

磁性壳聚糖微球

陈 盛* 罗志敏 马秀玲

(福建师范大学化学系 福州 350007)

摘 要 综述了国内外对磁性壳聚糖微球的研究进展,着重阐述了磁性壳聚糖微球的分类制备与表征以及其性质与应用。

关键词 磁性微球 壳聚糖 制备 应用

The Progress of the Magnetic Chitosan Microsphere

Chen Cheng, Luo Zhimin, Ma Xiuling

(Chemistry Department of Fujian Normal University, Fuzhou 350007)

Abstract The magnetic chitosan microsphere is a novel functional polymer material. Because of its special structure, it is widely applied in the separation of cells, immobilized enzymes, the delivery of anticancer drugs, the absorption of proteins and lectins, and so on. It shows good prospects in the cell biology, molecular biology, medicine and other fields. In this article, the recent achievements of magnetic polymer microspheres both in domestic and abroad are summarized. The preparation methods, kinds, characteristics, and its applications are discussed.

Key words Magnetic polymer microspheres, Chitosan, Preparation, Applications

壳聚糖(chitosan)是甲壳素脱乙酰化的产物,是一种氨基多糖。由于具有成本低、可生物降解、有生物相容性、无毒、生物亲和性好、易于化学改性等优点,壳聚糖被广泛应用于水处理、膜技术、医药、生物工程、纺织等领域,是很有前景的生物高分子。磁性壳聚糖微球是一种新型的功能高分子材料,它是指内部含有磁性金属或金属氧化物(铁、钴、镍及其氧化物)的超细粉末而具有磁响应性的壳聚糖微球。本文拟就近年来国内外磁性壳聚糖微球的研究状况,如磁性壳聚糖微球的分类、制备方法、性质及其应用进行评述,并对这一领域的发展进行展望。

1 磁性壳聚糖微球的分类

磁性壳聚糖微球按结构可分为三类: A 壳层为磁性物质(如铁、钴、镍等的氧化物)、核为壳聚糖聚合物(图 1a); B 壳层为壳聚糖聚合物、核为磁性材料(图 1b); C 夹心结构,即外层和内层为壳聚糖高分子材料,而中间为磁性材料(图 1c)。当然,作为核或壳的聚合物也可以是复合结构,如作为核的聚合物有核壳形结构,而作为壳的聚合物也可以为多层结构。

另外,以无机物磁性材料为核的磁性壳聚糖微球其核也可以是复相结构,以磁性材料为壳的壳聚糖微球,磁性材料在壳聚糖表面有不同的分布状态,有均匀分布、非均匀分布,这和反

陈 盛 男, 46 岁, 教授, 主要从事壳聚糖和环境科学方面的研究, E-mail: LZM98-28@sohu.com

福建省教委资助项目(JA00155)

2002-07-29 收稿, 2002-12-09 修回

应条件有关^[1]。

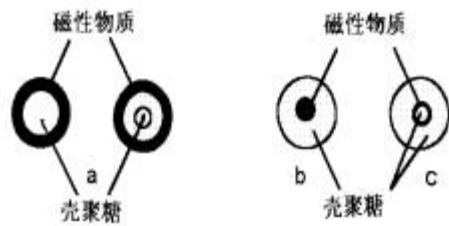


图 1 磁性壳聚糖微球的分类
Fig.1 the classifications of MCM

2 磁性壳聚糖微球的制备

磁性壳聚糖微球的合成主要有两条途径：一是利用天然高分子壳聚糖直接包埋磁性材料形成具有磁核的高分子微球；二是在磁流体存在下通过交联聚合形成磁性微球。根据近几年的研究，可把磁性壳聚糖微球的制备方法大体分成三种：包埋法、共沉淀法、交联聚合法。

2.1 包埋法

包埋法是将磁性粒子分散于高分子溶液中，通过雾化、絮凝、沉积、蒸发等方法得到磁性高分子微球。安小宁等^[2]用壳聚糖直接包埋磁粉，制备出高磁性的壳聚糖微球，并研究了包埋磁粉使用的壳聚糖与磁粉用量的比例对磁性壳聚糖微粒磁性的影响。结果表明，磁性壳聚糖微粒的磁性与壳聚糖的用量成反比(表 1)。

表 1 壳聚糖用量与磁性微球性质间的关系
Tab.1 Relationship between amount of chitosan and magnetic properties of MCM

(c/m×100)/%	磁性质		
	$H_c/(A \cdot m^{-1})$	$\sigma_s/(emu \cdot g^{-1})$	$\sigma_r/(emu \cdot g^{-1})$
0	32.912	42.3	23.2
10	33.912	40.3	21.4
50	27.632	27.6	15.4
100	26.376	22.9	12.9
500	25.748	15.4	8.2

c:壳聚糖用量(g); m:磁粉用量(g)

包埋法生成具有核壳结构复合粒子的过程如图 2 所示。包埋法得到的磁性壳聚糖微球其磁性微粒与高分子之间的结合主要是通过范德华力、氢键、螯合作用以及功能基间的共价键。这种方法制得的磁性壳聚糖微球粒径分布宽，形状不规则，粒径不易控制，而且壳层中易混有杂质，因此用于免疫测定和细胞分离时会受到很大限制。

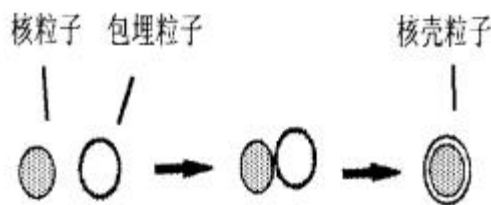


图 2 包埋法制备核壳形壳聚糖微球
Fig.2 Progress of preparing pit-shell MCM with the method of wrapping around

2.2 化学共沉淀法

化学共沉淀法是指在二价与三价铁离子在碱性条件下沉淀生成 Fe_3O_4 或利用氧化还原反应生成 Fe_3O_4 的同时利用壳聚糖作分散剂,从而得到外包有壳聚糖的磁性微球。Honda 等^[3]先将 20mL 0.5% 的壳聚糖溶液和 2.4mL 含 FeCl_3 720 mg、 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 290mg 的混合物在激烈搅拌下均匀混合,然后加氨水恒温静置,经过反应处理后制得磁性壳聚糖微球。

化学共沉淀法得到的磁性壳聚糖微球通常粒径较小,具有较大的比表面积和固载量,对干细胞具有很强的吸附能力,而且分散性很好,其磁性胶粒可以稳定地分散于水中,但是其磁响应性较弱,操作时需施加较强的磁场。

2.3 交联法

交联法是指聚合物在磁性粒子或磁流体存在下通过加入交联剂(如戊二醛)进行聚合反应,得到内部包有一定量磁性微粒的高分子微球。由于磁性粒子一般具有亲水性,而且高脱乙酰度的壳聚糖也具有强烈的亲水性,所以壳聚糖可在磁性微粒表面直接进行交联。Šafaríková 等^[4]将 2g 磁粉直接加到含 1g 壳聚糖的 20mL 0.5% 乙酸溶液中,然后加入 1.5mol/L 的氢氧化钠溶液,经过反应,先得磁性壳聚糖微粒,再加戊二醛交联聚合得磁性壳聚糖微球。另外,也可通过对磁性微粒进行预处理或适当改变交联体系的有机相组成,再交联制备磁性壳聚糖微球。Shinhai 等^[5]通过油酸捏合磁铁微粒,得到油酸覆盖的磁铁,然后在其表面引入氨基,再加戊二醛与壳聚糖交联制得磁性壳聚糖微球。笔者^[6]在磁流体存在下,用壳聚糖作为包裹材料,采用反相悬浮交联法,得到了微米级的顺磁性 CS-M。

用交联聚合法制得的磁性壳聚糖微球若作为酶的载体,有利于保持酶的活性,而且磁响应性也较强,但其粒径较大,固载量小,分散性不好。

3 磁性壳聚糖微球的性质与应用

3.1 磁性壳聚糖微球的性质

与非磁性材料相比,磁性壳聚糖微球具有磁响应性。该微球在外加磁场的作用下会发生磁化现象,因此,通过测定磁化率(c ,其定义如下: $f=cVHdH/ds$,式中, V 为体积; H 为场强; dH/ds 为样品轴心方向 S 存在的磁场强度梯度; f 为 S 方向的位移力),可以知道磁性种类和磁性强度。当一种材料的质量磁化率(c)为负值时,该磁性材料便为抗磁体,抗磁体的磁性随外加磁场的消失而消失;当 c 为较小正值($10^{-5} \sim 10^{-3} \text{cm}^3/\text{g}$)时,该磁性材料为顺磁体;当 c 为特大正值时,该磁性材料为铁磁体。铁磁性材料在无外加磁场时仍可保留磁性,铁磁性材料不适合在生物医学方面的应用;而顺磁性壳聚糖的磁响应性较弱,需要很强的外加磁场才能产生较强的磁作用力;超顺磁性壳聚糖(c 为特小正值)具有强的磁响应性,而且和抗磁性壳聚糖一样,在无外加磁场时磁性可以很快消失,是理想的磁性微粒。外加磁场作用力与磁性微球的关系可下式表示^[7]:

$$F=(c_v-c_0)VH(dH/dc)$$

式中, F 为作用力; c_v 为磁性微球的磁化率; c_0 为介质的磁化率; H 为外加磁场; V 为磁性微球的体积; dH/dc 为磁场强度。由上式可见,磁性粒子的体积越大, F 越大。有研究表明:大粒径的磁性微球($D>10\mu\text{m}$),能在弱磁场下分离,但容易沉淀;对于需均相反应的体系,同时由于粒径大,比表面积变小,其吸附生物分子的量也将减少,因而其用途将受到限制。小粒径的

磁性微球($D < 0.03 \mu\text{m}$), 通过热搅拌, 可以分散在溶液中而不沉淀, 但在分离时, 需很大的外磁场。总之, 磁性微球的优越性在于磁分离, 因而实际上人们期望应用粒径大于 $10 \mu\text{m}$ 的粒子。对于大粒径磁性粒子易发生的沉淀现象, 有学者试图用中空玻璃及聚丙烯等低密度物质外裹 $2 \times 10^{-3} \sim 10 \mu\text{m}$ 的磁性材料来加以解决。另外, 由上式还可知道, F 还与磁性微球的磁化率有关, 而微球的磁化率直接决定于作为磁核的磁性物质的组成、粒径大小及数量。

3.2 磁性壳聚糖的应用

磁性壳聚糖微球结构的特殊性使其兼有磁性无机物与壳聚糖聚合物的特点。它既可以通过共聚、表面改性等化学反应在微球表面引入多种反应性官能基(如羟基、羧基、醛基、氨基等), 也可通过共价键来固定酶、细胞、抗体等生物活性物质, 在外加磁场作用下进行快速运动和分离, 因此在固定化酶、细胞分离、免疫诊断及肿瘤靶向治疗、重金属离子的吸附、外源凝集素和蛋白质的分离和提纯、DNA 的分离等方面均有广泛的应用。

3.2.1 固定化酶 固定化酶是指利用物理吸附或化学结合法将自由酶固定到载体上, 以提高酶的操作稳定性和反复回收利用酶的技术。常用的酶固定方法有: 吸附法、包埋法、共价结合法和交联法。何炳林等^[8]以壳聚糖作为载体, 用吸附法对脲酶进行固定化研究, 并讨论了不同条件对固定化的影响。结果表明, 磁性壳聚糖对脲酶的固载量与磁性壳聚糖的粒径、交联度及酶溶液的离子强度成反比, 固定化脲酶和自由酶的最适温度为 80°C 和 70°C , 固定化脲酶和自由酶的米氏常数 K_m 分别为 0.00546 mol/L 和 0.0190 mol/L 。而且, 他们还以环氧氯丙烷活化的磁性壳聚糖作为载体, 以共价结合法对脲酶进行固定化研究^[9]。结果表明, 在 25°C 时, 活化磁性壳聚糖微球对脲酶的固定化在 2h 时就达到了最大值, 固定化脲酶和自由酶的米氏常数 K_m 分别为 0.042 mol/L 和 0.0080 mol/L 。这说明, 用磁性壳聚糖微球作为固定化酶的载体可以使固定化酶的分离简单易行, 而用活化法得到的固定化酶则对底物的吸附作用更强, 作用效果更好。若在生产上应用磁性壳聚糖微球固定化酶, 不但可以反复回收利用自由酶, 还可以实现生产工艺和检验操作的连续化和工业化。

3.2.2 细胞分离 从生物过程中经济地分离出微生物对生物产品的回收和污水的净化都具有重要意义。一般分离的方法有机械分离和活性污泥分离。机械分离又可分为离心分离和过滤分离。但离心分离需要消耗许多能量, 而阻塞使得过滤变得非常麻烦。活性污泥处理过程虽然是最大的生物过程, 但这种分离方法有一个很大的缺点: 需要很长的停留时间和大尺寸的沉清槽。Hiroyuki 等^[3]以磁性壳聚糖微球作为载体, 利用磁力和壳聚糖对微生物的吸附能力从培养基中分离出大肠杆菌。实验结果证明, 磁性壳聚糖微球对细胞具有很强的吸收能力。大肠杆菌只要 1min 就能以沉淀形式被吸收, 每克的磁性壳聚糖微球大约可以吸收 1 g 的大肠杆菌, 而且在 $\text{pH} 3.0 \sim 7.0$ 内吸收率可高达 90% 以上, 即使不同微生物同时在污泥中共存, 它仍然显示出高度的吸附能力。加入磁性壳聚糖后, 活性污泥处理过程只需要很少的能量和很短的操作时间。

3.2.3 肿瘤靶向治疗 用化学疗法治疗恶性肿瘤经常不尽人意, 这是因为传送到肿瘤部位的抗癌药物不够。通过用磁性壳聚糖微球作为载体固载抗癌药物, 利用磁性壳聚糖微球中的阳离子结合荷负电的糖胺聚糖(GAG)、肝素、脑血管中的细胞, 对脑瘤进行靶向治疗是一种新的方法。如 Hassan 等^[10]通过溶剂蒸发法, 用戊二醛交联制备担载抗癌药物(OX)的磁性壳聚糖亚微粒, 并对该物质的形成条件与功能进行实验研究。结果证明, 磁性壳聚糖微球内部残余抗癌药物越多,

微粒越小,直接连在微球表面的抗体越少,越适合于靶向治疗。在实验过程中,还发现磁性壳聚糖微球对抗癌药物具有很强的聚集能力,即使离开外磁场,也能保持药物的靶向性 1.5h 左右,这大大提高了对肿瘤的治疗效果。

3.2.4 重金属离子的吸附 随着工业的发展,重金属离子日趋成为严重的环境污染源,用壳聚糖吸附水中重金属离子对环境保护有很重要的意义。但是,由于壳聚糖的高亲水性,使之与被吸附的基体分离困难。磁性壳聚糖却可以解决吸附过程完成后的分离困难问题,并可以降低壳聚糖的使用量,获得很大的吸附表面。美国专利曾介绍了一种壳聚糖微球(MC)吸附重金属离子的方法。金玉仁等^[11]就 MC 对超铀元素、三价铜系和镧系元素的吸附进行探讨。实验表明,在 pH 大于 2 的硝酸介质中磁性壳聚糖微球对重金属离子有明显的吸附作用,在 pH 大于 5 时对所研究的金属离子的吸附率在 90%~99% 之间。磁性壳聚糖微球吸附重金属离子时具有较好的动力学性能,可在极短的时间内达到平衡。

3.2.5 蛋白质和外源凝集素的分离与提纯 磁性壳聚糖微球是蛋白质和外源凝集素的良好生物吸附剂。通过磁性壳聚糖微球对蛋白质和外源凝集素进行分离与提纯,可达到对资源回收利用的目的。Šafari k 等^[12]用自制的磁性壳聚糖微球来分批分离溶菌酶(Lys),发现 1 g 磁性壳聚糖微球约可吸附 2.5 mg 溶菌酶,而且经吸附后的溶菌酶也很容易被洗脱分离,分离后的蛋白质的活性也大大提高。余艺华等^[13]以磁性壳聚糖偶联色素配基得到了一种新型亲和磁性毫微粒,并以牛血清蛋白(BSA)和溶菌酶(Lys)为目标蛋白,考察了该亲和磁性毫微粒的吸附性能,表明其对牛血清蛋白(BSA)和溶菌酶(Lys)的吸附量分别为 4mg/g 和 28mg/g,对时间几乎没有依赖,而且其重复使用性能良好。另外,磁性壳聚糖微球还可用于从生产淀粉后的马铃薯废水中提取出马铃薯块茎中的外源凝集素。Šafari k 等^[14]在这方面也进行过研究,其研究表明,磁性壳聚糖微球对外源凝集素的吸收率可达到 50%,而且纯化过程中分离出的外源凝集素的活性可增加 13 倍。

从以上可以看出,磁性壳聚糖微球由于其结构、组成、性能的特殊性,无论是在基础研究还是应用研究领域都已引起人们的重视。但其目前应用研究还只处于初步探索阶段。

4 磁性壳聚糖微球的研究展望

有关磁性壳聚糖微球的研究的报道,大部份还停留在制备方法和制备条件上。磁性壳聚糖微球的研究,还有许多方面有待于进一步的探索。如:(1)完善不同结构的磁性壳聚糖微球的形成机理,如制备方法和反应参数间的关系等;(2)探讨磁性壳聚糖微球的磁性起源、结构和性能的关系,如磁性材料与壳聚糖对磁性的贡献,磁性材料与壳聚糖间的相互作用等;(3)深入研究磁性高分子微球的物理性质,尤其是磁性能等。在应用研究方面,由于磁性壳聚糖微球具有磁性这一特殊性能而在磁性材料、细胞生物学、分子生物学、医学、免疫学和环境工程等诸多领域显示出强大的生命力。但目前尚处于实验室阶段,有待进一步完善,将其推向应用阶段。

参考文献

- [1] 王延梅,封麟先. 高分子材料科学与工程, 1998, 14(5): 6~8.
- [2] X N An, Z X Su. J. Appl. Polym. Sci., 2001, 81(5): 1175~1181.
- [3] H Honda, A kawabe, M Shinhai. J. Ferment. Bioeng., 1998, 86:191~196.

- [4] M Šafaríková, I Šafarík. J. Biochem. Biophys. Methods, 1993, 27(4):327~330.
- [5] M Shinhai, J Wang, M Kamihira et al. J. Ferment. Bioeng., 1992, 73: 166~168.
- [6] 陈 盛, 马秀玲, 洪爱真. 中国化学会应用化学委员会《第三届甲壳素化学与应用研究会论文集》, 2001, 浙江: 309~312.
- [7] B L Hirschein. Chem. Techn., 1982, (3): 170.
- [8] 任广智, 李振华, 何炳林. 离子交换与吸附, 2001, 17(2): 152~158.
- [9] 任广智, 李振华, 何炳林. 离子交换与吸附, 2001, 17(3): 224~229.
- [10] Hassan, E Eldin, H Mohammed. Diss. Abstr. Int. B, 1992, 53(4), 1806.
- [11] 金玉仁, 李冬梅, 张宝川 等. 离子交换与吸附, 1999, 15(2): 177~181.
- [12] I Šafarík. M Šafaríková. Biochem. Eng. J., 1999, 3(2): 157~160.
- [13] 余艺华, 薛 博, 孙 彦 等. 高分子学报, 2000, (3): 340~344.
- [14] I Šafarík. M Šafaríková. Biotechnol. Lett., 2000, 22(11); 941~945.