

层状壳聚糖水凝胶的制备与性能

倪茂君 陈屿恒 陈竹平 郭丹 王静霞

(四川省原子能研究院 成都 610101)

摘要 通过两步低温辐射和冷冻/解冻循环相结合的方法制备聚乙烯醇/聚氧乙烯(PVA/PEO)为基层, 聚乙烯醇/壳聚糖(PVA/CS)为上层抗菌功能层的层状壳聚糖水凝胶。通过对吸收剂量、电子束流、聚合物溶液浓度等的研究确定最佳制备工艺, 并通过溶胀性能、力学性能、抗菌性能及红外光谱和扫描电镜表征所得层状水凝胶的结构与性能。结果表明, 该方法制备的层状壳聚糖水凝胶具有明显的层状结构, 层间结合紧密, 壳聚糖结构未改变; 层状水凝胶的溶胀性能随着壳聚糖含量增大而逐渐增大, 60%CS含量平衡溶胀度达到2200%; 层状水凝胶力学强度随着壳聚糖含量增加而先增大后减小, 40%CS含量下层状水凝胶从PVA/PEO凝胶的0.35 MPa提高到0.47 MPa; 抗菌性能测试表明层状水凝胶对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有明显的抑菌效果, 抑菌性能随着壳聚糖含量的提高而增大。

关键词 层状水凝胶, 低温辐照, 壳聚糖, 抗菌性, 力学强度

中图分类号 TL13

DOI: 10.11889/1000-3436.2017.rj.35.010301

Preparation and properties of layered chitosan hydrogel

NI Maojun CHEN Yuheng CHEN Zhuping GUO Dan WANG Jingxia

(Sichuan institute of atomic energy, Chengdu 610101, China)

ABSTRACT The layered chitosan hydrogels were prepared by a two-step method of low temperature irradiation and freeze/thaw cycle. The poly (vinyl alcohol)/poly (ethylene oxide) (PVA/PEO) was the basic layer and the poly (vinyl alcohol)/chitosan (PVA/CS) was the second layer with antibacterial property. The best preparation technology was selected by the research of absorbed dosage, electron-beam current and concentration of polymer solution. And the structure and properties of the layered hydrogel were characterized by FTIR and SEM, swelling test, mechanical test and antibacterial test. The results showed that the layered hydrogel prepared by this method had an obvious layered structure and closely interlayer combination, there was no significant structural changes. The swelling property increased gradually with the increasing of chitosan content, and the equilibrium swelling degree of 60% CS reached 2200%. The mechanical strength of layered hydrogel increased firstly and then decreased with the increasing content of chitosan. The tensile strength of layered chitosan with 40% CS increased from 0.35 MPa of PVA/PEO hydrogel to 0.47 MPa. The antibacterial test showed that the layered hydrogels had obviously antibacterial effects on *Escherichia coli* and staphylococcus, and the antibacterial effects increased with the increasing content of chitosan.

基金资助: 四川省国际合作计划项目(2015HH0046)

第一作者: 倪茂君, 女, 1982年10月出生, 2009年于华南理工大学获理学硕士学位, 高分子化学与物理专业, 助理研究员, 从事生物医用材料的辐射改性与制备研究工作, E-mail: nimaofun-332@163.com

通讯作者: 陈竹平, 研究员, E-mail: czp009@163.com

收稿日期: 初稿 2016-11-3; 修回 2017-1-6

Supported by International cooperation projects of Sichuan province (2015 HH0046)

The first author: Ni Maojun (female) was born in October 1982, and received her master's degree in Science of South China University of Technology in 2009, polymer chemistry and physics, assistant professor, engaging in radiation modification of biomaterials and preparation, E-mail: nimaofun-332@163.com

Corresponding author: CHEN Zhuping, professor, E-mail: czp009@163.com

Received 3 November 2016; accepted 6 January 2017

KEYWORDS Layered hydrogel, Low temperature irradiation, Chitosan, Antibacterial property, Mechanical strength

CLC TL13

壳聚糖作为一种来源丰富的天然高分子,具有良好的止痛、促愈合、止血和抑菌活性等作用,是创伤敷料的热门材料之一^[1-2],目前相关研究及应用形态包括壳聚糖膜、海绵及水凝胶等。水凝胶因具有与细胞基质类似的三维多孔结构,有利于携带氧气运输养料和代谢产物,促进组织生长,为伤口创造湿润的愈合环境,并且可以吸附伤口渗出液,被广泛应用到创伤修复方面。壳聚糖水凝胶兼具壳聚糖止血、促愈合和抑菌等特点及水凝胶的优点,在创伤修复方面有极大的优势,但是,壳聚糖力学性能较差,目前多为喷雾或涂抹凝胶剂,限制了其应用范围,因此,改善壳聚糖水凝胶的力学性能和微观结构等成为研究热点,包括壳聚糖分子结构设计和分子交联等。分子交联可有效改善凝胶的网络结构,提高力学性能,是壳聚糖水凝胶改性研究的主要方法,常用交联方式包括:物理交联^[3-4]、化学交联^[5-10]和辐射交联^[11-15]等。物理交联耗时长、凝胶不透明;化学交联中交联结构易控制,但存在着引发剂和交联剂的生物毒性等安全隐患;辐射交联具有安全高效的优点,但壳聚糖是辐射降解性材料,辐射法交联壳聚糖水凝胶中其含量普遍较低。

双层水凝胶中两层结构为水凝胶的应用提供了更多的应用空间,可有效利用上下层结构与功能的差异实现材料性能的提升^[16-18],一直以来受到研究者的青睐。本研究在前人研究基础上,重点研究高壳聚糖含量层状水凝胶的制备与性能,将具有较高机械性能的聚乙烯醇/聚氧乙烯(PVA/PEO)复合层作为基层赋予水凝胶一定的力学强度,将聚乙烯醇/壳聚糖(PVA/CS)复合层作为抗菌功能层,通过辐照交联与冻融循环相结合的方法制备功能型层状水凝胶敷料,有效实现壳聚糖水凝胶的制备与性能提升。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

聚乙烯醇 124(PVA)分析纯,国药集团化学试剂有限公司;壳聚糖(CS)分析纯,脱乙酰度 85%~95%,国药集团化学试剂有限公司;聚氧乙烯(PEO)化学纯,广州市利厚贸易有限公司;牛肉浸膏生化试剂,

北京双旋微生物培养基制品厂;蛋白胨,生化试剂,北京双旋微生物培养基制品厂;氯化钠(NaCl),氢氧化钠(NaOH)分析纯,成都市科龙化工试剂厂。

微机控制电子拉力试验机, CMT 2103, 深圳市新三思计量技术有限公司;扫描电子显微镜(SEM), Inspect F50, 美国 FEI 公司;红外光谱仪, Nicolet IS10, 赛默飞世尔科技;工业电子加速器(EB), GJ-2 型, 功率 20 kW, 2 MeV, 10 mA, 上海先锋电机厂。

1.2 实验过程

将浓度为 10%的 PVA/PEO 溶液($w_{\text{PVA}}/w_{\text{PEO}}=8/2$)取 8 mL 加入无菌培养皿中,除去气泡后置于 4 °C 冷藏 2 h, EB 辐照 5 kGy(基层,约 1 mm);将壳聚糖溶于含 2%醋酸的 PVA 水溶液中,配制成壳聚糖重量含量分别为 20%、40%、60%、80%的混合溶液,各取 8 mL 加入辐照后的 PVA/PEO 基层上,除去气泡后置于 4 °C 冷藏 2 h, EB 辐照 5 kGy、20 kGy;将辐照后的层状水凝胶样品进行 3 次冷冻/解冻循环(10 h/次),制备成厚度约为 2 mm 的壳聚糖层状水凝胶材料。将该材料用 4%的 NaOH 溶液浸泡 6 h,除去多余酸备用。

取 16 mL PVA/PEO 溶液倒入无菌培养皿中,经除气冷藏后辐照 25 kGy,制备 PVA/PEO 水凝胶样品作为性能评价对照。本文所述壳聚糖含量均为层状水凝胶中上层 PVA/CS 中的 CS 含量。

1.3 测试方法

1.3.1 凝胶含量测定

将制备的层状水凝胶于 50 °C 真空干燥 3 d,裁剪成 2 cm×2 cm 的方片,准确称量(W_0)后加入蒸馏水室温浸泡 3 d,每隔 12 h 换水一次。将洗涤浸泡后的水凝胶置于 50 °C 真空干燥 3 d,称重(W_d),按公式(1)计算水凝胶的凝胶含量,每个样品设 3 个平行样。

$$C_g = \frac{W_d}{W_0} \times 100\% \quad (1)$$

1.3.2 溶胀性能测试

将制备的层状水凝胶于 50 °C 真空干燥 3 d,裁

剪成 2 cm×2 cm 的方片,准确称量后(W_0)浸入 20 mL 左右的蒸馏水,于 37 °C 条件下保温,每隔一定的时间(溶胀初期每 2 h 取样,当样品逐渐趋于平衡溶胀后分别间隔 14 h 和 24 h 取样),小心用镊子夹取水凝胶试样到湿润的滤纸上,吸取表面水分后,迅速称重(W_t);称完后将试样继续放入离心管内溶

胀,直至溶胀平衡。 t 时刻水凝胶的溶胀百分比可由式(2)计算得出。根据计算拟合绘制出不同配比的层状水凝胶的溶胀曲线,每个测试样品设置 3 个平行样。

$$SR = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100\% \quad (2)$$

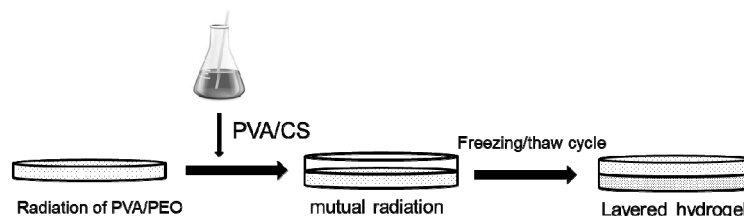


图 1 层状水凝胶制备工艺
Fig.1 Preparation process of layered hydrogel

1.3.3 力学性能

将所制备的水凝胶样品裁成哑铃状,密封条件下在(23±1) °C 平衡 24 h,拉伸性能测试参照 GB/T 1040-1992 标准,拉伸速度 50 mm/min。

1.3.4 红外光谱分析

将辐照前后水凝胶样品于 50 °C 真空干燥 5 d,对壳聚糖层进行表面衰减全反射,扫描次数 16 次,波数范围 600 cm^{-1} ~4 000 cm^{-1} 。

1.3.5 水凝胶结构形貌观察

将制备的层状水凝胶干燥,样品裁成条状,在液氮中冷冻脆断,经表面喷金处理后在 SEM 下观察断面的形貌及结构。

1.3.6 抑菌效果评价

将牛肉浸膏、蛋白胨、NaCl 溶于去离子水,配制成含 0.5%牛肉浸膏、1.0%蛋白胨、0.5% NaCl 的液体培养基,用 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 溶液调 pH 值至 7.2 左右。培养基经 121 °C 高温灭菌后备用。取干燥的水凝胶样品 0.5 g,用 70%乙醇擦拭表面后于紫外灯下干燥灭菌。将灭菌后的水凝胶样品浸入灭菌纯水中充分溶胀 24 h 备用。将上述水凝胶样品分装在 50 mL 三角玻璃瓶中,加入 25 mL 上述液体培养基;大肠杆菌经二次活化后,取对数生长期菌种十倍稀释,将稀释菌液 1.0 mL 加入装有样品与培养基的三角瓶中;玻璃瓶置于 37 °C 恒温摇床中振荡 24 h;用紫外分光光度仪在 600 nm 下测定细菌培养液的浊度(OD),并以此表征水凝胶的抑菌性,同时与 PVA/PEO 水凝胶和不加水凝胶的空白液对照。

2 结果与讨论

2.1 壳聚糖层状水凝胶制备工艺研究

前期对 PVA 水凝胶制备工艺研究中发现,经辐照交联后再进行冷冻/解冻循环,可有效提高水凝胶交联效率,获得具有较高力学强度的水凝胶^[19],本文主要考察辐照对层状水凝胶结构与性能的影响,因此借鉴前期研究结果,采用冷冻/解冻循环时间为冷冻 8 h,解冻 2 h,循环次数为 3 次。区别于一般方法中先通过冻融方式形成基层的方法,本文采用 5 kGy 辐照 PVA/PEO 基层,可实现 PVA/PEO 的快速有效交联,与上层 PVA/CS 之间形成清晰界面,且层状水凝胶透明度高;同时低剂量交联时,交联度低,层间扩散充分,经双层共辐照后,形成交联结构,层间结合紧密。

2.1.1 前处理温度对层状水凝胶凝胶含量的影响

实验选择 3 个具有较大代表性的前处理温度进行辐照温度筛选,其对层状水凝胶凝胶含量的影响如图 2 所示。从图 2 中看出,随着前处理温度的升高,层状水凝胶的凝胶含量先增大后减小,冷冻处理制备的层状水凝胶凝胶含量最低。冷冻后辐照,因聚合物分子链冻结,形成物理交联,降低了分子链段运动能力,导致材料降解,交联度减小。常温辐照时因辐射放热导致分子热动能较大,水凝胶出现气泡及壳聚糖加剧降解,交联度降低。因此采用低温冷藏后辐照的方法制备壳聚糖层状水凝胶。

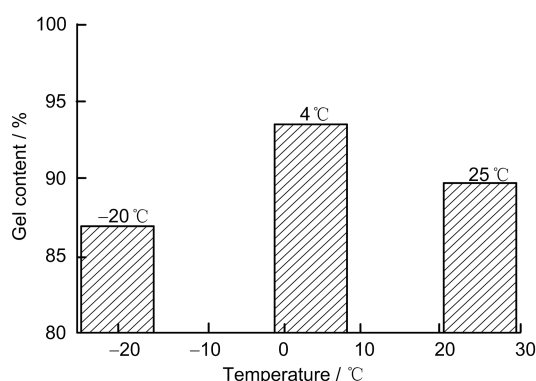


图2 辐射温度对层状水凝胶凝胶含量的影响
Fig.2 Effect of radiation temperature on gel content of layered hydrogel (PVA/CS=80/20; concentration: 10%; EB: 3 mA; absorbed dose: 20 kGy)

2.1.2 吸收剂量对层状水凝胶凝胶含量的影响

随着CS含量增大,PVA/CS溶液粘度快速增大,不利于溶液的流延与脱气,因此,将上层PVA/CS溶液浓度设为6%进行后续研究。根据壳聚糖辐射降解特性及水凝胶辐射交联条件,实验设计两个吸收剂量,5 kGy和20 kGy,剂量率为2 300 Gy/s,其中20 kGy为相同剂量率下累计吸收剂量。层状水凝胶吸收剂量对其凝胶含量的影响如图3所示。结果显示,随着壳聚糖含量增大,不同吸收剂量下层状水凝胶的凝胶含量均逐渐降低,这是由于PVA/CS体系中,壳聚糖是辐射降解性材料,体系中CS含量增大,PVA含量减小,交联点减少,交联度降低。而在相同的CS含量下,低CS含量(20%)时,吸收剂量对凝胶含量影响不明显;随着CS含量增大,吸收剂量对凝胶含量的影响逐渐增大。因为聚合物溶液在辐射过程中同时存在着交联与降解反应,当

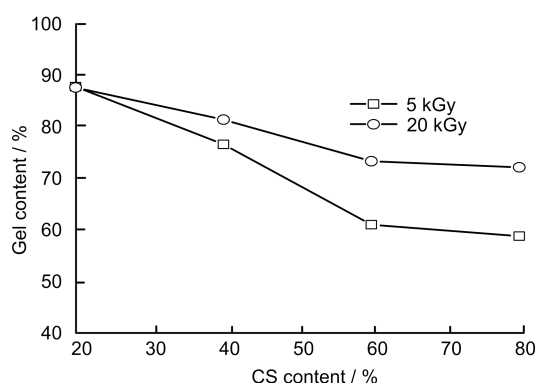


图3 吸收剂量对层状水凝胶凝胶含量的影响
Fig.3 Effect of absorbed dose on gel content of layered hydrogel (PVA/CS concentration: 6%; EB: 3 mA)

吸收剂量较低时,交联反应占主导地位,使得凝胶分数随剂量的增加而增大。

2.1.3 电子束流对层状水凝胶凝胶含量的影响

电子加速器辐照过程中,电子束为直线型,剂量集中稳定,一般通过电子束流与屏蔽控制剂量率。电子束流对层状水凝胶凝胶含量的影响如图4所示,其中3 mA剂量率约2 300 Gy/s;1.5 mA剂量率约1 150 Gy/s。从图4中看出,体系凝胶含量随辐射电子束流的降低而增大,低电子束流有利于层状水凝胶凝胶含量的提高。这是由于电子束流高时,瞬时能量较大,造成壳聚糖的快速降解,同时产生大量不稳定自由基,分子热动能较高,不利于交联反应的进行;低电子束流下,分子热动能降低,PVA与壳聚糖产生的活性自由基易于通过能量最低原则和就近原则与最邻近的自由基结合,形成交联结构。后续研究选择电子束流为1.5 mA辐照。

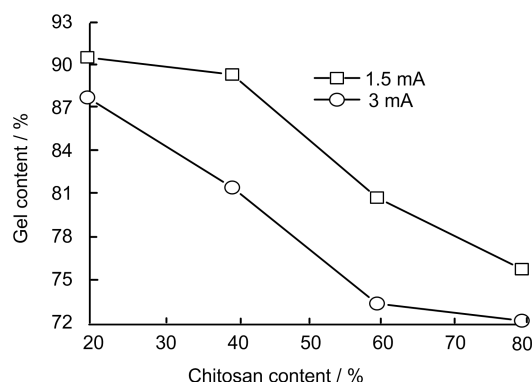


图4 电子束流对层状水凝胶凝胶含量的影响
Fig.4 Effect of EB current on gel content of layered hydrogel (PVA/CS concentration: 6%; absorbed dose: 20 kGy)

2.1.4 PVA/CS溶液浓度对层状水凝胶含量的影响

图5所示为上层PVA/CS浓度对层状水凝胶凝胶含量的影响。浓度增大,水凝胶的凝胶含量增大,当浓度达到80%后凝胶含量降低。通过辐射交联/冻融循环制备层状水凝胶时,上层PVA/CS的交联程度对体系的交联度有较大影响,因此,当CS含量在20%~60%时,随着浓度增大,活性自由基增多,有利于壳聚糖与PVA之间的接枝和交联,提高交联度;当CS含量达到80%后,尽管浓度增大,但上层溶液低温冷藏后形成胶态,分子链的运动能力减小,同时体系中交联点较少,以壳聚糖的降解为主,凝胶含量反而降低。因此,层状水凝胶中CS含量

在 20%~60% 为佳。

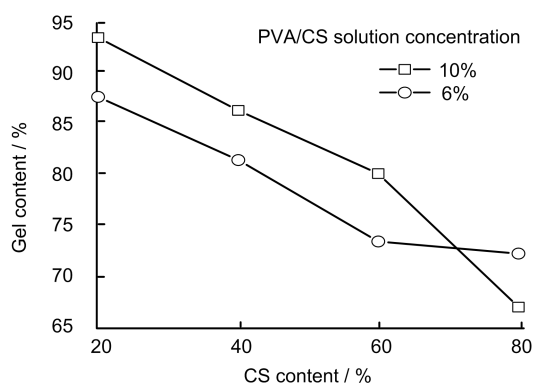


图5 PVA/CS 浓度对层状水凝胶凝胶含量的影响
Fig.5 Effect of PVA/CS concentration on gel content of layered hydrogel (Absorbed dose: 20 kGy; EB current: 1.5 mA)

2.2 层状水凝胶溶胀性能研究

图 6 所示为 PVA/PEO 及层状水凝胶样品的溶胀性能。研究中水凝胶溶胀速率高，同时为真实反应水凝胶溶胀特性，优选最佳配比，未考虑小分子壳聚糖的溶出损失。随着水凝胶中 CS 含量增大，水凝胶平衡溶胀度提高，但平衡溶胀时间延长。PVA/PEO 样品及 20% CS 层状水凝胶样品均在 10 h 内达到溶胀平衡，平衡溶胀度从 PVA/PEO 的 660% 提高到 890%；40% CS 和 60% CS 样品约在 24 h 达到溶胀平衡，平衡溶胀度分别提高到约 1300% 和 2200%；而 80% CS 样品溶胀度低于 60% CS 的样品，且 48 h 平衡溶胀度反而降低。这是由于随着体系中 CS 含量增加，亲水基团增加，交联网络增大，水分子易于浸入和扩散，溶胀性能提高；另一方面，水凝胶上层结构中游离壳聚糖随 CS 含量的增加而提

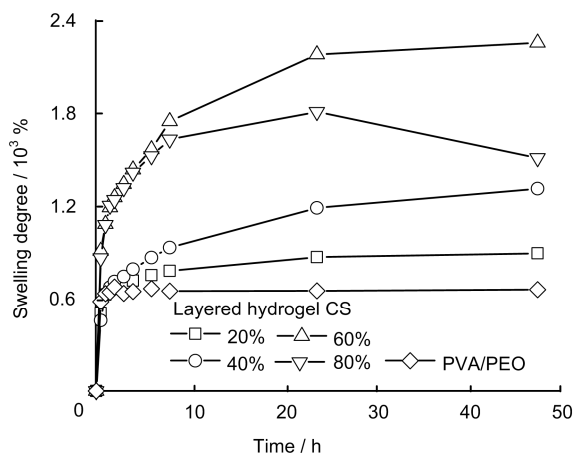


图6 PVA/PEO 和层状水凝胶的溶胀性能
Fig.6 Swelling property of PVA/PEO hydrogel and layered hydrogel

高，在水的浸润扩散中部分游离壳聚糖析出，特别是 80% 含量下，主要以物理交联为主，水凝胶溶胀后大量游离壳聚糖析出，交联网络结构破坏，造成溶胀度反而降低，这一结果与 2.1.4 结果相一致。

2.3 层状水凝胶红外光谱分析

图 7 所示为 60% CS 含量下层状水凝胶辐照前后红外光谱图。从图 7 中可以看出，辐照前后，上层 PVA/CS 红外光谱无明显区别，其化学结构基本无改变。其中， 3281 cm^{-1} 附近是形成氢键缔合的 -OH 伸缩振动吸收峰与 -NH 的伸缩振动吸收峰重叠而增宽的多重吸收峰，辐照后该峰减小，这是 PVA 及 CS 的交联引起的；而 1549 cm^{-1} 处对应的 N-H 吸收峰强度同时向高频移动，说明辐照前后壳聚糖分子间和分子内的氢键被削弱，使游离的氨基特征明显。由此可见辐照过程对聚合物分子的化学结构基本无影响，壳聚糖抑菌性能的主要功能基团 (-NH_2) 未变化，因此其抑菌性得到保持。

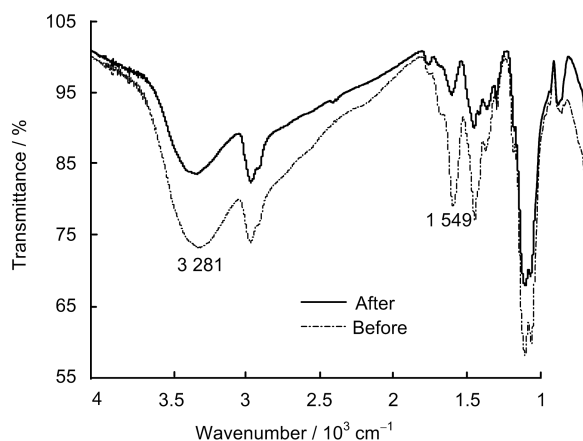


图7 60% CS 含量层状水凝胶辐照前后红外光谱图
Fig.7 FTIR spectrum of layered hydrogel with 60% CS before and after irradiation

2.4 层状水凝胶结构表征

图 8 所示为水凝胶干燥样品断面扫描电镜图及湿凝胶断面照片。从图 8 可知，层状水凝胶具有明显的层状结构，层间结合紧密；随着 CS 含量增大，上层密度逐渐增大，当含量达到 80% 后上下层区别不明显。这是由于 PVA/CS 倒入 PVA/PEO 基层后，分子链在两层界面间扩散形成紧密的层间交联；而随着 CS 含量增大，上层交联度降低，壳聚糖降解导致小分子壳聚糖增多，通过层间扩散导致上下层区别减小。

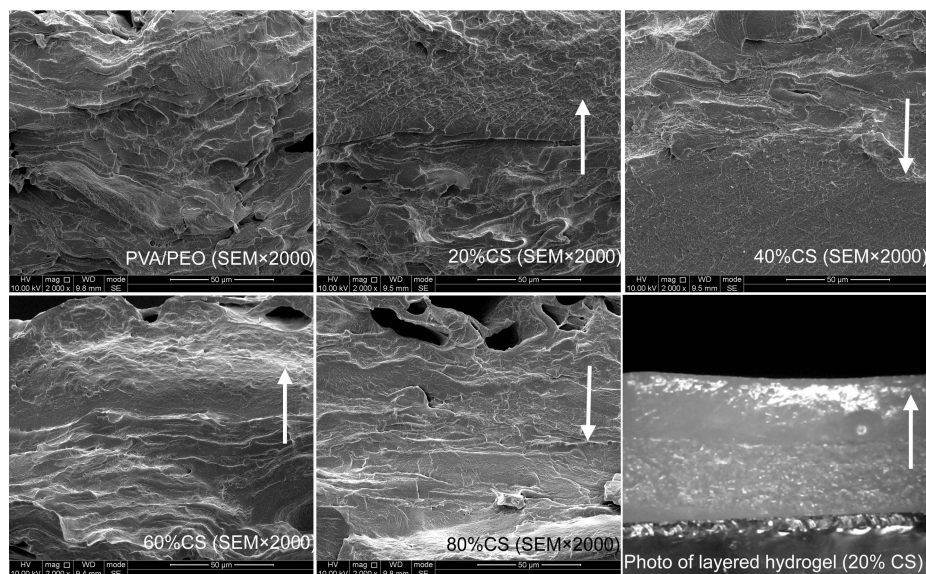


图8 PVA/PEO及层状水凝胶断面结构(箭头所指为上层)
Fig.8 Section structure of PVA/PEO and layered hydrogel (arrow for the upper layer)

2.5 层状水凝胶力学性能测试

图9所示为不同CS含量下层状水凝胶的力学性能。从图9中看出, PVA/PEO水凝胶拉伸强度为0.35 MPa, 与之相比, 层状水凝胶中随着CS含量增大, 拉伸强度先增大后减小, 断裂伸长率逐渐减小, 当上层CS含量为40%时达到最大值0.47 MPa, 这与目前相关研究中^[16]壳聚糖凝胶的力学强度随着壳聚糖含量增大而降低的结果不同。其原因是PVA/PEO水凝胶辐射交联效率高, 导致其在冷冻/解冻循环中形成物理交联较困难, 而层状水凝胶

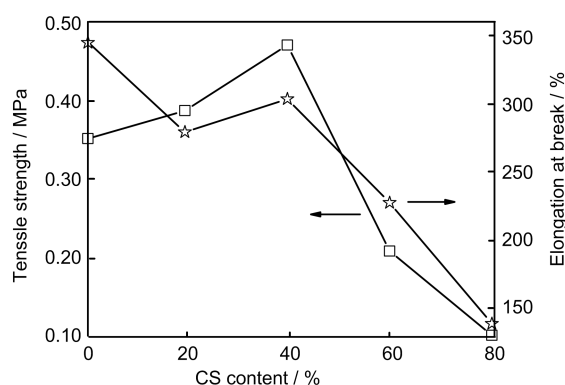


图9 PVA/PEO及层状水凝胶力学性能
Fig.9 Mechanical properties of PVA/PEO and layered hydrogel

中因上层CS的降解, 在冷冻/解冻循环中有利于物理交联结构的形成。当CS含量为20%~40%时, 体系中辐射交联结构较多, 同时形成一定的物理交联, 有利于体系力学强度的提高, 而CS含量继续增大, 则因辐射交联结构的减少, 导致小分子壳聚糖向下层扩散以及上层主要为物理交联, 体系力学强度降低。通过上层壳聚糖分子量、壳聚糖衍生物和大分子复合物等的筛选与复合, 有望改善其交联度, 获得壳聚糖水凝胶性能的进一步提高。

2.6 水凝胶抑菌性能测试

壳聚糖对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌, 如金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、绿脓杆菌、普通变形杆菌和枯草杆菌等均具有抑制作用。本文选择大肠杆菌和金黄色葡萄球菌作层状水凝胶抑菌效果评价, 结果如表1所示。从表1看出, 本文所制备的层状壳聚糖水凝胶中, 壳聚糖含量较高, 样品中两种菌种的OD 600值均明显小于空白对照及PVA/PEO水凝胶样品, 表明其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的增殖具有明显抑制作用, 且随着壳聚糖含量的增加, 其抑菌性能提高; 两种菌种中, 与空白对照及PVA/PEO水凝胶OD 600相比, 壳聚糖层状水凝胶对大肠杆菌的抑制作用优于金黄色葡萄球菌。

表 1 层状水凝胶抑菌性能
Table 1 Antibacterial properties of layered hydrogel

样品 Samples	抑菌性能 Antibacterial performance	
	革兰氏阴性菌 G- 大肠杆菌 <i>E. coli</i>	革兰氏阳性菌 G+ 金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>
空白对照 Blank control	1.202	1.176
PVA/PEO	1.380	1.338
20% CS	0.384	0.406
40% CS	0.361	0.389
60% CS	0.197	0.203
80% CS	0.165	0.170

壳聚糖的抗菌作用主要有以下两种机理^[20]：一种是壳聚糖通过吸附在细胞表面，形成一层高分子膜，阻止了营养物质向细胞内的运输，起到抑菌杀菌作用；另外一种机理是壳聚糖通过渗透进入细胞体内，吸附细胞体内带有阴离子的细胞质，并发生絮凝作用，扰乱细胞正常的生理活动，从而杀灭细菌。对于革兰氏阳性菌，第一种作用机理起主导作用，壳聚糖的分子量大，形成的外层膜越致密，越能更好地阻止营养物质进入细菌细胞，抗菌作用效果更明显。对于革兰氏阴性菌，第二种作用机理起主导作用，壳聚糖分子进入细胞壁的空隙结构内，从而干扰细胞的新陈代谢活动，达到杀菌和抑菌杀死细菌的目的。

3 结论

(1)通过辐射交联和冷冻/解冻循环相结合的方法制备了层状壳聚糖水凝胶，该水凝胶具有明显的层状结构，层间结合紧密；上层壳聚糖结构不改变。(2)层状水凝胶的最佳制备工艺为低温冷藏辐照，吸收剂量 20 kGy，电子束流 1.5 mA，溶液浓度 10%；层状壳聚糖水凝胶中 CS 含量在 20%~60%为佳。(3)与 PVA/PEO 水凝胶相比，层状水凝胶的溶胀性能随着 CS 含量增加而增大，当 CS 含量达到 80%后，则因壳聚糖的辐射降解析出而导致水凝胶的溶胀度降低；与 PVA/PEO 水凝胶相比，层状水凝胶的力学强度随着 CS 含量增加而先增大后减小。(4)层状壳聚糖水凝胶对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有明显抑菌作用。该方法制备层状壳聚糖水凝胶，可通过壳聚糖分子量及上层组分及配比控制，实现层状水凝胶的多功能化和性能提高。

参考文献

- 1 Muzzarell R. Chitins and chitosans for the repair of wounded skin, nerve, cartilage and bone[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, **76**(2): 167-182. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.11.002.
- 2 Jayakumar R, Prabakaran M, Sudheesh K, et al. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing application[J]. Biotechnology Advances, 2011, **29**(3): 322- 337. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2011.01.005.
- 3 Sung J, Hwang M, Kim J, et al. Gel characterization and in vivo evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2010, **392**(1-2): 232-240. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2010.03.024.
- 4 Tsao C, Chang C, Lin Y, et al. Evaluation of chitosan/ γ -poly (glutamic acid) polyelectrolyte complex for wound dressing materials[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, **84**(2): 812-819. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.04. 034.
- 5 Murakami K, Aoki H, Nakamura S, et al. Hydrogel blends of chitin/chitosan, fucoidan and alginate as healing-impaired wound dressings[J]. Biomaterials, 2010, **31**(1): 83-90. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2009.09.031.
- 6 Ahamed M, Sankar S, Mohammed K, et al. Evaluation of biomaterial containing regenerated cellulose and chitosan incorporated with silver nanoparticles[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, **72**: 680-686. DOI: 10.1016/j.ijbiomac. 2014.08.055.
- 7 Zhang L, Li Y, Li L, et al. Non-cytotoxic conductive carboxymethyl chitosan/aniline pentamer hydrogels[J]. Reactive & Functional Polymers, 2014, **82**(17): 81-88. DOI: 10. 1016/j.reactfunctpolym.2014.06.003.
- 8 Gao L, Gan H, Meng Z, et al. Effects of genipin cross-linking of chitosan hydrogels on cellular adhesion and viability[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2014, **117**(5): 398-405. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2014.03. 002.
- 9 Agnihotri S, Mukherji S, Mukherji S, et al. Antimicrobial chitosan—PVA hydrogel as a nanoreactor and immobilizing matrix for silver nanoparticles[J]. Applied Nanoscience, 2012, **2**(3):179-188. DOI: 10.1007/s13204-012- 0080-1.
- 10 He M, Potuck A, Zhang Y, et al. Arginine-based polyester amide/polysaccharide hydrogels and their biological response[J]. Acta Biomaterialia, 2014, **10**(6): 2482-2494. DOI: 10.1016/j.actbio.2014.02.011.

- 11 刘波, 陈洪兵, 杨桂霞, 等. 一种用于敷料的高分子水凝胶及其制备方法[P]. 中国, 104771780 A, 2015-07-15.
LIU Bo, CHEN Hongbing, YANG Guixia, *et al.* A kind of polymer hydrogel used for wound dressing and its preparation method[P]. CN 104771780 A, 2015-07-15.
- 12 林青, 卢亮. 辐照交联壳聚糖/明胶/聚乙烯醇水凝胶敷料及其制备方法和应用[P]. 中国, CN 103480034 B, 2015-06-03.
LIN Qing, LU Liang. Irradiation crosslinking chitosan/gelatin/PVA hydrogel dressing and its preparation method and application[P]. CN 103480034 B, 2015-06-03.
- 13 Djamel T, Mohamed M, Samah B, *et al.* Influence of some factors affecting antibacterial activity of PVA/Chitosan based hydrogels synthesized by gamma irradiation[J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2011, **22**(11): 2505-2512. DOI: 10.1007/s10856-011-4421-5.
- 14 Long Zhao, Hiroshi Mitomo, Maolin Zhai, *et al.* Synthesis of antibacterial PVA/CM-chitosan blend hydrogels with electron beam irradiation[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, **53**(4): 439-446. DOI: 10.1016/S0144-8617(03)00103-6
- 15 王娜, 王园园, 陈兴波, 等. 聚乙烯醇-壳聚糖复合水凝胶的物理化学性质[J]. 中国科学: 化学, 2014, **44**(10): 1591-1598. DOI: 10.1360/N032013-00086.
WANG Na, WANG Yuanyuan, CHEN Xingbo, *et al.* The physical-chemistry properties of poly(vinyl alcohol)/chitosan composite hydrogels[J]. Scientia Sinica Chimica, 2014, **44**(10): 1591- 1598. DOI: 10.1360/N032013-00086.
- 16 杨小敏. 聚乙烯醇-水溶性壳聚糖水凝胶的辐射冻融制备及其生物医学应用研究[D]. 上海: 中国科学院上海应用物理研究所, 2009: 74-86.
YANG Xiaomin. Hydrogels of poly(vinyl alcohol)/water soluble chitosan prepared by combination of irradiation and freeze-thawing and their biomedical applications[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Applied Physics, Chinese Academy of Sciences, 2009: 74-86.
- 17 Park K R, Nho Y C. Synthesis of PVA/PVP hydrogels having two-layer by radiation and their physical properties[J]. Radiation Physics and Chemistry, 2003, **67**(3): 361-365. DOI: 10.1016/S0969-806X(03)00067-7.
- 18 He H, Guan J, Lee J L. An oral delivery device based on self-folding hydrogels[J]. Journal of Controlled Release, 2006, **110**(2): 339-346. DOI: 10.1016/j.jconrel.2005.10.017.
- 19 倪茂君, 包雯婷, 陈竹平, 等. 辐射交联 PVA/PVP/胶原复合水凝胶的制备及性能表征[J]. 精细化工, 2016, **33**(3): 1-6. DOI: 10.13550/j.jxhg.2016.03.002.
NI Maojun, BAO Wenting, CHEN Zhuping, *et al.* Preparation and characterization of PVA/PVP/collagen composite hydrogel by irradiation crosslinking[J]. Fine Chemicals, 2016, **33**(3): 1-6. DOI: 10.13550/j.jxhg.2016.03.002.
- 20 李进进. γ 辐射法制备 PVA/PEO/Chitosan 水凝胶膜及性能研究[D]. 苏州: 苏州大学, 2010: 42-43. DOI: 10.7666/d.y1732965.
LI Jinjin. Study on the preparation and performance of PVA/PEO/Chitosan hydrogel film by γ irradiation method[D]. Suzhou: Soochow University, 2010: 42-43. DOI: 10.7666/d.y1732965.