技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)11-1690-03

超顺磁性四氧化三铁壳聚糖纳米粒的制备和结构表征

郭利锋[1],黄 华[1],罗 聪[2],杨学恒[3]

(1.重庆医科大学药学院药剂学教研室,重庆 400016;2.重庆医科大学附属儿童医院骨科,重庆 400014;3.重庆大学恒瑞纳米技术工作站,重庆 400044)

【摘 要】目的:制备超顺磁性四氧化三铁壳聚糖纳米粒,并检测物理和磁学性质。方法:共沉淀法制备超顺磁性四氧化三铁壳聚糖纳米粒,通过透射电镜与原子力显微镜、X 射线粉末衍射法、振动样品磁场计和激光衍射粒度分析仪初步分析其形态和磁性。结果:所得样品核心为四氧化三铁晶体,粒径为 20 ~ 30 nm,矫顽力为 0.532 oe,剩磁为 $1.281\ 8 \times 10^{-5}$ emu,饱和磁化 0.01 152 emu。结论:制备的样品具有粒径小,分散性好,超顺磁性的特点,可以作为非病毒基因的载体。

【关键词】超顺磁性;壳聚糖;纳米粒 ;矫顽力

【中国图书分类法分类号】R944.9 【文献标识码】A 【收稿日期】2008-12-08

Preparation and characteration of superparamagnetic Fe_3O_4 chitosan nanoparticles

GUO Li-feng, et al

(*Department of Pharmaceuticals, Pharmacy College, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To prepare superparamagnetic Fe_3O_4 chitosan nanoparticle and detect its physical&magnetic properties. *Methods*: Superparamagnetic Fe_3O_4 chitosan nanoparticles were prepared through chemical coprecipitation.The sample was analysed with configuration and magnetism by transmisson electron microscopy and atomic force microscopy, X-ray powder diffraction, vibrating sample magnetometer, laser diffraction particle size analyser, respectively. *Results*: The core of sample was Fe_3O_4 crystal, with the diameter of chitosan-coated particles ranging from 20 to 30 nm, the coercive force of 0.532 oe, residual magnetism of $1.281\ 8 \times 10^{-5}$ emu and saturation magnetization of 0.011 52 emu. *Conclusion*: Small size, good dispersibility and superparamagnetic characteristic make Fe_3O_4 chitosan nanoparticle as a non-viral gene carrier.

【Key words】Superparamagnetism; Chitosan; Nanoparticles; Coercive force

在纳米技术快速发展的今天,磁性纳米粒成为目前研究的热门领域。尤其是超顺磁性纳米粒在物理学、医药、生物学、材料科学方面备受青睐;这都是基于它的尺寸小、超顺磁性、低毒性等特性。而 Fe_3O_4 纳米粒由于强烈的磁偶极吸引,容易发生聚集。因此,需在 Fe_3O_4 纳米粒液中加入稳定剂,我们选用壳聚糖作为磁性纳米粒的稳定剂。

壳聚糖又名脱乙酰甲壳素、甲壳胺是甲壳类动物(虾、蟹)的壳提取制得。为天然可降解高分子聚合物,因分子中有游离氨基,在酸性条件下,为带有阳离子电荷的高分子聚合物,能与阴离子高分子物形成复合物。是一种天然的多糖,无毒,一般认为是安全的[1]。我们利用壳聚糖在一定的条件下带有阳离子的性质和非病毒基因载体复合,为后续实验做准备。磁性 Fe_3O_4 纳米粒作为一种主动靶向制剂,当粒径 <30 nm 时,具有超顺磁性,即在磁场中有较强的磁性,没有磁场时,磁性很快消失,而不会被永久磁化[2,3]。而在外加磁场下具有靶向性,所以磁性纳米粒是一种优良的磁靶向给药系统[4]。所用的载体含铁量不超过贫血病人的常规补铁总量,除部分被人体利用外,其余的磁性粒子能定期安全排出体外[5,6]。

作者介绍:郭利锋(1978-),男,硕士,
研究方向:药物速释与缓控释制剂。

通讯作者:黄 华,女,教授,E-mail:huangh60@tom.com。

基金项目:重庆市卫生局重点课题(编号:渝卫科教[2007]1 号);重庆市教委课题(编号:渝教科[2007]5 号)。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器 数控可调搅拌器(IKA® RW 20 digital),HITACHI-H7500 型透射电子显微镜(日本),傅立叶变换红外光谱仪 FTIR8900(日本岛津),XRD-6000 射线衍射仪(日本岛津),HH-15 振动样品磁强计(南京大学仪器厂),AFM.IPC-

208B-8#J（重庆大学研制）（重庆大学恒瑞纳米技术工作站）。

1.1.2 试剂 硫酸亚铁铵（重庆北碚化学试剂厂），硫酸铁（Ⅲ）铵（上海试四赫维化工有限公司），氢氧化钠（成都市科龙化工试剂厂），冰醋酸（重庆川东化工＜集团＞有限公司化学试剂厂），无水乙酸钠（重庆川东化工＜集团＞有限公司化学试剂厂）（均为 AR），壳聚糖（青岛市桓台县金湖甲壳制品公司）（食品级）（平均分子量：12 万）。

1.2 实验方法

采用化学共沉淀法制备外包壳聚糖的磁性 Fe_3O_4 纳米粒，先配制 6 mol/L 氢氧化钠溶液、0.1 mol/L 乙酸钠缓冲液、壳聚糖醋酸缓冲液（2.5 g 壳聚糖，1.4 ml 冰醋酸，加 250 ml 三蒸水，250 ml 醋酸钠缓冲液，摇匀既得）。再称取硫酸亚铁铵 4.7 g，硫酸铁铵 9.67 g[7]，一并与 220 ml、0.1 mol/L 的醋酸钠缓冲液（pH5.4），80 ml 壳聚糖醋酸钠缓冲液混匀备用。在氮气的环境下加入 80 ml、6 mol/L 氢氧化钠溶液于三颈反应瓶中用机械搅拌，待温度升到 55℃时，缓慢加入壳聚糖缓冲液与硫酸亚铁、硫酸亚铁铵和 0.1 mol/L 醋酸钠缓冲液的混合溶液。加完，反应 30 min，得到黑色磁性 Fe_3O_4 壳聚糖纳米粒[8,9]，用三蒸水洗至 pH 值 7～8 即得，避光保存。

1.3 样品的结构表征

包括磁学性质和物理性质 2 个方面，下面分别表征样品相关参数和指标。

1.3.1 磁学性质 主要通过振动样品磁场计来检测，将样品冷冻干燥，置于 HH-15 振动样品磁强计中，逐渐加大磁场强度，观察磁化曲线，直到样品的磁化强度不再增加为止。

记录磁化曲线相关数据及图谱，处理后获得样品的矫顽力、饱和磁化强度和剩磁参数。

1.3.2 物理性质 借助 X 射线粉末衍射、透射电子显微镜、原子力显微镜和激光衍射粒度分析检测仪器，对样品从不同角度进行分析，主要表征晶粒的形态和尺寸大小等参数。

1.3.2.1 X 射线粉末衍射 颗粒晶体结构采用 x 射线粉末衍射法：取经过室温干燥的四氧化三铁纳米颗粒，研细成粉末，置于 XRD-6000 射线衍射仪进行扫描，将所得图谱与标准卡片进行比较，判定晶核是否为四氧化三铁晶体的结构。

1.3.2.2 透射电子显微镜 用透射电镜测量样品粒径大小及分布：小铜网上制膜后，取一定量合适浓度的样品滴于铜网上，用滤纸吸除边缘多余的液体，低温灯烘干后置于透射电镜观察孔下，观察样品的核心粒径、分布等。

1.3.2.3 原子力显微镜 原子力显微镜：小金片用无水乙醇清洗后，再用三蒸水冲洗数次，吹干后加合适的样品于载玻片上，晾干后观察其形貌及粒径大小。

1.3.2.4 激光衍射粒度分析 先将 1 ml 样品加入激光衍射粒度分析仪的分析池中，再加分散剂 0.5%六偏磷酸钠 2 ml，超声 10 min 分散样品；测定 3～5 min，待测定数据显示稳定后，记录其平均粒径及其粒径分布情况。

2 结 果

2.1 磁性检测

采用振动样品磁强计对所得的纳米 Fe_3O_4 冻干样品于室温下做磁性测试，得磁化曲线，见图 1。图 1 中可以看出，在外场从 -25 koe 到 25 koe 缓慢扫描的过程中，测得矫顽力为 0.532 oe，剩磁为 $1.281\ 8\times10^{-5}$ emu，饱和磁化 0.011 52 emu，而磁化曲线是基本重合的，几乎没有磁滞现象，磁化曲线呈对称的“S”型，延长可通过坐标原点，因此样品表现超顺磁性。

2.2 物理性质

2.2.1 X 射线粉末衍射 为进一步考察壳聚糖的加入对晶体结构产生的影响，取室温干燥的 Fe_3O_4 壳聚糖纳米粒的样品进行 X 衍射分析，得到 X 衍射谱图见图 2。图 2 中谱峰显宽缓，提示颗粒聚集较少，在 31.15°、36.23°、63.58°处出现 3 个特征衍射峰，且与 Fe_3O_4 标准卡片的位置一致，因此壳聚糖纳米粒的晶核为 Fe_3O_4 的晶体。

用 X 射线线宽法（谢乐公式）评估纳米颗粒的尺寸[10]，当颗粒尺寸很小时，由于颗粒的细小，可引起衍射线的宽化，衍射线的半高强度处的线宽度 B 与颗粒尺寸的 d 的关系为

$$D=0.89\lambda/B\cos\theta$$

式中 B 表示单纯因颗粒度细化引起的宽化度，单位为弧度（1 弧度 =57.3 度），λ 为 X 射线波长，实验 λ =1.540 5 A，θ 为衍射半角。按公式计算所得的纳米粒尺寸为 28.5 nm，该结果与透射电镜测得超顺磁性壳聚糖纳米粒的粒径基本一致。

2.2.2 透射电子显微镜 为进一步分析样品的粒径和形貌情况，我们对 Fe_3O_4 壳聚糖纳米粒磁流体进行透射电镜分析，结果见图 3 所示，在 120 000 放大倍数下，样品分布均匀，Fe_3O_4 晶体与壳聚糖彼此匀称的镶嵌在一起，大多粒径在 30 nm 左右，这也是纳米粒具有超顺磁性的一个重要条件。

2.2.3 原子力显微镜 用原子力显微镜观察样品形貌的结

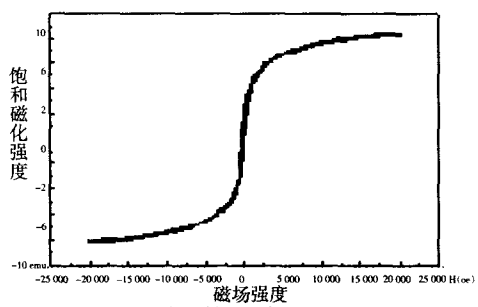


图 1 Fe_3O_4 壳聚糖纳米粒冻干的磁化曲线

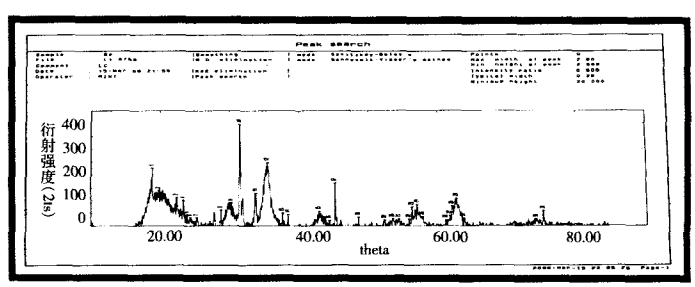


图 2 室温干燥的 Fe_3O_4 壳聚糖纳米粒的 X 射线衍射图谱

果如图 4 所示,红色表示 Fe_3O_4 晶核,绿色表示外包的壳聚糖分子,蓝绿色表示晶核和壳聚糖之间的空隙,由图可看出,Fe_3O_4 晶核和壳聚糖分子镶嵌在一起,且基本上分布均匀,外包壳聚糖后的总粒径为 30 ~ 36 nm,与振动样品磁强计的分析相一致。

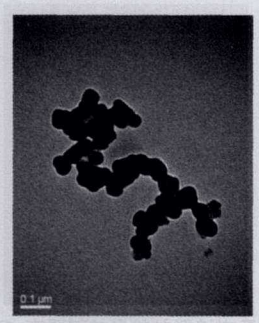


图 3 Fe_3O_4 壳聚糖纳米粒的透射电子显微镜图

2.2.4 激光衍射粒度分析仪 结果见图 5 所示,平均粒径:0.187 ± 0.024 μm;粒径累计百分数:10%=0.058 μm;50%=0.150 μm 90% =0.366 μm;97% =0.524 μm;65.372% ≤0.200 μm;83.577%≤0.300 μm。

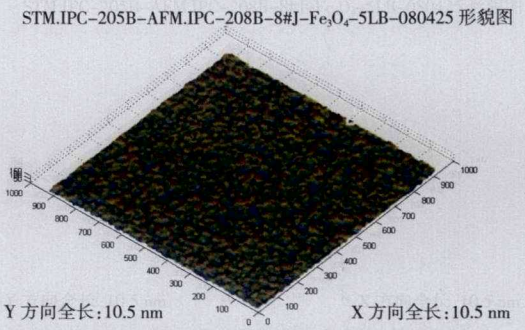


图 4 Fe_3O_4 壳聚糖纳米粒原子力显微镜的形态

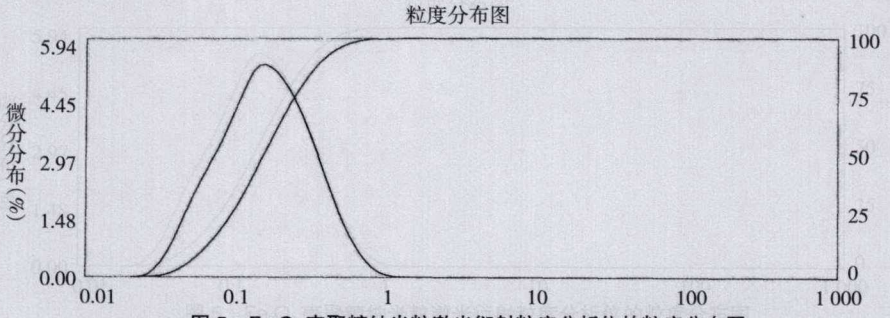


图 5 Fe_3O_4 壳聚糖纳米粒激光衍射粒度分析仪的粒度分布图

3 讨 论

采用可操作性强的化学共沉淀法成功制备平均粒径为 30 nm 左右的磁性 Fe_3O_4 壳聚糖纳米颗粒,从样品处于液态和粉末状态下 2 个方面,对纳米粒的磁学性质和形态进行了比较详尽的表征;主要通过 X 射线衍射检测到晶核为 Fe_3O_4 晶体,也通过振动样品磁场计和原子力显微镜证实纳米粒子在常温下表现出较好的超顺磁性,而激光衍射法和透射电子显微镜进一步证实样品晶核具有较小的尺寸。

磁性纳米粒子通过表面共聚和表面改性的方法,能与有机物或高分子聚合物或无机材料相结合形成核 - 壳结构的磁性复合物。它既具有磁性,又具有大的比表面积;能进一步和细胞、酶、蛋白质、抗体及核酸等多种生物分子偶联。本实验采用壳聚糖为高分子聚合物, 利用壳聚糖在一定的条件下带有阳离子的性质可以和非病毒基因载体复合,可以将其应用于磁性靶向系统给药的后续实验,作为非病毒基因的载体[11]。

参 考 文 献

[1] 侯惠民.药用辅料应用技术[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002.110,195.

[2] 安 哲,朱 玲,林 锋.纳米级超顺磁性 Fe_3O_4 超细粒子的制备及表征[J]. 哈尔滨医科大学学报,2004,38(5): 424-425.

[3] Claire C,Philippe R, Jean M I,et al.Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging[J].Advanced drug delivery reviews,2006,58(6):1478.

[4] 朱 瀛,陆伟根.磁性微球和磁性纳米粒的研究进展[J].中国医药工业杂志,2005,36(9):581.

[5] 陆 彬.药物新剂型与新技术[M]. 北京:人民卫生出版社,1998.536-540.

[6] 屠锡德,张均寿,朱家壁.药剂学[M].北京:人民卫生出版社,2002.997.

[7] 柏 玮,宋 琳,文 明,等. 超顺磁性氧化铁纳米粒子的制备及性能检测[J].重庆医科大学学报,2007,32(9):923.

[8] Shamim N,Hong L,Hidajat K,et al.Thermosensitive polymer (N-isopropylacrylamide) coated nanomagnetic particles:Preparation and characterization[J].Colloids and surfaces b:biointerfaces,2007,55(3):52.

[9] 吴 伟,贺全国,陈 洪,等.Fe_3O_4 磁性纳米粒子的超声包金及其表征[J].化学学报,2007,65(13):1274.

[10] 张立德,牟季美 .纳米材料与纳米结构 [M].北京: 科学出版社,2001.146-156.

[11] 罗 聪,安 洪,蒋电明,等.超顺磁性壳聚糖质粒明胶微球骨植入体的制备 及其体外特性[J].中国药科大学学报,2006,37(5):414-417.

(责任编辑:冉明会)