离子对壳聚糖/果胶聚电解质复合物溶胀性及微观结构的影响研究

张立彦，包丽坤
（华南理工大学轻工与食品学院，广东广州 510640）

摘要：本文将壳聚糖、果胶在含有六种不同离子的溶液环境中复合，考察离子种类及浓度对壳聚糖/果胶聚电解质复合物(PEC)得率、溶胀度(水及模拟环境中)、红外光谱及微观结构的影响。离子价态对 PEC 得率的影响为：三价离子>二价离子>一价离子；离子浓度低时，离子浓度促进 PEC 得率增加，离子浓度高时，离子浓度抑制 PEC 得率增加。离子种类不同，PEC 的溶胀过程不同，复合环境中含有 $FeCl_3$ 和 $Fe_2(SO_4)_3$ 的 PEC 在水中具有最大、最小溶胀度，分别为 56.87±0.63 和 9.21±0.13；含有 $MgSO_4$ 和 $Fe_2(SO_4)_3$ 的 PEC 在胃肠模拟液中具有最大、最小溶胀度，分别为 361.74±6.21 和 28.01±0.66。红外光谱结果表明添加离子并未影响 PEC 中 NH_3^+/COO^- 键的形成。扫描电镜结果显示 PEC 呈海绵多孔状，添加离子后 PEC 孔壁厚度增加 9.76±1.03%至 334.19±5.12%不等，表面更加光滑，而孔隙状态因离子种类不同而不同。研究表明 PEC 得率、溶胀度及微观结构受到离子影响，但其交联方式不变。

关键词：壳聚糖；果胶；聚电解质复合物；离子；溶胀度；红外光谱；微观结构

文章篇号：1673-9078(2013)10-2353-2357

Effects of Ions on Swelling Properties and Microstructure of Chitosan and Pectin Polyelectrolyte Complexes

ZHANG Li-yan, BAO Li-kun
(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Chitosan/pectin polyelectrolyte complexes (PECs) were obtained when chitosan and pectin was mixed within 6 different kinds of ion solutions. The influences of ion type and concentration on certain characteristics such as complex yield, swelling patterns both in water and in vitro, FT-IR spectra and microstructure of the aforementioned PECs were studied. The order of ionic valence on PEC yield was trivalent ions > divalent ions > univalent ions. PEC cross-linking was promoted by the low ion concentration but prohibited by high ion concentration. The addition of $FeCl_3$ led to a maximum in swelling degree of 56.87±0.63 in water while the minimum swelling degree of 9.21±0.13 was obtained when added with $Fe_2(SO_4)_3$. The addition of $MgSO_4$ resulted in a greatest swelling degree of 361.74±6.21, while a lowest swelling degree of 28.01±0.66 with the addition of $Fe_2(SO_4)_3$ was achieved in the simulated gastro-intestinal transit solutions. FT-IR analysis indicated that ions had no effect on hybrid NH_3^+/COO^- in PECs. SEM results showed that the chitosan/pectin PECs formed a sponge-morphic microstructure. The thickness increased from 9.76±1.03 % to 334.19±5.12%, and the layer became smooth with the interaction of ion. The porosity of PECs depended on different ions. Research showed that the addition of ions could influence the PEC complex yield, swelling ratio and microstructure, but showed little effect on PEC cross-linking pattern.

Key words: chitosan; pectin; polyelectrolyte; ion; swelling degree; FT-IR; microstructure

聚电解质复合物(polyelectrolyte complexes, PEC)是聚阳离子化合物同聚阴离子化合物通过离子键产生的一类复合物，因其合成方法简单、具有亲水性、以及良好的 pH 敏感性[1]，广泛应用于化学、食品、医药等行业[2]，近年逐渐成为研究热点领域。

收稿日期：2013-06-13
基金项目：广东省自然科学基金资助项目（10151064101000075）
作者简介：张立彦（1974-），女，博士，副教授，水产品加工及低值资源高值化利用

壳聚糖是一种源于甲壳素、含有大量氨基基团的线性聚阳离子化合物，具有生物适应性、生物安全性、非抗原性、相容性、可降解性，是自然界中第二丰富的化合物[3]。目前很多 PEC 研究集中在壳聚糖与果胶、海藻酸钠、硫酸葡聚糖、羧甲基纤维素等复合形成 PEC 的载体特性[4]。果胶是一种含有大量羧基基团的聚阴离子化合物，目前主要研究其在盲肠定向释放方向的功能与性质[5]。但由于其易于消化道中快速崩解以及药物突释等问题，在实际应用的过程中受到诸多限制

[4]。壳聚糖的氨基基团与果胶的羧基基团受异种电荷的静电吸附作用可复合形成壳聚糖/果胶 PEC。该 PEC 可以改良药物的缓释行为，并具有 pH 敏感溶胀性，因而受到科研工作者的关注[6]。近年来，壳聚糖/果胶 PEC 的研究主要集中在其合成[7]、理化特性、动态特性[8]和模拟环境中的药物缓释等方面[4]。

聚阳离子与聚阴离子的分子结构形态受环境中离子的种类与数量的影响，导致两者复合形成的 PEC 结构不同，但目前此方面的研究仍属空白。因此本文以壳聚糖/果胶 PEC 重量、溶胀以及复合键和微观形态的变化为研究对象，考察了几种常见阴阳离子(Na^+、Mg^{2+}、Ca^{2+}、Fe^{3+}、Cl^-、SO_4^{2-})对壳聚糖/果胶 PEC 合成的影响。丰富了壳聚糖/果胶 PEC 制备的理论基础并尝试为壳聚糖/果胶 PEC 的制备与应用开辟新的路径。

1 材料与方法

1.1 原料

果胶：购于 Sigma-Aldrich 公司，P9135-100G，半乳糖醛酸含量不少于 74.0%，根据滴定法[9]测定酯化度为 70%，根据毛细管黏度法测定分子量为 4 万；壳聚糖，购于奥兴生物有限公司，分子量 50 万；$FeCl_3$、Na_2HPO_4、NaH_2PO_4 购于福晨化学试剂厂；NaCl、$CaCl_2$、Na_2SO_4、$MgSO_4$ 购于 Enox 公司；$Fe_2(SO_4)_3$ 购于广州化学试剂厂。所有化学试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

TGL-16 超速离心机，上海安科；Vector 33 傅里叶红外光谱仪，Bruker 公司；JSM-6360LV 扫描电镜，Jeol 公司；JFC-1600 离子溅射仪，Joel 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 PEC 的制备

壳聚糖溶于 2.0%醋酸溶液制得 1.0%壳聚糖-醋酸溶液，果胶溶于 2.0%醋酸溶液制得 0.1%果胶-醋酸溶液，搅拌 4 h 充分溶解。适量 NaCl、$CaCl_2$、$FeCl_3$、Na_2SO_4、$MgSO_4$、$Fe_2(SO_4)_3$ 溶解于 2.0%醋酸溶液中，使得最终壳聚糖、果胶复合环境中含有 10~50 mmol/L（电势浓度）的离子。将 5 mL 离子溶液充分混合与等体积壳聚糖溶液中，再用注射器向该溶液中逐滴滴加 20 mL 果胶溶液。以 100 r/min 震摇 8 h 后，离心分离并用双蒸水漂洗 3 次，置于培养皿中平铺干燥后称重并计算得率。得率 Y 计算公式如下：

$$Y=W/(W_c+W_p)\times 100\%$$

注：W 为干燥后 PEC 质量，g；W_c 为添加壳聚糖质量，g；W_p 为添加果胶质量，g。

1.3.2 溶胀测定

准确称取一定质量干凝胶，室温条件下置于水或模拟胃肠液中，每隔一小时将其取出，拭去表面附着水分后称重，总溶胀时间为 6 h。其中，模拟胃肠液为模拟胃液（pH 2.0 磷酸盐缓冲液）、模拟小肠液（pH 6.8 磷酸盐缓冲液）和模拟结肠液（pH 7.8 磷酸盐缓冲液），依次浸泡 2 h。溶胀率 S 计算公式如下：

$$S=(W_t-W_0)/W_0$$

注：W_t 为溶胀 t 小时后凝胶质量，g；W_0 为未浸泡凝胶质量，g。

1.3.3 红外光谱分析

使用傅里叶红外光谱仪，KBr 压片法记录壳聚糖、果胶以及壳聚糖/果胶 PEC 的红外光谱。

1.3.4 扫描电镜分析

使用扫描电镜观察添加和未添加离子的壳聚糖/果胶 PEC 并拍照。

1.3.5 数据统计

试验数据使用 Origin Pro 8 进行分析整理。

2 结果与讨论

2.1 离子对 PEC 得率的影响

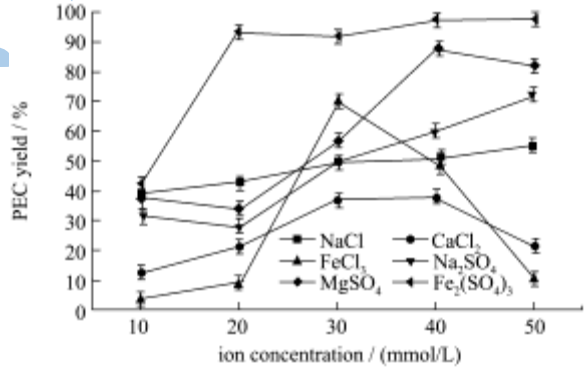


图 1 离子对壳聚糖/果胶 PEC 得率的影响

Fig.1 Influence of ions on yield of chitosan/pectin PECs

如图 1 所示，在复合过程中添加不同浓度离子之后，PEC 得率有不同的变化趋势。总体上，除 $FeCl_3$ 组外，PEC 得率均随着离子浓度的增大而呈增加趋势。当溶液中含有 Cl^- 离子时，PEC 得率随离子浓度的增幅较缓，且随着离子强度的增加而逐渐减小；当溶液中含有 SO_4^{2-} 离子时，PEC 得率随浓度的变化较大，随着离子强度的增加而逐渐增大。并且，除 $FeCl_3$ 组外，在同等离子浓度中，含有相同价键阳离子形成的 PEC，添加 Cl^- 后的 PEC 得率均高于 SO_4^{2-} 组。$FeCl_3$ 组在 $FeCl_3$ 浓度较低时（20 mmol/L 以下），对 PEC 的得率影响

不大，但浓度达到 30 mmol/L 时 PEC 得率显著提高，其后又随着 $FeCl_3$ 浓度的提高而显著下降。

在试验条件下，溶液中壳聚糖分子带有 NH_3^+正离子，其解离程度主要受 Cl^-、SO_4^{2-}离子的影响，果胶分子中带有 COO^-负离子，主要受到 Na^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Fe^{3+}阳离子影响[2]。壳聚糖受 Cl^-、SO_4^{2-}这两种基团离子键作用力影响，其分子链上的有效电荷被屏蔽，原本受 NH_3^+同种电荷斥力影响而舒展为线形的高分子链又重新形成不同程度的卷曲，与果胶交联时，结合位点与分子间交缠的差异，造成 PEC 得率的不同。阳离子对果胶的影响与上述原理一致。PEC 得率随着离子添加浓度的增大呈逐渐增加，或者先增加后减小的趋势。说明添加一定浓度的离子能够促进壳聚糖与果胶的复合，当添加浓度过大，多余的离子将与壳聚糖、果胶竞争合适的结合位点，使得壳聚糖与果胶结合程度下降，PEC 得率下降。

2.2 离子对 PEC 溶胀率的影响

2.2.1 水中溶胀率

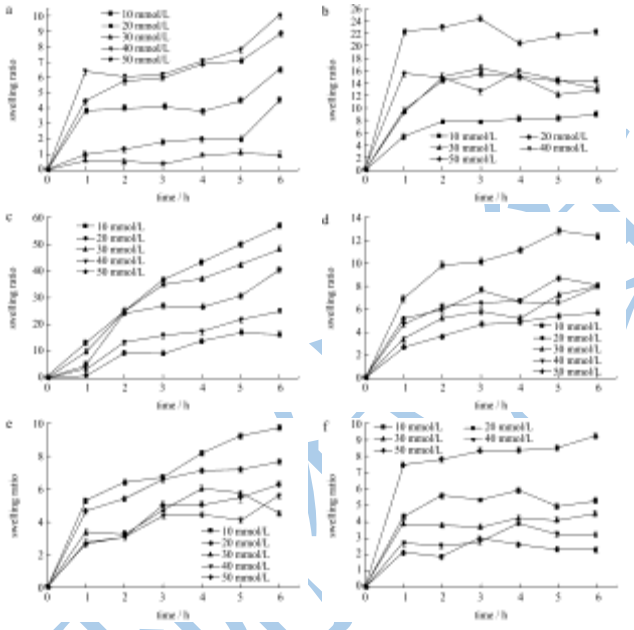


图 2 离子种类和浓度对 PEC 水中溶胀率的影响

Fig.2 Effect of ions variety and ion concentration on swelling degree of chitosan/pectin PECs in water

注：(a) NaCl、(b) $CaCl_2$、(c) $FeCl_3$、(d) Na_2SO_4、(e) $MgSO_4$、(f) $Fe_2(SO_4)_3$。

图 2 所示，为添加离子后 PEC 在水中的溶胀变化情况。根据作者之前的研究，未添加离子的壳聚糖/果胶 PEC 在水中溶胀 6 h 后的溶胀率为 29.87±0.83。添加 NaCl、$CaCl_2$、$FeCl_3$、Na_2SO_4、$MgSO_4$、$Fe_2(SO_4)_3$的壳聚糖/果胶 PEC 浸泡 6 h 后的最大溶胀率分别为 10.05±0.18、22.23±0.33、56.87±0.63、12.36±0.32、9.69±0.14、9.21±0.13。说明添加特定浓度的 $CaCl_2$、$FeCl_3$ 能够减少壳聚糖与果胶的结合位点，使壳聚糖/果胶 PEC 凝胶结构松散，分子链空间伸展能力增大，溶胀率增加；NaCl、Na_2SO_4、$MgSO_4$、$Fe_2(SO_4)_3$的添加能够增加壳聚糖与果胶的聚合度，吸水溶胀后分子产生的弹性收缩能增大，使凝胶空间伸展能力减弱[10]。

离子种类不同，壳聚糖/果胶 PEC 的溶胀过程表现不甚相同。溶胀 1 h 时，各 PEC 都有较大程度的溶胀表现，溶胀 1 h 后，即溶胀 2~6 h 内，含有 NaCl、$CaCl_2$、$Fe_2(SO_4)_3$ 的 PEC 溶胀增幅不大，而含有 Na_2SO_4、$MgSO_4$、$FeCl_3$ 的 PEC 溶胀度逐渐增加。

壳聚糖/果胶 PEC 的溶胀表现同样受离子浓度影响。随着离子浓度增加，添加 NaCl、$MgSO_4$、$Fe_2(SO_4)_3$ 的 PEC 溶胀率先降后升；添加 Na_2SO_4 的 PEC 溶胀率逐渐下降；添加 $CaCl_2$ 的 PEC 溶胀率则先升后降；而添加 $FeCl_3$ 的 PEC 在离子浓度低时溶胀率上下波动很大，离子浓度高时其溶胀率逐渐稳定。出现上述溶胀率表现的差异，其原因可能是由于所添加的阴阳离子基团的成键能力、基团体积不同，影响了离子与壳聚糖/果胶 PEC 结合位点的数量及结合能力的强弱，造成壳聚糖/果胶 PEC 分子结构形态的变化。

2.2.2 模拟胃肠液中溶胀率

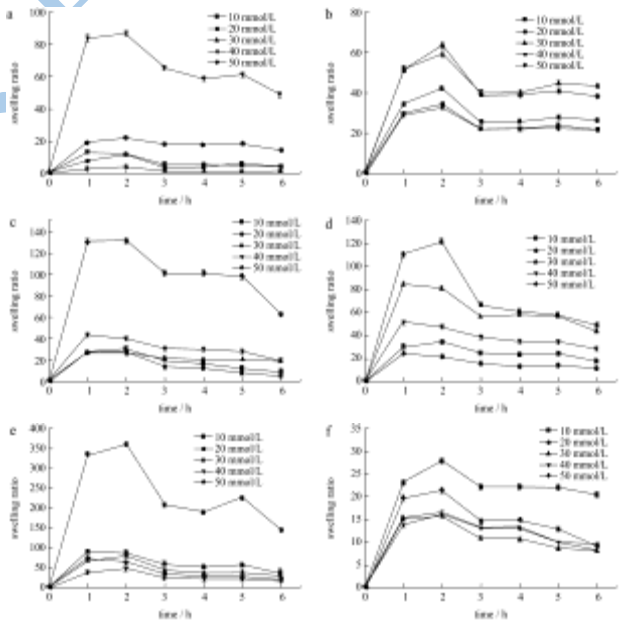


图 3 离子种类和浓度对 PEC 模拟胃肠液中溶胀率的影响

Fig.3Effect of ions variety and ion concentration on swelling degree of chitosan/pectin PECs in vitro

注：(a) NaCl、(b) $CaCl_2$、(c) $FeCl_3$、(d) Na_2SO_4、(e) $MgSO_4$、(f) $Fe_2(SO_4)_3$。

如图 3 所示，添加离子后 PEC 在模拟胃肠道环境中溶胀率的变化表现为：在模拟胃液(pH 2)中，PEC

吸水溶胀剧烈，溶胀率最大；在模拟小肠液（pH 6.8）时，PEC 溶胀率大幅下降；在模拟结肠液环境(pH 7.8)中，PEC 溶胀率略有回升，但基本保持不变。其中，PEC 在添加 $MgSO_4$ 和 $Fe_2(SO_4)_3$ 时分别具有最大和最小溶胀率。

壳聚糖/果胶 PEC pH 敏感性的影响因素主要有异种电荷离子的吸引作用、同种电荷离子间的排斥作用，以及 PEC 的解离[11]。在模拟胃液环境（pH 2.0）中酸性较大，壳聚糖的氨基和果胶的羧基充分质子化，有利于 PEC 中壳聚糖与果胶、PEC 与离子解离。受到 PEC 分解以及正电荷斥力影响，PEC 分子链刚性减弱，分子链伸展易于吸水溶胀，因此此时凝胶吸水量较大[12]。在模拟小肠液和模拟结肠液中，环境 pH 呈微碱性，PEC 的氨基质子化程度减弱，壳聚糖、果胶、离子三者结合能力增强，水合能力下降，分子网络中疏水基团受疏水作用聚集收缩，水分子被排出，溶胀率下降。虽然在 pH 7.8 时 PEC 中存在排斥作用，但 PEC 交联作用增强，PEC 溶胀程度缓解。

2.3 红外光谱分析

图 4 为壳聚糖、果胶、壳聚糖/果胶 PEC 的红外光谱图。

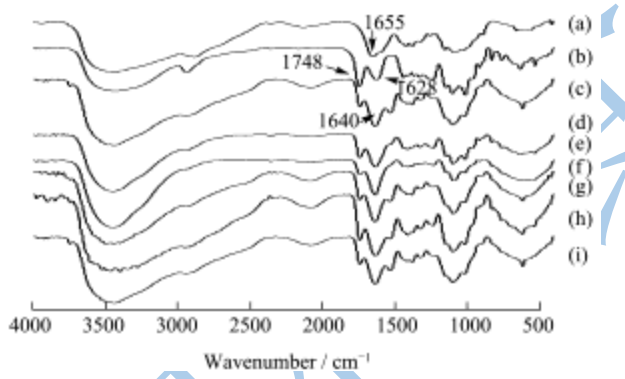


图 4 壳聚糖(a)、果胶(b)、壳聚糖/果胶 PEC (c)、含有 NaCl (d)，$CaCl_2$ (e)，$FeCl_3$ (f)，Na_2SO_4 (g)，$MgSO_4$ (h)，$Fe_2(SO_4)_3$ (i)的壳聚糖/果胶 PEC 红外光谱图

Fig.4 FT-IR spectra of chitosan (a), pectin (b), chitosan/pectin PEC (c), chitosan/pectin PEC with NaCl (d), $CaCl_2$ (e), $FeCl_3$ (f), Na_2SO_4 (g), $MgSO_4$ (h), $Fe_2(SO_4)_3$ (i)

如图所示，果胶中 1748 cm^{-1} 为甲酯化羧基伸缩振动峰，1628 cm^{-1} 处为离子化羧基伸缩振动峰[13]。壳聚糖在 1655 cm^{-1} 为氨基 N-H 键弯曲震动峰[14]。壳聚糖、果胶复合后，壳聚糖中氨基弯曲振动峰向低波数移动至 1641 cm^{-1}，果胶中 1748 cm^{-1} 处甲酯化羧基伸缩峰减弱，1628 cm^{-1} 处离子化羧基伸缩振动峰消失，表明壳聚糖与果胶通过氨基与羧基通过离子键形成交联。添加各离子的壳聚糖/果胶 PEC 红外光谱谱线均产生相似变化，表明其复合方式仍为壳聚糖与果胶离子交联，添加的离子并未影响壳聚糖/果胶 PEC 的交联方式。

2.4 扫描电镜分析

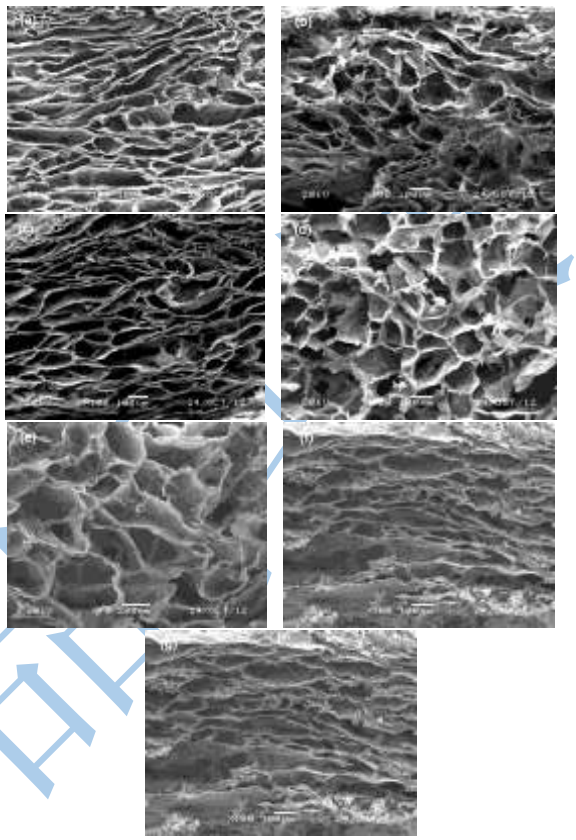


图 5 壳聚糖/果胶 PEC 扫描电镜图

Fig.5 SEM photos of chitosan/pectin PEC (g), chitosan/pectin PECs

注：(a)NaCl、(b)$CaCl_2$、(c)$FeCl_3$、(d)Na_2SO_4、(e)$MgSO_4$、(f)$Fe_2(SO_4)_3$。

图 5 为添加离子前后壳聚糖/果胶 PEC 的横截面扫描电镜图片。由图可知，添加 NaCl 与 $FeCl_3$ 的 PEC 孔径与未添加离子的 PEC 孔径大小相似。未添加离子的 PEC 截面孔壁厚度为 1.92±0.06 μm，添加 NaCl、$CaCl_2$、$FeCl_3$、Na_2SO_4、$MgSO_4$、$Fe_2(SO_4)_3$ 的 PEC 截面孔壁厚度分别为 8.32±0.15 μm、2.10±0.05 μm、2.74±0.03 μm、3.70±0.11 μm、6.69±0.19 μm、2.79±0.08 μm。孔壁厚度增加表明上述离子添加有利于 PEC 成膜。除 $Fe_2(SO_4)_3$ 外，添加各离子的 PEC 孔壁更为光滑平整；添加 $CaCl_2$ 的 PEC 结构更不规则，添加 Na_2SO_4 和 $MgSO_4$ 的 PEC 孔状结构更多，接近蜂窝状；而添加 $Fe_2(SO_4)_3$ 的 PEC 孔壁表面粗糙，结构紧密，与对照样及添加 NaCl 样类似，都呈现层状结构。

3 结论

壳聚糖/果胶 PEC 的得率随离子种类与浓度不同而产生明显变化，变化范围为 0.002 g 至 0.072 g 之间。PEC 在水中和胃肠模拟液中的溶胀度随离子的种类与浓度不同而显著不同。红外光谱图表明添加有离子的 PEC 中存在 NH_3^+/COO^-交联，离子的添加对壳聚糖与果胶的交联方式影响不大。添加离子的 PEC 微观结构上，壁层增厚且表面光滑。离子强度可能改变了壳聚糖、果胶中正负离子的数量与位置，导致 PEC 分子结构变化。但壳聚糖/果胶 PEC 在这方面的作用机制还需进行更深一步的研究。

参考文献

[1] ZHAO Qiang, QIAN Jin-wen, ZHU Chen-xiao, et al. A novel method for fabricating polyelectrolyte complex/inorganic nanohybrid membranes with high isopropanol dehydration performance [J]. Journal of Membrane Science, 2009, 345(1-2): 233-241

[2] CHEN Jian-hua, ZHENG Jian-zhong, LIU Qing-Lin, et al. Pervaporation dehydration of acetic acid using polyelectrolytes complex (PEC)/11-phosphotungstic acid hydrate (PW11) hybrid membrane (PEC/PW11) [J]. Journal of Membrane Science, 2013, 429: 206-213

[3] CHANG Ke-Liang, TSAI Gengia, LEE John, et al. Heterogeneous N- deacetylation of chitin in alkaline solution [J]. Carbohydrate Research,1997,303(3):327-332

[4] KIM Tae Hee, PARK Yong Park, KIM Kap Jin, et al. Release of albumin from chitosan-coated pectin beads in vitro [J]. International journal of pharmaceutics, 2003, 250(2): 371-383

[5] JUNG Jiyoung, ROBERT Arnold, WICKER Louise. Pectin and charge modified pectin hydrogel beads as a colon-targeted drug delivery carrier [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013, 104: 116-121

[6] CHANG K, LIN J. Swelling behavior and the release of protein from chitosan-pectin composite particles [J]. Carbohydrate polymers, 2000, 43(2): 163-169

[7] GHAFFARI Alireza, NAVAEE Kian, OSKOUI Mahvash, et al. Preparation and characterization of free mixed-film of pectin/chitosan/ Eudragit® RS intended for sigmoidal drug delivery [J]. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics, 2007, 67(1): 175-186

[8] TRIPATHI S, MEHROTRA G, DUTTA P. Preparation and physicochemical evaluation of chitosan/poly (vinyl alcohol)/pectin ternary film for food-packaging applications [J]. Carbohydrate polymers, 2010, 79(3): 711-716

[9] Food Chemical Codex (FCC) IV [M]. Washington: National Academy of Sciences,1996

[10] 王筱平,余兆祥.壳聚糖/果胶聚电解质配合物的制备及其性能研究[J].化学世界,2002,5:261-265
WANG Xiao-ping, YU Zhao-xiang. Preparation and Properties of Chitosan/Pectin Polyelectrolyte Complex [J]. Chemical World, 2002, 5: 261-265

[11] BIGUCCI F, LUPPI B, CERCHIARA T, et al. Chitosan/ pectin polyelectrolyte complexes: selection of suitable preparative conditions for colon-specific delivery of vancomycin [J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008, 35(5): 435- 441

[12] YU Cui-yun, YIN Bo-cheng, ZHANG Wei, et al. Composite microparticle drug delivery systems based on chitosan, alginate and pectin with improved pH-sensitive drug release property [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2009, 68(2): 245-249

[13] MANRIQUE Guillermo, LAJOLO Franco. FT-IR spectroscopy as a tool for measuring degree of methyl esterification in pectins isolated from ripening papaya fruit [J]. Postharvest biology and technology, 2002, 25(1): 99-107

[14] SHAMELI Kamyar, AHMAD Mansor Bin, ZARGAR Mohsen, et al. Synthesis and characterization of silver/montmorillonite/chitosan bionano-composites by chemical reduction method and their antibacterial activity [J]. International Journal of Nanomedicine, 2011, 6: 271- 284