

猴头菇壳聚糖分子量与脱乙酰度对席夫碱水凝胶结构及控释性能的影响

郑洁, 刘鹏展*, 黄惠华*

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 壳聚糖水凝胶的结构和控释行为与其分子量 (Molecular Weight, MW) 和脱乙酰度 (Degree of Deacetylation, DD) 密切相关。为明确两者对水凝胶控释性能的影响, 本研究以猴头菇壳聚糖为原料, 通过超声辅助酸水解与再乙酰化分别制备了一系列 MW 为 70~174 kDa、DD 为 65%~90% 的壳聚糖样品, 并与二醛纤维素构建席夫碱水凝胶, 表征水凝胶的网络结构、溶胀行为及药物释放性能。结果表明, 壳聚糖 MW 与 DD 的升高有利于水凝胶的形成, 且高 MW 和高 DD 样品网络结构相对致密, 表现为溶胀度和孔隙率较低。MW-17 与 DD-90 溶胀度分别为 18.84 g g^{-1} 和 19.77 g g^{-1} , 显著低于 MW-7 和 DD-65 ($P<0.05$), 孔隙率亦呈现相同趋势。此外, MW 和 DD 系列水凝胶释放均符合 Korsmeyer-Peppas 模型, 其中低 MW 与低 DD 样品表现出较快的释放速率, 而高 MW 与高 DD 样品则呈现缓慢持续的释放特征。模型拟合结果表明, 高 MW 为 Fickian 扩散机制, 低 MW 为非 Fickian 扩散控制; DD 系列水凝胶均为 Fickian 扩散机制。综上, 低 MW 和低 DD 样品适用于快速释放, 而高 MW 和高 DD 样品更具缓释潜力, 可为真菌壳聚糖基水凝胶控释体系的结构设计与性能优化提供理论依据。

关键词: 猴头菇壳聚糖; 分子量; 脱乙酰度; 水凝胶; 控释性能

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.6.0502

Effects of Molecular Weight and Degree of Deacetylation of *Hericium erinaceus* Chitosan on the Structure and Controlled Release Properties of Schiff Base Hydrogels

ZHENG Jie, LIU Pengzhan*, HUANG Huihua*

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The structure and controlled release behavior of chitosan hydrogels are closely related to their molecular weight (MW) and degree of deacetylation (DD). To clarify the effects of these two factors on the controlled release performance of hydrogels, chitosan derived from *Hericium erinaceus* was used as the raw material. A series of chitosan samples with MW of 70~174 kDa and DD of 65%~90% were prepared via ultrasonic-assisted acid hydrolysis and re-acetylation. The obtained samples were crosslinked with dialdehyde cellulose to construct Schiff base hydrogels. The network structure, swelling behavior, and drug release properties were systematically characterized. The results showed that increasing MW and DD facilitated hydrogel formation, and hydrogels prepared from high-MW and high-DD chitosan exhibited relatively compact network structures. This was evidenced by their lower swelling degree and porosity. Specifically, the swelling degrees of MW-17 and DD-90 were 18.84 g g^{-1} and 19.77 g g^{-1} , which were significantly lower than those of MW-7 and DD-65 ($P<0.05$). A similar decreasing trend was observed in porosity. Furthermore, the drug release behavior of both MW and DD series hydrogels followed the Korsmeyer-Peppas model. Hydrogels with low MW and low DD exhibited faster release rates, whereas those with high MW and high DD showed a slower and more sustained release profile. Model fitting results indicated that the release mechanism of high-MW hydrogels followed Fickian diffusion, while low-MW hydrogels were controlled by non-Fickian diffusion. Additionally, DD series hydrogels followed a Fickian

收稿日期: 2026-04-02; 修回日期: 2026-06-13; 接受日期: 2026-06-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32172132); 广东太阳神集团有限公司资助项目 (D8171450)

作者简介: 郑洁 (2001-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品资源利用, E-mail: 2042228409@qq.com

通讯作者: 刘鹏展 (1976-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物化学, E-mail: lpzhan@scut.edu.cn; 共同通讯作者: 黄惠华 (1959-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品资源利用, E-mail: fehhuang@scut.edu.cn

diffusion mechanism. Overall, low-MW and low-DD hydrogels are suitable for rapid release applications, whereas those with high MW and high DD exhibit potential for sustained release. This study provides a theoretical basis for the structural design and performance optimization of fungal chitosan-based hydrogel controlled release systems.

Key words: *Hericium erinaceus* chitosan; molecular weight; degree of deacetylation; hydrogel; controlled release performance

猴头菇 (*Hericium erinaceus*) 是我国典型的药食同源真菌, 具有极高的营养价值和广泛的药理活性。提取猴头菇多糖并开发不同的保健食品是常见的猴头菇深加工方式, 但提取后会产生大量的余渣, 这些余渣多被直接丢弃或焚烧, 不仅造成资源浪费, 还可能导致环境污染^[1]。已有研究表明, 猴头菇余渣中几丁质含量丰富, 占其干重的 15%~30%^[2]。这些几丁质通过脱乙酰而制备具有不同脱乙酰程度和不同分子量的壳聚糖 (Chitosan, CS), 从而进行高值化利用。与传统甲壳类来源相比, 真菌来源几丁质对素食者友好^[3]、无动物源过敏风险^[4]及资源稳定等优势, 更符合食品领域对安全性与可持续性的要求。壳聚糖作为一种天然多糖, 具有良好的成胶能力, 在活性成分递送及可食性材料构建等方面展现出应用潜力。因此, 开发真菌来源壳聚糖并探索其在食品或生物医用相关凝胶体系中的结构调控与功能应用具有重要意义。

在壳聚糖基水凝胶研究中, 通过引入含醛基组分构建席夫碱共价网络是一种常见策略。其中, 经高碘酸钠氧化得到的二醛纤维素 (Dialdehyde Cellulose, DAC) 可与壳聚糖分子中的氨基发生反应, 从而形成具有可调结构的三维网络体系^[5]。目前, 已有研究集中于通过调控 DAC 的氧化程度或组分配比来优化水凝胶的结构与性能^[6], 而对壳聚糖自身在交联过程中的作用关注相对不足。尽管分子量与脱乙酰度被认为是影响壳聚糖反应活性与链行为的关键因素^[7], 但针对其在席夫碱交联体系中对网络形成及性能调控作用的系统研究仍较为缺乏。

基于壳聚糖良好的成胶性, 壳聚糖基水凝胶在口服药物递送、局部植入式缓释系统、以及食品功能性成分的控释载体等方面具有广阔的应用前景。因此, 明确壳聚糖结构参数对水凝胶控释行为的调控机制, 对于指导其在实际应用具有重要意义。本研究以猴头菇壳聚糖为原料, 通过调控其分子量与脱乙酰度, 构建一系列席夫碱交联水凝胶体系, 结合红外光谱、电镜及流变学及体外释放实验等方法, 系统分析壳聚糖分子量和脱乙酰度对水凝胶网络结构及性能的影响规律, 以期构建性能可控的壳聚糖-纤维素水凝胶递送载体提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与试剂

干燥猴头菇, 来自福建屏南县; 纤维素粉, 山东科源生化有限公司; 高碘酸钠, 广州化学试剂厂; 氢氧化钠, 福晨化学试剂有限公司; 甲基橙、亚甲基蓝, 天津市大茂化学试剂厂; 5-氟尿嘧啶, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 溶菌酶, 上海伯奥生物科技有限公司; 所有试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

18350-506 0.5~0.6 mm 乌氏粘度计, 上海申谊玻璃制品有限公司; JY92-IIIDN 超声波细胞粉碎仪, 宁波新芝生物科技有限公司; VERTEX-33 傅里叶变换红外光谱仪, 德国布鲁克公司; MCR-702e 旋转流变仪, 美国赛默飞公司; EM-30AX 扫描电子显微镜, 韩国库塞姆公司; UV-1800 紫外-可见分光光度计, 日本岛津。

1.3 实验方法

1.3.1 样品的制备

1.3.1.1 猴头菇几丁质制备

参考廖晶^[2]的方法, 将干燥的猴头菇粉碎并过 100 目筛, 按 1:10 与蒸馏水混合, 在 85 °C 水浴提取 6 h 后 3 000 r min⁻¹ 离心收集下层残渣。余渣依次进行 1 mol L⁻¹ HCl 室温处理 12 h 脱矿、在质量分数为 4% NaOH 85 °C 处理 3 h 脱蛋白、在 1 mol L⁻¹ NaClO₂ 75 °C 处理 2 h 脱色。各步骤后均经洗涤至中性。最终沉淀经冷冻干燥 48 h, 获得猴头菇几丁质。

1.3.1.2 猴头菇壳聚糖制备

参考 Affandy 等^[8]的方法, 将猴头菇几丁质分散于质量分数为 45% NaOH 溶液中, 在 120 °C 油浴条件下脱乙

酰 6 h, 产物经水洗至中性并冷冻干燥, 得到初始壳聚糖样品。

采用超声辅助酸水解的方法制备不同的分子量的壳聚糖^[9]。将初始壳聚糖溶解于质量分数为 1% 乙酸溶液中, 在 300 W 超声条件下分别处理 0、15、30 和 60 min, 随后用 NaOH 调节溶液 pH 值至 8~8.5 可获得沉淀, 经洗涤至中性和冷冻干燥后获得 DD 相近而 MW 不同的样品。

采用碱处理结合再乙酰化的方法制备不同脱乙酰度的壳聚糖。首先, 将初始壳聚糖在 40% NaOH 溶液中 100 °C 处理 6 h, 得到作为再乙酰化的基准样品。随后, 取该样品进行再乙酰化反应: 取 1 g 该样品溶解于 25 ml 质量分数为 1% 乙酸溶液中, 分别加入 0、26、79、132 μL 乙酸酐反应 2 h, 经水洗至中性和冷冻干燥后获得 MW 相近而 DD 不同的样品。

1.3.1.3 二醛纤维素制备

参考 Jonas 等^[10]的方法制备二醛纤维素。将 20 g 纤维素与 33 g 高碘酸钠分散于 1 000 mL 去离子水中, 在避光条件下室温搅拌反应 72 h 进行氧化。反应结束后加入 2 mL 乙二醇淬灭残余高碘酸盐。随后使用 3 500 Da 透析膜在去离子水中透析 48 h。透析液经 80 °C 加热 4 h 并 8 000 r min⁻¹ 离心去除不溶物后, 冷冻并冻干 48 h, 获得二醛纤维素。

1.3.1.4 水凝胶的制备

水凝胶基于醛基与氨基的席夫碱反应构建, 具体反应流程如图 1 所示: 纤维素经高碘酸钠氧化引入活性醛基, 制备得到二醛纤维素 (DAC); 猴头菇几丁质经脱乙酰处理得到壳聚糖 (CS), 分子链上带有大量可反应的活性氨基; DAC 与 CS 溶液混合后, 醛基与氨基发生席夫碱反应, 室温下即可交联形成三维网状水凝胶。具体制备步骤如下: 将 CS 溶液 (3%) 与 DAC 溶液 (4%) 按 1:1 体积比混合, 室温下静置成胶, 所得水凝胶经冷冻干燥后用于后续结构与性能测试。

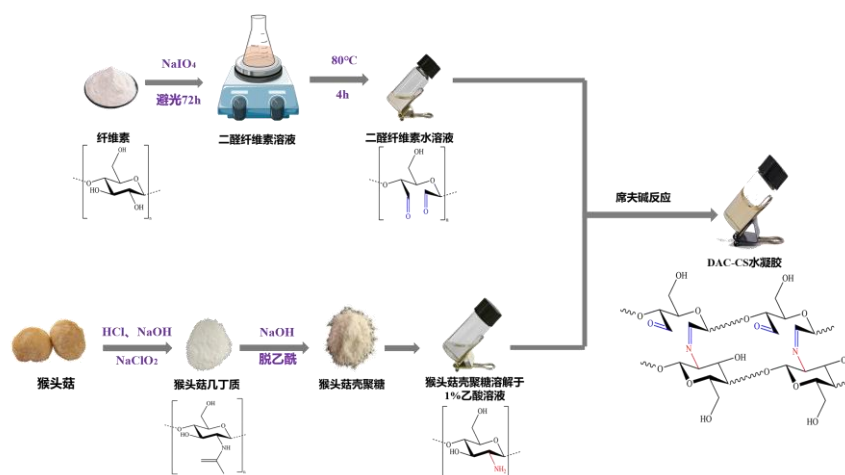


图 1 基于席夫碱反应的壳聚糖 (CS) 和二醛纤维素 (DAC) 水凝胶形成

Fig.1 Formation of chitosan (CS) and dialdehyde cellulose (DAC) hydrogel based on Schiff base reaction

1.3.2 壳聚糖的特性测定

1.3.2.1 得率

猴头菇壳聚糖得率按照下列公式计算。

$$Y = \frac{m_1}{m_0} \quad (1)$$

式中:

Y——为壳聚糖得率;

m_0 ——为干基猴头菇余渣的质量, g;

m_1 ——为干基壳聚糖的质量, g。

1.3.2.2 纯度

参考 Lei 等^[11]方法以扣除壳聚糖灰分和蛋白含量为相对纯度。其中灰分含量通过将样品 500 °C 灼烧 5 h, 冷

却后称重测定。蛋白含量则通过将样品经 NaOH 加热处理后, 取上清与考马斯亮蓝试剂反应, 测 595 nm 吸光度, 以公式计算。

$$A = \frac{w_a - w_c}{w_b - w_c} \times 100\% \quad (2)$$

$$B = \frac{c \times V}{m \times 10^6} \times 100\% \quad (3)$$

$$C = 100\% - A - B \quad (4)$$

式中:

A ——为蛋白含量, %;

w_c ——为坩埚的重量, g;

w_b ——为样品和坩埚的重量, g;

w_a ——为灰和坩埚的重量, g;

B ——为灰分含量, %;

c ——表示蛋白质浓度, $\mu\text{g/ml}$;

V ——为取样体积, ml;

m ——为样品的质量, g;

C ——为纯度, %。

1.3.2.3 分子量和脱乙酰度

分子量测定参考朱静毅等^[12]的方法并稍加改动。取 0.1 g 壳聚糖分散于溶于 0.1 mol L^{-1} 乙酸钠-0.2 mol L^{-1} 乙酸的混合溶液中, 定容至 50 mL 获得 2 mg L^{-1} 的壳聚糖溶液。将该溶液分别稀释成 1、0.8、0.6、0.4 和 0.2 mg L^{-1} 。在 25 $^{\circ}\text{C}$ 下, 使用乌氏粘度计 (内径 0.5~0.6 mm) 测定, 得到增比黏度和相对粘度后, 使用外推法求得固有粘度 ($[\eta]$), 根据 Mark-Houwink 方程计算壳聚糖分子量:

$$[\eta] = KM^{\alpha} \quad (5)$$

式中:

$[\eta]$ ——为固有黏度, mL g^{-1} ;

M ——为分子量, Da;

K ——为常数, 其值是 3.72×10^{-5} ;

A ——为常数, 其值是 1.37。

脱乙酰度的测定参考王意若^[13]的方法并稍加修改, 将 10 mg 壳聚糖样品溶解于 5 mL 0.1 mol L^{-1} HCl 标准溶液中, 加入 20 μL 甲基橙-亚甲基蓝指示剂, 再以 0.1 mol L^{-1} 的 NaOH 标准溶液滴定至溶液由蓝紫色转变为浅绿色, 记录 NaOH 的消耗体积, 根据公式计算样品的脱乙酰度。

$$D = \frac{(C_1V_1 - C_2V_2) \times 0.016}{m \times 0.994} \times 100\% \quad (6)$$

式中:

D ——为脱乙酰度, %;

C_1 ——为 HCl 标准溶液浓度, mol L^{-1} ;

V_1 ——为 HCL 标准溶液体积, mL;

C_2 ——为 NaOH 标准溶液的浓度, mol L^{-1} ;

V_2 ——为 NaOH 标准溶液的体积, mL;

0.016——为 1 mL 1mol L^{-1} HCl 溶液氨基量;

0.994——为理想几丁质中的氨基含量;

m ——为样品质量, g。

1.3.3 凝胶时间测定

采用小瓶倒置法测定成胶时间^[14]。将CS(3%)和DAC(4%)溶液以1:1体积均匀混合于透明玻璃瓶中,每隔5s倒转一次,直至瓶中液体在15s内不再流动,此时记为成胶时间。

1.3.4 傅里叶红外光谱表征

使用傅里叶红外光谱(Fourier Transform Infrared, FTIR)测量并记录样品的透射率。首先将2mg样品与干燥的KBr混合研磨,随后压片制备样品,之后置于扫描范围为4000~500 cm⁻¹,分辨率为4 cm⁻¹的条件下进行测定。

1.3.5 扫描电子显微镜表征

使用扫描电子显微镜(Scanning Electron Microscope, SEM)观察水凝胶样品的微观结构。取冷冻干燥后的水凝胶样品,用导电胶固定在样品台上,之后在真空条件下对水凝胶样品喷涂一层薄金以增强导电性,然后在15kV加速电压条件下,通过扫描电镜观察样品形貌。

1.3.6 水凝胶的流变学表征

使用旋转流变仪测定水凝胶的流变性能和力学性能。将凝胶制成直径2.5cm,厚度0.2cm左右的圆片,置于直径2.5cm的平行板夹具之间进行流变测试,测试间隙设为1mm,并去除边缘多余样品,测试模式包括应变扫描和频率扫描。

1.3.7 水凝胶的溶胀、孔隙率和降解性能测定

采用重量法^[15],分别计算冻干后的水凝胶在蒸馏水中的溶胀度(Swelling Degree, SD)。首先,将冷冻干燥后的水凝胶样品浸泡在过量蒸馏水中。在溶胀过程中,分别于0、5、10、20、30、40、60、100、150和200min的预设时间点,小心取出溶胀中的水凝胶,用吸水纸拭去表面多余溶液,随即称量其质量;水凝胶溶胀度根据下列公式计算:

$$S = \frac{W_t - W_0}{W_0} \quad (7)$$

式中:

S ——为水凝胶溶胀度, g g⁻¹;

W_t ——为水凝胶在水中溶胀 t 时间后的质量, g;

W_0 ——为冻干水凝胶溶胀之前的质量, g。

水凝胶的孔隙率采用液体置换法进行测定^[16]。称量冷冻干燥后的水凝胶,记录其干重和体积,随后将其完全浸没于乙醇中并抽真空;浸泡1h后取出拭去表面液体,称取样品的质量。利用下述公式计算其孔隙率:

$$P = \frac{W_1 - W_0}{\rho \times V} \quad (8)$$

式中:

P ——为孔隙率, %;

W_1 ——为水凝胶浸泡后的质量, g;

W_0 ——为水凝胶初始质量;

ρ ——为无水乙醇的密度, 0.7893 g cm⁻³;

V ——为水凝胶的体积, cm³;

为评估水凝胶在生理条件下的生物可降解性,采用体外降解法测定水凝胶的质量残留率^[17],取一定质量的新鲜水凝胶,加入含有0.5 mg mL⁻¹溶菌酶的PBS溶液(pH值7.4),分别于1、2、3、4、5、6、8、10、12、24和30h的预设时间点取样,称量水凝胶的质量。

$$M = \frac{W_1}{W_0} \times 100\% \quad (9)$$

式中:

M ——为质量残留率, %;

W_1 ——为水凝胶浸泡后质量, g;

W_0 ——为初始新鲜水凝胶质量, g。

1.3.8 水凝胶体外控释性能测定

以 5-氟尿嘧啶 (5-Fluorouracil, 5-FU) 为模型药物, 参考 Zeng 等^[18]的方法探究水凝胶的控释性能。首先, 配制 100 mg L^{-1} 的 5-FU 标准溶液, 将其分别稀释至 20、16、12、8、4、2 和 1 mg L^{-1} , 利用紫外-可见分光光度计测定各浓度溶液在 265 nm 处的吸光度, 并以 5-FU 浓度为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制 5-FU 标准曲线 ($y=5.3083x+0.01868$, $R^2=0.9991$)。体外控制释放实验首先将 5-FU 溶于二醛纤维素水溶液中至终浓度 1.0 mg mL^{-1} , 与壳聚糖交联形成载药水凝胶; 取新鲜载药水凝胶置于 50 mL 的 PBS (pH 值 7.4) 溶液中进行体外释放。前 1 h 每 10 min 取样 1 次, 随后于 1、2、3、4、5、6、8、10、12、24 h 取样 1 mL, 测定 265 nm 处吸光度, 每次取样后补充等体积新鲜 PBS。药物累积释放率按以下公式计算:

$$E = \frac{V_s \sum_{i=1}^{n-1} C_i + V_0 C_n}{m} \quad (10)$$

式中:

E ——为 5-FU 从载药水凝胶中累计释放的比例, %;

V_s ——为单次取样体积, 该值为 1 mL;

C_i ——为第 i 次取样时, 即第 1 至 $n-1$ 次取样时释放介质中 5-FU 的浓度, mg mL^{-1} ;

V_0 ——为释放介质的体积, 其值为 50 mL, 并保持恒定;

C_n ——为第 n 次取样时释放介质中 5-FU 的浓度, mg mL^{-1} ;

M ——为水凝胶中 5-FU 的量, mg。

为研究水凝胶控制释放动力学, 应用 Higuchi 和 Korsmeyer-Peppas 模型对药物释放进行拟合。

$$W_t = Kt^{\frac{1}{2}} \quad (11)$$

$$\ln W_t = n \ln t + \ln k \quad (12)$$

式中:

W_t ——均表示 t 时刻 5-FU 的释放率;

K ——均表示释放常数;

N ——为 Korsmeyer-Peppas 模型释放指数。

1.4 数据处理

实验结果至少重复三次后以平均数 $\pm$ 标准差表示。采用 SPSS 软件进行统计学分析, 采用 Duncan 多区间检验比较均数是否存在显著性差异, 显著性水平设置为 $P<0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 壳聚糖的特性

表 1 壳聚糖样品的脱乙酰度和分子量

Table 1 Degree of deacetylation and molecular weight of chitosan samples

MW 系列	DD/%	MW/KDa	DD 系列	DD/%	MW/KDa
MW-17	76.87	174.36	DD-90	90.92	113.39
MW-14	77.23	143.78	DD-85	84.85	110.35
MW-10	77.80	104.22	DD-75	74.04	114.17
MW-7	75.70	75.26	DD-65	65.40	111.97

壳聚糖的得率经测定为 $17.11\% \pm 0.31\%$, 纯度为 $97.31\% \pm 0.20\%$ 。MW 系列样品由初始壳聚糖 (DD 75%, MW

174 kDa) 超声辅助酸水解制得(超声时间: 0、15、30、60 min), DD 整体维持在 75.70%~77.80%, MW 分别为 174、143、104 和 75 kDa, 依次命名为 MW-17、MW-14、MW-10 和 MW-7。由上述结果可知, 本研究以猴头菇余渣制备的壳聚糖分子量(75~174 kDa) 整体低于已有报道的甲壳类壳聚糖分子量水平(190~375 kDa)^[19]。已有研究表明, 甲壳类壳聚糖的分子量显著高于真菌来源壳聚糖, 约为其数倍^[20]。因此, 本研究所制备壳聚糖的分子量特征符合真菌源壳聚糖整体分子量偏低的特点, 且较低分子量壳聚糖通常具有较好的溶解性与加工适应性^[21], 不仅有利于其在活性物质递送材料的应用, 也为本研究中水凝胶体系的构建与性能调控提供了良好的材料基础。

DD 系列样品由碱处理结合再乙酰化制得(乙酸酐添加量: 0、26、79、132 μL), MW 稳定在 110~114 kDa, DD 分别约为 90%、85%、75%和 65%, 因而命名为 DD-90、DD-85、DD-75 和 DD-65。常规碱脱乙酰过程中, 随着脱乙酰度的提高, 分子链可能发生降解, 因而壳聚糖分子量通常呈下降趋势^[22], 本研究样品未呈现该对应关系, 是因为通过超声辅助降解与再乙酰化分别实现了 MW 与 DD 的调控, 可通过单一变量控制, 明确两个参数对壳聚糖水凝胶结构与性能的单独影响规律。

2.2 成胶时间结果分析

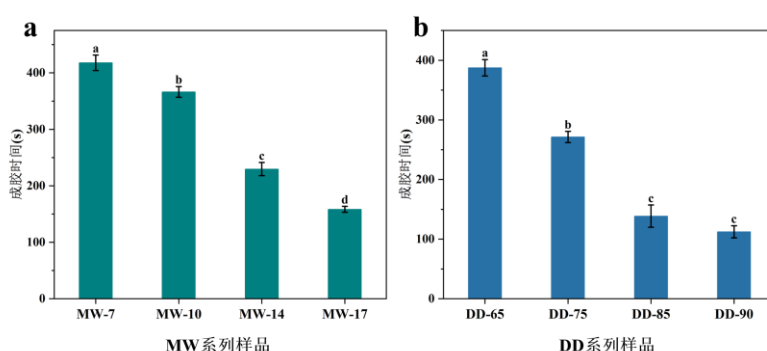


图2 不同分子量和脱乙酰度壳聚糖水凝胶的成胶时间

Fig.2 Gelation time of chitosan hydrogels with different molecular weights and degrees of deacetylation

注: a 为 MW 系列水凝胶; b 为 DD 系列水凝胶。图中不同小写字母表示有显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

图2展示了壳聚糖分子量(MW)与脱乙酰度(DD)对成胶时间的影响。在 MW 系列样品中(图2a), 成胶时间由 MW-7 的 417.83 s 缩短至 MW-17 的 158.39 s, 整体呈现随分子量增加而逐渐缩短的趋势, 且各组之间差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。对于 DD 系列, 成胶时间由 DD-65 的 387.42 s 缩短至 DD-90 的 112.33 s, 整体亦呈显著下降趋势 ($P < 0.05$)。这表明分子量与脱乙酰度的提高均可显著缩短成胶时间, 有利于凝胶的形成。

2.3 傅里叶红外光谱结果分析

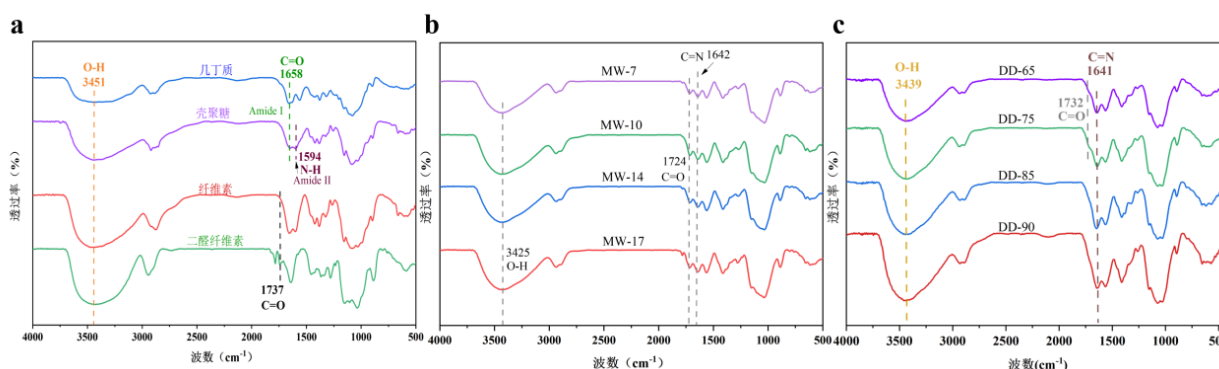


图3 不同分子量和脱乙酰度壳聚糖水凝胶的红外图谱

Fig.3 Infrared spectra of chitosan hydrogels with different molecular weights and degrees of deacetylation

注: a 为原料样品红外光谱; b 为 MW 系列水凝胶红外图谱; c 为 DD 系列水凝胶红外图谱。

采用傅里叶红外光谱分析原料及 DAC-CS 水凝胶的化学结构(图 3a~c)。图 3a 中,几丁质与壳聚糖在 3451 cm^{-1} 和 1658 cm^{-1} 处分别为 O-H 伸缩振动峰和酰胺 I 带 C=O 振动峰,其中壳聚糖在 1594 cm^{-1} 出现酰胺 II 带 N-H 特征峰,这是壳聚糖形成的标志^[8]。相较于纤维素,二醛纤维素(DAC)在 1737 cm^{-1} 处出现醛基 C=O 伸缩振动峰^[23],证实醛基成功引入。

图 3b、c 显示,水凝胶的主要特征峰包括: 3439 cm^{-1} (O-H/N-H 伸缩振动)^[24], $1724\sim 1732\text{ cm}^{-1}$ (C=O 伸缩振动)^[23], $1641\sim 1642\text{ cm}^{-1}$ (C=N 伸缩振动)^[23]。研究表明,席夫碱键(C=N)的出现和 DAC 醛基峰(C=O)与 CS 的(N-H)特征峰减弱或消失标志着席夫碱交联的发生^[23]。对于 MW 系列水凝胶样品(图 3b),其主要特征峰位置基本一致,表明分子量变化未改变水凝胶的化学交联方式。

相比之下,DD 系列水凝胶则表现出部分差异(图 3c)。随着 DD 的提高,参与反应的氨基数量增加, 1641 cm^{-1} 处的 C=N 特征峰增强,同时 1732 cm^{-1} 的醛基吸收峰减弱甚至消失;而低 DD 样品(DD-65、DD-75)可能因氨基含量不足,无法完全消耗 DAC 醛基,仍存在较明显醛基峰,这可能与部分醛基未参与反应相关。因此,FTIR 结果不仅表明了 CS 与 DAC 之间席夫碱键的成功形成,还说明分子量改变可能通过分子链缠结影响水凝胶网络结构,并未改变其化学交联方式,脱乙酰度则可通过调控氨基含量影响席夫碱反应程度。

2.4 扫描电子显微镜结果分析

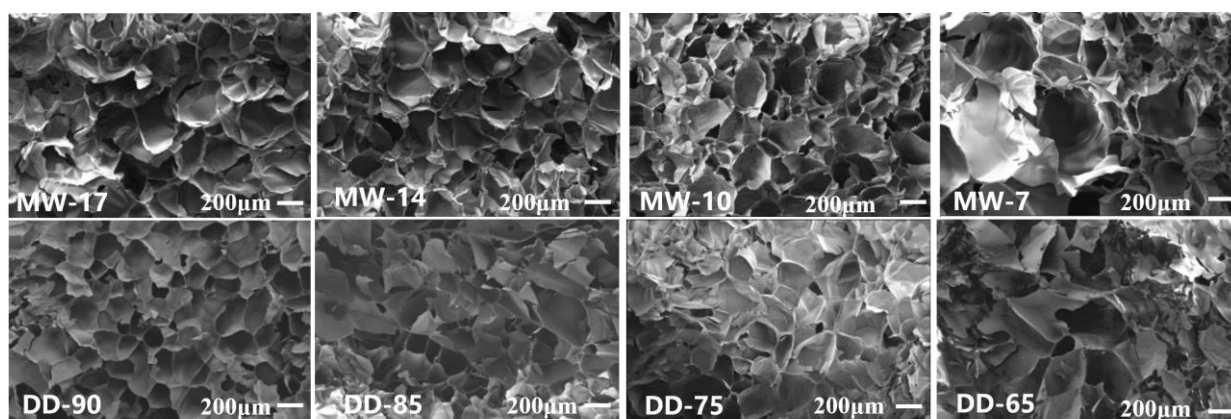


图 4 不同分子量和脱乙酰度壳聚糖水凝胶的电镜图

Fig.4 SEM images of chitosan hydrogels with different molecular weights and degrees of deacetylation

图 4 显示 DAC-CS 水凝胶整体形貌相似,均呈现典型蜂窝状多孔结构。与此同时,从代表性图像的对比中仍可观察到一定趋势:随壳聚糖分子量或脱乙酰度的升高,孔结构有致密化的倾向。例如, MW-17 和 DD-90 样品的孔隙较之 MW-7 和 DD-65 样品略显紧凑。在 Yan 等^[25]的研究中,随着右旋糖苷 Mw 的增加,水凝胶的孔径减小,结构也变得致密。Barleany 等^[26]报道虾壳壳聚糖脱乙酰度越高,壳聚糖水凝胶交联程度增加。壳聚糖分子量与脱乙酰度的提高可能对水凝胶孔结构产生一定的致密化影响。

2.5 流变学结果分析

应变曲线可判断水凝胶线性粘弹区并评估结构稳定性。由图 5a、b 可知, MW 和 DD 系列水凝胶在 $0.1\%\sim 10\%$ 应变范围内,储能模量(G')和损耗模量(G'')保持恒定,此为线性粘弹区^[27]。该区域内形变不破坏网络结构,且 G' 远大于 G'' ,表明样品均表现为典型弹性固体行为。其中, MW-17 与 DD-90 样品均展现出最高的 G' 值,反映出更优异的弹性强度。应变超出线性粘弹区后, G' 显著下降、 G'' 上升,水凝胶由弹性向粘性转变,二者交点即为临界应变^[28]。MW-17 与 DD-90 的临界应变分别为 158.63% 和 115.47% ,均高于各自对应组别(MW-7、DD-65)。

频率扫描可用于评估水凝胶在不同角频率下的粘弹性行为。图 5c、d 表明,所有样品均表现为 G' 高于 G'' 且无交叉,表明形成了稳定的弹性主导网络结构;且 G' 与频率依赖性较弱,表明凝胶结构稳定。随着分子量增加, G' 值略有上升,表明高 MW 有利于增强网络强度^[29]。对于 DD 系列样品, G' 随频率增加亦轻微上升,表明体系在高频条件下弹性响应增强。综上所述,提高壳聚糖的分子量和脱乙酰度可增强水凝胶抵抗形变的能力和粘弹性,促进形成更稳定的凝胶网络结构。

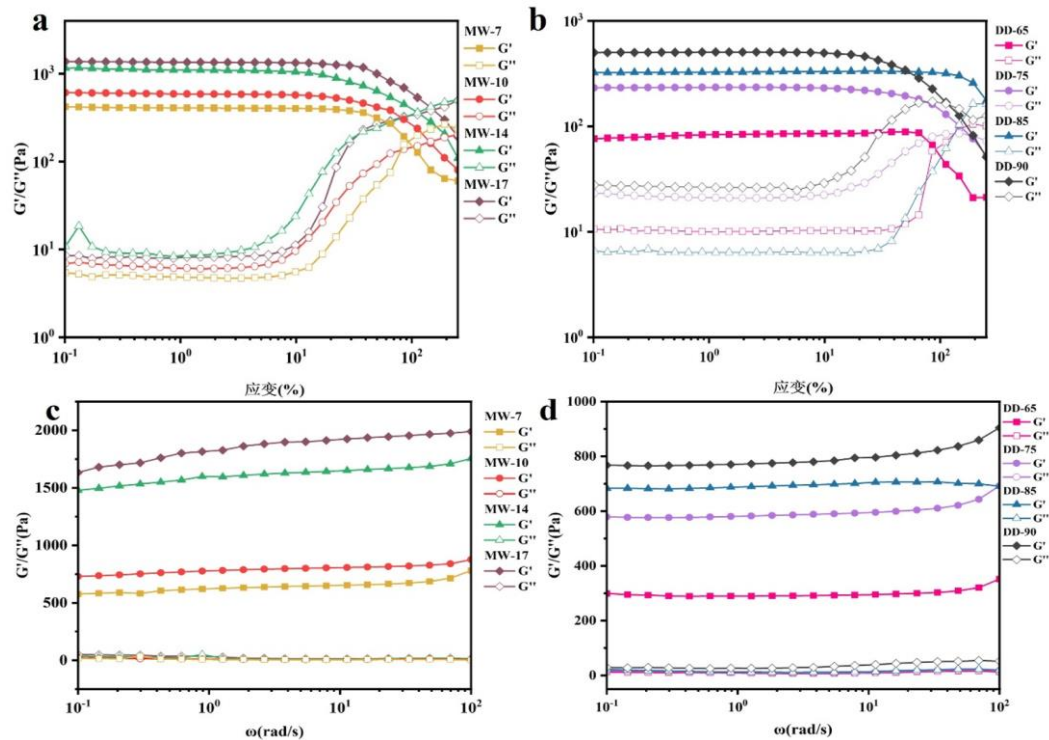


图 5 不同分子量和脱乙酰度壳聚糖水凝胶的应变扫描和频率扫描

Fig.5 Strain scans and frequency scans of chitosan hydrogels with different molecular weights and degrees of deacetylation

注：图 a：MW 水凝胶应变扫描；图 b：DD 水凝胶应变扫描；图 c：MW 水凝胶频率扫描；图 d：DD 水凝胶频率扫描。

2.6 溶胀性能与孔隙率分析

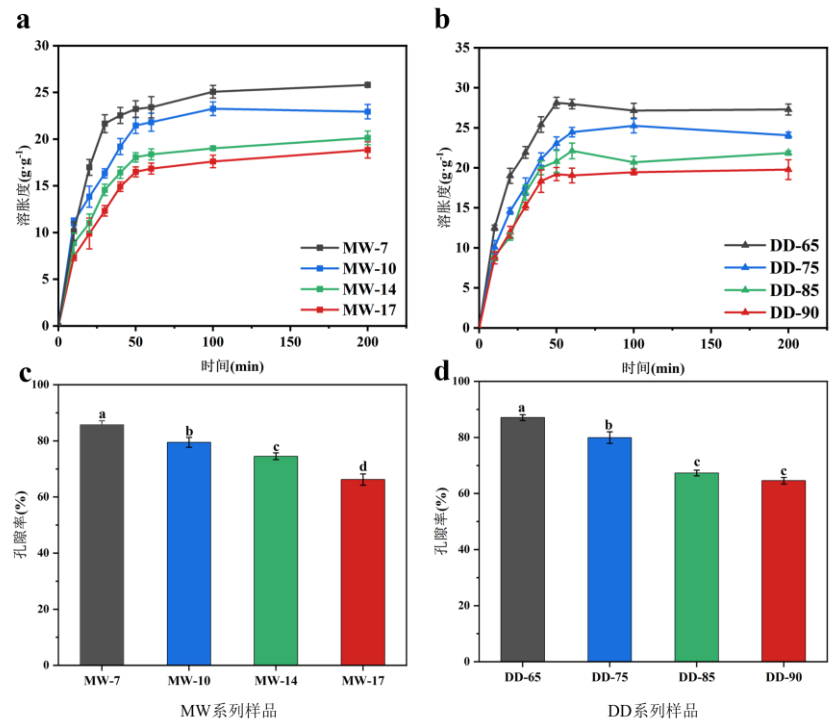


图 6 不同分子量与脱乙酰度壳聚糖水凝胶的溶胀行为与孔隙率

Fig.6 Swelling behavior and porosity of chitosan hydrogels with different molecular weights and degrees of deacetylation

注：图 a：MW 水凝胶的溶胀曲线；图 b：DD 水凝胶的溶胀曲线；图 c：MW 水凝胶的孔隙率；图 d：DD 水凝胶的孔隙率。
水凝胶的溶胀行为是生物活性成分输送的重要因素。如图 6a、b 所示，各样品的溶胀度随壳聚糖分子量(MW)

和脱乙酰度(DD)的变化呈现出一定规律:低 MW 和低 DD 样品的溶胀度较高,其中 MW-7 和 DD-65 分别达到 25.81 g g^{-1} 和 28.29 g g^{-1} ,而随着 MW 和 DD 的增加,溶胀度逐渐降低, MW-17 和 DD-90 分别降至 18.84 g g^{-1} 和 19.77 g g^{-1} 。图 6c、d 展示了 MW 和 DD 系列水凝胶孔隙率的结果。其中, MW-7 和 DD-65 样品的孔隙率分别为 85.75% 和 87.10%,而 MW-17 和 DD-90 则分别降至 66.23% 和 64.59%。总体而言,随着壳聚糖分子量或脱乙酰度的提高,水凝胶孔隙率均显著下降 ($P<0.05$)。Bakar 等^[30]通过制备香草酸接枝壳聚糖水凝胶薄膜,亦发现随壳聚糖分子量升高,接枝凝胶的溶胀率逐渐降低。

由以上结果可知,壳聚糖 MW 与 DD 对水凝胶的溶胀性能及孔隙结构具有显著影响。结合扫描电镜结果可以发现,在 MW 系列中,随着 MW 的增加,水凝胶孔结构逐渐转变为致密,孔径减小。这可能是由于较高分子量对应更长的分子链,增强了链间缠结作用,从而构建更紧密的三维网络结构。该致密结构限制了水分子向网络内部的扩散与渗透,因此表现为溶胀度降低及孔隙率下降。对于 DD 系列,扫描电镜同样显示,随着 DD 的提高,水凝胶孔结构逐渐收缩。其原因可能在于较高脱乙酰度样品具有更多游离氨基。据 Barleany 等^[26]分析,氨基可作为活性位点与二醛纤维素发生席夫碱反应,从而提高交联密度;另一方面,在水环境中部分氨基发生质子化,增强分子链间的静电作用与氢键作用。这些因素共同促进网络结构致密化,与 SEM 观察到的孔径减小和孔隙率降低相一致。同时,更高的交联程度有效限制了水分子的吸附与扩散,导致溶胀能力进一步降低。

2.7 体外降解行为分析

水凝胶的生物可降解性对于药物递送方面应用至关重要^[31]。如图 7a 所示,不同分子量壳聚糖水凝胶在模拟水解液中的质量残留率随时间均呈下降趋势,但降解速率存在明显差异 ($P<0.05$)。其中, MW-7 和 MW-10 样品的质量损失较快,在 30 h 时其剩余质量分别降至原本的 36.43% 和 42.60%,相较于其他样品表现出更快的降解行为。这一结果表明,低分子量壳聚糖构建的水凝胶网络在该条件下更易发生结构崩解。

另一方面,图 7b 显示不同脱乙酰度壳聚糖水凝胶降解曲线呈现出随 DD 增高而降解减缓。高 DD 样品(DD-90)降解速率在 30 h 时保持约 57.09% 的残余质量。而低 DD 样品(DD-65),在处理过程中的前 10 h 内降解迅速,质量残留率降至 50.68%,随后持续降解,30 h 质量剩余率只有 41.98%。因此,提高脱乙酰度有助于延缓水凝胶的降解过程。

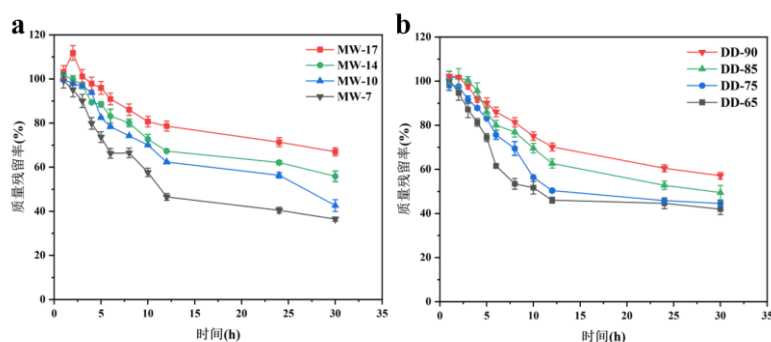


图 7 不同分子量和脱乙酰度壳聚糖水凝胶的体外降解曲线

Fig.7 In vitro degradation curves of chitosan hydrogels with different molecular weights and degrees of deacetylation

注:图 a 为 MW 系列水凝胶体外降解曲线;图 b 为 DD 系列水凝胶体外降解曲线。

2.8 水凝胶控释行为及其动力学分析

图 8a、b 显示, DAC-CS 水凝胶体系均呈现典型的两阶段释放模式:初期快速释放,后期进入缓慢持续释放阶段。由图 8a 可知,不同分子量水凝胶的累积释放率存在显著差异 ($P<0.05$)。MW-7 水凝胶在 1 h 内累积释放 5-FU 高达 85.86%,24 h 时累积释放率达 96.03%,表现出明显的突释效应;而高分子量 MW-17 水凝胶在 1 h 与 24 h 累积释放率仅为 54.23% 和 83.10%,释放速率放缓。这表明壳聚糖分子量越高,释放越平缓。

图 8b 展示了不同脱乙酰度水凝胶的 5-FU 释放曲线。DD-65 表现出最快的释放速率,1 h 与 24 h 累积释放率分别为 77.96% 和 95.81%;DD-90 释放最为缓慢,1 h 和 24 h 对应累积释放率仅为 60.77% 和 82.89%,DD-85、DD-75 则呈现中间水平。结果表明,提高壳聚糖脱乙酰度可增强交联密度,有效延缓 5-FU 释放,提升释放行为的稳定

性与持续性。此外,高 MW 和高 DD 水凝胶在释放后期曲线虽趋于平稳,但其累计释放率仍低于低 MW 和低 DD 样品,这可能是由于较致密的网络结构使 5-FU 被滞留于水凝胶内部,后期释放极其缓慢,在实验时间范围内难以完全扩散释放,从而导致最终累计释放率较低。

通过 Higuchi 模型与 Korsmeyer-Peppas 模型对释放曲线进行拟合(图 8c~f),得出控制释放动力学参数(表 2)及决定系数(R^2),其中 Korsmeyer-Peppas 模型 R^2 高于 Higuchi 模型,表明其拟合优度更佳。Korsmeyer-Peppas 模型的释放指数 n 可用于判断释放机制:对于圆柱形凝胶体系, $n \leq 0.45$ 表示 Fickian 扩散(扩散控制), $0.45 < n < 0.89$ 表示非 Fickian 扩散(扩散与骨架溶蚀协同作用), $n \geq 0.89$ 则对应于溶蚀控制释药^[32]。由表 2 的拟合结果可知,MW-17 的 n 值为 0.39 (< 0.45),释放以 Fickian 扩散控制;MW-14 的 n 值为 0.46,略高于 0.45,因而释放仍以扩散为主导,仅伴随极微弱的骨架松弛作用,表明此时水凝胶仍主要依靠 5-FU 内外浓度差进行溶胀扩散进行控制释放。而低分子量的 MW-10、MW-7 的 n 值分别为 0.64、0.81 (> 0.45),属于典型的非 Fickian 扩散,表明其释放由药物扩散与凝胶骨架松弛溶蚀协同控制。另一方面,在 DD 系列水凝胶中,所有样品的 n 值均低于 0.45,释放行为均以 Fickian 扩散为主导。

综上所述,较高 MW 与 DD 形成的致密网络有效限制药物扩散,表现为更缓慢且稳定的释放过程。其中,MW 的提高还导致控释机制由非 Fickian 向 Fickian 扩散转变,而 DD 的变化对控释机制影响较小。因此,低分子量或低脱乙酰度样品更适用于快速释放,而高分子量或高脱乙酰度样品更具缓释潜力,该结果可为不同释放需求下壳聚糖水凝胶的设计提供依据。

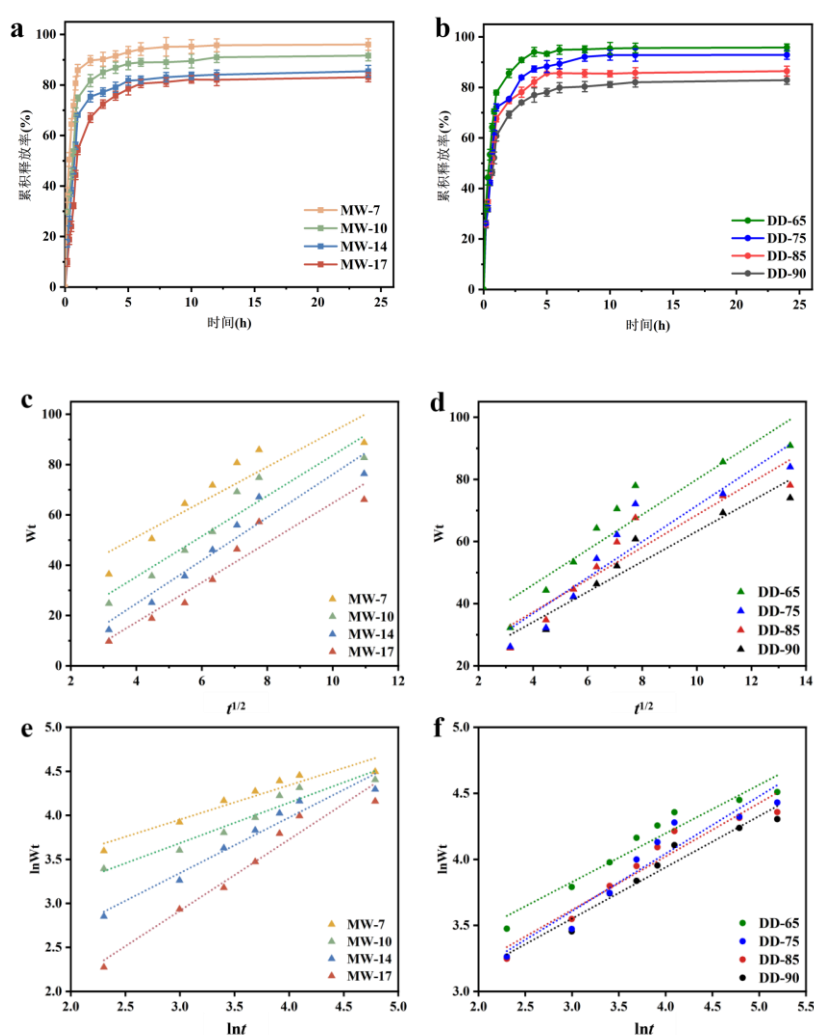


图 8 水凝胶的累积释放曲线及其模型拟合曲线

Fig.8 Cumulative release curves of hydrogels with different MW and DD model fitting results

注:图 a、c、e 依次为 MW 水凝胶释放曲线、higuchi 模型拟合曲线、Korsmeyer-Peppas 模型拟合曲线;图 b、d、f 依次为 DD

水凝胶释放曲线、higuchi 模型拟合曲线、Korsmeyer-Peppas 模型拟合曲线。

表 2 水凝胶中 5-FU 缓释动力学参数

Table 2 Hydrogel drug release kinetic parameters						
样品		Higuchi 模型		korsmeyer-Peppas 模型		
		R ²	k	R ²	n	K
MW 系列	MW-7	0.829 2	6.983 3	0.950 9	0.808 4	1.636 4
	MW-10	0.880 4	8.046 6	0.9471 7	0.640 6	4.278 1
	MW-14	0.911 6	8.566 9	0.926 5	0.459 2	10.051 3
	MW-17	0.910 4	7.904 4	0.921 9	0.390 2	16.143 2
DD 系列	DD-65	0.875 5	5.646 6	0.933 5	0.368 2	15.242 7
	DD-75	0.866 2	5.780 8	0.917 0	0.350 2	10.622 3
	DD-85	0.874 9	5.204 1	0.932 3	0.404 4	11.072 9
	DD-90	0.910 1	4.864 7	0.957 7	0.388 4	10.877 5

3 结论

本研究初步阐明了猴头菇壳聚糖分子量（MW）与脱乙酰度（DD）对水凝胶网络结构及控释性能的影响。研究发现，MW 和 DD 提高有利于促进水凝胶的形成，且有利于形成更致密、粘弹性更强的网络结构，表现为高 MW 和高 DD 溶胀度和孔隙率较低。同时，MW 系列和 DD 系列水凝胶释放均符合 Korsmeyer-Peppas 模型。其中，高 MW（MW-17、MW-14）为扩散释放机制；而低 MW（MW-10、MW-7）为扩散和骨架溶蚀机制控制，其主要影响因素既包括水凝胶内外 5-FU 浓度差引起的扩散，又包括由于低 MW 水凝胶结构崩解导致的 5-FU 释放。DD 水凝胶均为 Fickian 扩散机制，主要由于水凝胶溶胀和 5-FU 内外浓度差导致。本研究以亲水性小分子 5-FU 为模型药物，揭示了分子参数—网络结构—释放行为之间的内在关系，可为其他活性成分的控释载体设计提供借鉴，也为壳聚糖基席夫碱水凝胶及其他多糖基水凝胶在控释体系中的结构设计与性能优化提供理论依据。然而，本研究仅在体外模拟条件下探讨了水凝胶的释放性能，其不同食品活性成分体系及复杂生理环境下的释放性能仍需进一步验证。

参考文献

[1] OYEDEJI S, PATEL N, KRISHNAMURTHY R, et al. Agricultural wastes to value-added products: economic and environmental perspectives for waste conversion [M]. Biowaste to Value-Added Products: Economics and Technologies, 2024: 215-248.

[2] 廖晶.猴头菇加工余渣中几丁质的提取、改性及多尺度结构变化对凝胶性能的影响机制[D].广州:华南理工大学,2021.

[3] YIN L, LI H, XING R, et al. Fungal and Microalgal Chitin: Structural Differences [J]. Functional Properties, and Biomedical Applications. Polymers, 2025, 17: 2722.

[4] SANDRA P O, DAVID A R, DIANA M E, et al. Comparison of extraction methods of chitin from *Ganoderma lucidum* mushroom obtained in submerged culture [J]. BioMed Research International, 2014, 2014: 169071.

[5] 李智,郑碧瑞,杜官本,等.二醛纤维素基复合材料研究进展[J].热固性树脂,2023,38(6):39-47.

[6] HEBAT-ALLAH S. T. Microwaved Schiff base dialdehyde cellulose-chitosan hydrogels for sustained drug release with DFT calculations [J]. BMC Chemistry, 2025, 19(1): 114.

[7] KANNAN M, ABIRAMI R G, THIRUNAVUKKARASU M, et al. Recent insights into the extraction, characterization, and bioactivities of chitin and chitosan from insects [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 105: 17-42.

[8] MARIAH A M, KOBUN R. Characterization of chitosan derived from mushroom sources: physicochemical, morphological, thermal analysis [J]. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2024, 40: 101624.

[9] WANG L L, DING J, FANG Y, et al. Effect of ultrasonic power on properties of edible composite films based on rice protein hydrolysates and chitosan [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2020, 65: 105049.

[10] JONAS L, DANIEL O C, MARIA S, et al. Convenient one-pot formation of 2,3-dialdehyde cellulose beads via periodate oxidation of cellulose in water [J]. Biomacromolecules, 2014, 15(5): 1928-1932.

- [11] LEI J., ZHANG J., LI K., et al. Pretreatment of shrimp shells with an acidic deep eutectic solvent system for chitin extraction and its enhanced performance as a carrier for immobilized lipase [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 264: 130774.
- [12] 朱静毅,王威,房克慧,等.不同壳聚糖黏均分子量测定[J].中国药业,2020,29(23):33-35.
- [13] 王意若.基于 DESs 法提取甲壳素及制备壳聚糖的工艺和机理研究[D].哈尔滨:哈尔滨工业大学,2025.
- [14] COLLINS N E, MAYYA V U, ROMAN O O. Study the influence of treatment temperature on the gelation time and physicochemical properties of chitosan and oxidized pullulan hydrogel [J]. Polymer Bulletin, 2025, 82(14): 1-17.
- [15] YANG J, SHEN M Y, WU T, et al. Role of salt ions and molecular weights on the formation of *Mesona chinensis* polysaccharide-chitosan polyelectrolyte complex hydrogel [J]. Food Chemistry, 2020, 333: 127493.
- [16] WANG X, ZHANG D, WANG J, et al. Succinyl pullulan-crosslinked carboxymethyl chitosan sponges for potential wound dressing [J]. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 2016, 66(2): 61-70.
- [17] ZHONG Y J, YU Y, PENG Y G, et al. Construction of Schiff base dynamically cross-linked pH-responsive chitosan-based hydrogels and investigation of their targeted oral delivery performance for vitamin B12 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 316(1): 144478.
- [18] ZENG L D, HE J J, CAO Y, et al. Tissue-adhesive and highly mechanical double-network hydrogel for cryopreservation and sustained release of anti-cancer drugs [J]. Smart Materials in Medicine, 2021, 2: 229-236.
- [19] MOTIA A, SYED M, AYAN R H, et al. A review on chitosan and chitosan-based bionanocomposites: Promising material for combatting global issues and its applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 185: 832-848.
- [20] SIMONA S, OANA C, ANCA O, et al. Antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activity of chitosan preparations extracted from *Ganoderma lucidum* mushroom [J]. Chemistry & Biodiversity, 2020, 17(7): e2000175.
- [21] ADRIANA P, FELIPPE J P, JORGE A M D, et al. Low molecular-weight chitosans are stronger biomembrane model perturbants [J]. Colloids & Surfaces B: Biointerfaces, 2013, 104: 48-53.
- [22] CECILIO C, CARLOS B, FRANCISCO C, et al. Effect of deacetylation degree and molecular weight on surface properties of chitosan obtained from biowastes [J]. Food Hydrocolloids, 2023, 137: 108383.
- [23] JIA R, HUANG L, ZOU M, et al. Development of a high-performance natural edible film from chitosan, dialdehyde cellulose, and proanthocyanidin with enhanced antioxidant activity [J]. Food Hydrocolloids, 2025, 163: 111053.
- [24] NURAN Ç, CENGİZ A Z, MEHMET T. Chitosan-based Schiff base compounds: synthesis, chemical characterization and antibacterial properties [J]. Journal of Fluorescence, 2025, 35(10): 1-11.
- [25] YAN S Z, WU S Y, ZHANG J X, et al. Controlled release of curcumin from gelatin hydrogels by the molecular-weight modulation of an oxidized dextran cross-linker [J]. Food Chemistry, 2023, 418: 135966.
- [26] DHENA R B, JAYANUDIN J, NASIHIN N, et al. Hydrogel preparation from shrimp shell-based chitosan: the degree of crosslinking and swelling study [J]. Journal of Chemical Engineering, 2023, 23(1): 28.
- [27] CHEN L L, DAI Y Y, HOU H X, et al. Effect of high pressure microfluidization on the morphology, structure and rheology of sweet potato starch [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 115: 106606.
- [28] MAO J H, XIAO H, LI Y, et al. Self-healing, adhesive, hemostasis and anti-inflammation with a Schiff base-crosslinked injectable hydrogel for burn wound healing [J]. Applied Materials Today, 2025, 46: 102906.
- [29] NELMARY R, FREDERIC B, THIERRY D, et al. Chitosan-based hydrogels: influence of crosslinking strategy on rheological properties [J]. Carbohydrate Polymers, 2024, 341: 122329.
- [30] BÜŞRA B, SİBEL SELÇUK P, EMRE B, et al. Unveiling the effect of vanillic acid grafted chitosan hydrogel molecular weight on physical, antioxidant, and antimicrobial properties for food packaging applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 256(1): 128397.
- [31] MENG W, TOMONORI I, YU I H, et al. Preparation of pH-responsive poly (γ -glutamic acid) hydrogels by enzymatic cross-linking [J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2022, 8(2): 551-559.
- [32] REN J Y, JIN J R, WANG Y Z, et al. Preparation and drug release behavior study of intelligent pH-responsive sodium alginate/ κ -carrageenan polysaccharide-based hydrogels [J]. Food Bioscience, 2025, 64: 105975.