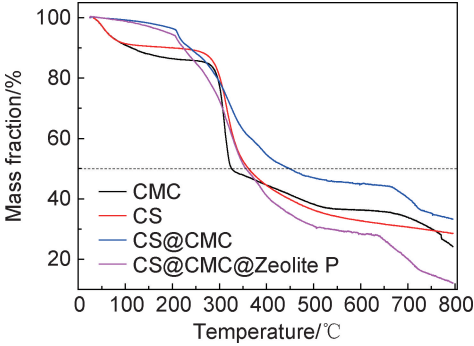


图 7 热重分析谱图
Fig. 7 TGA analysis spectra

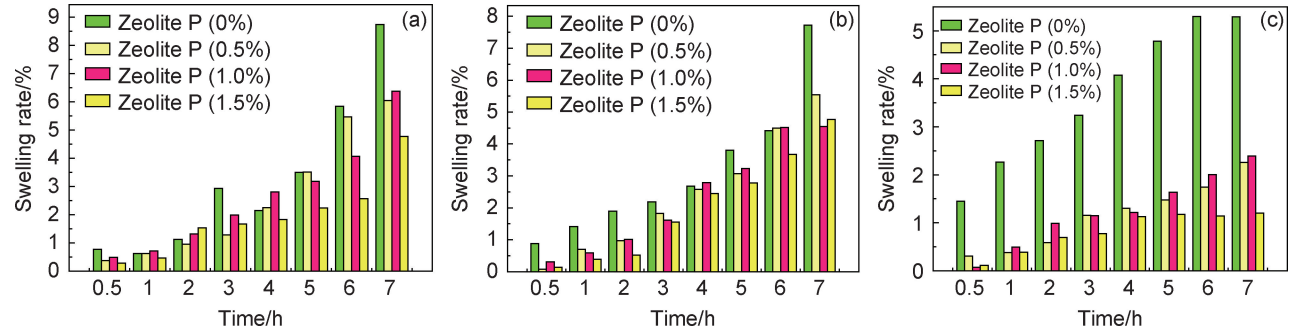


图 8 不同 pH CS@CMC@Zeolite P 微球溶胀行为 (a)pH=7.4;(b)pH=6.8;(c)pH=1.2
Fig. 8 Swelling behavior of CS@CMC@Zeolite P microspheres with different pH value (a)pH=7.4;(b)pH=6.8;(c)pH=1.2

胶微球能够应用于不同 pH 条件下的可持续给药系统。

2.5 KDF 缓释行为分析

图 9 为 Zeolite P 添加量对 CS@CMC@Zeolite P 释放 KDF 的行为影响,在 pH 为 7.4 的环境下,CS@CMC@KDF 突释现象明显,后续对 KDF 的释放也较快;添加 Zeolite P 之后 CS@CMC@Zeolite P 可有效减缓突释现象的发生,且对 KDF 具有有效的控释行为。由于 KDF 是水溶性的,导致包封率和载药率相对较低,添加 1.5%Zeolite P 抗菌微球具有最大包封率 37.17%和最大载药率 12.39%。

KDF 的释放模型见图 10。在酸性环境中,CS 表面的氨基基团缓慢电离,质子化的氨基在微球表面形成了水合层,阻碍水分子渗入微球,同时 CMC 链段在酸性环境中卷曲收缩,与内部的 Zeolite P 共同延缓了水分子进入微球内核,使 KDF 的溶出变得困难。在

2.4 复合水凝胶溶胀行为分析

图 8 为 Zeolite P 添加量在不同 pH 磷酸盐缓冲溶液对 CS@CMC@Zeolite P 溶胀行为的影响。复合水凝胶微球的溶胀行为可表明液体渗透到 CS@CMC@Zeolite P 微球中的速度和容易程度,以及对环境 pH 的敏感性。图 8 显示了不同 pH 下复合水凝胶微球的溶胀率之间的显著差异,表明复合水凝胶微球对 pH 高度敏感。在酸性条件下,CMC 链形成紧密的螺旋状,CMC 结构压缩,溶胀得到抑制。因此,在 pH 从 1.2 增加到 7.4 的过程中,CS@CMC 链上的羧基转化为带负电荷的羧酸根离子,导致更高的静电斥力和水被吸收。同时 CS 包裹在 CMC 外部,形成的聚电解质复合物,避免水凝胶微球的瓦解。加入的 Zeolite P 镶嵌缠绕在 CMC 三维网格结构中,限制了聚合物链的扩展,导致其溶胀率比 CS@CMC 偏小。CS@CMC@Zeolite P 在酸性条件下具有较小的溶胀率,可以减缓 KDF 溶出释放。所制备的 CS@CMC@Zeolite P 水凝

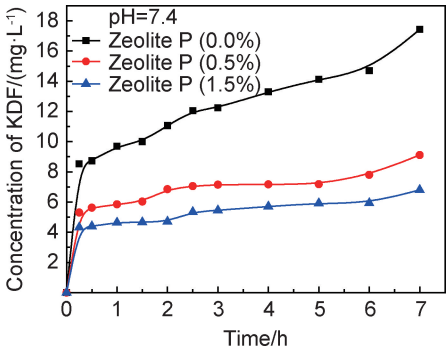


图 9 Zeolite P 添加量在 pH=7.4 环境下 CS@CMC@Zeolite P@KDF 微球释放 KDF 行为分析
Fig. 9 Effect of Zeolite P amount on KDF release profiles of CS@CMC@Zeolite P@KDF microspheres in pH=7.4

pH=7.4 环境下,CMC 表面的羧基去质子化,分子链段舒展,导致更多的水分子穿透聚合物结构,进入到水凝胶微球的内部,使 KDF 更加容易释放。KDF 在中

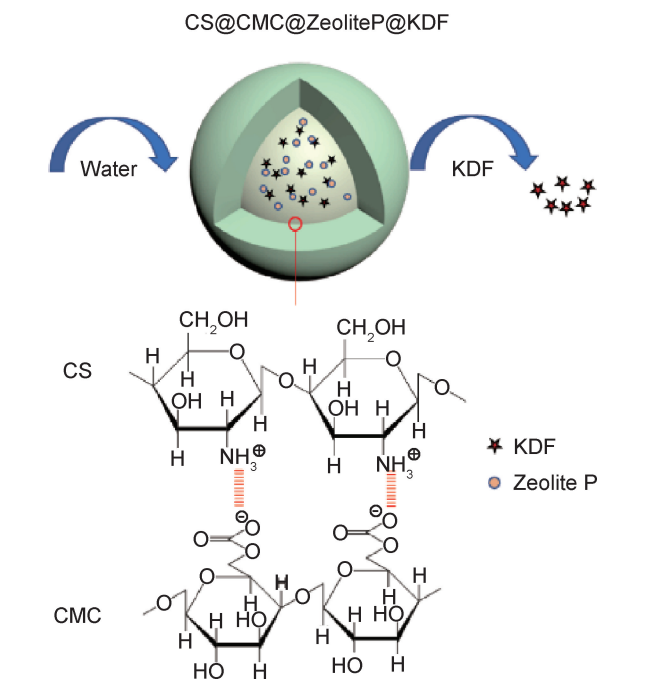


图 10 CS@CMC@Zeolite P@KDF 抗菌微球 KDF 的释放示意图
Fig. 10 KDF release mechanism from CS@CMC@Zeolite P@KDF

性或偏碱性环境中电离增强,溶解度增加。Zeolite P 的含量增加,使 KDF 从微球内核迁移到表面更加的困难。释放结果表明,制备的 CS/CMC/Zeoilte P 复合水凝胶微球载药体系,可用于胃肠道 pH 敏感环境中 KDF 的控释。

对添加 1.5% Zeolite P 抗菌微球进行释放动力学研究(表 1),零级释放模型用来解释一些常见的糖衣药物和胶囊药物的释放过程。一级释放模型一般适用包含水溶性药物的多孔基质。Higuchi 方程常拟合药物浓度扩散过程。

对添加 1.5% Zeolite P 抗菌微球进行释放动力学方程拟合(图 11)。在 pH=7.4 环境中 CS@CMC@Zeolite P 相关系数 R^2 在零级、一级动力学方程以及 Higuchi 拟合方程中分别为 0.48945,0.79629 和 0.7209。KDF 的控释符合一级动力学方程和 Higuchi 拟合方程。所制备的复合抗菌微球对 KDF 具有一定的控释作用,KDF 的释放为溶出扩散机制,形成了较为稳定的多孔水溶性微球。

表 1 释放动力学模型
Table 1 Release kinetic model

Model	Equation	Parameter
Zero order dynamics	$M_t/M_{\infty} = k_0 t$	M_{∞} is the amount of drug in the initial release system. M_t is the amount of remaining in the microspheres at t time. k_0 is the zero-order release constant.
First-order dynamics	$M_t = M_{\infty} (1 - e^{-kt})$	M_{∞} is the total amount of the drug finally released. k is the first-order release constant.
Higuchi	$M_t/M_{\infty} = k_H t^{1/2}$	M_t/M_{∞} is the proportion of the drug released. k_H is the Higuchi constant.

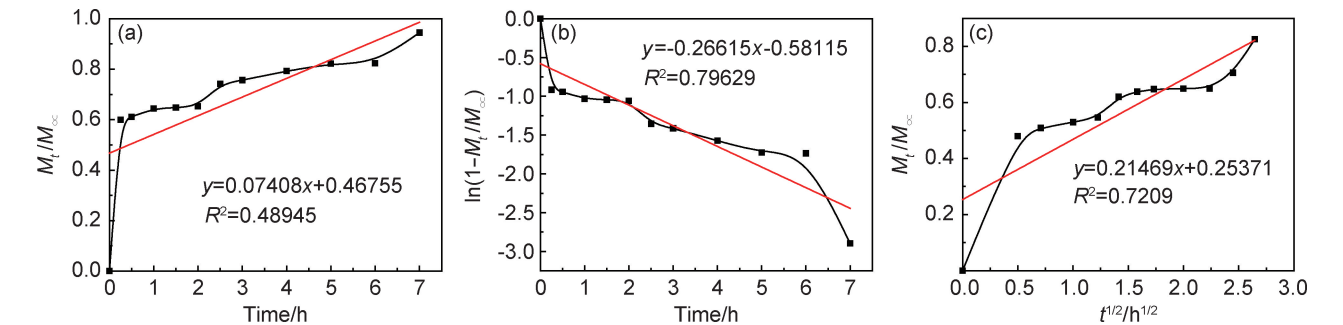


图 11 CS@CMC@Zeolite P@KDF 微球在肠道模拟中动力学方程拟合结果
(a)零级动力学方程拟合曲线;(b)一级动力学方程拟合曲线;(c)Higuchi 方程拟合曲线
Fig. 11 Results of kinetic equation of CS@CMC@Zeolite P@KDF microspheres in intestinal fluid simulation
(a)zero-order kinetic equation fitting curve;(b)first-order kinetic equation fitting curve;(c)Higuchi equation fitting curve

2.6 抗菌微球抑菌行为分析

KDF 被动物食用后,可以降低胃肠道的 pH 值,控制细菌的生长。同时 KDF 在通过细菌细胞壁后解离并对细菌蛋白质合成产生破坏作用,未分离的 KDF 可以通过微生物的半透膜扩散到它们的细胞质中;一旦进入细胞,环境 pH 值在 7 附近,KDF 就会解离并抑制细胞酶和营养物转运系统,从而杀死细菌并抑制

细菌的繁殖。细菌需要营养来维持自身的新陈代谢,并与宿主竞争胃和肠道的营养。胃和肠道中细菌的数量越少,动物可以吸收的营养就越多^[18-19]。使用 KDF 来减少胃肠道中的致病性和非致病性细菌对于动物的膳食能量利用是可行有效的。

图 12 为不同 CS@CMC@Zeolite P@KDF 抗菌微球含量对大肠杆菌(*E. coli*)和金黄色葡萄球菌

(*S. aureus*)生长的影响。CS@CMC@Zeolite P@KDF 抗菌微球对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有显著的抑菌效果,随着抗菌微球浓度越高,其抑菌效果更明显。抗菌微球可有效抑制细菌的滞后期,随着浓度的增加,细菌的滞后时间越长,表明抗菌微球抑制了细菌的生长,影响了细菌生长所需的酶、能源和中间代谢产物。同时,细菌的对数生长期也明显缩短。与王秀丽等^[20]制备的 Zeolite P 抗菌剂相比,相同抗

菌液浓度,具有更高的抑菌性,所制备的 CS@CMC@Zeolite P@KDF 抗菌微球能负载有效的 KDF,具有更优异的抗菌性。在 24 mg/mL 和 48 mg/mL 浓度下,细菌生长受到抑制,较多菌体死亡,几乎不再繁殖,但是在低浓度时(12 mg/mL)具有时效性。可预见的高浓度下的抗菌液具有较低的 pH 值,可以改变细菌生长的环境,抑制细菌的繁殖。当抗菌液分解完之后,细菌开始快速繁殖。

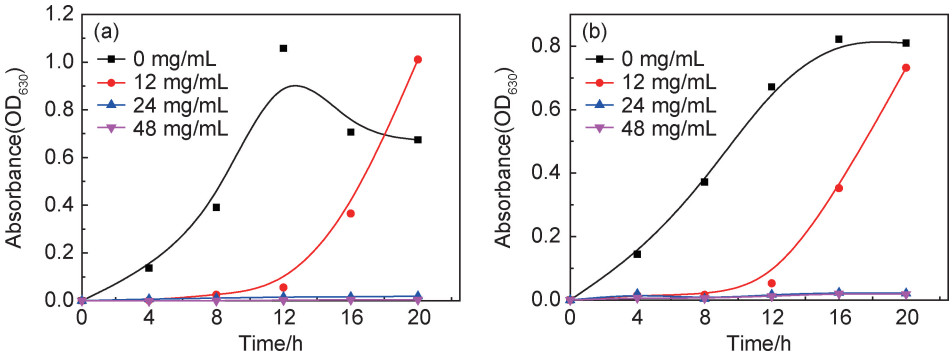


图 12 不同抗菌微球含量对大肠杆菌(a)和金黄色葡萄球菌(b)的生长影响

Fig. 12 Effects of different concentrations bacteriostatic on *E. coli* (a) and *S. aureus* (b) growth

3 结论

(1)通过凝聚法,经 Zeolite P 吸附 KDF 分散在 CMC 基质中,FeCl₃ 作为交联,与 CS 组装制备出了 KDF 缓释抗菌微球。CS 与 CMC 通过离子键形成聚电解质复合物,形成的水凝胶微球比天然高分子材料 CS 和 CMC 具有更高的热稳定性,Zeolite P 镶嵌缠绕在 CMC 基质中。

(2)CS@CMC@Zeolite P 吸水溶胀差异性表明复合水凝胶微球具有高 pH 敏感性。CS@CMC@Zeolite P@KDF 抗菌微球对 KDF 具有良好的控释效果,添加 Zeolite P 可有效减小突释现象的发生,且对 KDF 具有更为优异的控释效果。通过释放动力学线性拟合,释放过程遵循一级动力学模型和 Higuchi 模型,所制备的抗菌微球对 KDF 具有一定的缓释作用。

(3)制备的抗菌微球 CS@CMC@Zeolite P@KDF 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有显著抑制生长的效果,在抗菌液浓度为 24,48 mg/mL 时,细菌生长受到抑制,几乎不再繁殖,低浓度下具有时效性,但前期仍具有抗菌性。所制备的 CS@CMC@Zeolite P@KDF 体系为 KDF 的推广和使用提供了参考。

参考文献

[1] MEHRDAD H,AMIR A,PEDRAM R. Hydrogel nanoparticles in

drug delivery[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60 (15):1638-1649.

[2] SHI J, ALVES N M, MANO J F. Drug release of pH/temperature-responsive calcium alginate/poly (N-isopropylacrylamide) semi-IPN beads[J]. Macromolecular Bioscience, 2006, 6 (5): 358-363.

[3] MAHAVEER K, TEJRAJ M A. Poly(vinyl alcohol) and poly(acrylic acid) sequential interpenetrating network pH-sensitive microspheres for the delivery of diclofenac sodium to the intestine [J]. Journal of Controlled Release, 2004, 96(1): 9-20.

[4] ADOLLAHI M, FARHOUDIAN S, NAMAZI H. One-pot synthesis of antibacterial chitosan/silver bio-nanocomposite hydrogel beads as drug delivery systems[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 79: 37-43.

[5] COSTA R, RIBEIRO C, LOPES A C, et al. Osteoblast, fibroblast and *in vivo* biological response to poly(vinylidene fluoride) based composite materials[J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2013, 24(2): 395-403.

[6] 祝亚林,顾远,陈可平,等. 有机-无机杂化壳微胶囊合成及应用研究进展[J]. 功能材料, 2015, 46(19): 19007-19013.

ZHU Y L, GU Y, CHEN K P, et al. Research progress in synthesis and application of microcapsules with organic-inorganic hybrid shell[J]. Journal of Functional Materials, 2015, 46 (19): 19007-19013.

[7] HASSAN N, RASUL R, HAMED H, et al. Antibiotic loaded carboxymethylcellulose/MCM-41 nanocomposite hydrogel films as potential wound dressing[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 85: 327-334.

[8] CHEN S C, WU Y C, MI F L, et al. A novel pH-sensitive hydrogel

- composed of N, O-carboxymethyl chitosan and alginate cross-linked by genipin for protein drug delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2004, 96(2): 285-300.
- [9] DILAVER M, YURDAKOC K. Fumaric acid cross-linked carboxymethylcellulose/poly(vinyl alcohol) hydrogels[J]. *Polymer Bulletin*, 2016, 73(10): 2661-2675.
- [10] SHARIATINIA Z. Pharmaceutical applications of chitosan[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2019, 263: 131-194.
- [11] XIA S, YAO W, ZOU B, et al. Effects of potassium diformate on the gastric function of weaning piglets[J]. *Animal Production Science*, 2016, 56: 1161-1166.
- [12] MENG X J, GUO X W, ZHONG Y J, et al. Synthesis of a high-quality NaP zeolite from epidesmine by a hydrothermal method[J]. *Bulletin of Materials Science*, 2019, 42(5): 1-8.
- [13] 金晓晓, 王江涛, 白洁. 壳聚糖与肉桂醛的缩合反应制备席夫碱及其抑菌活性研究[J]. *高校化学工程学报*, 2010, 24(4): 645-650.
- JIN X X, WANG J T, BAI J. Synthesis of schiff base from chitosan and cinnamaldehyde and its antimicrobial activity[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2010, 24(4): 645-650.
- [14] 高沙沙, 陈南春, 裴胤昌, 等. 天然辉沸石为原料制备 P 型沸石的水热反应条件研究[J]. *人工晶体学报*, 2018, 47(6): 1096-1101.
- GAO S S, CHEN N C, PEI Y C, et al. Hydrothermal reaction conditions for preparation of Zeolite P from natural stilbite as raw material[J]. *Journal of Synthetic Crystals*, 2018, 47(6): 1096-1101.
- [15] 孟祥俭, 郭小炜, 李玉妍, 等. 二甲酸钾微胶囊的构建与缓释抑菌性[J]. *精细化工*, 2019, 36(11): 2252-2257, 2266.
- MENG X J, GUO X W, LI Y Y, et al. Construction and sustained release bacteriostasis of potassium diformate microcapsules[J]. *Fine Chemicals*, 2019, 36(11): 2252-2257.
- [16] XIONG X P, DUAN J J, ZOU W W, et al. A pH-sensitive regenerated cellulose membrane[J]. *Journal of Membrane Science*, 2010, 363(1/2): 96-102.
- [17] 蒋挺大. 甲壳素[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- JIANG T D. Chitin[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.
- [18] CANIBE N, STEIEN S H, OVERLAND M, et al. Effect of K-difformate in starter diets on acidity, microbiota, and the amount of organic acids in the digestive tract of piglets, and on gastric alterations[J]. *Journal of Animal Science*, 2001, 79(8): 2123-2133.
- [19] OVERLAND M, GRANLI T, KJOS N P, et al. Effect of dietary formates on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora, and stomach alterations in growing-finishing pigs[J]. *Journal of Animal Science*, 2000, 78(7): 1875-1884.
- [20] 王秀丽, 张静钰, 沈阳阳, 等. P 型红辉沸石分子筛抗菌剂的抗菌性能[J]. *桂林理工大学学报*, 2018, 38(2): 335-340.
- WANG X L, ZHANG J Y, SHEN Y Y, et al. Antibacterial performance of P-type fluorite zeolite antibacterial agent[J]. *Journal of Guilin University of Technology*, 2018, 38(2): 335-340.

基金项目:国家自然科学基金项目(51564008, 41662005); 广西科技攻关项目(桂科攻 11107003-4); 广西自然科学基金项目(2015GXNSFAA139094, 2016GXNSFAA380014)

收稿日期:2020-03-16; **修订日期:**2020-10-17

通讯作者:陈南春(1962—), 男, 教授, 研究方向为环境矿物材料, 联系地址: 广西壮族自治区桂林市桂林理工大学材料科学与工程学院(541004), E-mail: cnc@glut.edu.cn; 王秀丽(1964—), 女, 高级工程师, 研究方向为药物化学、生物工程、沸石分子筛抗菌性能、天然植物, 联系地址: 广西壮族自治区桂林市桂林理工大学化学与生物工程学院(541006), E-mail: 610064853@qq.com

(本文责编: 解 宏)