用于生物活性物质包囊的实验装置研制

陈淑侠[1]，吴朝阳[2]，李 清[3]
(1. 南通职业大学，南通 226007；2. 南通大学，南通 226019；3. 中北大学，太原 030051)

摘要：基于锐孔液滴生成原理，设计制作了生物活性物质包囊实验装置。通过嵌入毛细管取代锐孔的精密加工，实现了锐孔孔径、锐孔深度及锐孔数量的快速灵活改变。通过完善压力系统设计，实现了装置的小型化，减少了样品使用量。进行了细胞微胶囊制备实验，获得的细胞微胶囊粒径和粒径分布对压力和管径参数的微量变化敏捷，验证了该装置适用于生物活性物质包囊制备实验研究，研究了微胶囊粒径、粒径分布、产率与压力、锐孔孔径、锐孔深度等因素间的变化规律。

关键词：微胶囊；生物活性物质；锐孔；装置
中图分类号：R944.5　**文献标识码**：A　**文章编号**：1001-3563(2013)19-0070-04

Development of Experimental Device for Encapsulating Biologically Active Substances

CHEN Shu-xia[1], *WU Zhao-yang*[2], *LI Qing*[3]
(1. Nantong Vocational College, Nantong 226007, China; 2. Nantong University, Nantong 226019, China; 3. North University of China, Taiyuan 030051, China)

Abstract: An experimental device for encapsulating biologically active substances was designed and fabricated based on the principle of droplets generation with orifices. Orifices were fabricated through embedding capillary instead of precision machining. Thus the parameters of orifices, such as size, depth and number, can be changed smartly. Miniaturization of the device was realized through improvement of the pressure system design, which reduces the usage amount of specimen. Cell microcapsules preparation experiment was carried out. The result showed that cell microcapsules size and size distribution varies agilely with the change of pressure and orifice diameter parameters; the device is suitable for encapsulation of biologically active substances.

Key words: microcapsule; biologically active substance; orifice; device

生物活性物质的包囊可用于药物缓释、细胞和酶的固定、代谢类疾病治疗、动植物细胞培养、食品中活性物质的保护等[1-5]，是生物、医学、食品等领域的研究热点。现有微胶囊的制备技术通常需要高温条件，或者使用破坏性有机溶剂，而且反应剧烈，这些条件很难满足医药工业和生物技术领域中保持生物物质活性的要求。生物活性物质的包囊需要在温和工艺条件下制备，应尽量保持细胞或蛋白酶的生物活性[6]。生物活性物质的包囊主要采用锐孔液滴生成法、静电液滴生成法和微流控芯片液滴生成法[7]。

微流控芯片由精密微阀、微泵等可动器件及嵌入式微电路精确控制，结构复杂，其制作须借助微电子加工技术，且周期长，成本高，一般实验室难以承受。单一芯片仅能适应少数粒径细胞的包囊，装置的通用性差。另外，制备过程需要应用大量的有机溶剂，这对活性物质的活性非常不利，侧流的剪切力可能被损伤，甚至破坏生物活性物质[8]。

锐孔液滴生成法以其简便易行，对生物活性物质活性影响小而成为广泛应用的生物活性物质包囊方法[9]。目前，锐孔通常采用激光、电火花等精密加工方法，加工本高，周期长，实验中不能灵活改变锐孔尺寸参数，不能很好满足实验研究要求，给实验研究造

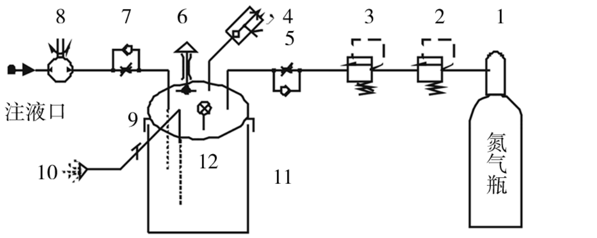
收稿日期：2013-07-01
基金项目：南通科技局资助项目(南通科技 k2009052)
作者简介：陈淑侠(1972-)，女，辽宁沈阳人，硕士，南通职业大学教师，主要从事机电系统及印刷包装工程的教学与研究。

成困难。另外，压力装置通常较为庞大，与实验研究的样品量不匹配，提高了实验成本。

文中旨在解决锐孔法制备微胶囊装置庞大、样品用量大以及锐孔不可改变等问题，实现锐孔灵活变换，减少样品消耗量，构建实验级生物活性物质包囊装置。

1　装置的组成及工作原理

设计制作的生物活性物质包囊的实验装置原理见图 1，该装置是采用压力驱动，通过锐孔将液体滴离散为微小液滴，进行生物活性物质的包囊。装置由氮气瓶 1 提供最大为 12.5 MPa 的压力，经过一级减压阀 2 减至小于 3 MPa，二级减压阀 3 减至需要的工作压力，经单向流量开关 5，作用于压力罐 11。压力罐由罐体、罐盖、密封圈、内胆组成，罐体和罐盖通过螺纹副封闭，最大可承受压力为 2.5 MPa。罐盖上装有安全阀 4、强制泄压阀 6、压力表 12、进气管和出液管。安全阀启动压力不高于 2.5 MPa。在压力作用下，悬浮有生物活性物质的液体经喷射开关 9 进入喷头 10，喷头橡皮垫内嵌有毛细管，毛细管可更换、增加或减少，而无需更换喷头。悬浮液经毛细管离散为液滴，落入凝固浴，通过交联反应生成微胶囊。



1-氮气瓶；2-一级减压阀；3-二级减压阀；4-安全阀；5-流量控制开关；6-泄压阀；7-流量控制开关；8-蠕动泵；9-射流开关；10-喷头；11-压力罐；12-压力表

图 1　生物活性物质包囊实验装置原理

Fig. 1 Schematics of the device for encapsulating biologically active substances

2　实验材料与方法

实验材料：海藻酸钠（化学纯，国药集团化学试剂公司），配制质量分数为 2% 的溶液；$CaCl_2$（分析纯，汕头市陇西化工厂），配制质量分数为 2% 的溶液；人体周血淋巴细胞（细胞浓度：1×10^8 个/mL）（南通大学医学院提供）；色谱毛细管（郑州英诺高科有限公司）。

实验方法：常温下把 0.5 mL 淋巴细胞液悬浮于 50 mL（质量分数为 2%）海藻酸钠溶液中，搅拌均匀，置于压力罐内；选用所需管径的色谱毛细管，截取所需长度（10 mm 左右），然后调节好喷射压力、喷射角度进行喷射，将悬浮液离散为均匀液滴，落入氯化钙溶液中，通过交联反应生成淋巴细胞微胶囊，将微胶囊在氯化钙溶液中浸泡 20 min，用去离子水清洗 3 遍。

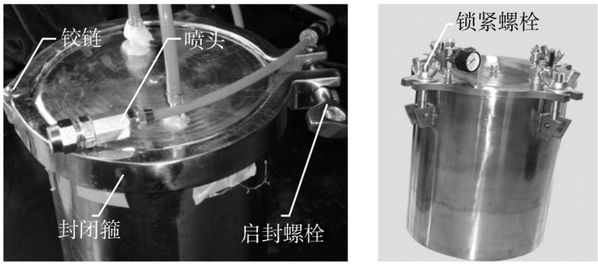
3　实验与结果分析

3.1　压力控制与调节

3.1.1　容器的耐压能力

该装置的工作原理是在压力作用下，将悬浮液通过锐孔离散为液滴，容器必须能够承受一定的压力。其中密封与开启部位为承压较薄弱环节。

设计的 2 种罐盖启封结构见图 2，2 种结构均采用端面密封，图 2a 利用封闭箍的锥面收紧力密封，开启快捷，图 2b 利用圆周方向均布的螺栓紧固力密封。压力测试实验结果显示，它们的密封失效压力分别为 0.8 MPa 和 2.8 MPa，其原因是图 2a 结构中铰链和启封处为封闭箍的缺口，密封垫受到锥面较小的收紧力，而图 2b 结构中，密封垫受到均布螺栓的紧固力较为均匀。



a　箍封闭　　b　螺栓锁紧

图 2　罐盖结构

Fig. 2 Structure of container cap

图 2a 结构耐压不超过 1 MPa，不能满足实验需求，实验所需压力最大可至 2 MPa。图 2b 结构最大可承受压力 2.8 MPa，可较好满足实验需求。考虑安全因素，设定安全系数为 1.2，该结构最大许可工作仍可至 2.3 MPa。

3.1.2 压力调节精度及微胶囊粒径控制

压力调节的精度由第 2 级减压阀的调节精度和压力表的指示精度决定,它们的精度均为 0.02 MPa。给予压力变化量 Δ=0.1 MPa,对压力变化前后的微胶囊粒径进行统计见表 1。制备的淋巴细胞微胶囊见图 3。

表 1 不同压力时细胞微胶囊的粒径变化

Tab. 1 Cells microcapsule size variation at different pressure

压力 /MPa	粒径分布范围 /μm	平均粒径 /μm	标准偏差 /μm
0.3	500~1100	850	162
0.4	450~1100	750	121

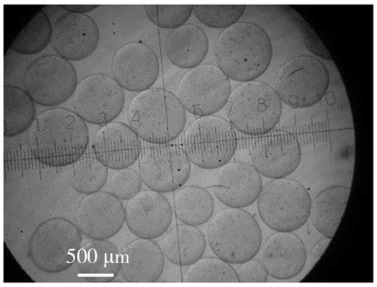


图 3 淋巴细胞微胶囊

Fig. 3 The lymphocyte microcapsules

实验条件:锐孔孔径为 200 μm,毛细管管长为 10 mm,射流方向与水平方向夹角为 60°,人体周血淋巴细胞,海藻酸钠质量分数为 2%,样本数量 n=100 颗。

结果显示:其他实验条件相同下,随着压力的变化,制备的微胶囊平均粒径、粒径分布范围会发生显著变化。由此可见,压力是影响微胶囊粒径变化的重要因素之一,深入研究锐孔管径与微胶囊粒径间的变化规律对于微胶囊质量控制具有重要意义。作为实验研究装置,其压力必须能够灵活改变,而且要具有较高的调节精度。

3.2 锐孔与淋巴细胞微胶囊粒径、产率控制

3.2.1 锐孔结构特点

设计制作的锐孔见图 4,通过在喷头橡皮垫内嵌入毛细管,形成锐孔,锐孔孔径可小至 5 μm。锐孔孔径大小、数量随嵌入的毛细管管径、数量的变化而变化,改变锐孔大小、增减锐孔数目只需更换毛细管,无需更换喷头,这样灵活方便,成本较低。目前

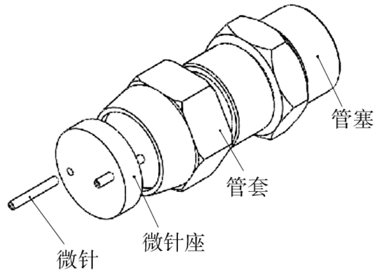


图 4 锐孔嵌入式微喷嘴

Fig. 4 Sprinklers with embed capillary

实验室中多采用激光等精密加工方法,加工成本高,孔径小于 20 μm 的加工更为困难。加工成形后,孔的大小和数目都不能灵活改变,不能满足实验研究要求。

3.2.2 锐孔与微胶囊粒径控制

嵌入 2 种不同管径的毛细管,分别制备淋巴细胞微胶囊,除管径不同外,其他实验条件相同,制备的微胶囊粒径统计见表 2。

表 2 不同锐孔孔径时细胞微胶囊的粒径变化

Tab. 2 Cells microcapsule size variation with different orifice diameter μm

管径	粒径分布范围	平均粒径	标准偏差
100	200~500	300	42.5
200	350~900	600	92

实验条件:毛细管管长 10 mm,喷射压力 0.6 MPa,射流方向与水平方向夹角 60°,淋巴细胞,海藻酸钠质量分数为 2%,样本数量 n=100 颗。

结果显示:其他实验条件相同下,随着锐孔孔径的变化,制备的微胶囊平均粒径、粒径分布范围会发生显著变化。综合表 1 和表 2 实验结果,还可以发现,锐孔深度对于微胶囊的粒径也有一定的影响。由此,深入研究锐孔管径与微胶囊粒径间的变化规律对于控制微胶囊质量具有重要意义。作为实验研究装置,其锐孔孔径、深度必须能够灵活改变。

3.2.3 锐孔数目与产率放大

压力、锐孔孔径、锐孔数目都会对产率产生影响,此处不对压力和锐孔孔径的影响进行讨论,只考虑锐孔数目对产率的放大。通过快换接头增加喷头级数,产率放大倍数为 2^n 次方,通过增加嵌入的毛细管数量,单个喷头的产率可放大 m 倍,综合两方面因素,现有装置的产率倍数可放大 $m\times2^n$。

3.3　容器结构与液体更换

容器由承受压力的罐体外层和可取出的内胆2层结构组成。内外层均采用不锈钢1Cr18Ni9制成，外层壁厚为1.5 mm，内尺寸为150 mm×180 mm，容积约为3 L。内层壁厚为0.8 mm，容积为200 mL。通常将待喷射的液体装入可取出的内胆中，也可以将液体随实验器皿直接放入外压力罐。这样的结构在更换液体以及清洗容器时非常方便，样品用量可少至十几毫升。

4　结语

设计制作的生物活性物质微胶囊实验研究装置具有如下特点。

1)压力调节方便，调节精度高，操作安全；

2)通过嵌入毛细管形成锐孔，取代锐孔的精密加工，制作锐孔成本较低，锐孔孔径、锐孔深度及锐孔数量可快速灵活改变；

3)可快速更换实验样品，无需清洗罐体，样品用量可少至十几毫升。

在生物活性物质包囊制备实验中取得较好效果，可用于研究压力、锐孔孔径、锐孔深度等因素对微胶囊粒径、粒径分布以及产率的影响规律，对微胶囊质量的控制具有意义。

参考文献：

[1] LAM P L, GAMBARI R. Development of Phyllanthin Containing Microcapsules and Their Improved Biological Activity Towards Skin Cells and Staphylococcus Aureus[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2012, 22(1): 468-471.

[2] 蔡秀丽，吕建平，刘姣姣，等. 双层包覆香精微胶囊的制备及性能研究[J]. 包装工程，2013，34(11)：31-34.
CAI Xiu-li, LYU Jian-ping, LIU Jiao-jiao, et al. Preparation and Property of Double-layered Microencapsulated Fragrance[J]. Packaging Engineering, 2013, 34(11): 31-34.

[3] 董同力嘎，王爽爽，赵淑环，等. 温敏水凝胶对疏水性药物的装载及释放行为[J]. 包装工程，2013，34(7)：34-37.
DONG Tungalag, WANG Shuang-shuang, ZHAO Shu-huan, et al. Drug Loading and Release Behavior of Thermosensitive Hydrogel[J]. Packaging Engineering, 2013, 34(7): 34-37.

[4] 刘光发，王建清，赵亚珠. 牛至精油微胶囊的制备及其抑菌效果研究[J]. 包装工程，2012，33(3)：19-22.
LIU Guang-fa, WANG Jian-qing, ZHAO Ya-zhu. Preparation and Antimicrobial Actibity Study of Oregano Oil Microcapsule[J]. Packaging Engineering, 2012, 33(3): 19-22.

[5] SUN Guang-wei, XU Xiao-xi, MA Xiao-jun, et al. Three-dimensional Culture for Expansion and Differentiation of Embryonic Stem Cells[M]. Springer Protocols Handbooks, 2012, Human Embryonic and Induced Pluripotent Stem Cells, Part 1: 51-58.

[6] 刘袖洞，于炜婷，马小军，等. 海藻酸钠和壳聚糖聚电解质微胶囊及其生物医学应用[J]. 化学进展，2008，20(1)：126-139.
LIU Xiu-dong, YU Wei-ting, MA Xiao-jun, et al. Polyelectrolyte Microcapsules Prepared by Alginate and Chitosan for Biomedical Application[J]. Progress in Chemistry, 2008, 20(1): 126-139.

[7] 李清. 基于微流体数字化喷射的细胞微胶囊制备技术研究[D]. 南京：南京理工大学，2012：9-13.
LI Qing. Research on Cell Microcapsules Preparation Via Digital Ejection of Micro-fulids[D]. Nanjing: Nanjing University of Science & Technology, 2012: 9-13.

[8] RABANEL J M, XAVIER B, HAMZA Z, et al. Progress Technology in Microencapsulation Methods for Cell Therapy[J]. Biotechnol Prog, 2009, 25(4): 946-963.

[9] KONTTURI L S, YLIPERTTULA M, et al. A Laboratory-scale Device for the Straightforward Production of Uniform, Small Sized Cell Microcapsules with Long-term Cell Viability[J]. Journal of Controlled Release, 2011, 152(3): 376-381.