

高压静电场制备蛋白类物质微胶囊的研究(一)

杜巍, 华泽钊*, 李保国, 高建成

(上海理工大学低温医学技术与食品冷冻研究所, 上海 200093)

摘 要: 通过高压静电场制备蛋白类物质微胶囊的工艺条件及基本形态的研究, 确定出最佳工艺参数为搅拌了转速 200r/min, 电压 4.5kV, 液面距 3.5cm, 推进速度 60mm/h。利用该方法制备蛋白类物质微胶囊, 可以得到粒径分布较小, 形状较为均一、圆整的微球。

关键词: 高压静电场; 微胶囊; 蛋白类物质

Study on Processing Protein Microcapsule in High-voltage Electrostatic Field(I)

DU Wei, HUA Ze-zhao*, LI Bao-guo, GAO Jian-cheng

(Institute of Cryomedical Technology and Food Freezing, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: The processing conditions and the basic morphology of protein microcapsule using high-voltage electrostatic field have been studied. The optimal technical parameters ascertained were 200r/min of rotating speed, 4.5kV voltage, 3.5cm distance over the liquid surface, and 60mm/h of pushing speed. The round and uniform protein microspheres of small diameter could be obtained by the processing method.

Key words: high-voltage electrostatic field; microcapsule; protein

中图分类号: R944.5

文献标识码: A

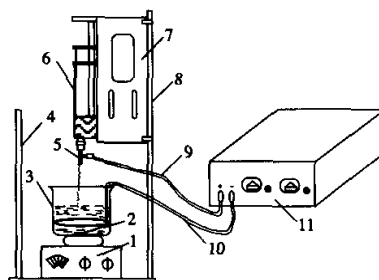
文章编号: 1002-6630(2004)06-0025-04

微胶囊技术是一种用成膜材料把固体或液体包覆形成微小粒子的技术。近年来, 微胶囊技术发展迅速, 相继在食品、医药、精细化工等诸多行业得到应用。微囊化的粒子具有保护物质免受环境条件影响、掩盖异味、降低毒性、改善物质的加工性和稳定性、延长挥发性物质储存时间、延缓及控制物质释放等性能^[1]。

蛋白是构成生命的物质基础, 其中, 一些蛋白类物质(如生物活性多肽等)不仅有提供营养的功能, 同时还具有传递生理信息、调节生理功能的特性, 它们对人体的神经、消化、生殖、生长、运动、代谢、循环等系统的正常生理活性的维持非常重要, 但这类物质却很容易被酶解或水解而失活, 使其生物利用率大大降低, 甚至完全丧失, 所以, 保存其生物完整性、提高其生物利用率, 是长期以来摆在研究人员面前的一道难题。微囊化是解决该问题的一种可行途径, 因此, 蛋白质物质的微囊化是近年来的一个研究热点。传统的蛋白类物质微囊化方法, 一般为复合凝聚法, 包结络合法等, 这些制备方法能得到粒径较小, 分散性好的微囊, 但同时也存在制备周期相对较长, 微囊包封率、

得率较低等缺点^[2~6]。

本研究利用自行研制的高压静电场微胶囊成型装置, 尝试以海藻酸盐为囊材, 牛血清白蛋白(BSA)为芯材模型, 采用高压静电法制备蛋白类物质微胶囊, 通过分析制备工艺和所制微囊的基本形态, 以期为该方法在食品工程、医药工程等领域的应用提供一些参考依据。



1.磁力搅拌器 2.搅拌子 3.玻璃容器 4.伸缩量尺 5.喷头 6.注射器
7.恒速推进器 8.支架 9.正极线 10.负极线 11.高压发生器(直流)

图1 高压静电场微胶囊成型装置

收稿日期: 2004-01-05

* 通讯联系人

基金项目: 国家自然科学基金项目(50376040)

作者简介: 杜巍(1973-), 男, 博士后, 主要从事食品、药品生物技术的研究。

1 材料与方法

1.1 微胶囊制备装置

本装置由上海理工大学低温医学技术与食品冷冻研究所自行研制(专利号: ZL00218100.2), 高压发生器输出电压0~10kV(可调), 喷头为I型(孔径0.24mm)、II型(孔径0.37mm)、III型(孔径0.47mm)等不同型号。

1.2 材料

海藻酸钠(sodium alginate, 分析纯, 青岛胶南明日海藻公司), 氯化钙(CaCl_2 , 分析纯, 上海化学试剂公司), 壳聚糖(chitosan, 脱乙酰度>95%, 福建中盛伟业公司), 牛血清白蛋白(BSA, 等电点 5.1 ± 0.2 , Roche进口分装), 去离子水等。

1.3 仪器设备

高压静电场微胶囊成型装置, H97 恒温磁力搅拌器, METILER TOLEDO AB 204-N 电子天平, MOTIC AE31 倒置型显微镜, MOTICAM 1300 摄像头, FAM 激光测粒仪等。

1.4 试验方法

1.4.1 试样的配制

称量15.0g海藻酸钠, 溶于1000ml去离子水中, 得到1.5%(W/V)的海藻酸钠水溶液, 配制100mmol/L CaCl_2 溶液, 待用。

1.4.2 海藻酸盐/BSA微胶囊的制备

每次取10ml的1.5%海藻酸钠溶液, 按BSA与10ml的1.5%溶液中海藻酸钠质量比为1:2(或1:1、1:3、1:4等, 本研究在工艺参数试验中选用1:2), 将BSA溶于10ml 1.5%海藻酸钠溶液中, 移至注射器, 安装好喷头(按要求选择不同型号), 接通正负极, 注入(按照一定的推进速度、电压、液面距等)盛有50ml 100mmol/L CaCl_2 溶液的玻璃容器中, 即会形成以海藻酸盐为囊材, 牛血清白蛋白(BSA)为芯材的微胶囊。

1.4.3 微胶囊粒径的测定

利用FAM激光测粒仪, 选择接收透镜焦距 $f=300\text{mm}$, 测试粒径范围为 $5.0 \sim 550.0\mu\text{m}$, 设定颗粒尺寸按Rosin-Rammler分布, 测定微胶囊的平均粒径、频度及累计重量分布。

1.4.4 微胶囊形态观察

将制备好的海藻酸盐/BSA微胶囊, 在MOTIC AE31倒置型显微镜中观察($\times 100$ 、 $\times 200$ 、 $\times 400$), MOTICAM 1300摄像头拍照。

2 结果与分析

2.1 喷头孔径对制囊效果的影响

选取电压4.5kV, 喷头离 CaCl_2 液面的距离(即液面距)3cm, 恒速推进速度70mm/h, 搅拌子转速300r/min, 确定不同喷头对制囊效果的影响, 结果见表1。

表1 不同喷头的制囊效果

测试指标	喷头型号		
	I型 (孔径0.24mm)	II型 (孔径0.37mm)	III型 (孔径0.47mm)
粒径分布(μm)	34.2~180.7	56.5~310.9	78.3~447.6
累计重量分布 的平均粒径(μm)	145.45	201.40	283.15

从表1可知, 喷头孔径的大小直接影响制得微胶囊的粒径大小及粒径分布。孔径小, 微囊的平均粒径小, 粒径分布窄。

2.2 高压静电场制备微胶囊的单因素试验

为了得到分布较窄, 平均粒径较小的微囊, 以搅拌子转速、电压、液面距、推进速度等为自变量, 平均粒径为因变量, 进行单因素研究。选择I型喷头(孔径0.24mm)为试验喷头。

2.2.1 搅拌子转速对微胶囊粒径的影响

选取电压4.5kV, 液面距3cm, 恒速推进速度70mm/h, 确定搅拌子转速对微囊平均粒径的影响, 结果如图2所示。

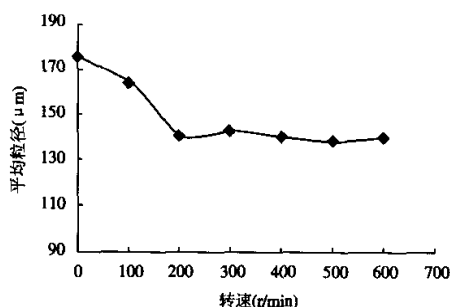


图2 搅拌子转速与微囊平均粒径的关系

从图2中可以看出, 搅拌子转速小于200r/min时, 胶囊平均粒径有一定变化, 这是因为形成的微胶囊胶珠因没有搅拌子转动或转速太低, 部分胶珠来不及分散或沉降而发生粘连, 影响了平均粒径的大小, 当搅拌子达到一定转速时, 会在一定程度上减少或消除粘连的影响, 因此, 在200~700r/min, 微囊平均粒径变化不大, 但考虑所得微胶囊的包封率和芯材载入率等问题, 搅拌子转速不宜过高, 选择200~400r/min即可。

2.2.2 电压对微胶囊粒径的影响

选取液面距, 恒速推进速度70mm/h, 搅拌子转速, 确定不同电压对微胶囊粒径的影响, 结果如图3所示。

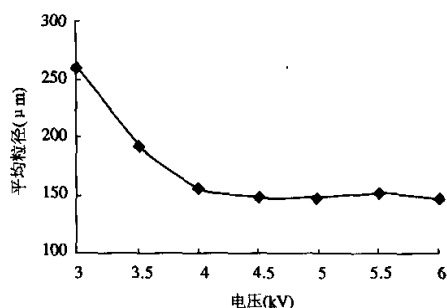


图3 电压与微胶囊平均粒径的关系

从图3可知,起初随电压的升高,微囊平均粒径有减小的趋势,但超过一定的电压值后,粒径的变化不是太大,这是由于随电压升高,电场力增大,使液滴伸长变细后拉断而形成,因此,电压选择4~5kV即可。若继续升高电压,会造成正负两极间电压过高而产生跳火现象。

2.2.3 液面距对微胶囊粒径的影响

选取电压4.5kV,恒速推进速度70mm/h,搅拌子转速300r/min,确定喷头离CaCl₂液面距离对微胶囊粒径的影响,结果如图4所示。

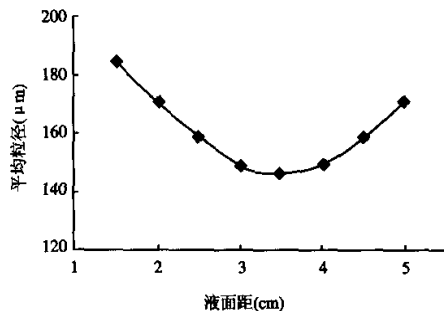


图4 液面距与微胶囊平均粒径的关系

从图4可以看出,随着液面距的增大,微胶囊的平均粒径先缓慢减小,然后又缓慢增大,3~4cm的液面距得到的微囊平均粒径相对较小。

2.2.4 推进速度对微胶囊粒径的影响

选取电压4.5kV,液面距3cm,搅拌子转速300r/min,确定推进速度对微胶囊粒径的影响,结果如图5所示。

从图5可知,随着推进速度的增大,微胶囊平均粒径缓慢增加,在40~80mm/h范围,微囊的平均粒径变化不是太大,考虑到得率等因素,选择推进速度为

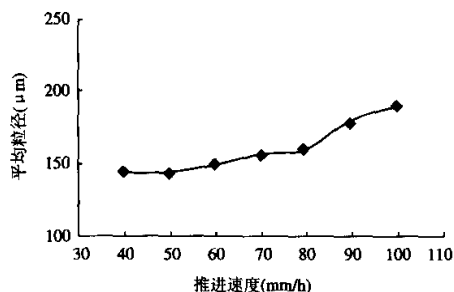


图5 推进速度与微胶囊平均粒径的关系

60~80mm/h。

2.3 高压静电场制备微胶囊工艺的优化

为了得到粒径分布窄、平均粒径小的微胶囊,以搅拌子转速、电压、液面距、推进速度为影响因素,通过四因素三水平的正交试验,确定以海藻酸盐为囊材,牛血清白蛋白(BSA)为芯材的微胶囊的最佳制备工艺。

从表2可以看出,4个因素影响微胶囊平均粒径的大小关系为B>C>A>D,电压的影响最大,推进速度的影响最小;制备微胶囊的最佳条件组合为

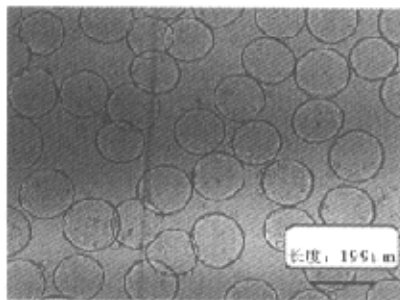


图6 海藻酸盐/BSA微胶囊

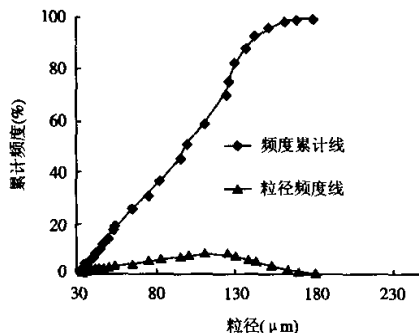


图7 频度、累计重量分布

表2 试验方案与结果分析 $L_9(3^4)$

试验号	因 素				平均粒径(μm)
	搅拌子转速(r/min)	电压(kV)	液面距(cm)	推进速度(mm/h)	
	A	B	C	D	
1	1(200)	1(4.0)	1(3.0)	1(60)	156.67
2	1(200)	2(4.5)	2(3.5)	2(70)	141.16
3	1(200)	3(5.0)	3(4.0)	3(80)	158.45
4	2(300)	1(4.0)	2(3.5)	3(80)	168.86
5	2(300)	2(4.5)	3(4.0)	1(60)	148.35
6	2(300)	3(5.0)	1(3.0)	2(70)	171.42
7	3(400)	1(4.0)	3(4.0)	2(70)	156.39
8	3(400)	2(4.5)	1(3.0)	3(80)	163.31
9	3(400)	3(5.0)	2(3.5)	1(60)	150.57
K_1	456.28	481.92	491.40	455.59	$\Sigma = 1415.18$
K_2	488.63	452.82	460.59	468.97	
K_3	470.27	480.44	463.19	490.62	
k_1	152.09	160.64	163.80	151.86	
k_2	162.88	150.94	153.53	156.32	
k_3	156.76	160.15	154.40	163.54	
优水平	A_1	B_2	C_2	D_1	
R_i (极差)	10.79	9.70	10.27	11.68	
主次顺序			BCAD		

$A_1B_2C_2D_1$ 。即：最佳搅拌子转速 200r/min，电压 4.5kV，液面距 3.5cm，推进速度 60mm/h。

2.4 微胶囊形态的检测

取 10ml 的 1.5% 海藻酸钠溶液，按 BSA 与 10ml 的 1.5% 溶液中海藻酸钠质量比为 1:2，将 BSA 溶于 10ml 1.5% 海藻酸钠溶液中，移至注射器，安装好 I 型喷头，接通正负极，以最佳工艺(即搅拌子转速 200r/min，电压 4.5kV，液面距 3.5cm，推进速度 60mm/h)注入盛有 50ml 100mmol/L CaCl_2 溶液的玻璃容器中，即形成以海藻酸盐为囊材，牛血清白蛋白(BSA)为芯材的微胶囊，对其微囊进行基本形态的检测，结果见图 6 和图 7。

从图 6 和图 7 可以看出，海藻酸盐/BSA 微胶囊是形态较为均一的微球，其粒径分布从 30~180 μm 左右，但绝大部分(90% 左右)集中在 80~150 μm 之间，粒径分布相对较小。因此，利用高压静电场制备蛋白质类物质微胶囊是一种较理想的方法。

3 结 论

通过高压静电场制备海藻酸盐/BSA 微胶囊工艺条件及微囊形态的研究，得到如下结论：

3.1 高压静电场制备微胶囊，喷头孔径的大小对所制微胶囊的粒径及分布有较大影响，孔径小，微囊的平

均粒径小，粒径分布小，在实际生产中，可以根据需要选择相应孔径的喷头。

3.2 确定出最佳成囊工艺参数为搅拌子转速 200r/min，电压 4.5kV，液面距 3.5cm，推进速度 60mm/h。

3.3 以海藻酸盐为囊材，利用高压静电场制备蛋白质类物质微胶囊可以得到粒径分布相对较小，形态较为均一、圆整的微球。

参考文献：

- [1] 梁治齐. 微胶囊技术及其应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.
- [2] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002.
- [3] Bao guo Li, Tse Chao Hua, Hong de Zhang, et al. Studies of microencapsulated rat pancreatic islets[J]. Cryoletters, 2002, 23:47-54.
- [4] Sha Li, Xiang tao Wang, Xiao bin Zhang, et al. Studies on alginate-chitosan microcapsules and renal arterial embolization in rabbits[J]. J of Controlled Release, 2002, 84:87-98.
- [5] 李保国, 华泽钊, 张洪德. 胰岛移植用免疫隔离微胶囊的牢固性、生物相容性和通透性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2001, 17(2):85-88.
- [6] 王勇, 解玉冰, 马晓君. 壳聚糖/海藻酸钠生物微胶囊的研究进展[J]. 生物工程进展, 1999, 19(2):13-16.