

制备海藻酸钠-壳聚糖生物微胶囊的技术研究*

李朝霞^{1,2}, 朱建良¹

(1. 南京工业大学 制药与生命科学学院, 江苏 南京 210009 2. 盐城工学院 生物实验中心, 江苏 盐城 224003)

摘 要:以海藻酸钠和壳聚糖为原料, 研究了采用界面络合方法制备海藻酸钠-壳聚糖生物微胶囊的技术条件和影响因素。结果表明, 在胶珠反应温度为 30 ℃、反应时间为 20 min、海藻酸钠浓度为 2.0%、氯化钙浓度为 4.0%、壳聚糖溶液的浓度 1.8%、海藻酸钠胶珠与壳聚糖溶液的比例为 1:5、成膜反应时间 10 min、覆膜时间 8 min 为最佳的微胶囊制备条件。

关键词: 海藻酸钠 壳聚糖 生物微胶囊 制备

中图分类号: TQ316.3

文献标识码: A

文章编号: 1671-5322(2005)02-0058-05

生物微胶囊技术是指把分散的固体、液体或者气体物质完全包覆在一层半透膜中形成微小粒子的技术^[1]。微胶囊的特殊结构(如图 1)使囊心与外界环境相互隔离, 创造一个相对稳定的微环境。

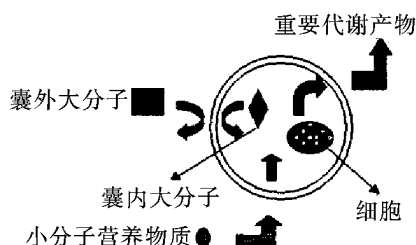


图 1 生物微胶囊固定化模型示意图

Fig. 1 model sketch map of the bio-microcapsule immobility

常用的生物微胶囊制备方法是界面聚合法, 其基本原理是将两种带有不同基团的单体分别溶于两种互不相溶的溶剂中, 当一种溶液分散到另一种溶液中时在两种溶液的界面上单体相遇生成一层聚合物膜^[1]。海藻酸钠为天然的聚阴离子化合物, 分子链上含有大量的羧基^[2]。壳聚糖具有良好的生物相容性、无毒性、无刺激性, 其分子链上含有大量的伯氨基^[3-4], 为天然的聚阳离子化

合物。所以海藻酸钠和壳聚糖可以通过正、负电荷吸引形成聚电解质膜从而构成海藻酸钠-壳聚糖生物微胶囊。

目前生物微胶囊的性能指标主要有机械强度性能、通透性能和生物相容性三方面。前已述及, 海藻酸钠和壳聚糖均为具有良好生物相容性的天然高分子聚合物, 则由这两种成分所构成的生物微胶囊的生物相容性毋庸置疑。本文从微胶囊的成型性和机械强度性能入手, 对海藻酸钠/壳聚糖微胶囊的制备工艺进行实验研究, 得到了海藻酸钠/壳聚糖微胶囊的制备条件。

1 实验部分

1.1 微胶囊制备方法

壳聚糖为酸性天然高分子多糖, 参照江龙法^[5-6]等制备壳聚糖微胶囊的方法在 60 ℃ 恒温搅拌条件下用 1.0% 乙酸配制; 同时参照廖艳华^[6-7]等制备海藻酸钠微胶囊的方法配制海藻酸钠溶液、氯化钙溶液。用注射器吸取搅拌好的海藻酸钠溶液滴入恒速搅拌的氯化钙溶液中反应形成海藻酸钠胶珠, 用乳化剂 Tween 80 (1% V/V) 过滤清洗后将制得的海藻酸钠胶珠转移到壳聚糖乙酸溶液中恒速搅拌完成成膜反应后用低浓度的海

* 收稿日期 2005-05-13

基金项目 盐城市科技发展基金项目(项目编号 YK2004185-3), 盐城工学院科研基金项目。

作者简介 李朝霞(1973-), 女, 湖北省孝感市人, 江苏盐城工学院讲师, 南京工业大学在读硕士。

藻酸钠溶液覆膜。

由于液态的内环境更便于微生物摄取养料和排除代谢废物,故凝胶态的海藻酸钙内环境需要液化。采用 0.055 mol/L 柠檬酸钠溶液,钠离子与钙离子在离子移变作用下使微胶囊内核中的凝胶态内环境液化。鉴于液化时间对微胶囊强度影响较为显著,本部分实验着重探索不同液化时间的微胶囊机械强度性能变化和膨胀度变化情况以获得最佳的制备条件。

1.2 微胶囊和胶珠性能的测定方法

1.2.1 微胶囊和胶珠粒径的测定方法

取制得的微胶囊或胶珠置于玻璃板上,用千分尺或者刻度尺随机测量数粒微胶囊粒径,取平均值。单位: μm 。

$$d_{\text{平均}} = (d_1 + d_2 + d_3 + \cdots + d_n)/n$$

1.2.2 微胶囊和胶珠机械强度的测定方法

采用按压法,以微胶囊或胶珠的正面所能承受的最大压力来表征机械强度。随机取制得的微胶囊或胶珠 5 粒置于水平玻璃板上,均匀分布成一个圆,上面盖上轻的玻璃片。往轻玻璃片上加砝码,直至微胶囊或胶珠严重形变或出现破裂时读数 P_i 。则单个微胶囊或胶珠的机械强度即为: $P_i/5(\text{g}/\text{cm}^2)$ 。如此测量 3 组取平均值即为此时微胶囊或胶珠平均机械强度:

$$P = (P_1/5 + P_2/5 + P_3/5)/3$$

1.2.3 微胶囊膨胀度的定义及测定方法^[8]

利用微胶囊膜强度与膨胀度的反比关系,可用膨胀度表征微胶囊膜强度,定义微胶囊膨胀度 S_w 。

$$S_w = D_t/D_o$$

在倒置显微镜下随机读取 50 个胶囊粒径,取算术平均值为该批凝胶胶珠的粒径,定义为 D_o 。然后

将微胶囊置于柠檬酸钠溶液中,液化一定时间后微胶囊内部变为液态。微胶囊在液化后按 1.2.1 节中的方法读取胶囊粒径,定义为 D_t 。由此计算微胶囊膨胀度 S_w 。膨胀度越高表征微胶囊膜强度越低,反之,膨胀度越低则表征微胶囊膜强度越高。

1.3 实验材料

海藻酸钠(AR) ;氯化钙(AR) ;Tween 80(AR) ;壳聚糖(片状,AR,DD = 82% - 85%,相对分子量 $3.3 \times 10^5 \sim 4.6 \times 10^5$,浙江澳兴生物科技有限公司提供,) ;冰乙酸(AR) ;氯化钠(AR) ;柠檬酸钠(AR)。

2 结果与分析

2.1 海藻酸钙胶珠性能的影响因素分析

影响海藻酸钙胶珠性能的主要因素有海藻酸钠浓度、氯化钙浓度、转速、下滴速率、下滴高度、反应时间,反应温度等。参照廖艳华^[6]等的海藻酸钙微胶囊的制备方法在预做实验的基础上选择海藻酸钠溶液浓度为 2.0%、氯化钙溶液浓度为 4.0%、转速为 200 r/min、下滴速度为 80 滴/min、下滴高度为 8 - 10 cm。本实验主要研究反应时间和反应温度对胶珠性能的影响。

2.1.1 反应时间对海藻酸钙胶珠性能的影响

5 ml 浓度为 2.0% 的海藻酸钠溶液装入针筒以 80 滴/min 速度滴入 200 r/min 恒速搅拌的浓度为 4.0% 的氯化钙溶液中,控制反应温度为 30℃,滴出高度为 8 - 10 cm,在不同反应时间下的胶珠成型效果见表 1。由表 1 可知,反应时间明显影响成型效果,当反应时间控制在 20 min 时成型效果最好,机械强度最高,反应时间延长,反而会降低微胶囊成型效果及机械强度。

表 1 反应时间对海藻酸钙胶珠性能的影响
Table1 Effect on the capability of calcium - alginate gel by reaction time

实验号	反应时间/min	成型效果	机械强度/ $\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$
1	2	膜薄,不成型	359.3
2	5	成型好	434.7
3	10	成型好,强度较高	482.9
4	15	成型好,强度较高	524.5
5	20	成型好,强度很高	546.7
6	25	少数成型不规则为椭圆形	512.2
7	30	不规则,有椭圆形	468.6

2.1.1.2 反应温度对海藻酸钙胶珠性能的影响

5 ml 浓度为 2.0% 的海藻酸钠溶液装入针筒以 80 滴/min 速度滴入 200 r/min 恒速搅拌的浓度为 4.0% 的氯化钙溶液中,控制 8 – 10 cm 的滴出高度,反应 20 min,不同反应温度下胶珠的性能。

由表 2 可知,反应温度对胶珠性能影响不大,其中,30 ℃ 时胶珠成型效果好,机械强度也最高。结合以后固定化微生物的用途,取反应温度为 30 ℃。

表 2 反应温度对海藻酸钙胶珠性能的影响
Table2 the effect on the capability of calcium – alginate gel by reaction temperature

实验号	温度/℃	成型效果	机械强度/g·cm ⁻²
1	30	成型好	612.4
2	40	成型好	533.4
3	60	成型好	564.9
4	80	成型好,粒珠呈淡黄色	540.5
5	100	粒珠呈黄色,内部带微小气泡,少数成椭圆形	435.4

表 3 壳聚糖溶液浓度对微胶囊性能的影响
Table3 Effect on the capability of bio – microcapsule by chitosan solution

实验号	壳聚糖溶液的浓度/%	膨胀度	液化后机械强度/g·cm ⁻²
1	1.5	0.964	203.4
2	1.8	0.959	502.3.1
3	2.0	0.956	452.3
4	2.2	0.955	197.9
5	2.5	0.977	163.4

2.2 海藻酸钠/壳聚糖微胶囊制备的影响分析

影响海藻酸钠/壳聚糖生物微胶囊的因素主要有海藻酸钙微胶囊强度、壳聚糖分子量、成膜反应时间、覆膜时间、液化时间、壳聚糖溶液的浓度、海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例、盐离子的浓度等。选择其不同水平考查对成囊效果(其中,海藻酸钙微胶囊的制备均由上节 2.1 中所的最佳条件制的)的影响如下:

2.2.1 壳聚糖分子量和脱乙酰度对微胶囊性能的影响

刘群^[3]等专门研究了壳聚糖分子量对微胶囊强度的影响,他们认为:低分子量壳聚糖具有较低的空间位阻,极易扩散到海藻酸钙凝胶网络中进行成膜反应,生成的膜厚,抗膨胀能力较强,因而机械强度较强;而高分子量壳聚糖则倾向于在凝胶表面发生反应,生成的膜薄,抗膨胀能力较弱,从而机械强度较弱。而微胶囊机械强度的提高又往往是以牺牲通透性为代价的,因此,我们在提高微胶囊机械强度的同时要尽量兼顾到保证良好的通透性。故本实验中我们选用了脱乙酰度(DD)为 82% – 83%,相对分子量 $3.3 \times 10^5 - 4.6 \times 10^5$

的壳聚糖作为原材料。

2.2.2 壳聚糖溶液的浓度对微胶囊性能的影响

表 3 是盐离子浓度为 1.0 mol/L,温度为 30 ℃,海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例为 1 ∶ 5,成膜时间为 10 min,液化时间为 8 min 时不同壳聚糖溶液的浓度对微胶囊的膨胀度及机械强度的影响。由表 3 知,壳聚糖溶液浓度对微胶囊性能影响大,随着浓度的增加,微胶囊的膨胀度变化不大,但机械强度变化较大,在浓度为 1.8% 时,微胶囊机械强度最高,膨胀度也较低。故取壳聚糖浓度 1.8% 为宜。

2.2.3 海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例对微胶囊性能的影响

表 4 是壳聚糖溶液的浓度为 2.0%,盐离子浓度为 1.0 mol/L,温度为 30 ℃,成膜时间为 10 min,液化时间为 8 min 时不同海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例下微胶囊的膨胀度及机械强度。由表 4 知,在藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例对对微胶囊性能有一定的影响,在比例为 1 ∶ 5 时,所得微胶囊机械强度最高。且膨胀度最低,对膨胀度和机械强度综合考虑,较好的比例为 1 ∶ 5。

2.2.4 成膜时间对微胶囊性能的影响

表 5 是壳聚糖溶液的浓度为 2.0%, 盐离子浓度为 1.0 mol/L, 温度为 30 ℃, 海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例为 1 5, 液化时间为 8 min 时不同成膜时间下的膨胀度及机械强度。由表 5 知, 随着成膜时间的延长, 微胶囊的机械强度变化是

先增大后减少, 膨胀度则是先减小后收缩, 在成膜时间为 15 min 时, 微胶囊机械最高而膨胀度却较大, 在成膜时间 10 min 左右, 微胶囊具有最低的膨胀度, 且此时机械强度最高, 对膨胀度和机械强度综合考虑, 可知最佳液化时间为 10 min。

表 4 海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例对微胶囊性能的影响

Table4 Effect on the capability of bio - microcapsule by the proportion of calcium - alginate gel and chitosan solution

实验号	比例	成膜后机械强度/g·cm ⁻²	膨胀度	液化后机械强度/g·cm ⁻²
1	1 3	1 046.9	1.007	267.0
2	1 4	1 028.2	0.988	256.9
3	1 5	1 034.7	0.969	259.1
4	1 6	1 131.2	0.988	186.5

表 5 成膜时间对微胶囊性能的影响

Table5 Effect on the capability of bio - microcapsule by formation time

实验号	成膜时间/min	膨胀度	成膜后机械强度/g·cm ⁻²
1	5	0.982	1 050.2
2	10	0.974	1 113.1
3	15	0.996	1 212.4
4	20	1.004	1 067.1
5	25	1.009	947.5
6	30	0.979	870.0

2.2.5 覆膜时间对微胶囊强度的影响

表 6 是成膜反应时间 10 min、液化时间 8 min、壳聚糖溶液的浓度为 1.8%、海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例为 1 5、盐离子的浓度为 1.5 mol/L, 温度为 30 ℃时不同覆膜时间下的膨胀度。由表 6 可知, 随着覆膜时间延长, 微胶囊膨胀度有先减小后增大的趋势, 在 10 min 时膨胀度达最小, 故取覆膜时间为 10 min 较好。

2.2.6 液化时间对微胶囊性能的影响

表 7 是壳聚糖溶液的浓度为 2.0%, 盐离子浓度为 1.0 mol/L, 温度为 30 ℃, 海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例为 1 5, 成膜时间为 10 min 时不同液化时间下的膨胀度。由表 7 知, 在液化 15 min 时膨胀度最低, 但此时液化后的胶珠非常易于压碎, 考虑到微胶囊应具有一定的机械强度, 故取液化时间 5 - 10 min 较好。

表 6 覆膜时间对微胶囊膨胀度的影响

Table6 Effect on the membrane covered time having done to the expansion degree of the microcapsule

实验号	覆膜时间/min	膨胀度
1	5	1.010
2	10	0.864
3	15	0.914
4	20	0.944
5	25	0.841
6	30	0.881

表 7 液化时间对微胶囊性能的影响

Table7 Effect on the capability of bio - microcapsule of the salt ions concentration by liquefaction time

实验号	液化时间/min	膨胀度
1	5	0.955
2	10	0.922
3	15	0.915
4	20	0.972
5	25	1.037
6	30	1.112

2.2.7 盐离子浓度对微胶囊性能的影响

表 8 是壳聚糖溶液的浓度为 2.0%,海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例为 1 5,温度为30℃,成膜时间为 10 min,液化时间为 8 min 时不同盐离

子浓度下的膨胀度及机械强度。由表 8 知,盐离子浓度对微胶囊性能的影响较大,对膨胀度和机械强度综合考虑,可取盐离子浓度为 1.5%。

表 8 盐离子浓度对微胶囊性能的影响

Table8 Effect on the capability of bio – microcapsule by salt ions concentration

实验号	盐离子浓度/mol·L ⁻¹	膨胀度	液化后机械强度/g·cm ⁻²
1	0	1.035	309.899
2	0.5	1.038	290.972
3	1.0	0.969	259.108
4	1.5	0.937	315.965
5	2.0	0.912	87.145

3 结论

实验结果与分析表明,海藻酸钙胶珠的最佳成型条件为 :海藻酸钠浓度 2.0%、氯化钙浓度 4.0%、反应时间 20 min。所形成的胶珠成型效果好,粒径均匀,为规则球状,机械强度较高。

当壳聚糖分子量的数量级为 10⁵,脱乙酰度

DD 为 82% – 85% 条件时,壳聚糖 – 海藻酸钠生物微胶囊的最佳制备条件为 :壳聚糖溶液浓度 1.8%,海藻酸钙胶珠与壳聚糖溶液的比例为 1 : 5,成膜反应时间 10 min,0.15% 海藻酸钠溶液覆膜时间 10 min,盐离子的浓度为 1.5 mol/L,0.055 mol/L 柠檬酸钠液化时间为 8 min。

参考文献 :

[1] 李自成,王浩红.微胶囊及其应用简介[J].化学教学,2003,(12) 24 – 25.
[2] Polk A,Amsden B,Goosen A. F. M. . J. Pharm[J].SCI.1994,(83) 178 – 85.
[3] 刘群,薛伟明,于炜婷,等.海藻酸钠 – 壳聚糖微胶囊膜强度的研究[J].高等学校化学学报,2003,23(7) 1417 – 1420.
[4] 蒋挺大.壳聚糖[M].北京 :化学工业出版社,2001,127.
[5] 江龙法,张所信,薛婉丽,等.壳聚糖生物微胶囊的制备及应用研究[J].淮海工学院学报,2001,10(2) 50 – 53.
[6] 廖艳华,马献力,李成海,等.海藻酸钙微胶囊的制备[J].化工技术与开发,2003,32(6) 17 – 19.
[7] 何东保,石毅,梁红波,等.壳聚糖 – 海藻酸钠协同相互作用及其凝胶化的研究[J].武汉大学学报,2002,48(2) 193 – 196.

A Study on the Preparatory Technique of Alginate/Chitosan Bio – microcapsule

LI Zhao – xia^{1,2},ZHU Jian – liang¹

(1. College of Life Science and Pharmacy,Nanjing University of Technology,Nanjing Jiangsu Province 210009,China)
(2. Biology Experiment Center, YanCheng Institute of Technology, YanCheng Jiangsu Province 224003,China)

Abstract Taking alginate and chitosan as the raw material, the technology and effects of the preparation of alginate – chitosan(ACA) bio – microcapsule by the interface – complexation method have been studied. The result has shown that when the reaction temperature of the calcium – alginate gel is 30℃,the reaction time is 20 min, the concentration of alginate, calcium – chlorinate and chitosan are 2.0%, 4.0% and 1.8%, the membrane formation time,membrane overlay time and liquefaction time is 10 min,10 min and 8 min, the ACA bio – microcapsule has good preformance.

Keywords : chitosan ; bio – microcapsule ; preparation