

海藻酸-壳聚糖-海藻酸离子取代凝胶改性研究

陈益清 孙多先*
(天津大学化工学院 天津 300072)

孙绵方
(加拿大多伦多大学生理系)

摘 要 海藻酸-壳聚糖-海藻酸 (ACA) 离子取代凝胶作为一种新型的离子吸附剂具有许多独特的性能, 本文通过引入羧甲基壳聚糖 (CMC) 和低分子量壳聚糖 (O-Chs), 对 ACA 离子取代凝胶进行了改性, 制备了 2 种改性的离子取代凝胶: ACA-羧甲基壳聚糖 (CMC) 戊二醛 (GA) 和 ACA/O-Chs/GA. 并制备了一种新型的生物微胶囊羧甲基壳聚糖-壳聚糖-羧甲基壳聚糖微胶囊, 实验结果表明, 这几种离子取代凝胶都具有很好的离子取代性能, 能够有效吸附 Pb^{2+} . 其中, ACA/O-Chs/GA 具有较高的离子强度, 离子取代前后变形不大, 溶胀比小, 是一种各方面性能相对较好的离子取代凝胶.

关键词 离子取代凝胶, 海藻酸-壳聚糖-海藻酸, 海藻酸, 羧甲基壳聚糖, 微胶囊

中图分类号: O636.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-0518(2002) 07-0677-05

生物微胶囊是指用半渗透性薄膜固定了活体组织或细胞的微胶囊, 随着材料科学和生物技术的发展, 具有生物相容性以及半渗透性薄膜的微胶囊已被广泛应用于人工细胞和器官移植^[1], 细胞培养工程^[2], 细胞和酶固定化工程^[3,4], 蛋白质及其它化合物的分离提纯^[5], 以及药物控制释放^[6,7]等方面. 海藻酸-壳聚糖-海藻酸 (ACA) 微胶囊是一种以聚电解质复合结构为囊壁以海藻酸钠溶液为囊芯物的微胶囊, 其中海藻酸钠能够吸附 Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Pb^{2+} 等二价金属离子生成海藻酸凝胶. ACA 微胶囊将海藻酸钠微囊化, 使海藻酸钠在离子取代过程中被固定起来, 从而形成了一种新型的离子交换体系, 它是一种离子取代凝胶. 本文制备了几种新型的微胶囊型离子取代凝胶, 并对其强度、稳定性、胀缩性和离子取代性能进行了研究.

1 实验部分

1.1 原料与设备

海藻酸钠, 购自 Sigma 公司. 蝇蛆壳聚糖 (天津大学自制), 分子量 60 000~80 000, 脱乙酰化度 86%; 低分子量壳聚糖 (O-Chs), 分子量 6 800; 羧甲基壳聚糖, 分子量 10 000 (浙江省玉环县海洋制品有限公司). D418 大孔苯乙烯系螯合树脂, D113 大孔弱酸性丙烯酸系阳离子交换树脂 (南开大学化工厂). 其他试剂均为分析纯.

静电液滴发生器, 竖式微量注射泵 (加拿大多伦多大学); XTL-1 型体视显微镜 (国营江南光学仪器厂); PXS-215 型离子活度计, 铅电极 (上海雷磁仪器厂); BFX5-180 型离心机 (白洋离心机厂).

1.2 离子取代凝胶的制备

用静电液滴发生器将 1.5% (质量体积浓度, 下同) 的海藻酸钠溶液注射到 1.1% 的 $CaCl_2$ 溶液中, 钙化 10 min, 制得尺寸约为 $300\mu m$ 的海藻酸钙凝胶球 (A-Ca); 将海藻酸钙凝胶微球转移到 0.2% 的壳聚糖溶液中, 轻轻摇动, 反应 30 min, 得到海藻酸钙-壳聚糖微球 (AC-Ca); 用生理盐水洗净微球, 加入 0.15% 的海藻酸钠溶液, 轻轻摇动, 制得海藻酸-壳聚糖-海藻酸 (ACA-Ca) 微球; 用生理盐水洗净微球, 加入 1.6% 的柠檬酸三钠溶液, 使得 ACA 微胶囊囊芯液化, 制得海藻酸-壳聚糖-海藻酸 (ACA) 离子取代凝胶.

2001-11-15 收稿, 2002-03-22 修回

国家高技术航天领域 863-2 资助项目 (863-2-7-2-11)

通讯联系人: 孙多先, 男, 1937 年生, 教授, 博士生导师; E-mail: tdxsun@eyou.com; 研究方向: 生物材料、人工细胞和纳米水性树脂

在 1.1% CaCl_2 溶液中直接加入低分子量壳聚糖,使其质量浓度为 0.2%,通过静电液滴发生器把海藻酸钠溶液注射到 $\text{CaCl}_2\text{-O-CH}_3$ 混合溶液中,反应 12 h 以上,依次用壳聚糖,海藻酸钠复合,并用戊二醛交联,最后用 1.6% 的柠檬酸三钠溶液液化,制得 ACA/低分子量壳聚糖/戊二醛 (ACA/O-CH₃/GA)微胶囊。

用 3% 海藻酸钠与 3% 羧甲基壳聚糖按体积比 1:1 配制成共混溶液,通过静电液滴发生器把该溶液注射到 1.1% CaCl_2 溶液中,形成凝胶球,依次用壳聚糖,海藻酸钠复合,并用戊二醛交联,最后用 1.6% 柠檬酸三钠溶液液化,制得 ACA/羧甲基壳聚糖/戊二醛 (ACA/CMC/GA)微胶囊。

用静电液滴发生器将浓度为 3.0% 的羧甲基壳聚糖溶液注射到 0.1 mol/L 的 AlCl_3 溶液中,凝胶化 10 min,制备尺寸约为 $300\mu\text{m}$ 的羧甲基壳聚糖铝凝胶球 (CMC-Al);将 CMC-Al 凝胶微球依次用壳聚糖,羧甲基壳聚糖复合,并用戊二醛交联,然后加入 1.6% 的柠檬酸三钠溶液,使得羧甲基壳聚糖/壳聚糖/羧甲基壳聚糖 (CCC)-Al 囊芯液化,制得 CCC 微胶囊。

1.3 溶胀性能和膨胀性能的测定

取一定体积的微胶囊,用 1.6% 的柠檬酸三钠溶液液化,分别测定微胶囊液化前后的体积;并且把液化后的微胶囊的体积与液化前的微球体积之比定义为膨胀比;取一定体积液化后的微胶囊,充分吸附 Pb^{2+} ,分别测定微胶囊吸附前后体积,把吸附前体积与吸附后体积之比定义为胀缩比。

1.4 强度和短期稳定性的测定

取一定数量的完好 ACA 微胶囊置于生理盐水中,进行离心实验,在体视显微镜下观测微胶囊破裂情况,并将离心后完好微胶囊所占初始全部微胶囊的百分数定义为离心完整率 (n/n_0)。将微胶囊转移到去离子水中,改变其囊内外渗透压,观察前后微胶囊的变形和破碎情况,用完好微胶囊所占初始全部微胶囊的百分数 (n/n_0) 描述微胶囊的短期稳定性。

1.5 离子取代性能测定方法

1.5.1 离子选择性电极法测定 Pb^{2+} 浓度 准确配制一定浓度的 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液,用离子活度计和铅离子选择性电极测定电势,用电势对浓度的对数作图,得到 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 溶液的标准曲线;将一定质量的离子取代凝胶加入到硝酸铅溶液中,用搅拌反应瓶法^[8]测定微球对 Pb^{2+} 的吸附,温度为 25°C ,pH=6.0,离子强度为 0.1 mol/L NaNO_3 ,每次测量前后均作校正曲线。

1.5.2 平衡交换量 (Q_e) 吸附达到平衡后,按照 $Q_e = 207.2 \times V(c_0 - c_e)/m$ (mg/g) 计算平衡交换量,式中 V 为溶液体积, m 为干微球质量, c_0 , c_e 分别是溶液初始浓度和平衡浓度。

1.5.3 动力学曲线和半交换时间 ($t_{1/2}$) 跟踪测定溶液浓度 (c) 随时间 (t) 的变化,以 $c \sim t$ 绘制动力学曲线。半交换时间是指吸附达到平衡交换量一半时的时间。

2 结果与讨论

2.1 CCC 胶囊基本性能

图 1 和图 2 分别是壳聚糖复合时间对 CCC 胶囊离心强度和短期稳定性的影响。其结果表明,2 种聚电解质复合时间为 40~50 min 时,膜强度和短期稳定性都比较好。

图 3 是 CCC 微胶囊的光学显微镜照片,作为微胶囊,CCC 胶囊具有半渗透性的薄膜并能用于固定化活体组织和细胞,其囊内是液体环境,适应于生物体的生存和营养物质的传递,粒径均一,表面光滑并带有负电性使其具有较高的生物相容性,而且羧甲基壳聚糖来源广泛,因此 CCC 胶囊有望作为一种新型的生物微胶囊在生物医学领域获得广泛应用。

CCC 微胶囊囊膜内物质是高取代度羧甲基壳聚糖溶液,是一种典型的聚阴离子,结构单元上含有羧基,还含有部分氨基,能够螯合很多多价阳离子而凝胶化,在其他更强的螯合剂作用下,形成凝胶的金属离子被取代,凝胶结构被破坏,凝胶又转变成羧甲基壳聚糖溶液,而微胶囊囊膜起到了固定化羧甲基壳聚糖的作用。因此 CCC 胶囊是一种离子取代凝胶。图 4 是 CCC 胶囊对 Pb^{2+} 的取代动力学曲线,CCC 胶囊能够以较高的吸附速率吸附低浓度的 Pb^{2+} 达到平衡。

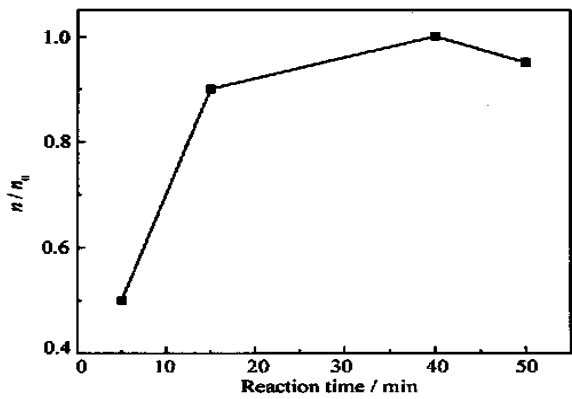


图 1 壳聚糖的复合时间对 CCC微胶囊离心强度的影响

Fig. 1 The effect of reaction time on centrifuge break strength of CCC microcapsules
centrifugalizing rate 3 000 r/min,
centrifugalizing time 30 min

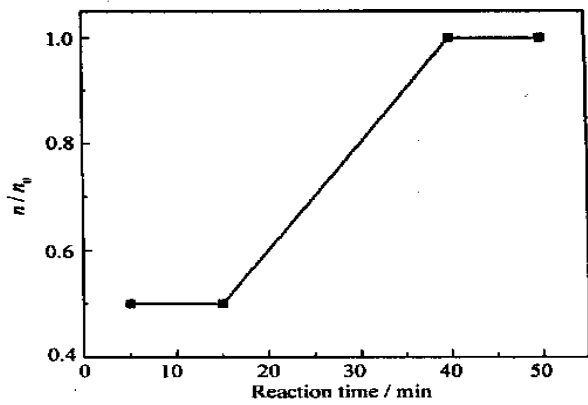


图 2 壳聚糖的复合时间对 CCC微胶囊短期稳定性的影响

Fig. 2 The effect of reaction time on stability of CCC microcapsules
observed after 2 h

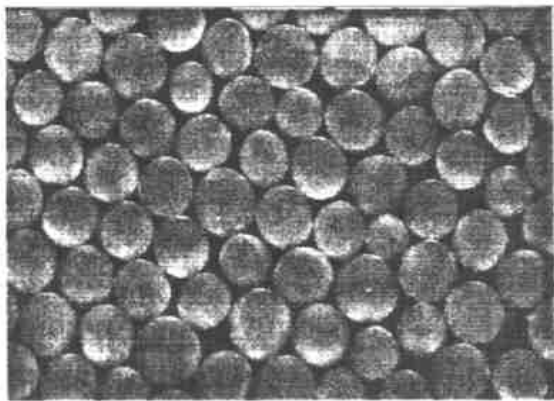


图 3 CCC微胶囊光学显微镜照片
Fig. 3 An optical microphotograph of CCC microcapsules($\times 50$)

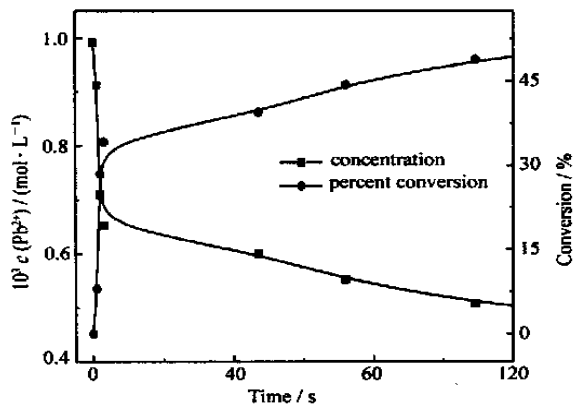


图 4 CCC微胶囊对 Pb^{2+} 的取代动力学曲线
Fig. 4 The replacement kinetics curve of CCC microcapsules with Pb^{2+}
 25°C , $c_0 = 0.001 \text{ mol/L}$, diameter = 0.450 mm

2.2 离心强度比较

ACA CCG ACA/CMG ACA/CMC/GA和 ACA/O-Chs/GA几种离子取代凝胶的离心强度见图 5和图 6. 微胶囊的离心强度主要依赖于聚电解质复合成膜的稳定程度. 由图 5可知, CCC和 ACA/CMC的离心强度比较低,可能是由于羧甲基壳聚糖和壳聚糖的复合程度较低. ACA/CM-Chs/GA的离心强度要高于 ACA/CMC,戊二醛的交联提高了微胶囊的强度,戊二醛可以与壳聚糖和羧甲基壳聚糖的氨基形成西佛碱,从而起到了对囊膜的高分子链进行交联的作用,提高了膜的强度和稳定性. 在离心速率为 10 000 r/min下, ACA/O-Chs/GA离子取代凝胶的离心强度最高,这不仅仅是由于戊二醛的交联作用,还由于低分子量壳聚糖分子量较低,旋转半径小,在离子取代凝胶制备过程中,能够通过海藻酸钙凝胶微孔扩散到微球内部,从而能够形成一种以聚电解质复合结构为交联结构的体相网状交联结构,这种结构提高了微胶囊的离心强度.

2.3 膨胀性能比较

几种微胶囊吸附 Pb^{2+} 后,囊膜表面由光滑迅速皱缩变形,几种微胶囊的变形程度顺序是: CCC>

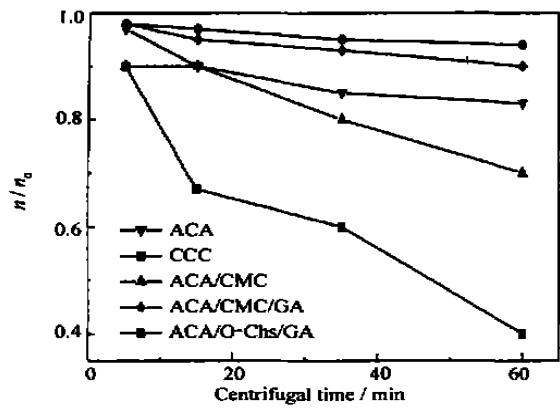


图 5 几种离子取代凝胶离心强度比较
Fig. 5 The centrifuge break strength of several ion replacement gel(3 000 r/min)

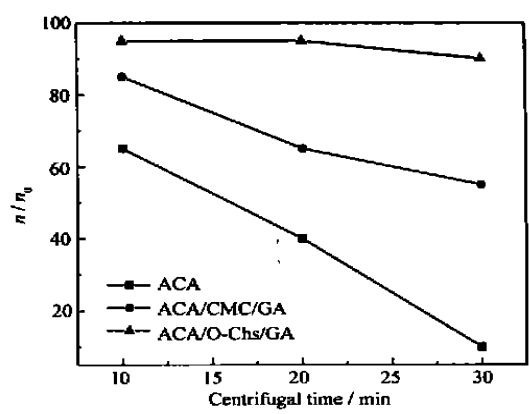


图 6 几种离子取代凝胶离心强度比较
Fig. 6 The centrifuge break strength of several ion replacement gel(10 000 r/min)

ACA> ACA/CM-Chs/GA> ACA/O-Chs/GA.

吸附了 Pb^{2+} 的微胶囊再次用柠檬酸三钠液化后很快恢复光滑球形. 表 1 是各种微胶囊的胀缩性. 微胶囊吸附多价离子的过程实际上是囊内溶液凝胶化的过程, 由于凝胶化, 聚电解质分子链重新排列, 使得对囊膜的高分子链产生了取向力; 同时由于内部溶液的凝胶化, 对囊膜也产生了相应的应力, 这 2 种力的作用导致凝胶化过程囊膜变形. 微胶囊液化时, 柠檬酸根与金属离子形成更稳定的螯合物, 将多价金属离子置换出来, 凝胶相又变成了溶胶相, 使球体膨胀, 并且由于微胶囊膜具有弹性, 故微球表面又恢复光滑. 凝胶化过程囊膜的变形程度取决于微胶囊囊膜的强度. 由此可见, 海藻酸和壳聚糖形成的囊膜比羧甲基壳聚糖和壳聚糖形成的囊膜强度要高, 而 ACA/CM-Chs/GA 由于体系中引入了羧甲基壳聚糖, 聚阳离子复合时, 壳聚糖不仅与海藻酸, 也与羧甲基壳聚糖复合, 使形成的囊膜复合程度更高, 其强度也有所提高, 而低分子量壳聚糖与海藻酸凝胶的复合程度高, 复合结构再经过戊二醛交联后, 相当于整个微胶囊内部形成了网状交联结构, 离子交换只在网间空隙中进行, 故其收缩程度小于交联程度相对较低的 ACA/CM-Chs/GA, 因而其微胶囊囊膜的变形程度最小. 表 1 的实验结果也验证了上述推断, ACA/CM-Chs/GA 和 ACA/O-Chs/GA 微胶囊的溶胀度小, 离子取代前后变形程度也小.

表 1 离子取代凝胶的膨胀性能

Table 1 The swelling property of ion replaced gel

Ion replaced gel	Volume before liquified/mL	Volume after liquified/mL	Swelling ratio	Volume after adsorption of Pb^{2+} /mL	Shrinkage ratio
CCC	2.0	2.0	1.0	1.3	1.54
ACA/CMC	2.0	2.0	1.0	1.8	1.11
ACA/CMC/GA	2.0	2.0	1.0	2.0	1.00
ACA/O-Chs/GA	2.0	2.0	1.0	2.0	1.00
ACA	1.5	2.3	1.53	1.9	1.21

2.4 离子取代性能

离子取代凝胶吸附 Pb^{2+} 的过程就是海藻酸或羧甲基壳聚糖的活性基团与 Pb^{2+} 螯合形成配位结构进而凝胶化的过程, 表 2 是几种离子取代凝胶的取代实验结果, 几种离子取代凝胶的平衡交换量相差不

表 2 几种离子取代凝胶的取代实验结果

Table 2 The results of ion replacement experiment of gel for Pb^{2+}

	ACA	CCC	ACA/CMC/GA	ACA/O-Chs/GA	D418 resin	D113 resin
$Q/(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	339.9	509.85	407.88	475.86	209.27	274.95
$t_{1/2}/\text{s}$	12.0	22.0	5.5	12.8	780.0	1 674.0

* The gels are stirred in 50 mL $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ solution.

大,与 2种对照的商品离子交换树脂 D418和 D113相当. 在同样的实验条件下,几种离子取代凝胶的半交换时间远远小于 2种离子交换树脂,其离子取代速率相当快.

参 考 文 献

1 Soon-shiong P, Feldmen E. *Proc Natl Acad Sci* [J], 1993, **90**: 5 843
2 Minette G, Leves M G, Lee G M, *et al.* *Biotech Bioeng* [J], 1994, **43**(8): 734
3 Rilling P, Walter T, Pommersheim R, *et al.* *J Membrane Sci* [J], 1997, **129**(2): 283
4 Liu C, Honda H, Ohshima A, *et al.* *J Biosci Bioeng* [J], 2000, **89**(5): 420
5 Green K D, Gill I S, Khan J A, *et al.* *Biotech Bioeng* [J], 1996, **49**(5): 535
6 Chandy T, Mooradian D L, Rao G H R. *J Appl Polym Sci* [J], 1998, **70**(1): 2 143
7 Hari P R, Chandy T, Sharma C P. *J Appl Polym Sci* [J], 1996, **59**: 1 795
8 JIAN G Zhi-Xin(姜志新), CHEN Jing-Qing(湛竞清) Auths(编著). *Ion Exchange Separation Engineering (离子交换分离工程)* [M]. Tianjin(天津): Tianjin University Press(天津大学出版社), 1992 402

The Study of Modification of Alginate-Chitosan-Alginate
Ion Replacement Gels

CHEN Yi-Qing, SUN Duo-Xian*

(School of Chemical Engineering and Techonogy, Tianjin University, Tianjin 300072)

Anthony M SUN

(Department of Physiology, University of Toronto, Canada)

Abstract A novel type of biological microcapsule consisted of carboxymethyl chitosan, chitosan and carboxymethyl chitosan(CCC) was prepared as ion replacement gels. In addition, two modified ion replacement gels, alginate-chitosan-alginate /carboxymethyl chitosan /glutaraldehyde (ACA/CM C/ GA) and alginate-chitosan-alginate /oligo-chitosan /glutaraldehyde (ACA/O-Chs/GA), were prepared. All of the ion replacement gels prepared exhibited good ion replacement properties and could be used for adsorption of Pb^{2+} at higher rate. Among them the ACA/O-Chs /GA appeared the best one.

Keywords ion replacement gel, alginate-chitosan-alginate, alginate, carboxymethyl chitosan, micro-capsules