

CHẾ TẠO VÀ XÁC ĐỊNH ĐẶC TÍNH MÀNG PHÂN HỦY SINH HỌC TRÊN CƠ SỞ POLY(VINYL ALCOHOL) VÀ CHITOSAN

ELABORATION AND CHARACTERIZATION OF BIODEGRADABLE FILM BASED ON POLY(VINYL ALCOHOL) AND CHITOSAN

Dương Thế Hy

Trường Đại học Bách khoa - Đại học Đà Nẵng; dthy@dut.udn.vn

Tóm tắt - Màng polymer phân hủy sinh học trên cơ sở poly(vinyl alcohol) (PVA) và chitosan (CTS) đã được chế tạo bằng phương pháp đúc từ dung dịch. Glutaraldehyde (GA) được sử dụng làm tác nhân tạo liên kết ngang để tăng cường độ chịu nước và độ bền cơ học của màng. Kết quả nghiên cứu cho thấy, độ trương trong nước của màng giảm gần 50% khi phối hợp CTS. Bên cạnh đó, độ trương của các màng PVA/CTS với hàm lượng CTS trong màng từ 5% đến 15% là xấp xỉ nhau. Độ bền kéo của màng PVA/CTS tăng lên theo hàm lượng của CTS, tuy nhiên, khi hàm lượng CTS trong màng đạt 15% thì độ bền kéo giảm xuống. Kết quả xác định khả năng kháng khuẩn sử dụng vi khuẩn *Bacillus Subtilis* cho thấy, màng xuất hiện khả năng kháng khuẩn khi có mặt CTS. Quan sát màng sau khi chôn trong đất 50 ngày cho thấy sự tương thích sinh học của màng, các dấu hiệu của phân hủy sinh học trong khoảng thời gian chôn lấp này không quan sát thấy bằng mắt thường.

Từ khóa - poly(vinyl alcohol); chitosan; màng; phân hủy sinh học; kháng khuẩn

Abstract - Poly(vinyl alcohol) (PVA)/chitosan (CTS) biodegradable films have been fabricated by solution casting. Glutaraldehyde (GA) was used as a cross-linking agent to enhance the water resistance and mechanical strength of films. The results of the study show that, the water swelling of films containing CTS reduces nearly 50%. In addition, the swelling of PVA/CTS films with CTS content ranging from 5% to 15% is approximately the same. The tensile strength of PVA/CTS films increases with the content of CTS; however, when the CTS content in the films reaches 15%, the tensile strength decreases. Antibacterial test using *Bacillus Subtilis* bacteria shows that, the films containing CTS have antibacterial properties. After 50 days being buried in soil, the films show the biocompatibility, but signs of biodegradation during this burial period are not visible.

Key words - poly(vinyl alcohol); chitosan; film; biodegradable; antibacterial

1. Đặt vấn đề

Vật liệu polymer có rất nhiều đặc tính ưu việt như nhẹ, bền cơ học, bền hóa chất, dễ tạo hình và đặc biệt là dễ phối hợp, biến tính để đáp ứng nhiều yêu cầu kỹ thuật. Ngoài ra giá thành của vật liệu polymer hiện nay vẫn còn khá rẻ so với các loại vật liệu khác. Chính vì vậy, lượng nhựa sản xuất và tiêu thụ trên toàn thế giới tăng không ngừng, đạt đến 299 triệu tấn vào năm 2013 [1] và dự đoán sẽ gấp ba con số này vào năm 2050. Ở Việt Nam, theo báo cáo của Ipsos Business Consulting, lượng nhựa tiêu thụ tính trên đầu người ở Việt Nam đã tăng mạnh từ 3,8 kg/người vào năm 1990 lên 41,3 kg/người vào năm 2018. Do vấn đề kinh tế và công nghệ nên chỉ một phần nhỏ rác thải nhựa được tái chế và xử lý, phần còn lại được thải ra môi trường tự nhiên. Thật không may, hầu hết vật liệu polymer hiện đang sử dụng rất khó phân hủy trong môi trường tự nhiên, vì vậy vấn đề ô nhiễm rác thải polymer ngày càng nghiêm trọng.

Một giải pháp vừa đáp ứng nhu cầu sử dụng polymer của con người nhưng vừa giảm thiểu vấn đề ô nhiễm rác thải polymer là tăng cường sử dụng các polymer có khả năng phân hủy sinh học. Các sản phẩm đi từ các polymer này sau khi sử dụng sẽ bị phân hủy nhanh chóng trong điều kiện tự nhiên và không tạo ra các sản phẩm độc hại.

Chitin là polymer sinh học phổ biến thứ hai sau cellulose. Mặc dù rất phổ biến trong tự nhiên nhưng chitin lại khó ứng dụng trực tiếp do khả năng hòa tan kém, có nhiệt độ nóng chảy cao hơn nhiệt độ phân hủy. Chính vì vậy, người ta phải biến tính và cắt ngắn mạch phân tử của chitin thì mới có thể ứng dụng được. Sản phẩm phổ biến được sản xuất trực tiếp từ chitin là CTS. CTS có khả năng hòa tan trong dung dịch acid loãng nên thuận tiện cho việc gia công các sản phẩm dạng màng. Màng CTS có độ bền

cơ học cao, ít thấm ẩm nhưng khá cứng. CTS có rất nhiều đặc tính tốt như không độc, tương thích sinh học, phân hủy sinh học và đặc biệt là khả năng kháng khuẩn gram âm [2] và cả gram dương [3]. Vì vậy, nó được ứng dụng nhiều trong lĩnh vực y tế, thực phẩm, mỹ phẩm.

Poly(vinyl alcohol) (PVA) là loại polymer tổng hợp có đặc tính phù hợp cho việc sản xuất màng và bị phân hủy sinh học hoàn toàn [4]. Tuy nhiên, PVA lại hút nước nhiều. Để cải thiện khả năng chịu nước của PVA, ở nghiên cứu trước [5] đã tiến hành tạo liên kết ngang cho PVA bằng glutaraldehyde (GA). Điều kiện tối ưu cho quá trình đóng rắn PVA bằng GA được xác định là: Tỷ lệ khối lượng GA/PVA = 1/100, acid acetic/PVA = 3,5/100, nhiệt độ đóng rắn 90°C và thời gian đóng rắn 7h. Độ trương của màng PVA đóng rắn bằng GA được cải thiện rõ rệt, từ 154% khi chưa đóng rắn giảm xuống còn 118% sau khi đóng rắn. Điều này cho thấy, việc tạo liên kết ngang cũng chỉ hạn chế một phần tính hút nước của nó. Để tăng thêm khả năng chống hút nước có thể tiến hành phối trộn PVA với các polymer có tính kỵ nước.

Ở nghiên cứu này, màng polymer được tạo ra trên cơ sở phối hợp PVA và CTS với mục đích bổ sung các ưu điểm của CTS vào sản phẩm đi từ nguyên liệu chính là PVA. Hàm lượng CTS trong màng là 5%, 10% và 15% khối lượng. Các điều kiện đóng rắn tối ưu cho PVA được tìm ra trong nghiên cứu trước [5] được áp dụng cho nghiên cứu này.

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất

PVA với độ thủy phân 99% và khối lượng phân tử trung bình khối 85000 – 124000 g/mol, GA (dung dịch 50% trong nước), acid acetic (99%) được mua của hãng Sigma-

Aldrich. CTS thu được được bằng deacetyl hóa chitin tại phòng thí nghiệm theo quy trình đã được công bố [6]. Độ deacetyl hóa là 52% (xác định bằng phổ hồng ngoại).

2.2. Tạo màng polymer

Cho lượng PVA và nước cất được tính toán để tạo dung dịch 10% PVA vào cốc thủy tinh có khuấy từ. Tiến hành khuấy với tốc độ 200 đến 250 vòng/phút ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, sau đó vừa khuấy vừa gia nhiệt cho hỗn hợp lên 90°C. Tăng tốc độ khuấy lên 400 - 500 vòng/phút và tiếp tục duy trì khuấy trộn ở nhiệt độ này trong 30 phút, lúc này sẽ thu được dung dịch trong suốt. Hạ nhiệt độ dung dịch xuống 50°C rồi lần lượt cho acid acetic, GA với lượng đã tính toán vào và tiếp tục khuấy trộn 10 phút rồi mới đổ ra đĩa. Đối với màng có phối hợp với chitosan thì không cho acid acetic vào mà sau khi cho GA vào tiếp tục cho từ từ dung dịch chitosan 3% trong dung dịch acid acetic rồi tiếp tục khuấy trộn 10 phút trước khi đổ ra đĩa. Các đĩa được để khô tự nhiên trong 48h. Màng polymer được tách ra khỏi đĩa và sấy ở 90°C trong thời gian 7 giờ. Sau khi sấy, màng được để nguội tự nhiên đến nhiệt độ phòng và được bảo quản trong túi nhựa polyethylene có đặt silica gel hút ẩm.

2.3. Xác định đặc tính vật liệu

Độ trương của màng được xác định bằng cách ngâm mẫu trong nước cất ở nhiệt độ 25°C, sau một thời gian mẫu được lấy ra, dùng giấy thấm để làm khô bề mặt rồi cân. Công thức 1 được sử dụng để xác định độ trương của mẫu.

$$SW(\%) = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (1)$$

Trong đó, SW(%) là độ trương, W_s là khối lượng mẫu sau khi ngâm và W_d là khối lượng mẫu trước khi ngâm.

Độ bền kéo của màng được đo trên máy Shimadzu theo tiêu chuẩn ASTM D 638 với tốc độ kéo 50 mm/phút.

Tốc độ truyền hơi nước (WVT) được xác định theo phương pháp ASTM E 96-95. Màng được cố định lên miệng cốc nhôm, đường kính 6 cm có chứa sẵn 10 gam silica gel đã được sấy ở 120°C trong 12h, sau đó đặt vào bình kín đã có sẵn một cốc chứa dung dịch muối $Mg(NO_3)_2$ bão hòa để ở nhiệt độ 25°C. Tiến hành cân cốc nhôm sau mỗi 12 giờ trong 6 ngày. Tốc độ truyền hơi nước của màng được tính theo công thức 2.

$$WVT = \frac{W}{t \cdot A} \quad (2)$$

Trong đó, W là khối lượng cốc (gam) tại thời điểm t (h), A là diện tích màng (m^2).

Khả năng kháng khuẩn của các màng được kiểm tra trên vi khuẩn Gram dương (*Bacillus Subtilis*). Màng được đặt trên bề mặt đĩa thạch đã cấy sẵn vi khuẩn rồi đặt vào tủ ấm ở nhiệt độ 35°C. Sau 12h kiểm tra bằng ngoại quan.

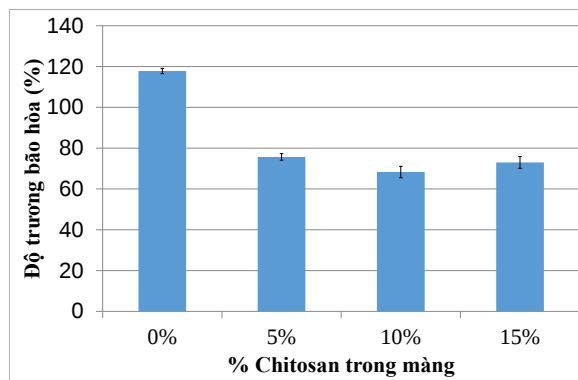
Khả năng phân hủy sinh học được xác định bằng cách chôn mẫu trong đất ở độ sâu 20 cm ngoài môi trường tự nhiên và định kỳ được lấy lên để quan sát sự thay đổi ngoại quan.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. Ảnh hưởng hàm lượng chitosan đến độ trương của màng

Kết quả xác định độ trương của các mẫu được thể hiện

ở Hình 1.

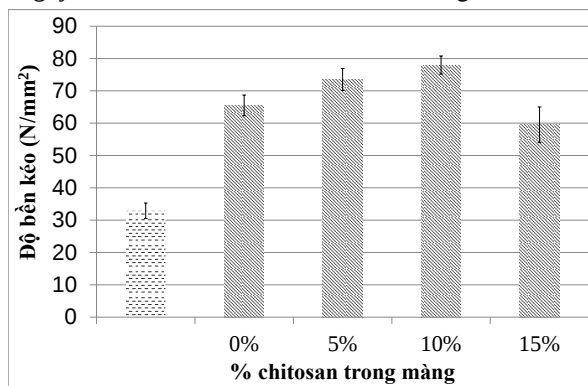


Hình 1. Độ trương bão hòa của màng ở các hàm lượng CTS khác nhau

Hình 1 cho thấy, khi có mặt CTS thì độ trương của màng giảm đáng kể. Điều này có thể do tính kỵ nước của CTS mang lại. Ngoài ra, kết quả khảo sát còn cho thấy, độ trương bão hòa của các màng chứa CTS với các hàm lượng khác nhau là xấp xỉ nhau, khoảng 70%. Nghiên cứu của Chuang và cộng sự [7] cho thấy, PVA và CTS không tương thích hoàn toàn, vì vậy trong quá trình tạo màng CTS có xu hướng di chuyển ra bề mặt làm cho hàm lượng CTS ở bề mặt cao hơn bên trong. Có lẽ vì lý do này nên bề mặt các màng có chứa CTS trong nghiên cứu này có hàm lượng CTS đủ cao để thể hiện tính kháng nước xấp xỉ nhau.

3.2. Ảnh hưởng hàm lượng chitosan đến độ bền kéo đứt của màng

Đóng rắn không những cải thiện khả năng chịu nước mà còn làm tăng độ bền cơ lý của màng. Hình 2 cho thấy, độ bền kéo của màng PVA tăng gần 100% khi được đóng rắn bằng GA. Các liên kết ngang hình thành giữa các phân tử PVA thông qua cầu nối là phân tử GA ngăn cản sự trượt tương đối giữa các mạch phân tử PVA trong quá trình kéo là nguyên nhân làm cho độ bền kéo đứt tăng lên.



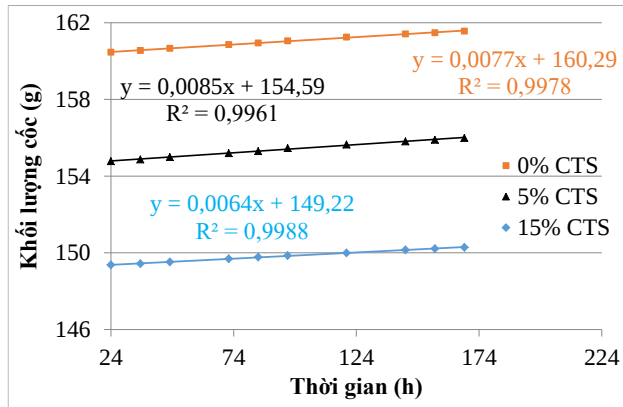
Hình 2. Độ bền kéo của màng PVA đóng rắn với các hàm lượng CTS khác nhau (cột gạch ngang là màng PVA không đóng rắn)

Độ bền kéo của màng khi phối hợp CTS theo các tỉ lệ khác nhau cũng được thể hiện ở Hình 2. Ta thấy rằng các màng phối hợp với CTS đều cho giá trị độ bền kéo cao hơn so với màng PVA khi chưa phối trộn với CTS. Khi tăng hàm lượng CTS độ bền màng tăng lên và sau đó giảm xuống. Màng chứa 10% CTS có độ bền kéo cao nhất, cụ thể là 78 N/mm², sau đó giảm còn 59,5 N/mm² khi tăng hàm lượng CTS lên 15%. Kết quả này phù hợp với công bố

của Esam A. El-Hefian và các cộng sự [8]. Nghiên cứu của Esam A. El-Hefian cho thấy, mặc dù độ bền kéo của CTS bé hơn so với PVA nhưng khi phối hợp CTS vào PVA thì độ bền màng thu được tăng lên đáng kể. Tuy nhiên, độ bền màng giảm liên tục khi hàm lượng CTS trong màng vượt quá 20%.

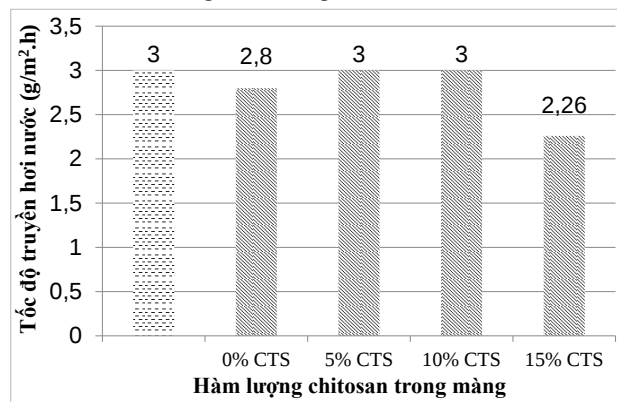
3.3. Tốc độ truyền hơi nước

Tốc độ truyền hơi nước phản ánh khả năng khuếch tán của các phân tử nước qua màng vật liệu. Có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến tốc độ truyền hơi nước, bao gồm chiều dày màng, nhiệt độ, cấu trúc màng, bản chất vật liệu... Trong các ứng dụng bảo quản, đặc biệt là trong bảo quản được phẩm, thực phẩm, tốc độ truyền hơi nước là một trong những thông số kỹ thuật quan trọng để lựa chọn vật liệu bảo quản. Ở nghiên cứu này, tốc độ truyền hơi nước qua màng được xác định theo phương pháp ASTM E 96-95. Các màng được đúc có chiều dày $0,19 \pm 0,02$ mm, dung dịch $Mg(NO_3)_2$ bão hòa được sử dụng để tạo môi trường có độ ẩm tương đối $52 \pm 2\%$ ở $25^\circ C$ [9]. Tốc độ truyền hơi nước được xác định theo công thức 2, trong đó tỷ số W/t là độ dốc của đường thẳng biểu diễn sự thay đổi khối lượng cốc theo thời gian (Hình 3).



Hình 3. Sự thay đổi khối lượng cốc theo thời gian

Từ kết quả độ dốc thu được ở Hình 3 và diện tích màng tính được tốc độ truyền hơi nước qua màng (Hình 4). Độ thấm hơi nước của màng PVA chứa 5 và 10% chitosan tương tự màng PVA không đóng rắn và có đóng rắn. Tuy nhiên, khi tăng hàm lượng chitosan trong màng lên 15% thì độ thấm hơi nước giảm xuống.



Hình 4. Độ thấm hơi nước của các màng (cột gạch ngang là màng PVA không đóng rắn)

3.4. Khả năng kháng khuẩn

Tính chất kháng khuẩn của màng được thử nghiệm trên vi khuẩn gram dương *Bacillus Subtilis*. Màng sử dụng đo khả năng kháng khuẩn chứa 5% CTS. Hình 5 cho thấy, PVA không đóng rắn (không có GA) và đóng rắn bằng GA nhưng không chứa CTS không thể hiện sự kháng khuẩn, trong khi đó có một vòng kháng khuẩn xuất hiện xung quanh màng có chứa CTS. Như vậy, khi đưa CTS vào màng thì màng sẽ có khả năng kháng khuẩn gram dương. Có 2 cơ chế kháng khuẩn được đề nghị đối với CTS. Cơ chế thứ nhất cho rằng, khả năng chống vi khuẩn của CTS xuất phát từ bản chất polycationic của nó [10]. Khi có mặt acid, nhóm NH_2 sẽ bị proton hóa, điện tích dương của nhóm amino sẽ tương tác với phần mang điện âm của màng tế bào vi khuẩn làm thay đổi tính chất che chắn của chúng nên ngăn cản sự đi vào của dưỡng chất và/ hoặc gây ra sự giảm nội bào. Cơ chế thứ 2 cho rằng, sự kháng khuẩn có liên quan đến việc thấm CTS khối lượng phân tử thấp vào bên trong tế bào, liên kết với DNA và kết quả là ức chế sự tổng hợp RNA và protein [11]. Sự xuất hiện của vòng kháng khuẩn xung quanh màng cũng cho thấy có sự khuếch tán của các phân tử CTS ra khỏi màng.

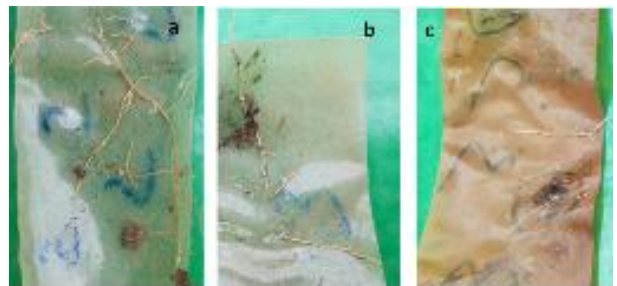


PVA (không có GA) 0% CTS 5% CTS

Hình 5. Khả năng kháng khuẩn của màng

3.5. Khả năng phân hủy sinh học

Hình 6 thể hiện ngoại quan các mẫu sau khi chôn dưới đất ở độ sâu 20 cm trong 50 ngày. Nhìn bằng mắt thường thì chưa thấy sự thay đổi về ngoại quan mẫu. Tuy nhiên, tất cả các mẫu đều đã có rễ cây bám lên. Điều này chứng tỏ sự tương thích sinh học của các màng, đồng thời các màng cũng có thể là nơi cung cấp dưỡng chất hoặc nước cho thực vật. Sự bám rễ cây lên màng có thể sẽ thúc đẩy sự phân hủy màng nhanh hơn. Thí nghiệm này vẫn còn đang được tiếp tục theo dõi.



Hình 6. Màng PVA không đóng rắn (a), đóng rắn (b) và có 15% chitosan (c) sau khi chôn trong đất trong 50 ngày

4. Kết luận

Việc phối hợp CTS vào màng PVA cải thiện độ kỵ nước, độ bền cơ học của màng, đồng thời làm cho màng có khả

năng kháng khuẩn. Độ kị nước của màng polymer tăng mạnh khi có 5% CTS trong màng nhưng sau đó không tiếp tục tăng theo hàm lượng CTS. Độ bền kéo tăng theo hàm lượng CTS và đi qua cực đại. Màng PVA và PVA/CTS thể hiện sự tương thích sinh học khi chôn trong đất. Với thời gian chôn lấp 50 ngày chưa phát hiện dấu hiệu của sự phân hủy sinh học bằng mắt thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A. K. Awasthi, M. Shivashankar, and S. Majumder, "Plastic solid waste utilization technologies: A Review", *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 263, article number 022024, 2017.
- [2] I. M. Helander, E. L. Nurmiäho-Lassila, R. Ahvenainen, J. Rhoades, and S. Roller, "Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria", *Int. J. Food Microbiol.*, vol. 71, p. 235–244, 2001.
- [3] K. Bae, E. J. Jun, S. M. Lee, D. I. Paik, and J. B. Kim, "Effect of water-soluble reduced chitosan on *Streptococcus mutans*, plaque regrowth and biofilm vitality", *Clin. Oral Investig.*, vol. 10, article number 102, 2006.
- [4] C. Frech, "Green Plastics: An Introduction to the New Science of Biodegradable Plastics (Stevens, E. S.)", *J. Chem. Educ.*, vol. 79, article number 1072, 2002.
- [5] Dương Thế Hy, "Khảo sát một số yếu tố ảnh hưởng đến quá trình đóng rắn và tính chất của màng poly(vinyl alcohol)", *Tạp chí khoa học công nghệ Đại học Đà Nẵng*, vol. 17, p 5-8, 2019.
- [6] H. Srinivasan, V. Kanayairam, and R. Ravichandran, "Chitin and chitosan preparation from shrimp shells *Penaeus monodon* and its human ovarian cancer cell line, PA-1", *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 107, p. 662–667, Feb. 2018.
- [7] [6] W. Y. Chuang, T. H. Young, C. H. Yao, and W. Y. Chiu, "Properties of the poly(vinyl alcohol)/chitosan blend and its effect on the culture of fibroblast in vitro", *Biomaterials*, vol. 20, p. 1479–1487, 1999.
- [8] [7] E. A. El-Hefian, M. M. Nasef, and A. H. Yahaya, "Preparation and Characterization of Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) Blended Films: Mechanical, Thermal and Surface Investigations", *Journal of Chemistry*, vol. 8, p 91-96, 2011.
- [9] K. Nazan Turhan and F. Şahbaz, "Water vapor permeability, tensile properties and solubility of methylcellulose-based edible films", *J. Food Eng.*, vol. 61, p. 459–466, 2004.
- [10] P. Mayachiew, S. Devahastin, B. M. Mackey, and K. Niranjan, "Effects of drying methods and conditions on antimicrobial activity of edible chitosan films enriched with galangal extract", *Food Res Int.*, vol. 43, p. 125–132, 2010.
- [11] L. A. Hadwiger, D. F. Kendra, B. W. Fristensky, and W. Wagoner, "Chitosan Both Activates Genes in Plants and Inhibits RNA Synthesis in Fungi", in *Chitin in Nature and Technology*, R. Muzzarelli, C. Jeuniaux, and G. W. Gooday, Eds. Boston, MA: Springer US, 1986, p. 209–214.

(BBT nhận bài: 02/3/2020, hoàn tất thủ tục phản biện: 25/3/2020)