

碱性敏感型农药控释剂的载体制备及合理优化

王磊¹, 程东美², 徐汉虹¹, 张志祥¹

(1 华南农业大学 昆虫毒理研究室, 天然农药与化学生物学教育部重点实验室, 广东 广州 510642;
2 仲恺农业工程学院 农业与园林学院, 广东 广州 510225)

摘要:利用昆虫中肠与高等动物消化系统 pH 的差异性, 可制备出具有选择性释放功能的农药控释剂. 利用 O-羧甲基壳聚糖(O-CMCS)和聚乙烯醇(PVA)为原料, 戊二醛(GA)为交联剂制备碱性敏感型的凝胶材料, 结合农药控释剂的特点, 以凝胶溶胀特性作为考察指标对制备条件进行筛选. 结果表明, 采用化学交联法, 且 PVA 用量为 0.3 g, $m(\text{CMCS}):m(\text{PVA})$ 为 4:1, GA 用量与 CMCS/PVA 总量的质量比为 2% 时, 凝胶溶胀度在 pH 8.5 条件下最大, 呈现很好的碱性敏感性, 且凝胶骨架结构稳定, 可作为碱性敏感型农药控释剂的载体.

关键词:碱性敏感; 控释剂; 水凝胶; 交联; 溶胀度

中图分类号:TQ450.68

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2011)03-0053-04

Preparation and Reasonable Optimization of Basic Sensitive Controlled-Release Carrier of Pesticides

WANG Lei¹, CHENG Dong-mei², XU Han-hong¹, ZHANG Zhi-xiang¹

(1 Key Lab of Natural Pesticide and Chemical Biology, Ministry of Education, Lab of Insect Toxicology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 College of Agriculture and Landscape Architecture, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China)

Abstract:Based on the differences in pH between the insect midgut and the digestive system of higher animals, it was potential that the selective controlled-release pesticides formulation would be prepared. O-carboxymethyl chitosan (O-CMCS) and poly(vinyl alcohol) (PVA) were used to prepare the hydrogel with glutaraldehyde (GA) as crosslinking agent, and optimization of conditions for preparing was based on the swelling properties ratio of hydrogel when combined with the characteristics of controlled release pesticides. The results showed that the swelling ratio of gel prepared by crosslinking was the maximum at pH 8.5 when the amount of PVA was 0.3 g, and CMCS/PVA mass ratio was 4:1, and the amount of $w(\text{GA})$ was 2% of the total CMCS/PVA. It scraped the surface that the gel had a good basic sensitivity and maintained the stable structure, which could be used as carrier of basic sensitive controlled-release pesticides.

Key words:basic sensitive; controlled-release agent; hydrogel; crosslinking; swelling ratio

食品安全问题在近几年日益严重, 迫切要求高毒农药低毒化, 进一步提高农药的安全性. 农药剂型与农药的活性、毒性及使用之间关系紧密^[1], 环保新剂型的开发是解决该问题快速且有效的主要手段之一. 高等动物的消化系统一般是酸性或者中性偏酸性, 比如人的胃液 pH 为 0.9~1.5, 小肠内 pH 一般是 6.0~6.8, 只有在结肠部分 pH 能达到 6.5~7.5.

而很多昆虫中肠的肠液偏碱性, 如鳞翅目昆虫的中肠 pH 为 8~9, 有些昆虫受到杀虫剂作用后中肠内 pH 能达到 10 以上^[2]. 这种 pH 差异性为农药释放选择性提供了可能. 通过制备对昆虫中肠碱性环境敏感的凝胶材料, 并以此作为农药控释剂的载体, 在凝胶载体吸水影响鳞翅目害虫中肠结构和生理功能的同时, 通过不同 pH 条件下凝胶溶胀度的差异性, 实

收稿日期: 2010-12-06

作者简介: 王磊(1984—), 男, 硕士研究生; 通信作者: 张志祥(1974—), 男, 副教授, 博士, E-mail: zdsys@scau.edu.cn

基金项目: 广东省农业领域重点项目—农业公关“安全农业投入品开发”(2009A020101003)

现农药在碱性条件下的药物释放,达到选择性的靶点释放效果,可提高对非靶标生物的安全性。

pH 敏感型的药物载体在农药上鲜有报道,却在医学上研究广泛.因应用领域的不同,医药上的 pH 敏感水凝胶大多是对酸性或中性条件敏感^[3-5],但凝胶的制备方法类似.聚乙烯醇(PVA)与羧甲基壳聚糖(O-CMCS)均属于水溶性可生物降解的高分子材料,生物相容性好. CMCS/PVA 水凝胶属于两性电解质材料, $-NH_2$ 和 $-CH_2COOH$ 随外界 pH 的改变而发生离子化和去离子化.在 pH 2 条件下,以 $-NH_2$ 离子化后的静电斥力作用为主,凝胶体积膨大,水分进入凝胶孔隙发生溶胀. pH 4 时,在 CMCS/PVA 等电点附近,基团间因分子间只有氢键作用,凝胶收缩,溶胀度最小.随着 pH 逐渐增大($4 < pH < 8.5$), $-NH_2$ 电离进一步减少, $-CH_2COO^-$ 逐渐增多,溶胀度再次变大,当 pH = 8.5 时溶胀度达到最大.当 pH > 8.5 时,羧基逐渐全部电离,聚乙烯醇上的多羟基也会有少量电离,由于离子化程度过大,使得凝胶骨架内部的疏水区局部收缩,引起凝胶网络的总体溶胀度下降.具有 pH 敏感性的 PVA/CMCS 复合凝胶在生物医学材料、生物工程、离子吸附等领域已经开展了很多应用研究^[6-9].本文采用 O-CMCS(以下简称 CMCS)和 PVA 为原料,戊二醛(GA)为交联剂,制备在 pH 8.5 条件下溶胀度最大、在酸性和中性条件下溶胀度小甚至不溶胀的凝胶材料,拟为农药控释剂的制备奠定基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

O-羧甲基壳聚糖(脱乙酰度为 90.8%,羧甲基取代度为 81.5%,相对分子质量 1.54×10^6),浙江澳兴生物技术有限公司;聚乙烯醇-124(平均聚合度 1 800),汕头市达濠精细化学品公司;戊二醛等其他化学试剂均为分析纯。

1.2 主要设备

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义予华仪器);HH-S 型水浴锅(巩义予华仪器);美国 Orion 3-star pH 计。

1.3 CMCS/PVA 水凝胶的制备

1.3.1 循环冷冻解冻法 冷冻解冻法是制备含 PVA 组分凝胶材料的常用物理方法之一^[10].参考 Li 等^[11]的方法,称取一定量的 PVA 置于各烧杯中,加去离子水至 50 mL,加热到 90 °C 直至 PVA 完全溶解,冷却至 60 °C 得到聚乙烯醇溶液.按一定 CMCS/PVA 质量比称取 CMCS 加入对应的各烧杯中,封口,60 °C 搅拌 10 min 使两组分混合均匀.转入 -20 °C 冷冻交联 2 h,再在 30 °C 下解冻 20 h,以此称为 1 次循

环,共循环 3 次,得到 CMCS/PVA 水凝胶.取出,置于 60 °C 真空烘箱中干燥 12 h.将干凝胶放入去离子水中浸泡,每 12 h 换水一次,5 d 后取出凝胶,再次干燥至质量恒定,备用。

1.3.2 化学交联法 参考温燕梅等^[12]、吴炜亮等^[13]制备聚乙烯醇/壳聚糖水凝胶的方法.聚乙烯醇溶液的制备同 1.3.1 的方法.按不同的 CMCS 与 PVA 质量比称取一定质量的 CMCS 加入对应的各烧杯中,封口,在 60 °C 中搅拌 10 min.再分别加入不同用量的 GA(GA 用量指 GA 占 CMCS 和 PVA 总质量的比例,即 $w(GA)/\%$.下同),搅拌 1 h.然后转入 60 °C 水浴锅中水浴 24 h,得到不同组分和性能的 CMCS/PVA 水凝胶.取出,采用 1.3.1 的方法干燥样品,备用。

1.4 水凝胶溶胀度的测定

采用称凝胶质量法测定水凝胶的溶胀度(Swelling ratio, SR).剪取大小一致,厚薄均一的干凝胶块,称各干凝胶块质量(m_d)后浸入等离子强度的不同 pH 缓冲液中(缓冲液配方参考赵亚华^[14]),使其溶胀直至达到溶胀平衡,取出,用滤纸迅速吸干凝胶表面的多余水分,称量湿凝胶质量(m_s),水凝胶的溶胀度按公式 $SR = (m_s - m_d)/m_d$ 计算。

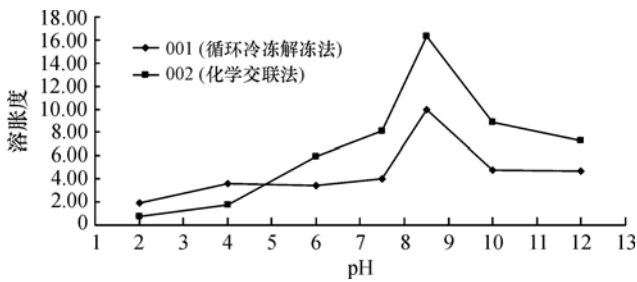
2 结果与分析

2.1 2 种制备方法对 CMCS/PVA 水凝胶性能的影响

循环冷冻解冻法和化学交联法在试验条件下都获得了具有碱性敏感性的水凝胶,但化学交联法的 pH 敏感性更显著.如图 1 所示,循环冷冻解冻法制备的水凝胶在酸、碱条件下溶胀度差异较小,在 pH 8.5 条件下的溶胀度分别是 pH 2.0 和 7.5 条件下的 5.14 和 2.50 倍,而化学交联法获得的水凝胶溶胀度分别为 22.92 和 2.02 倍,且在 pH 8.5 条件下的溶胀度较大,碱性敏感性的差异显著性更大.这主要是因为加入交联剂后,CMCS 骨架上的 $-NH_2$ 部分与戊二醛交联,使在酸性条件下发生离子化的 $-NH_2$ 减少,酸性条件下的溶胀度减小.另一方面,循环冷冻解冻法获得的凝胶交联度小,空隙结构较大,其保水能力减弱,因此在 pH 8.5 条件下溶胀度相对化学交联法低.循环冷冻解冻法的制备原理属于物理交联,制备得到的水凝胶交联度较低,而化学交联法使得单体间有新的化学键形成,得到的水凝胶交联强度高。

2.2 PVA 用量对凝胶溶胀度的影响

如图 2a 所示,004 和 005 号 CMCS/PVA 凝胶均表现出碱性敏感性,且 PVA 用量为 0.4 g 的 004 号敏感性最显著.003 号凝胶由于 PVA 用量低,在 w 为 5% 的 GA 用量下交联度大,凝胶结构紧密,各 pH 下的溶胀度都小,不表现出 pH 敏感性.而 006 号凝胶



001 和 002 号水凝胶的 $m(\text{PVA})$ 均为 0.5 g, $m(\text{CMCS}):m(\text{PVA})$ 均为 4:1, 002 号另外添加的 $w(\text{GA})$ 为 1%.

图 1 2 种制备方法对水凝胶 24 h 性能的影响

Fig. 1 Effect of two methods of preparation on hydrogel's properties for 24 h

由于 CMCS 和 PVA 反应浓度大, 骨架分子间相互缠绕增强, 导致氢键和化学键的相互作用大, 溶胀度下降, pH 敏感性减弱.

CMCS 与 PVA 质量比增大到 5:1 时, PVA 用量分别为 0.2 和 0.3 g 的 007 和 008 号凝胶都表现出碱性敏感性(图 2b). 综合图 2 可知, 当 CMCS 的胺基和羧基在凝胶骨架中含量较高, PVA 用量较少时, 碱性条件下溶胀度变大, pH 敏感性增强, 其中以 0.2 ~ 0.4 g 的 PVA 用量为宜.

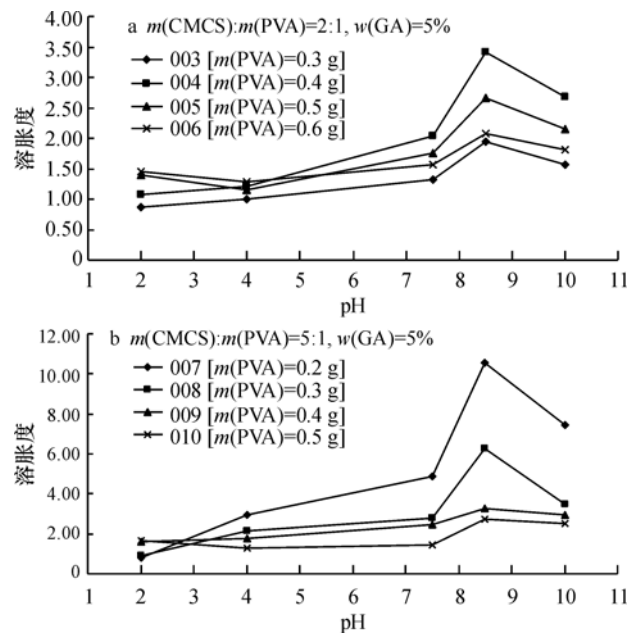


图 2 PVA 用量对凝胶 12 h 溶胀度的影响

Fig. 2 Effect of different amount of PVA on swelling ratio for 12 h

2.3 CMCS/PVA 质量比对凝胶溶胀度的影响

综合 2.2 的结果, 选择 PVA 用量为 0.3 和 0.4 g, $w(\text{GA})$ 为 5% 研究 CMCS 与 PVA 质量比对溶胀度的影响, 结果表明, CMCS 与 PVA 质量比为 4:1 时, 有利于碱性敏感性. 如图 3a 所示, 012 号凝胶的碱性敏感性大于其他处理, pH 8.5 时与其他 pH 条件下的溶胀度差异较大, 分别是 pH 7.5 和 2.0 时的 2.38 和

9.86 倍. 当 CMCS 与 PVA 质量比为 5:1 时, 在 pH 8.5 条件下的溶胀度是 pH 7.5 条件下溶胀度的 2.27 倍, 是 pH 2.0 时的 6.88 倍, 也表现出碱性敏感性.

在 PVA 用量为 0.4 g, $w(\text{GA})$ 为 5% 的条件下, 随着 CMCS 与 PVA 质量比增大, 比图 3a 条件下的整体溶胀度减小(图 3b). 在图 3b 中, CMCS 与 PVA 质量比为 4:1 和 3:1 时, pH 8.5 时的溶胀度分别是 pH 7.5 时溶胀度的 1.75 和 1.73 倍, 分别是 pH 2.0 时溶胀度的 2.80 和 2.94 倍, 这种差异程度相对大于 004 号和 009 号凝胶.

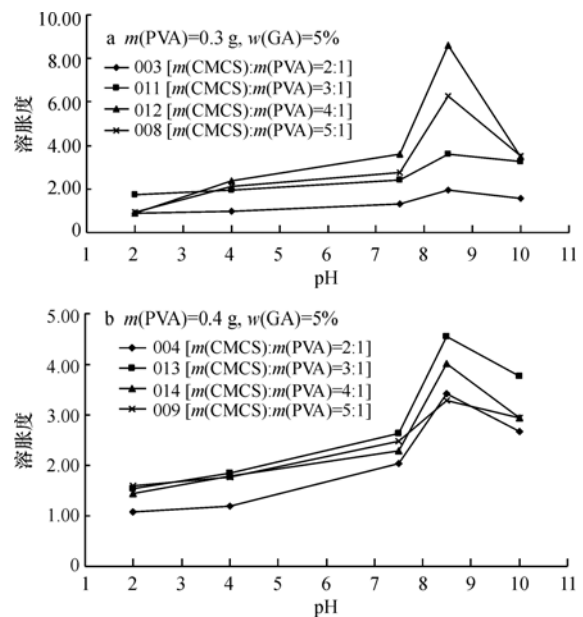
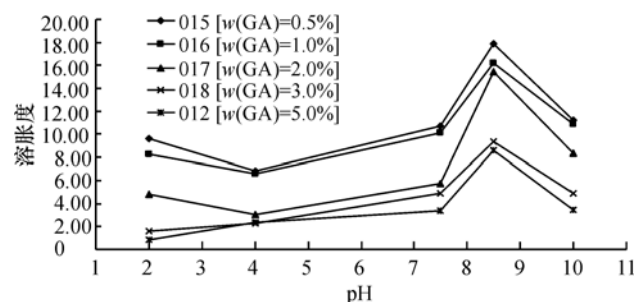


图 3 CMCS/PVA 质量比对凝胶 12 h 溶胀度的影响

Fig. 3 Effect of different CMCS/PVA mass ratio on swelling ratio for 12 h

2.4 交联剂用量对凝胶溶胀度的影响

如图 4 所示, 当 PVA 用量为 0.3 g, $m(\text{CMCS}):m(\text{PVA})=4:1$ 时, 各 pH 条件下溶胀度随交联剂 GA 用量增大而呈现下降趋势, 且 $w(\text{GA})$ 为 2% 的凝胶碱性敏感性最好. 017 号凝胶在 pH 8.5 条件下的溶胀度分别是 pH 7.5 和 2.0 条件下溶胀度的 2.67 和 3.20 倍, 且酸性条件下溶胀度低.



水凝胶的 $m(\text{PVA})$ 均为 0.3 g, $m(\text{CMCS}):m(\text{PVA})$ 均为 4:1.

图 4 交联剂用量对凝胶 12 h 溶胀度的影响

Fig. 4 Effect of different amount of crosslinking agent on swelling ratio for 12 h

交联剂 $w(\text{GA})$ 为 0.5% 和 1% 时, 交联强度小, 凝胶在各 pH 下的溶胀度均变大, 尤其是在 pH 2.0 条件下溶胀度增大明显, 且大于 pH 4.0 时的溶胀度. 该条件制备得到的凝胶充分溶胀后出现凝胶溶解现象. 当交联剂用量大于 2% 时, 凝胶整体溶胀度降低, 且在 pH 2.0 的酸性条件下溶胀度下降显著. 这主要是因为没被交联的胺基的数量减少, 可离子化的 $-\text{NH}_3^+$ 数量减少, 导致凝胶对酸性条件不敏感.

3 讨论与结论

本文制备的控释剂载体主要是通过溶胀度差异性实现药物选择性释放. 凝胶的溶胀度和碱性敏感性受多种因素影响. 循环冷冻解冻法制备的凝胶交联度不大, 含水量大, 骨架结构不稳定, 不利于作为农药载体时的进一步加工. 而化学交联法制备的凝胶结构稳定, 有利于准确测定溶胀度, 便于作为农药控释剂载体时的加工和保存. 化学交联法易于控制反应过程, 为控释剂的工业化生产提供便利.

控释剂载体的碱性敏感性是其首要指标, 凝胶应以 CMCS 为主体, 使骨架上羧基和胺基较多, 保证载体对外界 pH 条件的敏感性. 同时, 为了保证 pH 敏感性, PVA 和 GA 的实际用量要适量, 用量太小凝胶交联度低, 凝胶结构不稳定, 而用量太大时溶胀度低, pH 敏感差异性减小, 都不利于被包埋药物的释放和后期制剂的加工. 此外, pH 为 2.0、7.5、8.5 分别代表高等动物胃、肠道以及鳞翅目昆虫中肠的 pH 环境. 凝胶载体在碱性条件下溶胀度不能太小, 以利于药物的释放, 保证农药活性成分的有效用量. 而为了保证农药对非靶标生物的安全性, 在酸性和中性条件下的溶胀度应尽量小, 降低药物的释放率.

pH 敏感的水凝胶控释药物是医学领域的研究热点^[15], Guo 等^[16] 研制出能在胃肠系统选择性释放的水凝胶控释剂. 本文借鉴医药的控释模式, 将智能凝胶系统引入农药制剂的研究. 研究表明, 制备得到的 pH 敏感水凝胶达到了预期碱性条件下呈现最大膨胀的目的. 当制备条件是 $m(\text{PVA}) = 0.3 \text{ g}$, $m(\text{CMCS}) : m(\text{PVA}) = 4 : 1$, GA 用量占 CMCS/PVA 总质量的 2% 时, 获得的水凝胶作为农药控释剂载体时具有实际意义. 本文制备的水凝胶可用于不同类型农药的包埋, 为碱性敏感水凝胶控制释放杀虫剂研究打下了良好的物质基础, 为高毒农药低毒化提供了新的研究思路和工作基础, 在农药智能化研发中具有广阔前景, 值得进一步深入研究.

参考文献:

[1] 屠豫钦, 王以燕. 农药的剂型问题与我国农药工业的发展[J]. 农药, 2005, 44(3): 97-102.
[2] 张克斌. 昆虫生理[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1989: 50-53.

[3] AL-KAHTANI AHMED A, BHOJYA NAIK H S, SHERI-GARA B S. Synthesis and characterization of chitosan-based pH-sensitive semi-interpenetrating network microspheres for controlled release of diclofenac sodium[J]. Carbohydrate Research, 2009, 344(5): 699-706.
[4] DAI Ya-ni, LI Ping, ZHANG Jun-ping, et al. A novel pH sensitive N-succinyl chitosan/ alginate hydrogel bead for nifedipine delivery[J]. Biopharmaceutics & Drugdisposition, 2008, 29(3): 173-184.
[5] LIN Yu-hsin, LIANG Hsiang-fa, CHUNG Ching-kuang, et al. Physically crosslinked alginate/N, O-carboxymethyl chitosan hydrogels with calcium for oral delivery of protein drugs[J]. Biomaterials, 2005, 26(14): 2105-2113.
[6] WEI Lan, CAI Chun-hua, LIN Jia-ping, et al. Dual-drug delivery system based on hydrogel/micelle composites[J]. Biomaterials, 2009, 30(13): 2606-2613.
[7] WANG Ling-chong, CHEN Xi-guang, LIU Cheng-sheng, et al. Preparation of a multistructural film with CM-chitosan and PVA, and in vitro ornidazole release from the carrier[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2008, 110(2): 1136-1144.
[8] SHALUMON K T, BINULAL N S, SELVAMURUGAN N, et al. Electrospinning of carboxymethyl chitin/poly(vinyl alcohol) nanofibrous scaffolds for tissue engineering applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 77(4): 863-869.
[9] SHEN Jiang-nan, RUAN Hui-min, GAO Cong-jie. Preparation and characterization of CMCS/PVA blend membranes and its sorption and pervaporation performance (I)[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2009, 114(6): 3369-3378.
[10] 吴李国, 章悦庭, 蔡禄生, 等. 冷冻-解冻法制聚乙烯醇水凝胶研究进展[J]. 化工新型材料, 2001, 29(11): 18-20, 25.
[11] LI Yan, DU Yu-min, TANG Yu-feng, et al. A novel pH-sensitive and freeze-thawed carboxymethyl chitosan/poly(vinyl alcohol) blended hydrogel for protein delivery[J]. Polymer International, 2009, 58(10): 1120-1125.
[12] 温燕梅, 李思东, 钟杰平, 等. 制备条件对聚乙烯醇-壳聚糖水凝胶性能的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(4): 74-77.
[13] 吴炜亮, 吴国杰, 赖国柱. 聚乙烯醇-壳聚糖水凝胶机械性能的研究[J]. 广东工业大学学报, 2006, 23(4): 105-109.
[14] 赵亚华. 生物化学与分子生物学实验技术教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 290-296.
[15] SUNG Wan-kim, YOU Han-bae, TERUO O. Hydrogels: Swelling, drug loading, and release[J]. Pharmaceutical Research, 1992, 9(3): 283-290.
[16] GUO Bao-lin, GAO Qing-yu. Preparation and properties of a pH/temperature-responsive carboxymethyl chitosan/poly(N-isopropylacrylamide) semi-IPN hydrogel for oral delivery of drugs[J]. Carbohydrate Research, 2007, 342(16): 2416-2422.