

研究论文

DOI: 10.11949/j.issn.0438-1157.20180305

核壳结构磁性纳米复合物的合成及载药性能

贾尚宁, 常娟娟, 李宁波, 乔洁

(山西医科大学基础医学院, 山西 太原 030001)

摘要: 利用化学交联法合成了壳聚糖改性的四氧化三铁磁性纳米复合物。通过透射电子显微镜(TEM)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)、粒度分析仪(Nano-ZS)和振动样品磁强计(VSM)对该复合物的形貌、粒径、物相组成及磁性能进行了表征分析。表明该磁性纳米复合物具有核壳结构。再用超声法合成了阿霉素-壳聚糖修饰的磁性纳米包合物, 用紫外-可见(UV-Vis)分光光度计检测了该复合物的包封率, 平均值达到 46.13%。通过四唑盐(MTT)比色法证明了包合物对 K150 细胞的生物抑制作用。以上结果表明, 该磁性纳米复合物具有良好的生物相容性和载药活性。

关键词: 壳聚糖; 盐酸阿霉素; 纳米材料; 复合材料; 四氧化三铁; 药物

中图分类号: O 614.811

文献标志码: A

文章编号: 0438—1157 (2018) S1—0170—06

Synthesis of magnetic nanoparticles with core-shell structure and its drug loading properties

JIA Shangning, CHANG Juanjuan, LI Ningbo, QIAO Jie

(School of Basic Medical Sciences, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi, China)

Abstract: Chitosan modified magnetic nanocomposites were synthesized by the chemical cross linking method. Physicochemical properties including the morphology, phase composition, particle size and magnetic properties were characterized by TEM, FTIR, particle size analyzer and VSM. It was proved that the modified magnetic nanocomposites had core-shell structure. The magnetic nanocomposites with doxorubicin were synthesized by the ultrasonic method. The encapsulation efficiency of magnetic nanocomposites was analyzed by UV-Vis spectrophotometry, and the average entrapment efficiency was up to 46.13%, then further determined by MTT colorimetric method proved that the inclusion compound had obvious biological inhibition of K150 cells. The results showed that the magnetic nanomaterials had good biocompatibility and drug loading activity.

Key words: chitosan; doxorubicin hydrochloride; nanomaterials; composites; magnetic oxide; pharmaceuticals

引言

铁基纳米材料具有优良的尺寸效应、表面效应与量子效应, 尤为重要是独特的磁学性质, 使其在生物医药领域, 包括核磁共振造影、体外生物分离、肿瘤磁热疗、药物递送及组织工程等方面得到

了广泛应用^[1-3]。

四氧化三铁是铁基体的主要组成, 与其他纳米材料相比, 生物相容性好、饱和磁化强度高、低毒、结构和功能可调控、制备工艺简便、成本低, 被认为是一种理想的磁感应靶向药物载体^[4-7]。研究表明, Fe_3O_4 磁性纳米粒子在体内代谢最终可以排出

2018-03-21 收到初稿, 2018-03-28 收到修改稿。

联系人: 乔洁。第一作者: 贾尚宁 (1989—), 女, 硕士研究生。

基金项目: 山西省自然科学基金项目(2013011012-5); 331 山西医科大学基础医学院科技培植基金项目(201421)。

Received date: 2018-03-21.

Corresponding author: QIAO Jie, qiaojie@smxu.edu.cn

Foundation item: supported by the Natural Science Foundation of Shanxi Province (2013011012-5) and the 331 Early Career Researcher Grant of Basic Medical College (201421).

体外,所以它是一种理想的医用纳米材料^[8-9]。然而,Fe₃O₄ 磁性纳米粒子也常常受到包括表面电荷、粒径大小、稳定性等因素的影响,使其在应用方面受到了限制。如果对磁性纳米材料进行表面修饰,形成磁性纳米复合材料,则可以有效地提高 Fe₃O₄ 磁性材料的化学稳定性和生物相容性^[10-16]。这样的修饰材料包括贵金属 Au^[17-19]、SiO₂^[20-22]和生物聚合物^[23-26]等。壳聚糖(chitosan, CS)是甲壳素的脱乙酰化产物,属于生物聚合物,安全无毒且易于被化学修饰^[27-30],具有良好的生物相容性及生物降解性能,这些优良特性正是理想药物载体所拥有的。在结构上,壳聚糖分子上的氨基具有一定的活性,可以与很多基团结合,作为药物结合位点^[31]。因此,选择壳聚糖修饰 Fe₃O₄ 磁性纳米材料,合成的复合物既有磁响应功能,可以在外加磁场的作用下定向移动,又可以作为生物活性药物载体。

本文选择戊二醛为交联剂,制备了壳聚糖改性的 Fe₃O₄ 磁性纳米复合物(CS-MNPs),粒径小,磁响应好。选用阿霉素(DOX)作为载体药物,合成出 CS-MNPs/DOX 磁性载药纳米包合物,考察了包合物的包封率和 MTT 细胞实验。

1 实验材料和方法

1.1 材料和仪器

氯化铁(FeCl₃·6H₂O),氯化亚铁(FeCl₂·4H₂O),阿霉素(DOX),壳聚糖(CS),戊二醛(50%),试剂均为分析纯,购于萨恩化学技术有限公司。实验用水为二次蒸馏水。

仪器: Nano-ZS 90 粒度分析仪(英国马尔文公司);FTIR 8400S 红外光谱仪(日本 Shimadzu 公司);JEM-1011 型透射电子显微镜(日本电子株式会社);BKT-4500Z 型振动样品磁强计 VSM(美国 Lakeshore 公司);SZCL-3A 型数显智能恒温磁力搅拌器(郑州长城科工贸有限公司);UV 2550 型紫外可见分光光度计(上海析谱仪器有限公司);BZF-50 真空干燥箱(巩义市英峪高科仪器设备有限公司)。

1.2 磁性纳米粒子的制备

采用化学共沉淀的方法合成 MNPs, 反应式如下



在 N₂ 保护下将质量比为 1:1 的 FeCl₃ 和 FeCl₂ 混合,升温至 80℃,逐滴滴入 25%氨水溶液,快速搅拌,溶液 pH 调至 10.0,熟化 40 min 后,冷却至

室温,洗涤,60℃真空干燥,至恒备用。

1.3 壳聚糖改性的磁性纳米粒子的制备

称取 0.5 g 壳聚糖,溶于 100 ml NaAc 缓冲溶液中。加入制备的 1.5 g MNPs,超声 20 min。将其倒入 150 ml 反应瓶中,在 N₂ 保护下加热。温度升至 50℃,加入 2 ml 50%的戊二醛溶液,反应 3 h,冷却至室温,洗涤,60℃真空干燥,至恒备用。

1.4 壳聚糖修饰磁性纳米复合物(CS-MNPs)对阿霉素的包合作用

称取一定量的 CS-MNPs 溶解于 100 ml PBS 溶液中,加入 25 mg 的 DOX,超声 3 h,磁滞分离,60℃真空干燥,至恒备用。

1.5 包封率的测定

准确称取 5 份 10 mg 的 CS-MNPs,分别置于 25 ml 容量瓶中,加入 2.5 ml 0.2 mg·ml⁻¹ 的 DOX, PBS 定容,超声 30 min,静置,磁滞分离,在 480 nm 处测定上清液浓度,计算包封率。

1.6 四唑盐(MTT)比色法

将消化好的对数生长期 K150 食管癌细胞制成 5×10⁴ 个细胞/ml 的悬液,接种于 96 孔板,每孔 100 μl(5×10³ 个细胞),贴壁生长 24 h 后,吸弃培养基,分别加入质量浓度为 25、50、100、200、500 和 1000 μg·ml⁻¹ 的 Fe₃O₄ 和 CS-MNPs/DOX 的培养基,以 RPMI1640 培养基为对照,分别培养 24、48、72 h,采用 MTT 法检测各组细胞的抑制率。

2 实验结果与讨论

2.1 壳聚糖功能化的 Fe₃O₄ 磁性纳米复合物的表征

2.1.1 粒径分析 图 1 为修饰前后四氧化三铁磁性纳米粒子的透射电镜图。如图所示,图 1(a)中的 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子呈球状,平均粒径为 12 nm 左右,粒子在水解质中团聚明显。当被壳聚糖改性后,团聚现象明显改善,如图 1(b)所示,磁性纳米复合物粒子分布趋于均匀,并且可以从图 1(c)中清晰地观察到 CS-MNPs 的核壳结构,表明壳聚糖层层包覆于 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子的表面。图 2(a)、(b)分别为 Fe₃O₄ 磁性纳米粒子和 CS-MNPs 在水溶液中的流体力学直径分布,平均粒径分别为 37.84 nm 和 57.88 nm,分布均匀,符合要求,与透射电镜图显示一致。相对而言,动态光散射(DLS)方法测得的粒径比 TEM 测得的相对大些,这是由于 TEM 测的是样品中单个粒子的粒径,而 DLS 测的是溶剂化的磁性纳米粒子的平均粒径,受溶剂化的影响测出粒径偏大。

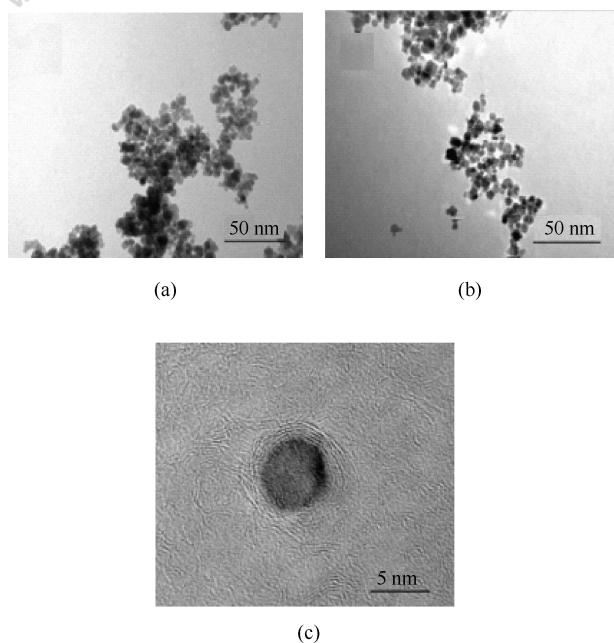


图 1 Fe_3O_4 (a)和 CS-MNPs[(b)、(c)]的 TEM 图
Fig. 1 TEM images of Fe_3O_4 (a) and CS-MNPs [(b), (c)]

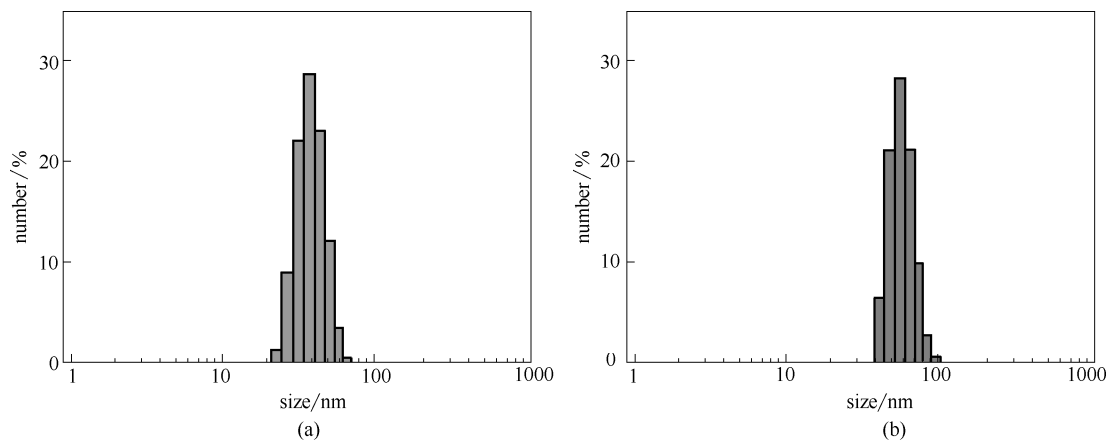


图 2 Fe_3O_4 (a)和 CS-MNPs(b)的 DLS 图
Fig. 2 DLS spectra of Fe_3O_4 (a) and CS-MNPs (b)

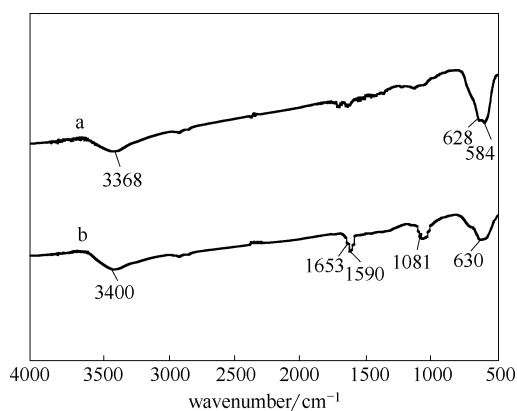


图 3 Fe_3O_4 (a)和 CS-MNPs(b)的 FTIR 图
Fig.3 IR spectra of Fe_3O_4 (a) and CS-MNPs (b)

2.1.2 红外光谱分析 图 3(a)、(b)分别为 Fe_3O_4 磁性纳米粒子和壳聚糖功能化的 Fe_3O_4 磁性纳米复合物的红外光谱图。图 3(a) 中观察到 Fe_3O_4 特征吸收峰为 584 、 630 cm^{-1} 和 —OH 伸缩振动区 3368 cm^{-1} ，图 3(b) 中同样出现了 Fe_3O_4 特征吸收峰，除此之外，还出现了代表酰胺基 I 和酰胺基 II 的特征谱带 1653 、 1590 cm^{-1} ，以及 3400 cm^{-1} 处的 —NH 伸缩振动特征峰。这些吸收峰表明壳聚糖和 Fe_3O_4 磁性纳米粒子成功交联。

2.1.3 磁性能分析 图 4(a)、(b)分别为四氧化三铁磁性纳米粒子和壳聚糖@ Fe_3O_4 磁性纳米复合物在室温下的磁滞回线曲线。如图所示，在外加磁场下，当磁滞回线经过原点时，矫顽力和磁化强度为 0，说明 Fe_3O_4 和 CS-MNPs 磁性纳米粒子均为超顺磁性。 Fe_3O_4 磁性纳米粒子最大磁化强度为 $64.59\text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$ ，CS-MNPs 最大磁化强度为 $44.09\text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$ ，磁强度有所减弱，这是由于复合纳米颗粒加入了一定的非磁性成分，但 CS-MNPs 仍具有较强的磁场强度，从另一方面也证明了磁性纳米复合材料的成功合成。

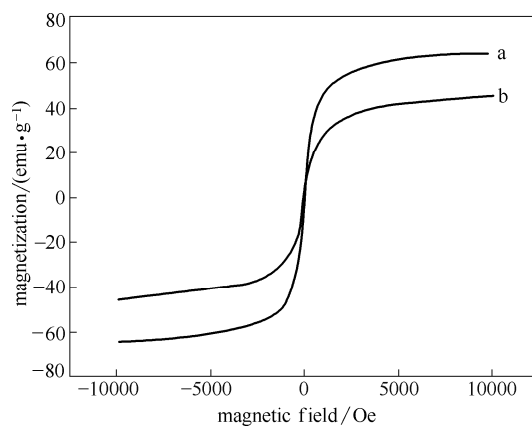


图 4 Fe_3O_4 (a)和 CS-MNPs(b)的磁滞回线图
Fig.4 Magnetization curve of Fe_3O_4 (a) and CS-MNPs (b)

2.2 壳聚糖功能化的磁性纳米复合物的载药性能

2.2.1 阿霉素标准曲线的绘制 准确称取 20.00 mg 阿霉素(DOX)溶于 PBS, 配制成浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的母液。从上述母液中分别移取 0.03、0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 ml 于 10 ml 比色管中, PBS 定容, 于 $\lambda_{\text{max}}=480 \text{ nm}$ 处测定吸光度。以 DOX 的浓度 c 为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。如图 5 所示, 在浓度为 $0.6 \sim 50 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 的范围内呈现良好线性, 线性方程为 $A = 0.02594 + 0.01702c$, R^2 为 0.9983。

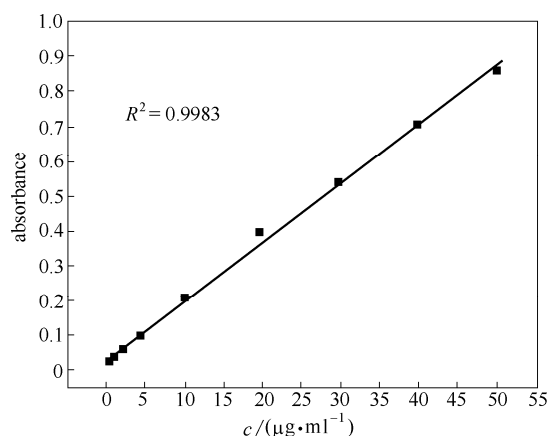


图 5 阿霉素的标准曲线

Fig.5 The standard curve of DOX

2.2.2 磁性纳米复合物对阿霉素包合量的测定 分别称取 10 份 10 mg CS-MNPs 于 10 ml 的比色管中, 依次加入 0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、4.00 ml 的 DOX 母液, PBS 定容, 在室温下超声振荡 2 h, 静置, 磁滞分离, 测定上清液中 DOX 的浓度, 以确定 CS-MNPs 对药物的包合量。以阿霉素的浓度 $c (\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1})$ 为横坐标, 包合量 Q 为纵坐标作图, 如图 6 所示, 利用 Langmuir

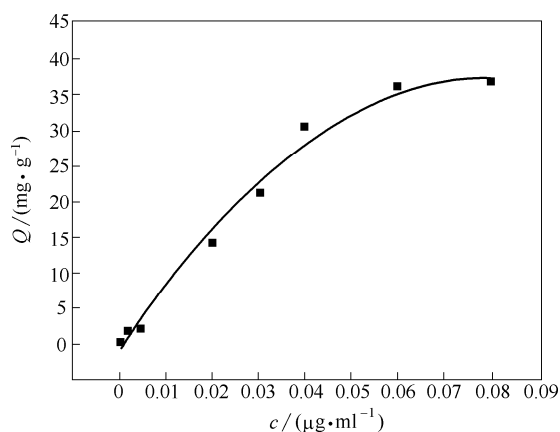


图 6 CS-MNPs 对 DOX 的吸附曲线

Fig. 6 Adsorption curve of CS-MNPs to DOX

等温吸附方程式计算得到 CS-MNPs 对 DOX 的最大包合量为 $36.44 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

2.2.3 包封率 包封率是研究材料的载药性能非常有效的方法。本文中的包封率是指被 CS-MNPs 包裹在内部的 DOX 质量占投入的 DOX 总质量的百分比。包封率表明了复合材料与药物的包合程度。将测得的吸光度 A 值代入 DOX 的标准曲线中, 可得 DOX 的包合量, 将包合量代入式(2)中, 得到 CS-MNPs 对阿霉素的包封率。

$$\text{包封率} = \frac{\text{包合物中阿霉素的量(g)}}{\text{阿霉素的投入量(g)}} \times 100\% \quad (2)$$

2.2.4 释药性能研究 准确称取 CS-MNPs/DOX 包合物 20.00 mg。量取 50 ml PBS 置于烧杯中, 搅拌速率 $200 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 加热, 保持温度为 $(37 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 加入包合物, 立即计时, 每隔 30 min 取出 2 ml, 同时补加 2 ml 同温溶剂, 静置, 磁滞分离, 取上清液测吸光度, 代入上述标准曲线计算浓度, 计算相对累计释放度[相对累计释放度=(已释放的阿霉素的量/样品中原有阿霉素的量)×100%], 以时间(t)为横坐标, 相对累计释放度为纵坐标作图, 如图 7 所示, CS-MNPs/DOX 包合物加入到溶剂中迅速释放, 在 120 min 时达到了 65.90%, 之后缓慢释放而逐渐稳定, 说明该磁性纳米复合物作为药物载体在释药方面效果良好, 可以作为药物载体。为后续研究提供了很好的材料基础。

表 1 CS-MNPs/DOX 包合物的包封率

Content of DOX in inclusion complex/g	Encapsulation rate /%	Average Encapsulation rate/%
0.0002926	58.52	46.13
0.0001980	39.60	
0.0002714	54.28	
0.0002168	43.36	
0.0001745	34.90	

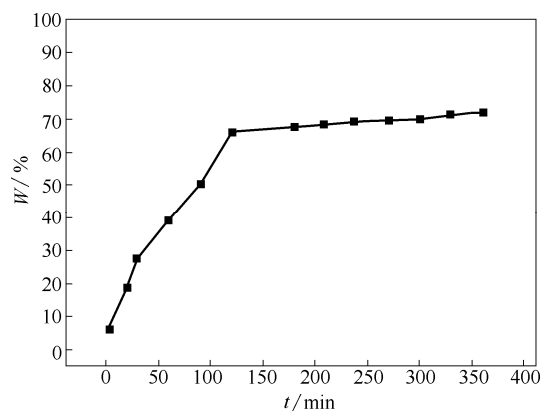


图 7 CS-MNPs/DOX 包合物的释放曲线

Fig.7 Dissolution curve of CS-MNPs/DOX clathrate

2.2.5 四氮唑 (MTT) 比色法 运用 MTT 比色法评价 Fe_3O_4 和 CS-MNPs/DOX 包合物对 K150 细胞的抑制作用。图 8(a) 是不同浓度的 Fe_3O_4 对细胞的抑制作用, 虽然 Fe_3O_4 对细胞有一定的抑制效果, 但与包合物的抑制结果相比, 其影响效果可以忽略, 也可以说明 Fe_3O_4 磁性纳米材料的毒性小。图 8(b) 是不同浓度的 CS-MNPs/DOX 包合物分别作用 24、

48、72 h 后对细胞的抑制效果, 如图所示, 随着 CS-MNPs/DOX 包合物浓度增加, 时间增加, 对 K150 细胞的抑制效果明显。说明 CS-MNPs 能够有效地包合阿霉素, 而且不会影响药物对 K150 细胞的作用, 该实验结果进一步说明 CS-MNPs 是一种良好的生物活性药物载体。

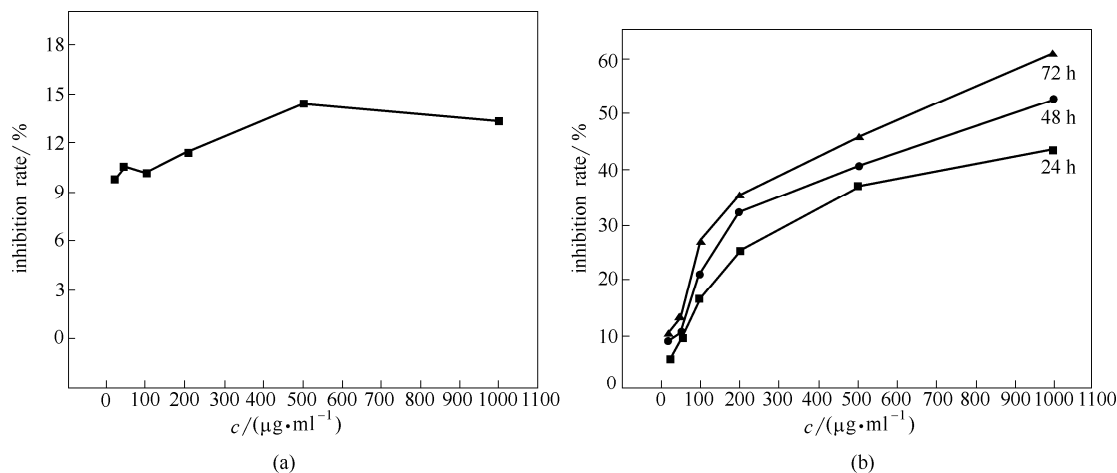


图 8 Fe_3O_4 (a) 和 CS-MNPs/DOX (b) 对 K150 细胞的抑制率

Fig. 8 Cell inhibition rate of Fe_3O_4 (a) and CS-MNPs/DOX (b) to K150 cell

3 结 论

(1) 采用化学交联法成功地将壳聚糖连接到 Fe_3O_4 磁性纳米粒子上, 制备出 CS-MNPs 磁性纳米复合物。应用 FTIR、TEM、VSM 对合成的 CS-MNPs 的形貌、结构、粒径以及磁性能进行了分析, 结果比较满意。

(2) 通过检测 CS-MNPs 对阿霉素的包封率和采用 MTT 法研究 CS-MNPs/DOX 包合物对 K150 细胞的抑制率, 表明壳聚糖@ Fe_3O_4 磁性纳米复合材料可以作为生物活性药物载体, 可以有效改善药物的生物相容性, 提高了生物利用度, 有望作为一种新型的抗癌药物靶向载体, 为磁性纳米材料作为药物靶向载体及临床研究提供良好的理论基础。

References

- [1] MORALES A M, RODRIGUES E C DE S, AMORIM DE A S C M, *et al.* Size selected synthesis of magnetite nanoparticles in chitosan matrix[J]. *Appl. Surf. Sci.*, 2013, **275**(15):71-74.
- [2] LONG J, YU X Q, XU E B, *et al.* *In situ* synthesis of new magnetite chitosan/carrageenan nanocomposites by electrostatic interactions for protein delivery applications[J]. *Carbohydr. Polym.*, 2015, **131**(20): 98-107.
- [3] BALAN V, DODI G, TUDORACHI N, *et al.* Doxorubicin-loaded magnetic nanocapsules based on *N*-palmitoyl chitosan and magnetite: synthesis and characterization[J]. *Chem. Eng. J.*, 2015, **279**(1): 188-197.
- [4] SHI S F, JIA J F, GUO X K, *et al.* Biocompatibility of chitosan-coated iron oxide nanoparticles with osteoblast cells[J]. *Int. J. Nanomed.*, 2012, **7**: 5593-5602.
- [5] GAO Y L, ZHU G M, MA T T. Progress in Fe_3O_4 magnetic nanoparticles and its application in biomedical fields[J]. *Chem. Ind. Eng. Pro.*, 2017, **36** (3): 973-980.
- [6] MODY V V, COX A, SHAH S, *et al.* Magnetic nanoparticle drug delivery systems for targeting tumor[J]. *Appl. Nanosci.*, 2014, **4**: 385-392.
- [7] HUANG S S, LI C X, CHENG Z Y, *et al.* Magnetic Fe_3O_4 @mesoporous silica composites for drug delivery and bioadsorption[J]. *J. Colloid Interf. Sci.*, 2012, **376**: 312-321.
- [8] MOHAMMADI-SAMANI S, MIRI R, SALMANPOUR M, *et al.* Preparation and assessment of chitosan-coated superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles for controlled delivery of methotrexate[J]. *Res. Pharm. Sic.*, 2013, **8**(1): 25-33.
- [9] JUANG J H, WANG J J, SHEN C R, *et al.* Magnetic resonance imaging of transplanted mouse islets labeled with chitosan-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles[J]. *Transplant Proc.*, 2010, **42**(6): 2104-2108.
- [10] SUN Z, YATHIN DRANATH V, WORDEN M, *et al.* Characterization of cellular uptake and toxicity of amino silane-

- coated iron oxide nanoparticles with different charges in central nervous system-relevant cell culture models[J]. *Int. J. Nanomed.*, 2013, **8**: 961-970.
- [11] WANG Y C, QUAN W L, ZHANG J M, *et al.* Progress in preparation and application of magnetic polymer microspheres[J]. *Chem. Ind. Eng. Pro.*, 2017, **36** (8): 2971-2977.
- [12] MURRAY A R, KISIN E, INMAN A, *et al.* Oxidative stress and dermal toxicity of iron oxide nanoparticles *in vitro*[J]. *Cell Biochem. Biophys.*, 2013, **67**(2): 461-476.
- [13] KAYAL S, RAMANUJAN R V. Anti cancer drug loaded iron-gold core-shell nanoparticles (Fe@Au) for magnetic drug targeting[J]. *J. Nanosci. Nanotechnol.*, 2010, **10** (9): 5527-5539.
- [14] SUNDARESAN V, MENON J U, RAHIMI M, *et al.* Dual responsive polymer-coated iron oxide nanoparticles for drug delivery and imaging applications[J]. *Int. J. Pharm.*, 2014, **466**(1/2): 1-7.
- [15] MUTHIAH M, PARK I K, CHO C S. Surface modification of iron oxide nanoparticles by biocompatible polymers for tissue imaging and targeting[J]. *Biotechnol. Adv.*, 2013, **31**(8): 1224-1236.
- [16] ZHAO Y B, QIU Z M, HUANG J Y. Preparation and analysis of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles used as targeted drug carriers[J]. *Chinese J. Chem. Eng.*, 2008, **16**(3): 451-455.
- [17] FREITAS M, VISWANATHAN S, NOUWS H P, *et al.* Iron oxide/gold core/shell nanomagnetic probes and CdS biolabels for amplified electrochemical immunosensing of *Salmonella typhimurium*[J]. *Biosens. Bioelectron.*, 2014, **15**(51): 195-200.
- [18] LI C Y, YOUNESI R, CAI Y L, *et al.* Photocatalytic and antibacterial properties of Au-decorated Fe₃O₄@mTiO₂ core-shell microspheres[J]. *Appl. Catal. B*, 2014, **156/157**: 314-322.
- [19] WANG J, SONG D Q, ZHANG H, *et al.* Studies of Fe₃O₄/Ag/Au composites for immunoassay based on surface plasmon resonance biosensor[J]. *Colloids. Surf. B*, 2013, **102**(1): 165-170.
- [20] CARUANA L, COSTA A L, CASSANI M C, *et al.* Tailored SiO₂-based coatings for dye doped superparamagnetic nanocomposites[J]. *Colloids. Surf. A. Physicochem. Eng. Asp.*, 2012, **410**(20): 111-118.
- [21] ZHANG J, LI X, ROSENHOLM J M, *et al.* Synthesis and characterization of pore size-tunable magnetic mesoporous silica nanoparticles[J]. *J. Colloid. Interface. Sci.*, 2011, **361**(1): 16-24.
- [22] DENG H J, LEI Z L. Preparation and characterization of hollow Fe₃O₄/SiO₂@PEG-PLA nanoparticles for drug delivery[J]. *Compos. B. Eng.*, 2013, **54**: 194-199.
- [23] BADRUDDOZA A Z, RAHMAN T, GHOSH S, *et al.* β -Cyclodextrin conjugated magnetic, fluorescent silica core-shell nanoparticles for biomedical applications[J]. *Carbohydr. Polym.*, 2013, **95**(1): 449-457.
- [24] MAHMOUDI M, SANT S, WANG B, *et al.* Superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs): development, surface modification and applications in chemotherapy[J]. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2011, **63**: 24-46.
- [25] LAURENT S, FORGE D, PORT M, *et al.* Magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications[J]. *Chem. Rev.*, 2008, **108**(6): 2064-2110.
- [26] 常娟娟, 李波, 刘文, 等. Fe₃O₄ 磁性纳米复合材料的制备及载药性能[J]. *化工进展*, 2016, **35**: 265-269.
- CHANG J J, LI B, LIU W, *et al.* Preparation and drug loading properties of Fe₃O₄ magnetic nanocomposite[J]. *Chem. Ind. Eng. Prog.*, 2016, **35**: 265-269.
- [27] 王雄, 刘明言. 新型壳聚糖/铅复合球的制备及硼吸附性能[J]. *化工学报*, 2018, **69**(2): 848-857.
- WANG X, LIU M Y. Characteristics of boron adsorption onto a novel chitosan/zirconium composite particle[J]. *CIESC Journal*, 2018, **69**(2): 848-857.
- [28] 赵世鹏, 冯宗财, 袁爽, 等. 乙二胺丙酰胺交联壳聚糖微球对甲基橙的吸附性能[J]. *化工学报*, 2017, **68**(3): 1253-1261.
- ZHAO S P, FENG Z C, YUAN S, *et al.* Adsorption performance of ethylenediamine propionyl crosslinked chitosan microspheres to methyl orange[J]. *CIESC Journal*, 2017, **68**(3): 1253-1261.
- [29] ZHANG W, JIA S, WU Q, *et al.* Studies of the magnetic field intensity on the synthesis of chitosan-coated magnetite nanocomposites by co-precipitation method[J]. *Sci. Eng. A-Struct.*, 2012, **32**(2): 381-384.
- [30] LI G Y, JIANG Y R, HUANG K L, *et al.* Preparation and properties of magnetic Fe₃O₄-chitosan nanoparticles[J]. *J. Alloy. Compd.*, 2008, **466**(1/2): 451-456.
- [31] JAVID A, AHMADIAN S, SABOURY A A, *et al.* Chitosan-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for doxorubicin delivery: synthesis and anticancer effect against human ovarian cancer cells[J]. *Chem. Biol. Drug. Des.*, 2013, **82**(3): 296-306.