

基于二维红外技术研究氧化羧甲基纤维素钠/胶原的相互作用及热稳定性

田振华^{1,2}, 何静瑄¹, 王颖¹, 段炼³, 李从虎⁴

1. 陕西科技大学轻工科学与工程学院, 陕西 西安 710021
2. 轻化工程国家级实验教学示范中心(陕西科技大学), 陕西 西安 710021
3. 西南大学桑蚕纺织与生物质科学学院, 重庆 400715
4. 安庆师范大学生命科学学院, 安徽 安庆 246133

摘要 采用氧化羧甲基纤维素钠(OCMC)作为交联剂,对胶原溶液进行改性并采用二维红外技术分析OCMC与胶原之间的相互作用及其对胶原热稳定性的影响。一维红外图谱显示OCMC交联改性对胶原的主要特征吸收峰即酰胺I、II和III带的峰位与强度无明显影响;改性前后胶原的酰胺III带与 1455 cm^{-1} 处吸光度的比值 A_{III}/A_{1455} 均接近于1.000,以上结果显示交联键的引入不会破坏胶原的三股螺旋结构,但无法获知胶原与OCMC之间的相互作用及胶原结构的变化。以OCMC用量为外扰条件建立二维红外相关图谱,进一步分析两者间相互作用。结合胶原结构与OCMC中基团的响应强度及顺序可知:OCMC首先通过羧基与胶原中精氨酸的胍基或赖氨酸的氨基发生静电作用,随后醛基与胶原氨基之间发生希夫碱反应;两者之间相互作用以希夫碱反应为主。由于静电作用与交联键的引入,改性后胶原的热稳定性得到提升。随着温度的升高,纯胶原与改性胶原的特征吸收峰均发生红移且 A_{III}/A_{1455} 值不断降低,说明两者在升温过程中其氢键不断减弱,导致三股螺旋发生解旋,但与纯胶原相比,改性胶原特征吸收峰的红移程度与 A_{III}/A_{1455} 值降低幅度较小,证实了改性后胶原的热稳定性有所提高。胶原与改性胶原在升温过程中结构变化的分析结果表明:改性前后胶原二级结构的崩塌均表现为三股螺旋结构被破坏转变成无规卷曲结构;然而在测试温度范围内,三股螺旋结构对温度的敏感度及响应顺序发生明显变化:(1)对于纯胶原,对温度最为敏感的结构是胶原的螺旋结构,而改性胶原的无规卷曲结构是最为敏感的、最不敏感的结构是胶原螺旋结构,反映出改性后胶原的螺旋结构得到稳定;(2)改性后胶原螺旋结构对温度的响应发生滞后,进一步证实胶原的稳定作用主要归功于三股螺旋结构的加固。

关键词 胶原;结构;热稳定性;氧化羧甲基纤维素钠;二维红外光谱

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2021)09-2782-07

引言

作为细胞外基质的主要成分,胶原的主要生理机能是结缔组织的粘合物,起到保护机体与支撑器官的作用。胶原分子特有的三股螺旋结构赋予其优异的生物学功能,因此广泛应用于组织工程、药物控释、美容护肤等领域^[1-2]。然而,三股螺旋结构易受到热、酶、外力等因素的影响,可采用化学交联或共混对胶原进行改性以优化其性能。

羧甲基纤维素(CMC)是目前用量最大的纤维素种类,其结构中含有大量的 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{OH}$,因此可与胶原形成氢

键、静电作用,但由于两者之间仅存在非共价键作用,所得复合材料部分性能仍有不足,需辅以化学交联对胶原与CMC的复合材料进行改性。氧化羧甲基纤维素(OCMC)是CMC经氧化后得到的产物,分子中含有醛基(如图1所示),能与胶原的自由氨基形成希夫碱反应、引入共价键,从而实现对胶原的共混与交联双改性。在前期研究中,考察了OCMC改性胶原水凝胶^[3]及胶原膜的热稳定性^[4],发现OCMC显著提高不同相态胶原的热稳定性且热稳定性与交联键的数量密切相关。然而,曾有报道指出交联键在胶原变性过程中依然保留完整^[5],因此考察交联前后胶原的结构变化及温度效应对于研究OCMC对胶原结构及稳定性的影响具有

收稿日期:2020-12-21,修订日期:2021-04-15

基金项目:国家自然科学基金项目(21706151,22008201)和陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2019JQ-027)资助

作者简介:田振华,1989年生,陕西科技大学轻工科学与工程学院讲师 e-mail:tian_amb@163.com

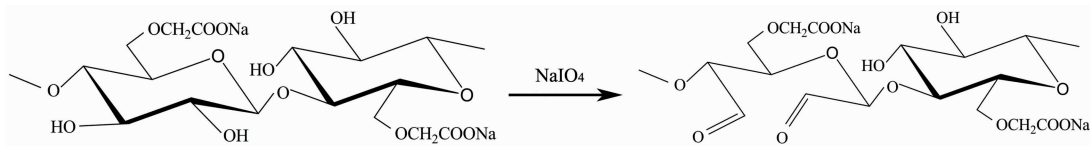


图 1 氧化羧甲基纤维素制备原理示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the preparation of OCMC

重要的理论指导意义。

二维红外技术(2D-IR)是由 Isao Noda 提出的对一系列相关的红外光谱图进行分析,得到分子化学键振动模式间相互关系的一种数学方法。此技术不仅可以提高光谱的分辨率,而且可以判断外扰条件改变时分子结构的响应顺序,已被用于研究蛋白质的结构、变性、折叠和去折叠变化^[6-7]。Duan 等^[8]通过 2D-IR 分析了丝胶蛋白与胶原间的相互作用及其对胶原螺旋结构的影响,证实 2D-IR 是分析胶原结构的一种有效手段。2D-IR 分析胶原结构方面的前期研究主要关注纯胶原在不同环境中的结构变化或小分子交联剂对胶原结构的影响,而采用此技术研究天然大分子交联剂与胶原之间相互作用及其对胶原结构、热稳定性等的影响鲜见报道。本工作通过 2D-IR 技术分析 OCMC 与胶原间的相互作用,以及改性前后胶原结构的温度效应以此表征 OCMC 对胶原稳定性的影响。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

胶原海绵、氧化羧甲基纤维素钠(OCMC),实验室自制; Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 和 NaCl , 分析纯, 广东光华科技有限公司。傅里叶变换红外光谱仪, Vector-22, 德国 Bruker 公司。

1.2 OCMC 改性胶原膜的制备

用 PBS 缓冲溶液 ($10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$, $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NaCl}$, $\text{pH} \sim 7.4$) 溶解胶原海绵、OCMC, 分别配置 $6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的胶原溶液和 $250 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的 OCMC 溶液。随后将 OCMC 分次滴加至胶原溶液中, 最终 OCMC

与胶原的质量比分别为 0 : 1, 1 : 1, 2 : 1, 3 : 1, 4 : 1 和 5 : 1, 依次命名为 C0, C1, C2, C3, C4 和 C5; 反应 24 h 后将所得改性样品离心脱泡后倒入聚四氟乙烯圆盘中, 室温下自然干燥, 待成膜后用超纯水进行清洗以除去盐和未结合的 OCMC 等干扰物, 自然干燥后置于干燥器中平衡水分, 待测。

1.3 红外光谱图采集及 2D-IR 谱图绘制

将纯胶原 C0 与改性胶原 C5 置于培养箱中, $25 \sim 125 \text{ }^\circ\text{C}$ 范围内每升高 $10 \text{ }^\circ\text{C}$ 培养 30 min 后采集不同温度下的样品红外光谱。分辨率为 4 cm^{-1} 、扫描信号 64 次。基于所采集的红外光谱数据, 利用软件 2D shige (Kwansei Gakuin University) 计算生成二维红外数据, 基于 Origin 8.0 绘制 2D-IR 谱图。图中实线和虚线分别代表正相关峰和负相关峰。

2 结果与讨论

2.1 OCMC 与胶原间的相互作用

2.1.1 一维红外谱图分析

图 2(a,b) 分别为不同量 OCMC 改性胶原的红外全谱图及 $1850 \sim 800 \text{ cm}^{-1}$ 范围内的放大谱图。胶原的红外谱图主要来自于酰胺基团的贡献。 3328 和 3080 cm^{-1} 处吸收峰分别归属于 N—H 伸缩振动和 C—H 伸缩振动; 胶原的特征吸收峰为 1658 cm^{-1} 处的 C=O 伸缩振动(酰胺 I 带)、 1555 cm^{-1} 处的 N—H 弯曲振动和 C—N 伸缩振动(酰胺 II 带)及 1240 cm^{-1} 处的 C—N 伸缩振动和 N—H 面内变形振动(酰胺 III 带)^[9-10]。这些特征吸收峰对胶原螺旋结构的变化非常敏感。通过酰胺 III 带和 1455 cm^{-1} 处吸光度的比值即 A_{III}/A_{1455} 可判断胶原螺旋结构的完整性。纯胶原的 A_{III}/A_{1455} 值

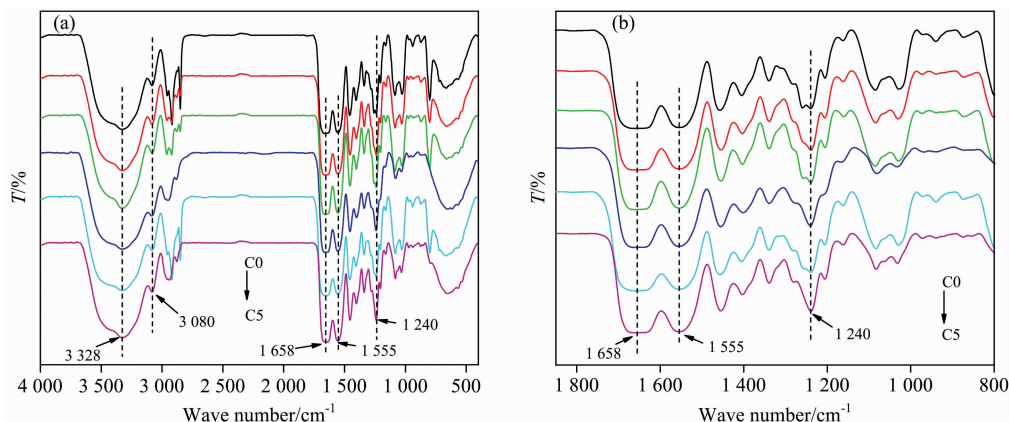


图 2 不同量 OCMC 改性胶原的红外全谱图(a)和放大谱图(b)

Fig. 2 FTIR spectra (a) and enlarge spectra (b) of collagen cross-linked with OCMC

为 0.980, 而 C1, C2, C3, C4 和 C5 分别为 0.997, 1.022, 1.002, 1.014 和 1.016, 均接近于 1.000, 可知改性后胶原保留了完整的螺旋结构^[11]。然而, 改性后胶原的特征吸收峰并没有发生明显频移, 无法获知两者间的相互作用。

2.1.2 二维红外图谱分析 OCMC 与胶原间的相互作用

图 3(a)和(b)分别为不同量 OCMC 改性胶原的二维同步谱与异步谱。同步谱中位于对角线上的相关峰称为自相关峰, 代表峰强的变化程度^[9]。由图 3(a)可知, 在 1 730, 1 610, 1 500, 1 435, 1 320 和 1 236 cm^{-1} 处出现自相关峰。1 730 cm^{-1} 归属于 OCMC 中醛基的 C=O 伸缩振动、1 435 和 1 320 cm^{-1} 分别归属于 OCMC 中羧基的 C—O 伸缩振动和弯曲振动^[12]。一维红外图谱中胶原的吸收峰会出现重叠, 而 2D-IR 可将一些重叠峰分开, 所以在二维红外图谱中出现了一些一维图谱中未显示的吸收峰。其中酰胺 I 带 1 658 cm^{-1} (即 C=O 伸缩振动)被分为 1 655 和 1 610 cm^{-1} ; 酰胺 II 带 1 555 cm^{-1} (即 N—H 弯曲振动和 C—N 伸缩振动)被分为 1 555 和 1 500 cm^{-1} ; 其中, 1 655 和 1 555 cm^{-1} 峰来自于胶原螺旋结构而 1 610 和 1 500 cm^{-1} 峰来自于胶原无规卷曲结构。1 236 cm^{-1} 来源于胶原中螺旋结构的酰胺 III 带 (即 C—N 伸缩振动和 N—H 面内变形振动)。此外, 同步谱中位于非对角线上的相关峰称为同步交叉峰 $\Phi(\nu_1, \nu_2)$, 表明基团之间有很强的协同作用或可能存在强烈的相互作用^[14]。正交叉峰 $\Phi(1 730, 1 500)$, $\Phi(1 500, 1 435)$ 等的出现说明所对应的结构间发生了同步协同作用, 可推测胶原与 OCMC 之间存在相互作用且主要发生于胶原的酰胺键、碱性氨基酸与 OCMC 醛基、羧基之间。而这些基团可能发生的相互作用包括以下三种: 胶原氨基与 OCMC 醛基的共价交联、胶原酰胺

键或碱性氨基酸与 OCMC 羧基间的氢键结合或静电作用。

为了进一步证实两者之间发生上述相互作用的可能性, 对各反应基团所对应的自相关峰的强度变化及响应顺序以及实验条件下胶原、OCMC 的带电情况进行分析。

通过自相关峰的强度评判所对应结构对外扰的敏感程度: 1 730 cm^{-1} > 1 320 cm^{-1} > 1 500 cm^{-1} > 1 435 cm^{-1} > 1 236 cm^{-1} > 1 610 cm^{-1} , 可知 OCMC 醛基和胶原 N—H 和 C—N 结构变化较大, 表明两者间相互作用以 OCMC 醛基与胶原氨基的交联反应为主。

图 3(b)即异步谱由复杂的异步交叉峰 $\Psi(\nu_1, \nu_2)$ 组成, 可辅助提供物质结构对外扰条件的响应信息。结合同步谱与异步谱, 根据野田规则 [当 $\Phi(\nu_1, \nu_2)$ 和 $\Psi(\nu_1, \nu_2)$ 同为正或同为负时, ν_1 先于 ν_2 ; 当两者一正一负时, ν_1 后于 ν_2] 可判断吸收峰的响应顺序 (如表 1 所示)^[14]。在 OCMC 用量增加时, 胶原中各吸收峰的响应顺序为 1 500 cm^{-1} > 1 236 cm^{-1} > 1 610 cm^{-1} , 胶原的 N—H 和 C—N 结构最先响应; OCMC 各吸收峰的响应顺序为 1 320 cm^{-1} > 1 435 cm^{-1} > 1 730 cm^{-1} , 羧基的响应先于醛基; 换言之, OCMC 首先通过羧基与胶原发生相互作用, 随后醛基与胶原氨基发生希夫碱交联反应。

本实验条件 (pH \sim 7.4) 下, 胶原中组氨酸的等电点 (7.59) 发生质子化的程度较小、不带电; 赖氨酸 (pI 9.74) 和精氨酸 (pI 10.76) 的 ϵ -氨基和胍基带正电荷, 可发生静电作用; 此外, 胶原的 C=O 伸缩振动 (1 610 cm^{-1}) 敏感度最低且最后响应, 因此所能参与的氢键结合很弱。而 OCMC 羧基在实验条件下易发生电离、带负电荷, 主要发生静电作用。根据上述分析, 可说明 OCMC 与胶原之间存在静电作用, 而

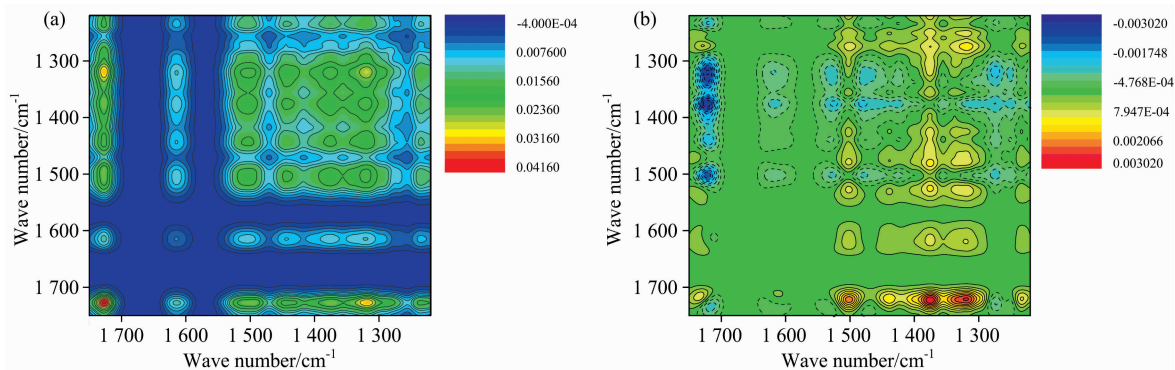


图 3 不同量 OCMC 改性胶原的二维红外同步图 (a) 和异步图 (b)

Fig. 3 2D synchronous (a) and asynchronous (b) spectra of collagens cross-linked by OCMC

表 1 交叉峰的特征及 OCMC 改性胶原结构的响应顺序

Table 1 Cross-peaks intensities and the response order of cross-linked collagens

序号	$\Phi(\nu_1, \nu_2)$	$\Psi(\nu_1, \nu_2)$	响应顺序
1	$\Phi(1 730, 1 610) > 0$	$\Psi(1 730, 1 610) > 0$	1 730 cm^{-1} 先于 1 610 cm^{-1}
2	$\Phi(1 730, 1 435) > 0$	$\Psi(1 730, 1 435) < 0$	1 435 cm^{-1} 先于 1 730 cm^{-1}
3	$\Phi(1 500, 1 320) > 0$	$\Psi(1 500, 1 320) > 0$	1 500 cm^{-1} 先于 1 320 cm^{-1}
4	$\Phi(1 435, 1 236) > 0$	$\Psi(1 435, 1 236) < 0$	1 236 cm^{-1} 先于 1 435 cm^{-1}
5	$\Phi(1 320, 1 236) > 0$	$\Psi(1 320, 1 236) > 0$	1 320 cm^{-1} 先于 1 236 cm^{-1}

1 500 cm^{-1} > 1 320 cm^{-1} > 1 236 cm^{-1} > 1 435 cm^{-1} > 1 730 cm^{-1} > 1 610 cm^{-1}

氢键结合较弱；且两者的静电作用主要发生于 OCMC 的羧基与胶原的赖氨酸的 ϵ -氨基或者精氨酸的胍基之间。

2.2 OCMC 对胶原热稳定性的影响

2.2.1 一维红外谱图分析

图 4 是纯胶原(C0)与改性胶原(C5)在不同温度下的红外全谱图[图 4(a,c)]及 1 850~800 cm^{-1} 范围内的放大谱图, 如图 4(b,d)所示。随温度的升高, 纯胶原的酰胺 A 带和 B 带分别降低了 7 和 5 cm^{-1} ; 而改性胶原[图 4(c)]的酰胺 A 带和 B 带仅降低了 4 和 3 cm^{-1} 。此外, 纯胶原[图 4(b)]酰胺 I, II 和 III 带分别向低波数移动 3, 10 和 4 cm^{-1} ; 对于改性胶原[图 4(d)], 酰胺 I 带没有发生明显的移动, 酰胺 II、III

带分别向低波数移动 5 和 2 cm^{-1} 。综上所述, 改性前后胶原的特征吸收峰均发生红移; 此外, 酰胺 I, II 和 III 带吸收峰的峰形由尖峰逐渐变为宽峰, 表明分子间缔合氢键减弱, 而胶原螺旋结构的稳定性归功于氢键, 由此可知升温过程中胶原结构发生了变化^[10]; 然而后者的红移程度小于前者, 说明改性胶原的热稳定性高。通过 A_{III}/A_{1455} 值判断胶原三股螺旋结构的完整性。如表 2 所示, 纯胶原的 A_{III}/A_{1455} 值由 0.980 降低至 0.663, 说明三股螺旋结构发生解旋; 改性胶原的 A_{III}/A_{1455} 值也呈现下降趋势, 但同一温度下, 改性胶原的 A_{III}/A_{1455} 值略大于纯胶原, 证实了 OCMC 提高了胶原的热稳定性。

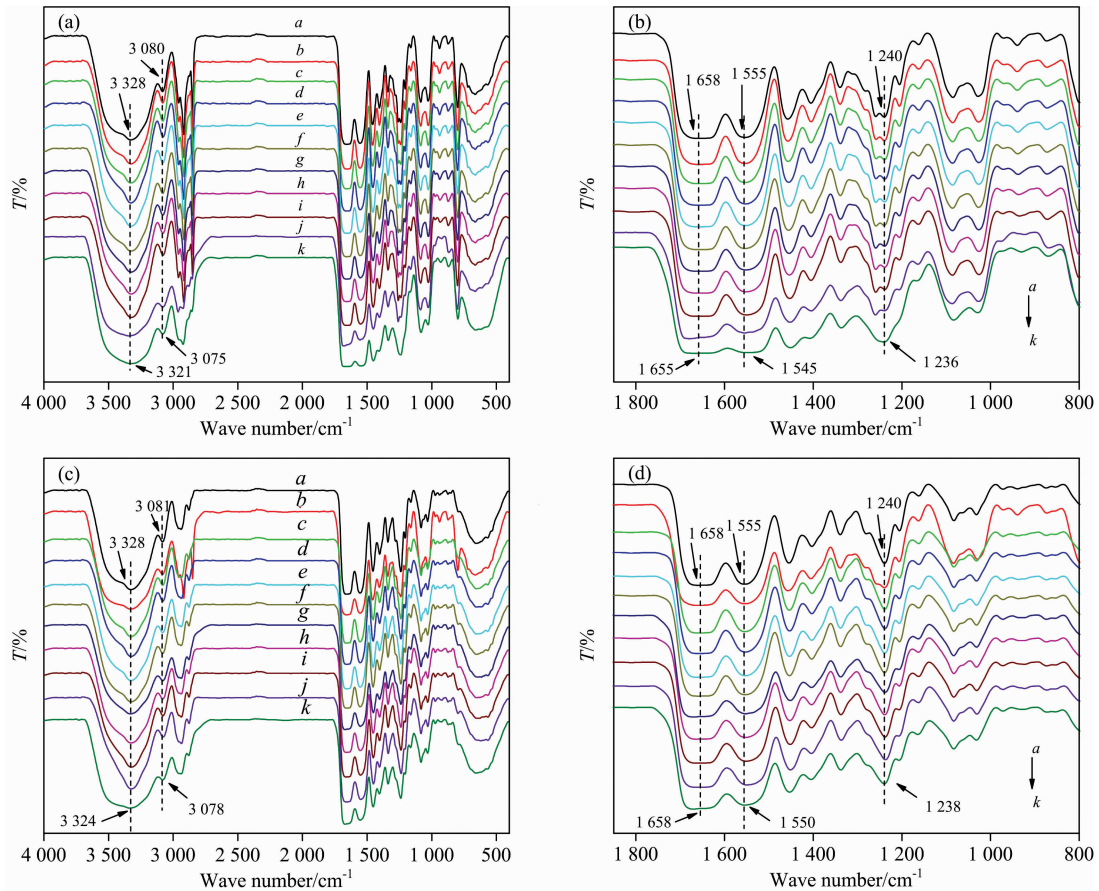


图 4 不同温度下纯胶原(a, b)与改性胶原(c, d)的红外全谱图及放大谱图

a→k: 25~125 °C

Fig. 4 Temperature-dependent infrared spectra and enlarge spectra of native collagen (a, b) and cross-linked collagen (c, d)

a→k: 25~125 °C

表 2 不同温度下纯胶原与改性胶原的 A_{III}/A_{1455} 值

Table 2 A_{III}/A_{1455} values of native and cross-linked collagens at various temperatures

样品	A_{III}/A_{1455}									
	25 °C	35 °C	45 °C	55 °C	65 °C	75 °C	95 °C	105 °C	115 °C	125 °C
C0	0.980	1.012	0.950	0.886	0.882	0.878	0.874	0.771	0.667	0.663
C5	1.016	1.049	0.951	0.900	0.885	0.870	0.881	0.875	0.858	0.845

2.2.2 二维红外谱图分析 OCMC 对胶原热稳定性的影响

图 5 为以温度为外扰、1 750~1 220 cm^{-1} 范围内纯胶原

与改性胶原的二维同步图与异步图。图 5(a)中, 1 655, 1 555, 1 500, 1 455 和 1 240 cm^{-1} 处自相关峰的出现说明升

温过程中胶原二级结构发生了明显变化^[11]。其中 1 655, 1 555 和 1 240 cm^{-1} 处吸收峰来自于胶原的螺旋结构; 1 500 cm^{-1} 处来自于胶原无规卷曲结构。与图 5(a) 相比, 图 5(c) 中除了上述自相关峰外, 1 730, 1 610, 1 435 和 1 320 cm^{-1} 处也出现了明显的自相关峰。

正交叉峰 $\Phi(1\ 655, 1\ 555)$, $\Phi(1\ 555, 1\ 240)$ 与负交叉峰 $\Phi(1\ 655, 1\ 610)$, $\Phi(1\ 555, 1\ 500)$ 的出现说明来源于螺旋结构的酰胺 I, II, III 带(1 655, 1 555 和 1 240 cm^{-1}) 的变化方向一致, 但与来源于无规卷曲结构的酰胺 I 和 II 带(1 610,

1 500 cm^{-1}) 相反。由此得到如下结论: 升温过程中, 改性前后胶原二级结构的崩塌均表现为螺旋结构转变为无规卷曲结构。此外, 对比自相关峰的强度可知, 胶原对温度最为敏感的结构是来自螺旋结构的酰胺 I 和 II 带(1 655, 1 555 cm^{-1})、最后为来自无规卷曲结构的酰胺 II 带(1 500 cm^{-1})。然而, 对于改性胶原, 其强度大小顺序发生了明显变化, 最为敏感的是胶原无规卷曲结构的酰胺 II 带(1 500 cm^{-1})、而螺旋结构(1 655 cm^{-1}) 最不敏感, 反映出改性胶原的螺旋结构得到稳定。

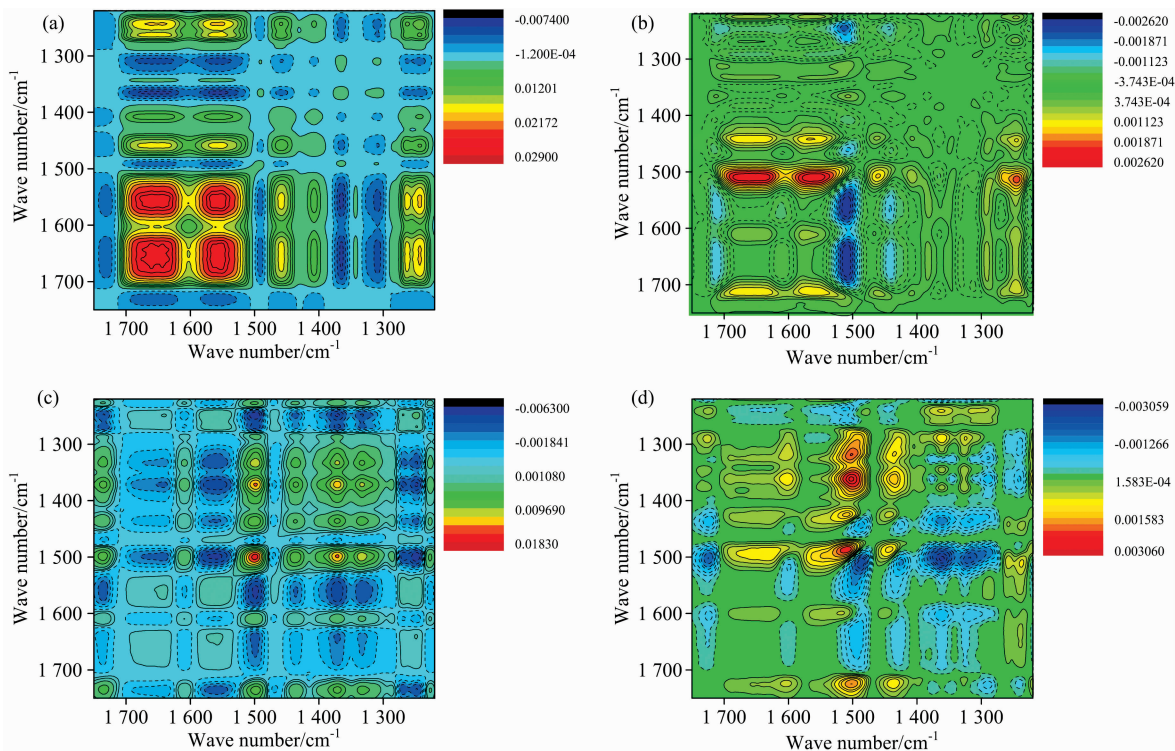


图 5 不同温度下胶原(a, b)与改性胶原(c, d)的二维红外同步图与异步图

Fig. 5 Temperature-dependent 2D synchronous and asynchronous infrared spectra of native (a, b) and cross-linked collagen (c, d)

表 3 交叉峰的特征及升温过程中胶原及改性胶原结构的响应顺序

Table 3 Cross-peaks intensities and the response order of native and cross-linked collagens

样品	序号	$\Phi(\nu_1, \nu_2)$	$\Psi(\nu_1, \nu_2)$	响应顺序
胶原	1	$\Phi(1\ 655, 1\ 555) > 0$	$\Psi(1\ 655, 1\ 555) \sim 0$	无法判断
	2	$\Phi(1\ 655, 1\ 455) > 0$	$\Psi(1\ 655, 1\ 455) > 0$	1 655 cm^{-1} 先于 1 455 cm^{-1}
	3	$\Phi(1\ 655, 1\ 240) > 0$	$\Psi(1\ 655, 1\ 240) < 0$	1 240 cm^{-1} 先于 1 655 cm^{-1}
	4	$\Phi(1\ 555, 1\ 455) > 0$	$\Psi(1\ 555, 1\ 455) > 0$	1 555 cm^{-1} 先于 1 455 cm^{-1}
	5	$\Phi(1\ 555, 1\ 240) > 0$	$\Psi(1\ 555, 1\ 240) < 0$	1 240 cm^{-1} 先于 1 555 cm^{-1}
	6	$\Phi(1\ 500, 1\ 240) < 0$	$\Psi(1\ 500, 1\ 240) < 0$	1 500 cm^{-1} 先于 1 240 cm^{-1}
改性胶原	1	$\Phi(1\ 730, 1\ 655) < 0$	$\Psi(1\ 730, 1\ 755) < 0$	1 730 cm^{-1} 先于 1 655 cm^{-1}
	2	$\Phi(1\ 730, 1\ 320) > 0$	$\Psi(1\ 730, 1\ 320) < 0$	1 320 cm^{-1} 先于 1 730 cm^{-1}
	3	$\Phi(1\ 655, 1\ 555) > 0$	$\Psi(1\ 655, 1\ 555) \sim 0$	无法判断
	4	$\Phi(1\ 610, 1\ 500) > 0$	$\Psi(1\ 610, 1\ 500) > 0$	1 610 cm^{-1} 先于 1 500 cm^{-1}
	5	$\Phi(1\ 500, 1\ 435) > 0$	$\Psi(1\ 500, 1\ 435) > 0$	1 500 cm^{-1} 先于 1 435 cm^{-1}
	6	$\Phi(1\ 435, 1\ 240) < 0$	$\Psi(1\ 435, 1\ 240) < 0$	1 435 cm^{-1} 先于 1 240 cm^{-1}
	7	$\Phi(1\ 320, 1\ 240) < 0$	$\Psi(1\ 320, 1\ 240) > 0$	1 240 cm^{-1} 先于 1 320 cm^{-1}

胶原: 1 500 cm^{-1} > 1 240 cm^{-1} > 1 655 cm^{-1} , 1 555 cm^{-1} > 1 455 cm^{-1}

改性胶原: 1 610 cm^{-1} > 1 500 cm^{-1} > 1 435 cm^{-1} > 1 240 cm^{-1} > 1 320 cm^{-1} > 1 730 cm^{-1} > 1 655, 1 555 cm^{-1}

结合同步图[图 5(a,c)]与异步图[图 5(b,d)]判断吸收峰的响应顺序,如表 3 所示。升温过程中胶原无规卷曲结构的酰胺 II 带首先响应,其次为螺旋结构的酰胺 III 带和 I, II 带,最后响应的是 CH_2 反对称弯曲振动;改性后仍然是胶原无规卷曲结构的酰胺 I 和 II 带发生响应,其次为 OCMC 中的结构响应,最后为胶原螺旋结构的酰胺 I 和 II 带,说明改性胶原螺旋结构的响应发生滞后,可证实 OCMC 对胶原的稳定作用主要归功于三股螺旋结构的加固。

3 结 论

交联剂氧化羧甲基纤维素钠 (OCMC) 的加入不会破坏胶

原的三股螺旋结构,而且随着用量的增多,OCMC 首先通过羧基与胶原中精氨酸的胍基或赖氨酸的氨基发生静电作用,随后醛基与胶原氨基之间发生希夫碱反应并且两者之间的相互作用以希夫碱交联反应为主。此外,OCMC 的引入稳定了胶原的螺旋结构,因此在升温过程中,改性后胶原的螺旋结构对温度的敏感度降低,且螺旋结构对温度的响应发生滞后。

References

- [1] Duan L, Xiang H Z, Yang X, et al. *Polymer Degradation and Stability*, 2019, 161: 198.
- [2] Dewle A, Pathak N, Rakshmare P, et al. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2020, 6(2): 779.
- [3] TIAN Zhen-hua, HE Jing-xuan, WANG Ying(田振华,何静瑄,王颖). *China Leather(中国皮革)*, 2020, 49(11): 1.
- [4] TIAN Zhen-hua, WANG Ying(田振华,王颖). *Leather Science and Engineering(皮革科学与工程)*, 2020, 30(4): 7.
- [5] Tian Z H, Wu K, Liu W T, et al. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, 140: 356.
- [6] Wu Y Q, Zhang L P, Jung Y M, et al. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 189: 291.
- [7] Schmidt-Engler J M, Blankenburg L, Zangl R, et al. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2020, 22(40): 22963.
- [8] Duan L, Yuan J J, Yang X, et al. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93: 468.
- [9] Sun L L, Li B F, Yao D, et al. *Journal of The Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2018, 80: 51.
- [10] Andonegi M, Irastorza A, Izeta A, et al. *Pharmaceutics*, 2020, 12(12)
- [11] Tian Z H, Wang Y, Wang H, et al. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(25): 31300.
- [12] Tian H L, Chen Y H, Ding C C, et al. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 89(2): 542.
- [13] Morita S, Ozaki Y. *CHEMOMETR INTELL LAB*, 2017, 168: 114.
- [14] Li J, Li S J, Dong Z G, et al. *Energ. Fuel*, 2020, 34(8): 9154.

Interaction and Thermal Stability of Oxidized Carboxymethyl Cellulose/Collagen Based on Two-Dimensional Infrared Spectroscopy

TIAN Zhen-hua^{1,2}, HE Jing-xuan¹, WANG Ying¹, DUAN Lian³, LI Cong-hu⁴

1. College of Bioresources Chemical and Materials Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China
2. National Demonstration Center for Experimental Light Chemistry Engineering Education, (Shaanxi University of Science & Technology), Xi'an 710021, China
3. College of Sericulture, Textile and Biomass Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China
4. College of Life Science, Anqing Normal University, Anqing 246133, China

Abstract Collagen was modified by oxidized carboxymethyl cellulose (OCMC) and then their interaction and thermal stability were investigated by two-dimensional infrared spectroscopy (2D-IR). One-dimensional infrared spectra showed that the positions and intensities of the main characteristic absorption peaks (amide I, II and III bands) for collagen had no significant change upon cross-linking; additionally, all the absorption ratios of amide III bands to 1455 cm^{-1} (A_{III}/A_{1455}) of native and cross-linking collagen were close to 1.000. These results indicated that the triple helix of collagen was not demolished by the introduction of cross-linking. The 2D-IR spectra were constructed from OCMC amount-dependent infrared spectra, and then the interaction between OCMC and collagen was further analyzed. The response sensitivity and order of collagen structure and the groups of OCMC showed that electrostatic interaction formed firstly between carboxyl groups of OCMC and guanidine or amino groups of collagen. Then Schiff's base reaction occurred between aldehyde groups of OCMC and amino groups of collagen, which was the

dominated interaction. As a result, the thermal stability of cross-linked collagen increased. With the increase of temperature, the red-shift of absorption bands and the decreased A_{III}/A_{1455} value reflected that hydrogen bonds were weakened, and the unwinding of triple helix occurred for both native and cross-linked collagens; whereas the fewer changes in red-shift and A_{III}/A_{1455} value for cross-linked collagen also confirmed the increase in thermal stability. Furthermore, the 2D-IR spectra were constructed from the temperature-dependent infrared spectra and provided information about the thermally induced structural changes. It could be conjectured that the triple helix was transformed into random coils for the native and cross-linked collagen, resulting in the loss of secondary structure with increasing the temperature. Nevertheless, the response sensitivity and order of the triple helix to temperature changed significantly. (1) For native collagen, the most temperature-sensitive structure was triple helix; whereas, it was random coils for cross-linked collagen, demonstrating that the triple helix of cross-linked collagen was less sensitive to temperature than that of native collagen. (2) Moreover, the response order of the triple helix for cross-linked collagen to the increased temperature lagged. It was illustrated that the stabilization of collagen by OCMC was due to the reinforcement of the triple helix.

Keywords Collagen; Structure; Thermal stability; Oxidized carboxymethyl cellulose; Two-dimensional infrared spectroscopy

(Received Dec. 21, 2020; accepted Apr. 15, 2021)

《光谱学与光谱分析》期刊社决定采用 ScholarOne Manuscripts 在线投稿审稿系统

《光谱学与光谱分析》期刊社与汤森路透集团签约,自 2010 年 12 月 1 日起《光谱学与光谱分析》决定采用 Thomson Reuters 旗下的 ScholarOne Manuscripts 在线投稿审稿系统。

- ScholarOne Manuscripts, 该系统不仅能轻松处理稿件,而且能提速科技交流。
- 全球已有 360 多家学会和出版社的 3 800 多种期刊选用了 ScholarOne Manuscripts 系统作为在线投稿、审稿平台,全球拥有超过 1 350 万的注册用户,代表着全球学术期刊在线投审稿的一流水平。
- ScholarOne Manuscripts 与 EndNote, Web of Science 无缝链接和整合;使科研探索、论文评阅和信息传播效率大为提高。
- ScholarOne Manuscripts 是汤森路透科技集团的一个业务部门,拥有丰富的学术期刊业务经验,为学术期刊提供综合管理工作流程系统,使期刊更有效管理投稿、同行评审、加工和发表过程,提高作者心中的专业形象,缩短论文发表时间,削减管理成本,帮助期刊提高科研绩效和实现学术创新。

《光谱学与光谱分析》采用“全球学术期刊首选的在线投稿审稿系统—ScholarOne Manuscripts”,势必对 2010 年 11 月 30 日以前向本刊投稿的作者在查阅稿件信息时,会带来某些不便,在此深表歉意!为了推进本刊的网络化、数字化、国际化进程,以实现与国际先进出版系统对接;为了不断提高期刊质量,加快网络化、数字化建设,加快与国际接轨的进程,希望能得到广大作者、读者们的支持与理解,对您的理解和配合深表感激。这是一件新事物,肯定有不周全、不完善的地方,让我们共同努力,不断改进和完善起来。

《光谱学与光谱分析》期刊社

2010 年 12 月 1 日