

# 壳聚糖/木质素磺酸钠复凝聚法制备生物农药微胶囊

马丽杰 赵静\*

(北京化工大学 材料科学与工程学院, 北京 100029)

**摘要:**以壳聚糖和木质素磺酸钠为囊材,以阿维菌素为囊芯,采用复凝聚法制备了微胶囊。利用正交试验对复凝聚体系的形成条件进行了初步筛选,在此基础上,深入研究了影响微胶囊载药量和包封率的各种因素。最佳制备工艺条件为:壳聚糖黏度 1500 mPa·s、壳聚糖质量分数 0.5%、木质素磺酸钠质量分数 2%、乳化剂 Tween80 和 Span80 的体积比 2、乳化剂用量 6 mL、壳芯质量比 6、复凝聚时间 15 min、交联剂用量 4 mL、交联时间 1 h,所得微胶囊的载药量和包封率可达到 9.6%和 82%。囊芯与囊壁之间无化学键合。壳聚糖/木质素磺酸钠复凝聚微胶囊能有效控制阿维菌素的释放。

**关键词:**壳聚糖;木质素磺酸钠;复凝聚;阿维菌素;微胶囊

**中图分类号:** TQ450.6

## 引言

传统的化学农药制剂在施用时会造成大量农药流失和分解,对人类健康和生态环境构成威胁。农药缓释剂能有效控制药物释放速度,可提高农药的使用率和药效,减少对环境的污染和对人体的危害,成为农药新剂型研究开发领域的热点<sup>[1]</sup>。其中,天然高分子作为缓/控释材料是该领域的重要研究方向。

目前利用天然高分子用于制备农药微胶囊的主要方法是锐孔-凝固浴法和复合凝聚法<sup>[2]</sup>。现有微胶囊剂的囊壁材料仅限于明胶与阿拉伯胶,由于需要从国外购买阿拉伯胶,使农药微胶囊成本升高。因此,根据我国国情筛选可用于复凝聚体系中的新囊壁材料,如壳聚糖和木质素磺酸钠,具有一定的理论意义和实际应用价值。

壳聚糖(chitosan, CTS)是-(1,4)-聚-2-氨基-D-吡喃葡萄糖,具有优良的生物降解性和生物亲和性,也是迄今为止发现的唯一的天然碱性多糖。其分子链上丰富的氨基使其易于与聚阴离子化合物发生静电吸引,生成复合物而赋予多种功能<sup>[3]</sup>。在药物制剂方面,尤其应用于缓释和控释制剂,已有了相当的研究深度和广度,如壳聚糖与阿拉伯胶<sup>[4-5]</sup>、海

藻酸钠<sup>[6-7]</sup>和聚丙烯酸<sup>[8]</sup>等复合形成微胶囊。

木质素磺酸钠主要来源于工业制浆的副产品<sup>[9]</sup>,年产量达5万吨。但其资源利用率很低,只有5%被用在混凝土工程和农药造粒的分散剂中,其余被大量排放掉。由于其自然降解时间较长,造成对水质和环境的严重污染。木质素磺酸钠的分子结构中存在酚羟基、醇羟基、羰基和磺酸根等活性基团,表现出聚阴离子性质,可与聚阳离子化合物壳聚糖发生凝聚。另外,木质素磺酸钠具有吸收紫外线的性能,对光敏和氧敏的农药能起到稳定作用<sup>[10]</sup>。木质素的这些特性使其可望成为农药缓释剂的理想控释载体材料。

本文选择新型农畜两用生物农药——阿维菌素(avermectin, AVM)作为控释对象。阿维菌素属大环内酯类抗生素,对多种农作物的害虫和害虫具有很高的生物活性<sup>[11]</sup>,但它对光很不稳定且易与土壤结合<sup>[12]</sup>。已有的剂型主要为乳油,其中含有的大量苯类有机溶剂会严重污染环境。开发阿维菌素缓释剂的绿色农药新剂型,提高其生物利用率,最近引起了研究者的极大关注,但这方面的研究还处于起步阶段。现有的研究报道包括尿素-甲醛树脂作囊壁材料的微胶囊<sup>[13]</sup>、明胶/阿拉伯树胶经复凝聚反应制备的微胶囊<sup>[14]</sup>和采用空心多孔 SiO<sub>2</sub> 纳米颗粒作为控释载体的阿维菌素纳米控释剂<sup>[15]</sup>,这些控释剂均表现出一定的缓释作用。

采用木质素磺酸钠-壳聚糖这两种天然高分子作为复凝聚体系的壁材,目前还鲜见报道。本文探

收稿日期: 2006-03-09

第一作者: 女, 1971年生, 硕士生

\*通讯联系人

E-mail: zhaojing@mail.buct.edu.cn

讨论了制剂组成和复凝聚条件对阿维菌素微胶囊载药量和包封率等性能指标的影响。把壳聚糖-木质素磺酸钠新型复凝聚体系(CL)用于生物农药缓/控释放的研究,不仅纳入生物农药的特性,也拓宽了壳聚糖和木质素磺酸钠在农业领域的应用范围。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

壳聚糖(CTS),工业级,山东金湖甲壳制品有限公司;木质素磺酸钠(L-Na),工业级,图们方正制剂厂;阿维菌素原药,有效成分含量99.9%,石家庄制药集团;戊二醛溶液,分析纯(50%),北京益利精细化工有限公司;二氯甲烷,分析纯,北京阿托兹精细化工有限公司;液体石蜡,分析纯,广东汕头西陇化工有限公司;Tween80,分析纯,广东汕头市西陇化工厂;Span80,分析纯,广州南方化玻有限公司。752紫外-可见光栅分光光度计,北京光学仪器厂。

### 1.2 AVM-CL 微胶囊的制备

在壳聚糖的醋酸溶液( $w_{\text{醋酸}} = 1\%$ )中加入阿维菌素,制成含药胶液,在45℃和搅拌(300 r/min)下,将其与含乳化剂的液体石蜡以2:3的体积比混合,制成乳液。然后,将该乳液倒入三口瓶中,搅拌下缓慢滴入木质素磺酸钠溶液,待复凝聚反应结束后,向反应液中加入定量戊二醛,交联固化。最后,在室温下抽滤,洗涤,在红外烘箱中烘干,得阿维菌素-壳聚糖-木质素磺酸钠(AVM-CL)微胶囊粉末产品。

### 1.3 微胶囊制备工艺的设计

根据前期大量预实验的结果,确定以壳聚糖黏度、壳聚糖质量分数、木质素磺酸钠质量分数、乳化剂体积比和乳化剂用量为影响因素,对每个因素选取四个水平,以微胶囊的载药量和包封率为优化指标,用正交表 $L_{16}(4^5)$ 安排实验(表1)。

表1 成囊因素水平

Table 1 Factors and levels in orthogonal experiments

水平	A	B	C	D	E
1	600	1	1	1:0	12
2	1000	0.75	1.5	2:1	9
3	1500	0.50	2	1:2	6
4	2000	0.30	3	0:1	3

A为CTS黏度,mPa·s;B为CTS质量分数,%;C为L-Na质量分数,%;D为乳化剂配比(Tween80和Span80的体积比);E为乳化剂用量,mL(下表同)。

## 2 AVM-CL 微胶囊的表征

### 2.1 载药量和包封率的测定

2.1.1 标准曲线的测定 准确称取定量的阿维菌素,以二氯甲烷作为溶剂,配制成0.005~0.02 g/L的一系列标准溶液,并在245 nm处测定标准溶液的吸光度。制作质量浓度-吸光度标准曲线,线性回归方程如式(1)所示。

$$A = 15.532 + 0.0157c, \quad r = 0.9994 \quad (1)$$

上式中, $A$ 为吸光度; $c$ 为AVM的质量浓度,mg/L; $r$ 为相关系数。

2.1.2 载药量及包封率测定 称取一定量的阿维菌素微胶囊,置于容量瓶内,用二氯甲烷定容,室温下提取24 h,离心。取上清液1 mL,稀释后用紫外分光光度计测其吸光度。从吸光度-质量浓度标准曲线求出阿维菌素质量浓度。以相同方法处理空白壳聚糖-木质素磺酸钠微胶囊,作为参比溶液。按式(2)计算载药量,按式(3)计算包封率。

$$w = (A \times 0.01 \times 10) / (m \times 100) \times 100\% \quad (2)$$

上式中, $w$ 为载药量,%; $c$ 为AVM质量浓度,mg/L; $m$ 为研细的干态AVM-CL微胶囊的质量,mg。

$$P = w / w_0 \quad (3)$$

上式中, $P$ 为微胶囊的包封率,%; $w_0$ 为微胶囊中AVM的理论载药量。

### 2.2 AVM-CL 微胶囊的体外释放

分别取一定量的阿维菌素微胶囊及阿维菌素原药(两者有效成分含量相等)放置于透析袋中,将该袋浸泡在恒温(28℃)的释放介质(乙醇为20%的水溶液,100 mL)中,间隔一定时间取样,并用新鲜的释放介质完全置换浸泡液,使释放实验始终满足“渗漏”条件(“sink” condition)。

根据 Lambert-Beer 定律  $A = \tan(I_0/I) = kbc$  (其中, $A$ 为吸光度, $I_0$ 为入射光强度, $I$ 为透射光强度, $k$ 为吸收系数, $b$ 为液层厚度, $c$ 为溶质的摩尔浓度),物质的吸光度与其溶液的浓度成正比。在245 nm处测AVM和AVM-CL微胶囊的吸光度,由式(4)计算累积释放百分率( $X$ ),绘制累积释放曲线(图6)。

$$X = (c \times 0.1) / (m_0 \times w) \times 100 \quad (4)$$

上式中, $c$ 为AVM的质量浓度,mg/L; $m_0$ 为AVM-CL微胶囊的质量,mg; $w$ 为载药量,%。

### 3 结果与讨论

#### 3.1 AVM-CL 复凝聚微胶囊的制备及表征

3.1.1 正交试验结果 正交试验结果如表 2 所示。将微胶囊外观用数值量化,使其能够和包封率一起成为制备条件的综合评价指标(EI)。用  $EI = (P + \text{外观量化值}) / 2$  计算。 $F$  检验结果见表 3。

从表 2 和表 3 中综合评价的结果可以看出,实验 7 即  $A_2B_3 C_4D_1E_2$  的综合评价结果较好。从极差  $R$  以及方差分析的结果可以看出,在本试验中,5 个因素的影响大小依次为壳聚糖质量分数 > 乳化剂体积比 > 木质素磺酸钠质量分数 > 乳化剂用量 > 壳聚糖黏度(即分子量),其中壳聚糖质量分数对综合指

标的影响具有非常显著性意义,乳化剂比对综合指标具有显著性意义,木质素磺酸钠质量分数和乳化剂用量对综合指标没有显著影响,壳聚糖分子量对综合指标的影响没有统计学意义。从而得到可能较好的条件  $A_3B_3 C_3D_2E_3$ ,即壳聚糖黏度为 1500 cps,壳聚糖质量分数为 0.5%、木质素磺酸钠质量分数为 2%、乳化剂 Tween80 与 Span80 的体积比为 2,乳化剂用量为 6 mL。因该条件在实验编号中没有出现,需要复核实验。按上述试验的优化配方制备 3 份微胶囊,测定包封率与载药量,测得的包封率为 75.2%,在所有条件下所得微胶囊的包封率为最高,且囊形圆整,易分散,说明该 5 因素 4 水平的正交试验结果可靠。

表 2 成囊正交试验结果

Table 2 The results of orthogonal design experiments

实验	A	B	C	D	E	P/ %	微胶囊外观(量化值)	EI	EI <sup>2</sup>
1	600	1.00	1.00	1/0	12	25.1	凝结成块(2)	17.6	308
2	600	0.75	1.50	2/1	9	24.1	不规则的颗粒(3)	19.6	382
3	600	0.50	2.00	1/2	6	60.2	形成硬壳,不能分散(3)	37.6	1414
4	600	0.30	3.00	0/1	3	46.7	形同泥浆,不易干燥(1)	25.8	668
5	1000	1.00	1.50	1/2	3	33.8	棕黑色均匀颗粒(5)	29.4	864
6	1000	0.75	1.00	0/1	6		乳状黏液,无固体生成	0	0
7	1000	0.50	3.00	1/0	9	67.1	颗粒规则分散性好(10)	58.5	3428
8	1000	0.30	2.00	2/1	12	23.9	形同泥浆(1)	14.4	209
9	1500	0.75	2.00	0/1	9	16.6	规则颗粒和絮状物混合物(3)	15.8	250
10	1500	0.50	3.00	1/2	12	8.56	棕色均匀细小颗粒(5)	16.8	282
11	1500	1.00	1.00	2/1	3	22.1	少许颗粒多絮状物(2)	16.0	258
12	1500	0.30	1.50	1/0	6	58.4	规则的颗粒聚集体(10)		
13	2000	1.00	3.00	2/1	6	19.2	大量针状固体(6)	54.2	2938
14	2000	0.75	2.00	1/0	3	24.3	不规则的颗粒(5)	24.6	605
15	2000	0.50	1.50	0/1	12	4.70	漂浮 2 mm 细长粉末(4)	24.6	608
16	2000	0.30	1.00	1/2	9	5.45	分散性差的棕色粉末(5)	17.4	301
$K_1$	100	87.4	84.4	109.0	73.4			12.7	161
$K_2$	102	61	89.4	110	102				
$K_3$	103	129	118	102	106				
$K_4$	79.3	107	93.5	67.3	95.6				
$R$	23.7	68.5	33.6	42.7	32.6				

表 3  $F$  检验结果表

Table 3 The result of  $F$  test

来源	离差	自由度	均方离差	$F$ 值
B	632	3	211	7.80
C	166	3	55.3	2.05
D	425	3	142	5.26
E	156	3	52	1.93
误差(A+e)	108	3	36	

$$F_{0.05}(3, 20) = 3.10; F_{0.01}(3, 20) = 4.94$$

用校正过的带目镜测微尺的光学显微镜观察微

胶囊,取样三批,每批 200 个,测定囊径,其粒径分布如表 4 所示。

表 4 AVM-CL 微胶囊粒径分布

Table 4 Size distribution of AVM-CL microcapsules

囊径/ $\mu\text{m}$	所占比例/ %
36	2
36~24	33
24~12	45
12~2.4	15
2.4	5

3.1.2 FT-IR 分析 对比 FT-IR 谱图(图 1 中 a、b、c)可知,AVM-CL 微胶囊的谱图中没有新峰生成,表明囊芯 AVM 与囊壁壳聚糖和木质素磺酸钠没有形成新的化学键。

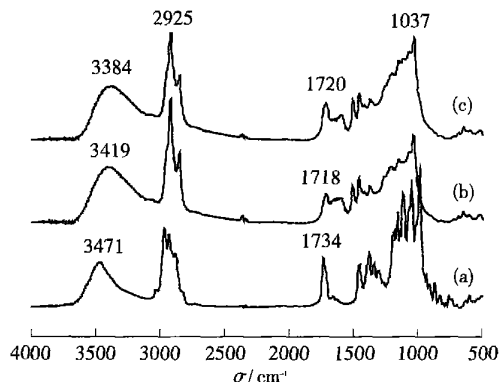


图 1 阿维菌素(a)、空白微胶囊(b)和 AVM-CL 微胶囊(c)的红外谱图

Fig. 1 FT-IR spectra of avermectin (a), chitosan/lignosulfonate microcapsules (b), and avermectin loaded chitosan/lignosulfonate microcapsules (c)

### 3.2 制备条件对载药量和包封率的影响

通过正交试验设计,本文初步优选出壳聚糖黏度为 1500 mPa·s、壳聚糖质量分数为 0.5%、木质素磺酸钠质量分数为 2%、乳化剂用量为 6 mL、Tween80 与 Span80 的体积比为 2 的较适宜反应条件。在此基础上,比较了壳芯质量比、复凝聚反应时间、交联剂用量和交联时间等成囊条件对微胶囊载药量和包封率的影响。

3.2.1 壳芯质量比 采用上述正交试验优选出的较适宜的微胶囊制备条件,戊二醛用量为 4 mL,其他条件相同,只改变壳芯质量比,比较载药量和包封率随壳芯比的变化,结果如图 2 所示。

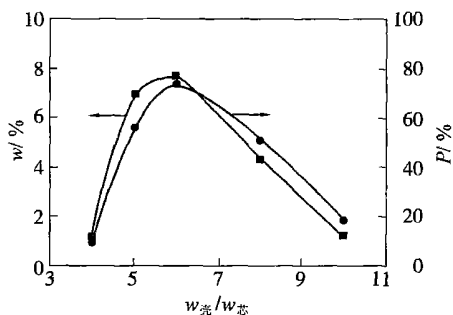


图 2 AVM-CL 载药量和包封率随壳芯质量比的变化  
Fig. 2 Variation in drug loading and encapsulation efficiency with core to shell ratio of AVM-CL microcapsules

从图 2 中可以看出,壳芯质量比对微胶囊的影响很大。随着壳芯质量比的增加,微胶囊的载药量和包封率先增后降;壳芯质量比为 6 时,达到最高。壳芯质量比影响载药量和包封率的主要原因是随着投药量加大,壳聚糖-木质素磺酸钠复凝聚体系中阿维菌素油滴的数目增多,定量壳聚糖和木质素磺酸钠所产生的凝聚产物只能对部分囊心油滴进行包裹。因此,囊材和芯材应当具有一个适当比例,才能使微胶囊的载药量和包封率达到最高。

3.2.2 复凝聚反应时间 其他条件相同,只改变复凝聚反应时间,比较载药量和包封率随复凝聚反应时间的变化,结果如图 3 所示。

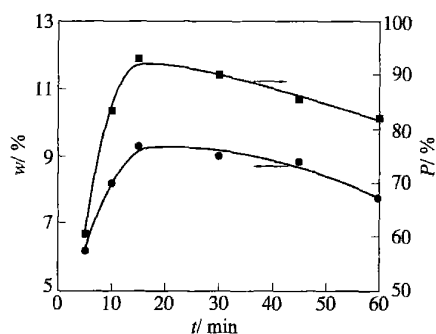


图 3 复凝聚反应时间对 AVM-CL 微胶囊载药量和包封率的影响

Fig. 3 Variation in drug loading and encapsulation efficiency of AVM-CL microcapsules with complex coacervation time

可以看出,在 15 min 内,微胶囊的载药量和包封率随反应时间的增加急剧增加,但随后变化不大且有下降趋势。这说明壳聚糖分子链上的氨基和木质素磺酸钠分子链上的磺酸基静电复合的速度较快,两种聚电解质很快凝聚,形成复合物,从富相中沉析出来。由于复凝聚反应是可逆反应,反应时间延长会增加可逆反应的程度。

3.2.3 交联剂 其他条件相同的条件下,考察戊二醛的用量对载药量和包封率的影响,结果如图 4 所示。

交联是微胶囊制备过程中很重要的一个环节。戊二醛上有两个可以交联的官能团,可以与壳聚糖上的氨基和羟基发生交联反应,形成一种交联网状结构。从图 4 可以看出,不同交联剂用量对载药量的影响很大。随着戊二醛用量的增加,微胶囊的载药量和包封率呈现了先升后降的趋势。载药量和包封率降低的可能的原因是阿维菌素向交联剂中的溶

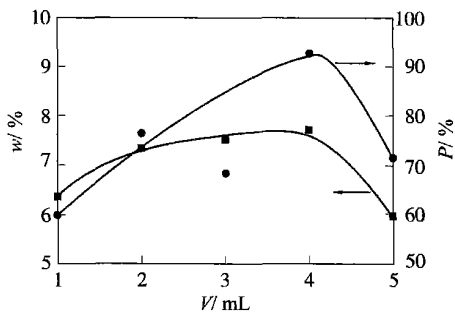


图 4 戊二醛用量对载药量和包封率的影响

Fig. 4 Effect of varying the amount of glutaraldehyde on the drug loading and encapsulation efficiency of AVM-CL microcapsules

出加大。本文取戊二醛用量为 4 mL,此时载药量和包封率最大。

在其他条件相同时,考察了交联时间对载药量和包封率的影响,其结果见图 5。从图中可以看出,随着交联时间的延长,载药量和包封率逐渐增大,在 60 min 时达到最大;时间再延长,载药量和包封率有所下降。其原因可能是交联时间太短,交联反应来不及发生或反应不够完全,未完全交联的复凝聚微胶囊可能遭到破坏;交联时间增加,交联度随之增大;但时间过长,阿维菌素在交联液中溶出的可能性也增大。交联时间为 60 min 时,载药量和包封率都达到最大。

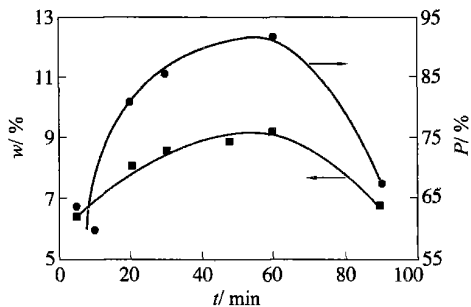


图 5 交联时间对载药量和包封率的影响

Fig. 5 Effect of varying cross-linking time on the drug loading and encapsulation efficiency of AVM-CL microcapsules

### 3.3 AVM-CL 微胶囊的释药特性

选择最适宜制备工艺条件所获 AVM-CL 微胶囊进行体外释放动力学实验,结果如图 6 所示。可以看到,AVM 原药经过 4 h 累积溶出量就达到 99.1%;而 AVM 从 AVM-CL 微胶囊中的累积释放量达到 50%时,时间可推迟到 15 h,累积释放量为

90%时,时间为 40 h;这说明了新型壳聚糖/木质素磺酸钠复凝聚体系制备的微胶囊对阿维菌素具有一定的缓释性能。

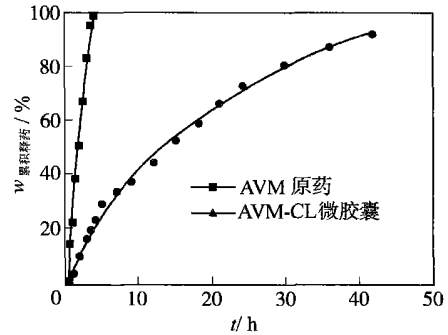


图 6 AVM-CL 累积释放曲线

Fig. 6 Release profiles of avermectin from chitosan/lignosulfonate microcapsules compared with that of technical avermectin

## 4 结论

(1) 采用壳聚糖/木质素磺酸钠的复凝聚体系,经正交试验初步筛选出复凝聚体系形成条件为:壳聚糖黏度 1500 mPa·s、壳聚糖质量分数 0.5%、木质素磺酸钠质量分数 2%、乳化剂 Teen80 和 Span80 的体积比 2、乳化剂用量 6 mL。在此条件下制备出的 AVM-CL 微胶囊的包封率达到 75.2%。FT-IR 谱图表明阿维菌素与壳聚糖/木质素磺酸钠复凝聚体系壁材间无化学键合。

(2) 随壳芯质量比、复凝聚反应时间、交联剂用量及交联时间的增加,载药量和包封率均呈先升后降的趋势,当其值分别为 6、15 min、4 mL 和 1 h 时,载药量和包封率可达到 9.6%和 82%。

(3) 体外释放动力学实验结果表明壳聚糖/木质素磺酸钠微胶囊对阿维菌素具有一定的缓释效果。

## 参 考 文 献

- [1] Margni M, Rossier D, Crettaz P, *et al.* Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems [J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2002, 9(3): 379 - 392.
- [2] 宋健,陈磊,李效军.微胶囊化技术及应用[M].北京:化学工业出版社,2001.
- [3] 蒋挺大.壳聚糖[M].北京:化学工业出版社,2001.
- [4] 李柱来,王津,林媚,等.壳聚糖-吡啶美辛缓释微囊的制备工艺及微囊的性能[J].*福建医科大学学报*, 2005, 39(1): 54 - 57.

- [5] 李柱来,王津,陈崇泽,等.壳聚糖-阿拉伯胶布洛芬缓释微囊制备工艺研究[J].天然产物研究与开发,2005,17(1):51-54.
- [6] 徐连敏,陈改清,刘敬楠.地塞米松磷酸钠壳聚糖-海藻酸钠微囊的制备工艺研究[J].中国现代应用药学,2005,22(3):212-214.
- [7] 丘晓琳,李国明,叶俊生.低分子肝素-壳聚糖-海藻酸钠复合微囊的制备及释药性能[J].应用化学,2005,22(4):361-366.
- [8] Vasiliu S, Popac M, Rinaudo M. Polyelectrolyte capsules made of two biocompatible natural polymers[J]. European Polymer Journal, 2005, 41: 923-932.
- [9] 唐宝莲.纸浆黑液变废为宝[J].江苏科技信息,1999,1(12):6-10.
- [10] 张陶芸,黄正,韩文,等.木素农药缓释剂的研制与应用[J].中国造纸,1995,1:35-40.
- [11] 吴国荃,孙诗敏,王金台,等.生物农药阿维菌素[J].精细与专用化学品,2003,14(4):8-10.
- [12] 徐汉虹,梁明龙,胡林.阿维菌素类药物的研究进展[J].华南农业大学学报,2005,26(1):1-6.
- [13] 付仁春,周菁,袁青梅,等.制备脲醛树脂阿维菌素微胶囊的研究[J].云南化工,2003,30(4):14-16.
- [14] 杨恺,郑保忠.壳核型缓释阿维菌素高分子微球研究[J].化工进展,2005,3(24):65-68.
- [15] 李珠柱,文利雄,刘凡,等.新型阿维菌素纳米控释剂的制备及性能研究[J].农药学报,2005,7(3):275-281.

## Complex coacervation of chitosan and sodium lignosulfonate for microencapsulation of a biopesticide

MA Li-jie ZHAO Jing

(College of Materials Science and Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China)

**Abstract:** The biopesticide avermectin was microencapsulated with chitosan (CTS) and sodium lignosulfonate (L-Na) by a complex coacervation method. The reaction conditions were primarily selected using orthogonal experimental design, and the microencapsulation conditions were further modified by varying the ratio of complex to avermectin, complex coacervation time, and the amount and exposure time of crosslinkers. The optimized microencapsulation conditions were as follows: viscosity of chitosan 1500 mPa·s,  $w_{CTS} = 0.5\%$ ,  $w_{L-Na} = 2\%$ , volume ratio of Tween80 and Span80 2, amount of emulsifiers 6 mL, mass ratio of core to shell 6, complex coacervation time 15 min, amount of crosslinker 4 mL, crosslinking time 1 h. The resulting microcapsules had a drug loading and encapsulation efficiency of 9.6% and 82%, respectively. There was no chemical interaction between avermectin and the chitosan/lignosulfonate complex. The release characteristics of avermectin from the microcapsules obtained under optimized microencapsulation conditions were investigated using *in-vitro* release experiments, which showed that the release rates of avermectin could be effectively controlled.

**Key words:** chitosan; sodium lignosulfonate; complex coacervation; avermectin; microcapsules