

膜材与制备过程对血红蛋白微胶囊粒径和包埋率的影响

邱 伟 马光辉 孟凡涛 苏志国*

(中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室,北京 100080)

摘 要 以单甲氧基聚乙二醇聚乳酸共聚物(PELA)为膜材用复乳-溶剂扩散法制备了包含牛血红蛋白(BHb)的微胶囊,微胶囊中BHb的 P_{50} 和Hill系数分别为3466 Pa和2.4左右,接近于天然BHb的生物活性。研究发现膜材种类对BHb微胶囊包埋率和粒径的影响最大,使用MPEG2000为亲水性嵌段的PELA共聚物时,包埋率最高,达到90%以上,粒径为3~5 μm 左右,随着膜材浓度的增大,微胶囊包埋率和粒径均增加,随着外水相NaCl浓度的增大,微胶囊包埋率升高、粒径减小,随着外水相稳定剂PVA浓度的增大,微胶囊粒径减小,包埋率先升高后降低,在较低浓度下(10 g/L, 20 g/L)包埋率较高;初乳搅拌速率的增大,有利于包埋率的提高,但对粒径影响不大;复乳搅拌速率的影响较复杂,当复乳液体积较大时,复乳搅拌速率对微胶囊制备的影响规律性不明显。当固定膜材和初乳搅拌速率时,包埋率和粒径之间存在着类似抛物线的关系,包埋率随着粒径的减小而降低。

关键词 单甲氧基聚乙二醇聚乳酸共聚物,牛血红蛋白,包埋率,粒径

中图分类号 R944.5 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2004)02-0245-07

与裸露的蛋白质相比,将蛋白质包埋在微胶囊中作为一种剂型给药具有以下优点:1)避免了体内的蛋白水解酶系统对药物蛋白质的破坏;2)减少了药物蛋白分子引起的抗原抗体反应;3)降低了药物蛋白分子被肾小球排出的速率;4)可以将两种以上具有协同效应的蛋白质包埋在一起,增强治疗效果。

针对膜材和制备过程对微胶囊包埋蛋白质活性的影响的研究已有一些报道,Li^[1]等人用PELA包埋葡萄糖氧化酶(GOD)并讨论了制备方法、有机溶剂、内水相稳定剂、膜材结构等对微胶囊中GOD活性的影响,并提出溶剂挥发法相对于相分离法更易保持GOD的活性。Perugini^[2]等人研究了乳化剂、有机溶剂、温度、剪切速率和内水相稳定剂在微包埋脯氨酰氨基酸酶时对蛋白活性的影响。

膜材和制备过程的另一个重要方面是对蛋白质包埋率和胶囊粒径的影响。包埋率过低,浪费了宝贵的蛋白质,也降低了给药浓度;粒径过大或过小也会引起不同应用的问题。虽然文献上很多研究都涉及到包埋率和粒径^[3-7],然而将膜材与制备过程综合考虑来专门探索有关规律的研究却比较少见。为

此,本文以单甲氧基聚乙二醇聚乳酸共聚物(PELA)为膜材,探索了不同分子量和不同制备手段对血红蛋白的包埋率和胶囊粒径的影响。

与常用的聚乳酸(PLA)膜材相比,PELA的优点在于引入MPEG后,增强了膜材的亲水性,有助于包埋蛋白质的稳定性和包埋率^[8],因此PELA是用来包埋水溶性药用蛋白的合适膜材,其分子结构见图1。

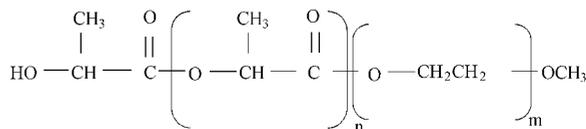


图1 PLA-mPEG的分子结构

Fig.1 Molecular structure of PLA-mPEG

本文选择牛血红蛋白(BHb)作为模型蛋白。血红蛋白是一种包含4个亚基的复杂蛋白,分子量64500 D,分子尺寸6.4 nm × 5.5 nm × 5 nm,其 P_{50} 和Hill系数分别为3600 Pa和2.8。微胶囊包埋的BHb的生物活性可以用Hemox-analyzer测定,方法简单,数值准确。BHb的来源广泛,而且BHb微胶囊

收稿日期 2003-06-05,修回日期 2003-11-03。

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 20136020)。

* 通讯作者。Tel 86-10-62561817; Fax 86-10-62561813; E-mail zgsu@home.ipe.ac.cn

也是第三代血液代用品(人红细胞代用品)的重要研究方向,所以,BHb是一种理想的模型蛋白。在前期工作中,我们发现,采用单甲氧基聚乙二醇聚乳酸共聚物(PELA)为膜材,以乙酸乙酯为有机溶剂,当乳化速率低于12 000 r/min时用复乳-溶剂扩散法包埋BHb,能够有效地保持微胶囊中BHb的天然活性。这主要是因为扩散法可以避免有机溶剂和血红蛋白长时间接触。

本文着重研究各制备参数对BHb微胶囊包埋率和粒径的影响,以期获得粒径小、包埋率高的微胶囊。

1 材料和方法

1.1 实验材料及设备

1.1.1 仪器:乳化均质机(RJT018型,北京和莫机电研究所),分光光度计(Ultrospec 2000, Pharmacia Biotech SWD),激光粒度仪(Coulter LS230, Coulter Co., U.S.A.),扫描电子显微镜(JEOL JSM-6700F, JPN),血氧饱和度仪(TCS Medical Products Co., U.S.A.)。

1.1.2 药品及BHb制备:D,L-乳酸(85%,北京化学试剂公司),单甲氧基聚乙二醇聚乳酸共聚物(PELA(ab))本实验室合成,性征见表1(a:PELA分子中PLA链段分子量,b:MPEG链段分子量),聚乙烯醇(PVA, $M_w = 22\ 000$)比利时Across公司,其它试剂均为分析纯。

BHb的制备参照Doczi的方法^[9],首先,新鲜牛红细胞用16 g/L的NaCl溶液洗涤1次,9 g/L NaCl溶液洗涤2次。红细胞用蒸馏水1:1溶胀法获得血红蛋白,再以30 000g离心除去膜基质,然后先后用0.45 μm 和0.22 μm 的膜过滤。最后获得的BHb溶液的浓度约为170 g/L,渗透压相当于4.5 g/L NaCl水溶液。

表1 PELA性征

Table 1 Characteristics of PELA copolymers

Polymer	MPEG/% ^a	\bar{M}_w/kD^b	\bar{M}_n/kD^b	\bar{M}_w/\bar{M}_n^b
PLA20k*	—	25.0	19.2	1.3
PELA20K(2k)	12.3	46.0	17.7	2.6
PELA30K(2k)	9.8	76.3	26.3	2.9
PELA60K(5k)	10.6	138.8	51.4	2.7
PELA90K(5k)	7.7	213.6	68.9	2.8

a: calculated by ¹H-NMR;

b: determined by PL-GPC210;

*: commercial PLA used as the reference.

1.2 BHb微胶囊的制备

本文采用复乳法制备微胶囊,将0.5 mL新鲜BHb水溶液(170 g/L)倒入溶有30 mg PELA的2 mL乙酸乙酯(EtAc)中,用均化器乳化15 s,将该初乳液倒入25 mL溶有一定量的PVA的NaCl水溶液中,再复乳化20 s形成W1/O/W2的复乳液,将该复乳液倒入300 mL NaCl水溶液中,5000 r/min室温下搅拌2 min,使乙酸乙酯扩散到外水相,从而得到微胶囊。用NaCl水溶液离心洗涤微胶囊3次,最后用9 g/L NaCl水溶液收集。在下面的讨论中,如无特殊说明,所用的制备条件为:NaCl水溶液浓度9 g/L, PVA浓度20 g/L,初乳化搅拌速率9 100 r/min,复乳化搅拌速率5 400 r/min。

1.3 分析

1.3.1 聚合物膜材表观粘度的测定:将90 mg PELA溶于6 mL乙酸乙酯中,在25℃下使用乌式粘度计测定。

1.3.2 BHb微胶囊包埋率的测定:微胶囊中包埋BHb的量用间接法测定,通过测定离心后上清液中BHb的量。用初始BHb的量与上清液中BHb量的差值可计算出BHb微胶囊的包埋率(EE)。上清液中BHb的浓度根据Drabkin的方法测定:在2 mL上清液中加入1 mL Drabkin试剂,用分光光度计(Ultrospec 2000 Pharmacia Biotech)测540 nm处吸收。

1.3.3 粒径的测定:BHb微胶囊的体积平均粒径用Coulter Multisize(Coulter LS230, U.S.A.)测定。

1.3.4 表面形貌的观察:取一定量干燥的BHb微胶囊,真空条件下喷金后用扫描电子显微镜(JEOL JSM-6700F, JPN)观察。

2 结果与讨论

2.1 膜材对于BHb包埋率和粒径的影响

用30 mg膜材包埋0.5 mL BHb水溶液(170 g/L)结果如表2所示。相对于天然BHb(P_{50} 和Hill系数分别为3 600 Pa和2.8),本实验所用的方法均能较好保持其天然活性(P_{50} 和Hill系数分别为3 500 Pa和2.4左右)。

PLA20k的包埋率仅为7.9%,引入MPEG链段以后,对BHb的包埋率达到36.6%~93.1%。这是因为亲水的MPEG的引入,使原来疏水的PLA成为亲水亲油性PELA,能够在水油相界面形成稳定的聚合物膜,有利于油包水(W/O)初乳液的稳定,有助于包埋率的提高。

表 2 聚合物膜材种类对包埋率、粒径和活性的影响 ($n = 3$)

Table 2 Influence of polymer composition on protein entrapment efficiencies and particle sizes of microcapsules

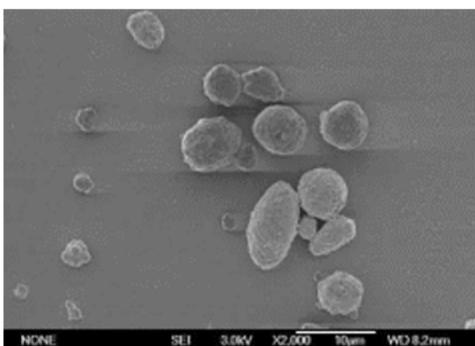
Batch	Polymer	Apparent viscosity($\times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$)	BHb Entrapment Efficiency \pm SD/%	Microcapsule size \pm SD/ μm	P_{50} /Pa	Hill coefficient
1	PLA20k	0.589	7.9 ± 2.3	7.0 ± 1.9	3532	2.43
2	PELA20k(2k)	0.608	91.6 ± 1.2	10.1 ± 2.0	3479	2.48
3	PELA30k(2k)	0.686	93.1 ± 0.8	9.8 ± 1.9	3506	2.50
4	PELA60k(5k)	0.704	36.6 ± 1.8	9.5 ± 1.7	3532	2.33
5	PELA90k(5k)	0.782	46.5 ± 1.1	11.1 ± 1.8	3519	2.37

如表 2 所示,无论共聚物的总分子量如何,含 MPEG2000 的 PELA 包埋率始终大于含 MPEG5000 的 PELA,这主要因为 W/O 初乳液的稳定性不同。为了证明这一点,我们将各初乳液不进行复乳化,静置 18 h 后观察其相分离情况。用 PELA60k(5k)和 PELA90k(5k)制备的初乳液,上层油相体积均约为 1.6 mL,以 PELA20k(2k)和 PELA30k(2k)制备的初乳液,上层油相体积分别为 0.6 mL 和 0.4 mL。由于初乳化以后,这四种共聚物均会在油水界面处形成一薄膜,其中 MPEG 链段向内水相伸展而 PLA 向油相伸展。由于 MPEG 5000 链段较长导致 PELA 分子间空间排斥作用较大,降低了膜的稳定性,所以含 MPEG 5000 嵌段的 PELA 对 BHb 的包埋率较低(36.6% ~ 46.5%)。而 MPEG2000 链段间的空间排斥作用较小,膜的稳定性较好,可有效防止 BHb 从内水相向外水相的扩散,所以 MPEG2000 嵌段的 PELA 对 BHb 的包埋率很高(91.6% ~ 93.1%)。

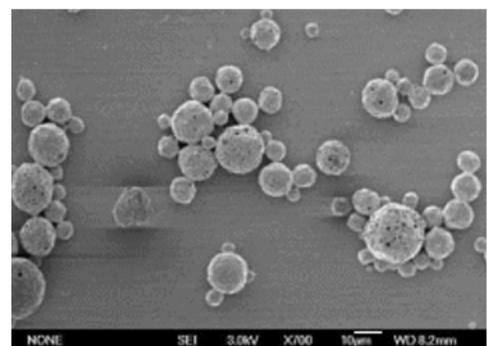
分子量对粒径的影响与聚合物溶液的粘度有关。因为粘度越高,越难破碎成较小的液滴,粒径就

越大。如表 2 所示,PELA90k(5k)的粘度很高(0.782 mPa·s),所以粒径较大(11.1 μm),而 PLA20k 粘度较小(0.589 $\times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$),粒径也较小(7.0 μm)。但粘度并不是粒径的决定因素。如 2 组和 3 组,粘度不同(0.608 $\times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 、0.686 $\times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$),粒径却近似(10.1 μm 和 9.8 μm)。在表 2 中,各种共聚物所制备的微胶囊粒径相似,为 10 μm 左右;而单聚体 PLA20k 制备微胶囊的粒径为 7.0 μm 。由表 2 还可以看到,在 PEG 链段相同时(例如均为 MPEG2000),分子量大,粘度也相应变大,内水相中 BHb 进入外水相的几率会降低,所以包埋率会增加,如 2 组和 3 组、4 组和 5 组。

PELA30k(2k)和 PELA90k(5k)两种膜材制得的微胶囊的扫描电镜照片如图 1 所示,两种微胶囊表面均有微孔。其中 PELA30k(2k)制得的微胶囊由于包埋率高,内水相多,所以球形不规则,表面不光滑,但几乎无微孔(图 2a)。PELA90k(5k)制得的微胶囊由于包埋率低,所以能较好地保持球形,表面较光滑但存在着很多微孔(图 2b)。



(a)PELA30k(2k)



(b)PELA90k(5k)

图 2 微胶囊扫描电镜图片

Fig.2 Scanning electron micrographs of BHb-loaded microcapsules

2.2 膜材浓度对包埋率和粒径的影响

当使用的有机溶剂体积一定时,增加膜材的用量即膜材的浓度增大会导致油相粘度增加,复乳液滴在复乳化时不易被打碎成更小的液滴,从而导致粒径增大。而且,膜材量的增加有助于更有效的包埋,所以包埋率也会相应增大。如图3所示,分别将30 mg、45 mg、55 mg PELA90k(5k)溶于2mL乙酸乙酯中,其余条件同上,当PELA90k(5k)浓度增加时,包埋率和粒径均增大。

膜材浓度对微胶囊中Bhb生物活性没有明显影响,结果如表3所示。

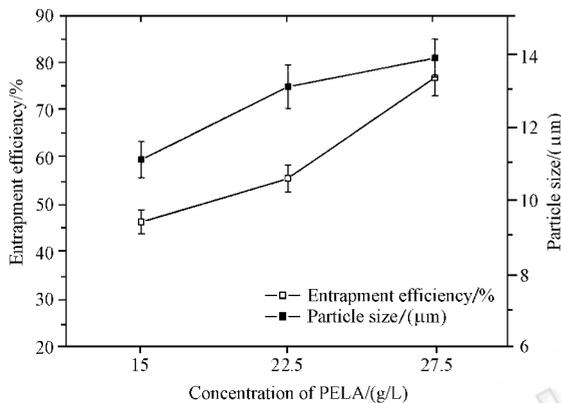


图3 膜材浓度对包埋率和粒径的影响

Fig.3 Influence of concentrations of PELA90k(5k) on protein entrapment efficiencies and particle sizes of microcapsules

表3 膜材浓度对微胶囊中Bhb生物活性的影响

Table 3 Influence of concentrations of PELA90k(5k) on the bioactivity of bovine Hemoglobin

Concentration of PELA90k(5k)(g/L)	15	22.5	27.5
P_{50}/Pa	3519	3479	3519
Hill coefficient	2.37	2.42	2.40

2.3 外水相NaCl浓度对包埋率和粒径的影响

外水相NaCl浓度对包埋率的影响如图4a所示,随着外水相NaCl浓度的增加,各种膜材对Bhb的包埋率普遍升高。在NaCl浓度低于4.5 g/L时,各种膜材对Bhb的包埋率都较低;高于4.5 g/L时,包埋率均升高,其中PELA20k(2k)和PELA30k(2k)的包埋率达到90%左右。这是因为当NaCl浓度低于4.5 g/L时,外水相渗透压低于内水相Bhb水溶液的渗透压(相当于4.5 g/L NaCl水溶液),外水相中的水分子会透过油相进入内水相,使得内水相体

积增大,复乳液滴因而变得不稳定^[10],造成包埋率降低。另外,如图4b所示,随着外水相NaCl浓度的增加,外水相渗透压高于内水相渗透压,内水相中水分子会透过油相进入外水相,使得内水相体积减小,复乳液滴变小,最后形成的微胶囊粒径相应减小。

外水相NaCl浓度的变化对于微胶囊中Bhb的生物活性影响不大,由于篇幅所限,在此不一一列出具体数据。

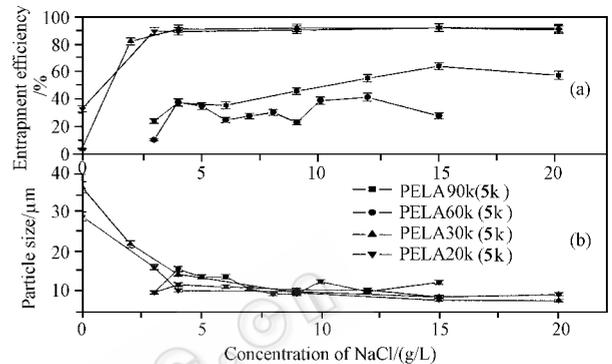


图4 外水相NaCl浓度对于微胶囊包埋率和粒径的影响

Fig.4 Influence of concentrations of NaCl in outer aqueous solution on protein entrapment efficiencies and particle sizes of microcapsules

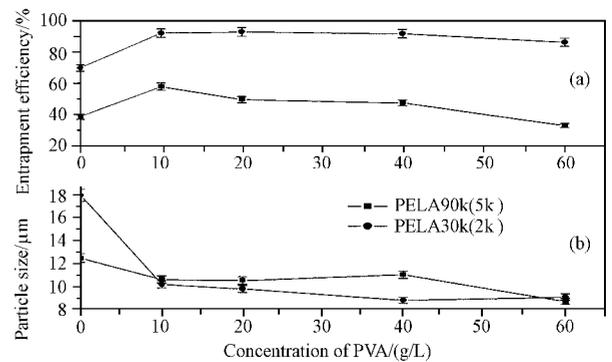


图5 外水相PVA浓度对于微胶囊包埋率和粒径的影响

Fig.5 Influence of concentrations of PVA in outer aqueous solution on protein entrapment efficiencies and particle sizes of microcapsules

2.4 外水相稳定剂浓度对包埋率和粒径的影响

随着稳定剂PVA浓度的增加,复乳液滴的界面张力减小,在相同剪切速率下复乳液滴减小,最后形成的微胶囊粒径也减小(图5b)。稳定剂聚乙烯醇(PVA)的加入,有助于提高复乳液的稳定性,如图5a所示,PVA浓度由零增加到10 g/L时,包埋率明显升高。然而,稳定剂浓度并不是越高越好,随着PVA浓度增加,包埋率是先升高后逐渐下降的。这是因为

为随着 PVA 浓度的增加,微胶囊粒径逐渐减小,微胶囊总体系的比表面积增加,内水相中的 BHB 扩散进入外水相的速率增加,导致包埋率降低。但是, PVA 浓度为零时,由于复乳液不稳定,所以包埋率较低而粒径较大。

外水相 PVA 浓度的变化对于微胶囊中 BHB 的生物活性影响不大,由于篇幅所限,在此不一一列出具体数据。

2.5 初乳化搅拌速率对包埋率和粒径的影响

如图 6a 所示,初乳化搅拌速率升高,包埋率也升高。因为在初乳化过程中,初乳化搅拌速率越高, BHB 内水相液滴越小,在复乳化后形成的复乳液滴就越稳定^[10],所以包埋率越高。从图 6b 还可以看到,在所测控范围内,初乳化搅拌速率对微胶囊粒径的影响不大。由表 4 可见,初乳化搅拌速率对微胶囊中 BHB 的生物活性影响不大。

2.6 复乳化的搅拌速率对包埋率和粒径的影响

复乳化的搅拌速率对于微胶囊制备的影响主要有两个方面:第一,随着复乳化的搅拌速率的增加,复乳液滴被剪切力打碎的几率也增加;第二,由于复乳液滴在复乳液中运动的线速度加快,油相中的乙酸乙酯扩散到外水相的速度随之加快,导致油相粘度的增加变快,不利于复乳液滴被打碎成较小的液滴。

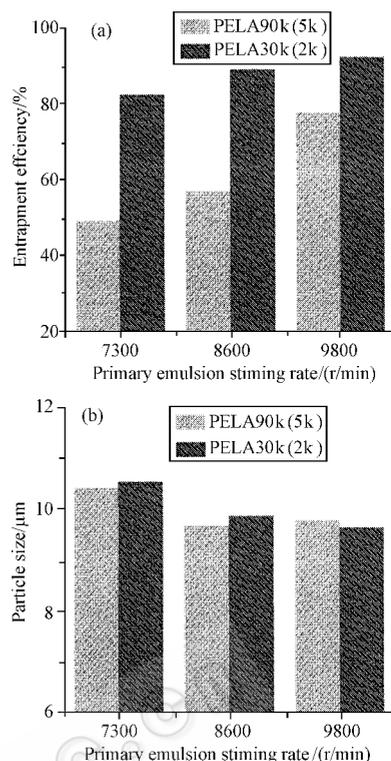


图 6 初乳化搅拌速率对于包埋率和粒径的影响

Fig. 6 Influence of primary emulsion stirring rate on protein entrapment efficiencies and particle sizes of microcapsules

表 4 初乳化搅拌速率对微胶囊中 BHB 生物活性的影响

Table 4 Influence of primary emulsion stirring rate on the bioactivity of bovine Hemoglobin

	PELA90k (5k)			PELA30k (2k)		
	7300r/min	8600r/min	9800r/min	7300r/min	8600r/min	9800r/min
P_{50}/Pa	3572	3466	3506	3506	3452	3479
Hill coefficient	2.48	2.45	2.39	2.45	2.43	2.40

这两方面影响是相反的。在复乳液体积较小(10 mL)时,油相中的乙酸乙酯不易扩散到外水相,此时可以看到复乳化的搅拌速率对制备的影响较明显(结果未显示)。但是由于本实验使用的复乳液体积较大(25 mL),所以复乳化的搅拌速率对微胶囊制备的影响规律性不明显。如图 7 所示,PELA30k(2k)的包

埋率随着复乳化的搅拌速率的增加而略下降,而 PELA90k(5k)却看不出明显的规律。同理,复乳液滴对于粒径的影响也不明显。

复乳化的搅拌速率对微胶囊中 BHB 生物活性的影响见表 5,在所测的范围内,本实验所用的方法均能较好地保持 BHB 的生物活性。

表 5 复乳化的搅拌速率对微胶囊中 BHB 生物活性的影响

Table 5 Influence of re-emulsion stirring rate on the bioactivity of bovine Hemoglobin

	PELA90k (5k)			PELA30k (2k)		
	5400r/min	7300r/min	8600r/min	5400r/min	7300r/min	8600r/min
P_{50}/Pa	3519	3452	3466	3506	3479	3572
Hill coefficient	2.47	2.43	2.41	2.50	2.48	2.45

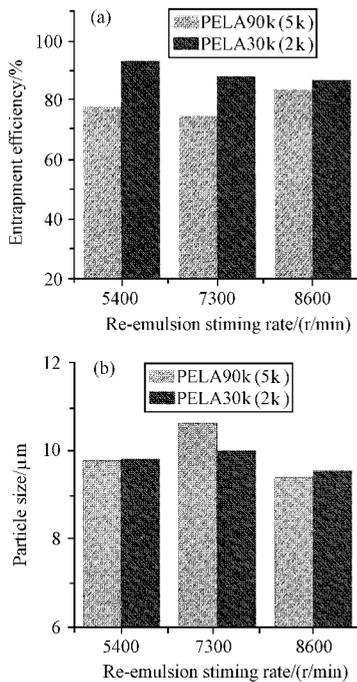


图 7 复乳化搅拌速率对于包埋率和粒径的影响

Fig.7 Influence of re-emulsion stirring rate on protein entrapment efficiencies and particle sizes of microcapsules

2.7 包埋率和粒径的内在关系

在后期的实验中,我们通过进一步优化制备条件,得到了更小的粒径,当包埋率为 90% 左右时,微胶囊的粒径在 3~5 μm 的范围内。研究发现,在复乳法制备微胶囊过程中,如果固定膜材和初乳化搅拌速率,改变外水相 NaCl 浓度、外水相 PVA 浓度、复乳化搅拌速率时,包埋率和粒径之间存在一定的规律。如图 8 所示,包埋率和粒径之间存在着类似抛物线的关系,粒径越大,包埋率越高,粒径越小,包埋率越低。应该说,这是一个客观规律,原因比较复杂。部分原因是因为粒径的减小会导致微胶囊总体系的比表面积增加,因此内水相中 BHB 扩散进入外水相的总速率加快,导致包埋率降低。由于关于微胶囊包埋过程中囊心物的损失的机理,目前还没有一定的说法,本文在此只是针对本研究的实验数据进行初步的推断。

REFERENCES (参考文献)

[1] Li XH, Zhang YH, Yan RH. Influence of process parameters on the

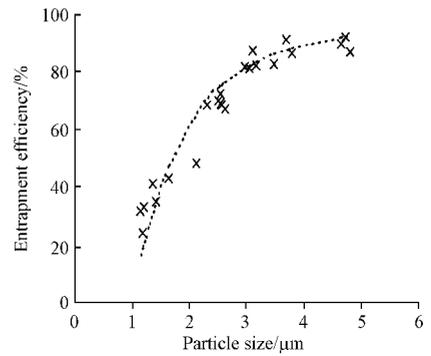


图 8 包埋率和粒径的关系曲线

Fig.8 The relationship between entrapment efficiency and particle size

protein stability encapsulated in poly-DL-lactide-poly(ethylene glycol) microspheres. *J Contr Rel*, 2000, **68**: 41–52

- [2] Perugini P, Genta I, Pavanetto F *et al.* Evaluation of enzyme stability during preparation of polylactide-co-glycolide microspheres. *J Microencapsul*, 2002, **19**(5): 591–602
- [3] Ogawa Y, Yamamoto M, Okada H. A new technique of efficiently entrapped leuprolide acetate into microcapsules of polylactic acid or copoly(lactic/glycolic) acid. *Chem Pharm Bull*, 1988, **36**: 1502–1507
- [4] Yang YY, Wan JP, Chung TS *et al.* POE-PEG-POE triblock copolymeric microspheres containing protein I. Preparation and characterization. *J Contr Rel*, 2001, **75**: 115–128
- [5] Bouillot P, Ubrich N, Sommer F. Protein encapsulation in biodegradable amphiphilic microspheres. *Int J Pharm*, 1999, **181**: 159–172
- [6] Kawashima Y, Yamamoto H, Takeuchi H. Properties of a peptide containing DL-lactide/glycolide copolymer nanospheres prepared by novel emulsion solvent diffusion methods. *Eur J Pharm Biopharm*, 1998, **45**: 41–48
- [7] Bitter B, Morlock M, Koll H. Recombinant human erythropoietin (rhEPO) loaded poly(lactide-co-glycolide) microspheres: influence of the encapsulation technique and polymer purity on microsphere characteristics. *Eur J Pharm Biopharm*, 1998, **45**: 295–305
- [8] Li XW(李雄伟), Xiao J(肖锦), Deng XM(邓先模). Preparation and protein encapsulation of ether-ester block copolymer microspheres with micron size. *Acta Polymerica Sinica*(高分子学报), 1997, (5): 543–548
- [9] Doczi J. Injectable stroma-free hemoglobin and its method of manufacture. US Patent 3991181, 1976
- [10] Pays K, Giernanska KJ, Pouligny B *et al.* Coalescence in surfactant-stabilized double emulsions. *Langmuir*, 2001, **17**: 7758–7769

Influence of Wall Polymer and Preparation Process on the Particle Size and Encapsulation of Hemoglobin Microcapsules

QIU Wei MA Guang-Hui MENG Fan-Tao SU Zhi-Guo*

(National Key Laboratory of Biochemical Engineering , Institute of Process Engineering ,
the Chinese Academy of Sciences , PO Box 353 , Beijing 100080 , China)

Abstract Methoxypoly(ethylene glycol)-*block*-poly(DL-lactide) PELA) microcapsules containing bovine hemoglobin (BHb) were prepared by a W/O/W double emulsion-solvent diffusion process. The P_{50} and Hill coefficient were 3466 Pa and 2.4 respectively , which were near to the natural bioactivity of bovine hemoglobin. The results suggested that polymer composition had significant influence on encapsulation efficiency and particle size of microcapsules. The encapsulation efficiency could reach 90% and the particle size 3 ~ 5 μm when the PELA copolymer containing MPEG 2000 block was used. The encapsulation efficiency and particle size increased with the concentration of PELA. Increasing the concentrations of NaCl in outer aqueous solution resulted in the increase of encapsulation efficiency and the decrease of particle size. As the concentration of stabilizer in outer aqueous solution increased in the range of 10 g/L to 20 g/L , the particle size reduced while encapsulation efficiency was increased , further increase of the stabilizer concentration would decrease encapsulation efficiency. Increasing of primary emulsion stirring rate was advantageous to the improvement of encapsulation efficiency though it had little influence on the particle size. The influence of re-emulsion stirring rate was complicated , which was not apparent in the case of large volume of re-emulsion solution. When the wall polymer and primary emulsion stirring rate were fixed , the encapsulation efficiency decreased as the particle size reduced.

Key words PELA , microcapsule , bovine hemoglobin

Received : 06-05-2003

This work was supported by Grant from National Natural Science Foundation of China (No. 20136020).

* Corresponding author. Tel : 86-10-82627062 ; Fax : 86-10-62561813 ; E-mail : zgsu@home.ipc.ac.cn

中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>