

## 进展评述

## 非共价键交联海藻酸钠水凝胶的制备与性能

康 祺<sup>1</sup> 于炜婷<sup>2</sup> 吴 叶<sup>1</sup> 刘袖洞<sup>1,\*</sup> 马小军<sup>2,\*</sup><sup>(1)</sup>大连大学环境与化学工程学院 大连 116622; <sup>(2)</sup>中国科学院大连化学物理研究所 大连 116023)

**摘 要** 天然多糖海藻酸钠制备的水凝胶具有优越的生物相容性和生物组织相似性, 作为生物医用材料在药物控制释放、组织工程支架、抗菌材料及创伤敷料等领域发挥着越来越大的作用。本文在介绍海藻酸钠物化性质的基础上, 重点综述了非共价键交联(静电作用、氢键、范德华力、亲疏水作用等)海藻酸钠水凝胶的制备方法以及性能表征方法, 最后讨论了制备方法以及性能表征研究中的一些需要解决的问题。

**关键词** 海藻酸钠 水凝胶 非共价键交联

## Preparation and Property of Sodium Alginate Hydrogel Crosslinked by Non-Covalent Bonds

Kang Qi<sup>1</sup>, Yu Weiting<sup>2</sup>, Wu Ye<sup>1</sup>, Liu Xiudong<sup>1,\*</sup>, Ma Xiaojun<sup>2,\*</sup><sup>(1)</sup>College of Environment and Chemical Engineering, Dalian University, Dalian 116622;<sup>(2)</sup>Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023)

**Abstract** Sodium alginate hydrogel has been widely used as biomedical materials in drug delivery system, tissue engineering scaffolds, antibacterial material and wound dressing, due to their superior biocompatibility and resemblance to biological tissues. Based on the brief introduction of physicochemical properties of sodium alginate, the progress in preparation methods of sodium alginate hydrogel crosslinked by non-covalent bonds is summarized including electrostatic interaction, hydrogen bonds, van der Waals forces and hydrophobic effects, etc. Meantime, the characterization methods of properties of sodium alginate hydrogel are also concerned. Finally, some problems related to the development of preparation and characterization methods are discussed.

**Keywords** Sodium alginate, Hydrogel, Non-covalent bonds

海藻酸钠是一种天然多糖材料, 具有诸多优点<sup>[1]</sup>: (1)与细胞间基质结构的相似性; (2)温和的室温包埋过程且无需有机溶剂; (3)凝胶的多孔结构有利于大分子物质的扩散; (4)容易形成包囊结构; (5)良好的溶解性和正常生理条件下的生物降解性。因此, 海藻酸钠在食品<sup>[2]</sup>、生物医药<sup>[3]</sup>、环境科学<sup>[4]</sup>等领域得到了广泛的应用。本文介绍了海藻酸钠的物化性质, 重点总结了以非共价键交联为主制备海藻酸钠水凝胶的方法以及相关性能表征方法。

## 1 海藻酸钠

### 1.1 海藻酸钠的来源

目前, 获得海藻酸钠的途径主要分为两种: 一种是从褐藻类植物中提取, 另一种为细菌生物的合成。

康 祺 男, 24 岁, 硕士生, 从事高分子材料研究。\*联系人, 刘袖洞 男, 教授, 从事生物材料与生物催化研究, E-mail: liuxd@dicp.ac.cn  
马小军 男, 研究员, 从事生物医学材料工程研究, E-mail: maxj@dicp.ac.cn

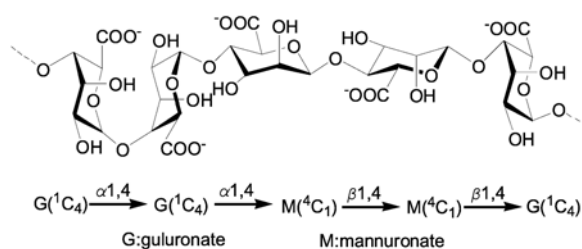
国家自然科学基金项目(21276033)和辽宁省“十百千高端人才引进工程”启动基金(人社[2012]207 号)资助  
2014-11-10 收稿, 2014-12-29 接受

提取海藻酸钠的褐藻类植物主要有 *Laminaria hyperborea*、*Ascophyllum nodosum*、*Macrocystis pyrifera* 等<sup>[5]</sup>。其中, 用 *Macrocystis pyrifera* 提取出的海藻酸钠稳定性更强, 被广泛应用于固定化及凝胶实验<sup>[6]</sup>。

海藻酸钠还可以从 *Azotobacter* 和 *Pseudomonas* 细菌生物中合成<sup>[7]</sup>, 而且从细菌生物合成的海藻酸钠具有更加明确的化学结构和物化特性<sup>[8]</sup>。由于生物合成还存在许多问题, 目前人们获得海藻酸钠的主要方式还是从褐藻类植物中提取。

## 1.2 海藻酸钠的性质

1.2.1 海藻酸钠的结构 海藻酸钠是由  $\alpha$ -L-古罗糖醛酸(Guluronate, 简称为 G)和  $\beta$ -D-甘露糖醛酸(Mannuronate, 简称为 M)通过 1-4 糖苷键聚合而成的无支链二元共聚物<sup>[9]</sup>(图式 1), 其化学结构是由 M、G 通过 MM、GG、GM 片段的顺序组合而成<sup>[10]</sup>。其中, G、M 含量和排序分布取决于褐藻类植物的产地、季节等因素<sup>[11]</sup>。



图式 1 海藻酸钠分子结构式<sup>[9]</sup>

Scheme 1 Molecular structure of sodium alginate<sup>[9]</sup>

GM 序列的组成和含量决定了海藻酸钠的物化性质。通常把 G 含量的高低当作海藻酸钠物化性质的指标之一, 高 G<sup>[12]</sup>指的是 G 含量高于 70%, G 链的长度大, 具有较高的刚性, 而低 G 含量的海藻酸钠水凝胶则更加具有弹性<sup>[13]</sup>。

1.2.2 海藻酸钠的分子量和粘度 海藻酸钠的分子量一般在 32000~400000 g/mol 之间, 分子量的大小对海藻酸钠的物化性质具有较大的影响。高分子量的海藻酸钠会形成高粘度溶液, 其在搅拌和注射时会形成较大的剪切力, 对原材料和人体造成较大的损害<sup>[14]</sup>, 所以, 选择适中的分子量可以调节凝胶粘度和刚度<sup>[15]</sup>。

1.2.3 海藻酸钠的溶解性 海藻酸钠在水中的溶解度由 3 个参数控制<sup>[16]</sup>: (1)溶剂的 pH 要求高于某临界值, 不能使羧基质子化; (2)介质中的离子强度, 其高低会影响到聚合物的构象、链的伸展情况以及粘度, 从而影响到溶解度的大小; (3)溶剂中是否存在凝胶离子, 如  $Ca^{2+}$ 、 $Sr^{2+}$ 、 $Ba^{2+}$ 等。Pawar 等<sup>[17]</sup>指出, 海藻酸钠的溶解性是由直链上羧基的状态决定的, 非质子化的海藻酸钠可以溶解在水中, 但不会完全溶解在任何一种有机溶剂中; 而质子化的海藻酸不会完全溶解在任何一种溶剂中, 即使是在水中也不能完全溶解。

1.2.4 海藻酸钠的生物相容性 许多研究报道中已经评估了海藻酸钠在生物体外和体内的生物相容性<sup>[18]</sup>。由于其良好的生物相容性, 海藻酸钠已被美国食品及药物管理局(FDA)当作公认无害(GRAS)的聚合物。可是仍有报道指出<sup>[19]</sup>, 高 M 含量的海藻酸钠会引起机体免疫反应, 但 Zimmermann 等<sup>[20]</sup>经过重复试验又否定了上述认识, 并指出免疫反应是由海藻酸钠中的杂质引起的。从褐藻类植物中提取的海藻酸钠含有大量的多元酚、内毒素和蛋白质, 这些物质会对海藻酸包埋的细胞产生毒害作用或使动物体内产生免疫作用。Dusseault 等<sup>[21]</sup>研究了药品级、市售纯化级和 3 种不同方法纯化后的海藻酸钠中杂质的含量, 发现多元酚和内毒素的含量基本偏低, 但蛋白质的含量普遍偏高, 表明还没有一种有效的纯化方法可以除去可能会对机体产生免疫作用的蛋白质。但 Lee 等<sup>[22]</sup>用市售级的海藻酸钠溶液对小鼠进行皮下注射实验, 并没有出现明显的免疫反应。因此, 海藻酸钠的生物相容性是和杂质含量、应用环境及生物体密切

相关的。

**1.2.5 海藻酸钠的 pH 敏感性** 海藻酸钠主链中含有大量羧基基团，导致其在不同的 pH 溶液中会发生可逆的离子化和去离子化过程。因此，以海藻酸钠为主体的水凝胶普遍具有 pH 响应性，称之为阴离子型 pH 敏感水凝胶，它会因外界 pH 的变化而发生溶胀或者消溶胀的变化。Chen 等<sup>[23]</sup>研究指出，在较低的 pH 条件(类似于胃环境)下，包埋药物的海藻酸钠水凝胶会出现皱缩，并形成不溶的多孔海藻酸表皮，包埋的药物也不会释放；而一旦进入到较高 pH 的条件(类似于肠环境)下，不溶的多孔海藻酸表皮则会转变为粘稠的可溶层，从而使被包埋的药物得以顺利释放。这一过程通常会伴随突释现象，因而需要对海藻酸钠进行修饰，以缓解药物的释放<sup>[24]</sup>。

## 2 海藻酸钠水凝胶的制备

海藻酸钠水凝胶的制备方法主要分为两大类：化学方法和物理方法。化学方法通过海藻酸钠主链上糖醛酸单元的羟基或羧基与交联剂或其他聚合物的活性官能团发生化学反应，制备出以共价键交联为主、具有三维网络结构的海藻酸钠水凝胶。高春梅等<sup>[25]</sup>总结了化学交联海藻酸钠水凝胶的常见方法：羟基的交联、羧基的交联、席夫碱作用、双键的交联、Staudinger 反应，指出化学交联海藻酸钠水凝胶的结构规整性较好。

与化学方法相比，物理方法制备的海藻酸钠水凝胶主要是通过非共价键，即静电作用、氢键、范德华力、亲疏水作用等弱相互作用形成的(图 1)。由于物理方法未使用化学交联剂，凝胶形成条件温和且操作简单，因此在生物医药、食品工业、环境方面具有一定的应用前景。

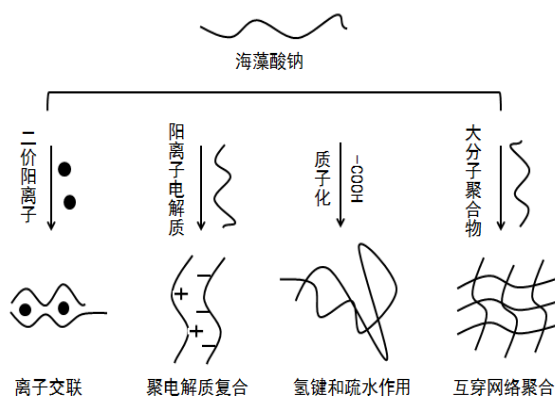


图 1 非共价键交联的海藻酸钠水凝胶

Fig.1 Schematic diagram of sodium alginate hydrogel cross-linked by non-covalent bonds

### 2.1 离子交联

离子交联是使海藻酸钠转变为凝胶最常见的方法。当二价阳离子通过离子移变作用置换出海藻酸钠主链 G 片段上的钠离子时，阳离子会与 GG 片段交联形成类似蛋盒结构的三维网络水凝胶<sup>[18]</sup>。值得注意的是，Donati 等<sup>[26]</sup>指出，不只是 GG 片段可以与阳离子结合，GM 片段也可以与阳离子结合，因此出现了 3 种不同的作用形式：GG/GG、GM/GM、GG/GM，其中以 GG/GG 与阳离子相互作用力最强。

海藻酸钠与二价阳离子结合能力的大小<sup>[27]</sup>依次为： $Pb^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Ba^{2+} > Sr^{2+} > Ca^{2+} > Co^{2+} = Ni^{2+} = Zn^{2+} > Mn^{2+}$ 。单价阳离子和  $Mg^{2+}$  不会发生凝胶反应<sup>[28]</sup>。海藻酸钠与阳离子的亲和能力与海藻酸钠凝胶的机械强度密切相关，机械强度<sup>[29]</sup>大小依次为： $Pb^{2+} > Cu^{2+} = Ba^{2+} > Sr^{2+} > Cd^{2+} > Ca^{2+} > Mn^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Ni^{2+}$ 。虽然  $Ca^{2+}$  与海藻酸钠的结合能力没有  $Pb^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  等阳离子强，但它是机体各项生理活动不可缺少的离子，并且具有良好的生物相容性，因此，当用离子

交联制备海藻酸钠水凝胶时,通常选用  $\text{Ca}^{2+}$  作为交联剂。

海藻酸钙凝胶的形成主要分为两种方法:外部凝胶法和内部凝胶法。

**2.1.1 外部凝胶法** 外部凝胶法指的是阳离子(通常为  $\text{Ca}^{2+}$ )从外部凝胶浴中扩散进入海藻酸钠溶液当中交联形成海藻酸钙凝胶。该方法是一个非常简单的过程,既快速且无需添加其他化学试剂,虽然凝胶化的过程几乎是瞬间的,但这种方法形成的水凝胶具有不均一的交联密度及显著的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度梯度分布<sup>[30]</sup>。

基于此种简单的制备方法,研究者根据不同的应用赋予了海藻酸钙水凝胶不同的形态。常见的海藻酸钙水凝胶形态分为 3 类:球状、纤维状和膜状。

**2.1.1.1 球状海藻酸钙水凝胶** 球状海藻酸钙水凝胶常用作药物的靶向递送载体以及进行三维细胞培养。制备球状海藻酸钙水凝胶的传统方法<sup>[31]</sup>是将海藻酸钠溶液通过注射器直接滴加到氯化钙溶液中形成球状凝胶。该球状水凝胶球形度好、尺寸均一,但受到针头直径和海藻酸钠溶液粘度的限制,胶珠粒径常常大于 1 mm。静电液滴技术<sup>[32]</sup>是在针头与凝胶浴之间施加电压形成静电力场,大幅度克服了粘滞阻力和界面张力,不但大大降低了粒径( $\sim 200 \mu\text{m}$ ),而且能够获得球形度好且粒径均一可控的胶珠。

近年来,根据外部凝胶原理,出现了一些新颖的制备方法。Lima 等<sup>[33]</sup>用超级疏水性底物聚苯乙烯(PS)代替传统的凝胶浴来制备海藻酸钙胶珠(图 2)。通过把含有鼠骨髓间充质干细胞(rMSCs)的海藻酸钠混合溶液 5  $\mu\text{L}$  滴加到 PS 上,然后再将 2  $\mu\text{L}$  氯化钙溶液滴加到海藻酸钠混合液液滴上,从而形成含有 rMSCs 的海藻酸钙胶珠。此方法反应条件温和,无需添加外在机械力,制备的胶珠球形度好、粒径均一,且不会发生颗粒聚集现象。

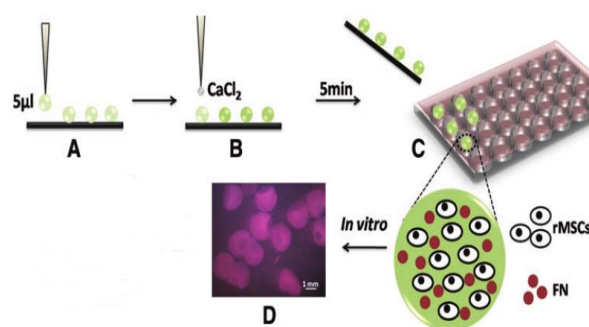


图 2 超级疏水性底物制备海藻酸钙胶珠示意图<sup>[33]</sup>

Fig. 2 Schematic representation of alginate hydrogels using polystyrene(PS) super-hydrophobic substrates<sup>[33]</sup>

Hirama 等<sup>[34]</sup>通过微流控装置把海藻酸钠溶液滴加至含有  $\text{CaCl}_2$  的琼脂糖平板凝胶上,由于琼脂糖凝胶具有较高的渗透压,导致  $\text{Ca}^{2+}$  从琼脂糖凝胶中扩散至海藻酸钠液滴中,海藻酸钠液滴中的  $\text{H}_2\text{O}$  也会扩散到琼脂糖凝胶中,从而使海藻酸钠液滴皱缩,形成 100  $\mu\text{m}$  左右的凝胶微球。该方法制备出的微球不但粒径小、球形好,而且由于反应充分使得  $\text{Ca}^{2+}$  分布均匀,没有浓度梯度现象。

**2.1.1.2 纤维状海藻酸钙水凝胶** 纤维状海藻酸钙水凝胶通常用于组织修复以及细胞培养。制备方法通常采用静电纺丝技术(Electrospinning method),通过改变参数条件(溶液粘度、导电率等),可以制备出直径 10 nm $\sim$ 10  $\mu\text{m}$  的纤维状水凝胶<sup>[35]</sup>。静电纺丝技术设备简单,只需要一台精密的注射泵和一个高压电源即可。Saquing 等<sup>[36]</sup>先制备出海藻酸钠和聚氧乙烯混合物,再通过静电纺丝技术与  $\text{Ca}^{2+}$  交联,成功制备出海藻酸钠/聚氧乙烯纳米纤维。值得注意的是,单是海藻酸钠是不能够通过静电纺丝技术制备出纤维的,只有通过混入高分子量可静电纺丝的聚合物时,才可形成纤维状水凝胶。

由于静电纺丝技术在水凝胶制备中的局限性,一种新兴的技术应运而生:水动力纺丝技术(Hydrodynamic spinning method)<sup>[37]</sup>。该方法是在多相同轴流动装置中,运用流体力学控制多组分溶液分布,然后进行交联形成水凝胶纤维。Hu 等<sup>[38]</sup>自制三孔纺丝喷头,通过改变参数条件,使海藻酸钠和聚异丙基丙烯酸酰胺共混溶液形成中空或实心、单层或多层的纤维状水凝胶。由于纤维状水凝胶结构比球状

水凝胶拥有更长的单元,因此,运用纤维状水凝胶进行 3D 细胞培养,拥有更广阔的应用前景。

**2.1.1.3 膜状海藻酸钙水凝胶** 膜状海藻酸钙水凝胶通常用作组织工程支架材料或抗菌材料及创伤敷料。制备方法目前只有铸膜法(Casting method)<sup>[39]</sup>。根据模子的形状和大小,制备出形状各异的膜状海藻酸钙水凝胶。De Moraes 等<sup>[40]</sup>用蚕丝蛋白和海藻酸钠作为原料,将含有  $\text{CaCl}_2$  的蚕丝蛋白溶液和海藻酸钠溶液浇筑到模具当中,制备出膜状水凝胶。此种方法操作简便,而且通过物理共混铸型成的膜状水凝胶膨胀性能良好,由于分子间的弱相互作用,很适合作为功能性伤口敷料,具有一定的应用前景。

**2.1.2 内部凝胶法** 内部凝胶法采用低溶解度的多价阳离子,通过添加引发剂来改变阳离子在海藻酸钠溶液中的溶解度,从而在海藻酸钠溶液内部形成海藻酸钙水凝胶。与外部凝胶法相比,内部凝胶法可以降低凝胶速率,因此可以更好地控制凝胶时间。低溶解度多价阳离子有  $\text{CaCO}_3$ <sup>[41]</sup>、 $\text{CaSO}_4$ <sup>[42]</sup>、 $\text{Ca-EDTA}$ <sup>[43]</sup> 和  $\text{Ca}_2\text{SiO}_4$ <sup>[44]</sup>等,其中以  $\text{CaCO}_3$  较为常见。当以  $\text{CaCO}_3$  为  $\text{Ca}^{2+}$ 源时,常见的引发剂有:醋酸、葡萄糖酸内酯(GDL)和光生酸剂(PAG)。

Liu 等<sup>[45]</sup>以醋酸作为引发剂,含有纳米  $\text{CaCO}_3$  的海藻酸钠溶液为分散相,含有 Span80 的石蜡为连续相,通过膜乳化方法形成油包水乳液,随后将醋酸加入到水油两相乳液中,随着  $\text{Ca}^{2+}$ 缓慢的释放,逐渐形成表面光滑、球形度好的海藻酸钙微球(图 3),平均粒径为  $55.3 \mu\text{m}$ 。

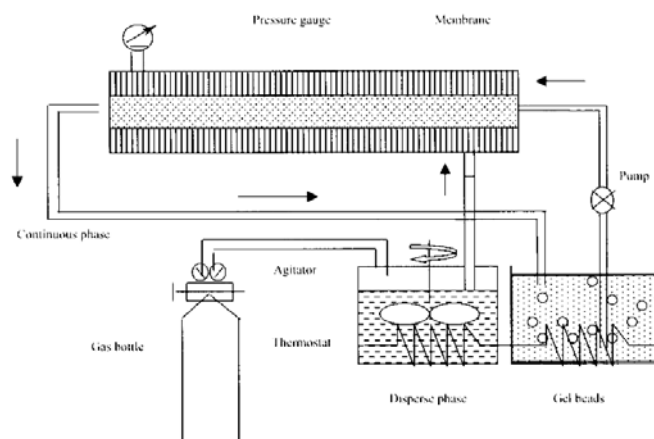


图 3 以醋酸为引发剂通过膜乳化法制备海藻酸钙微球<sup>[45]</sup>

Fig.3 Illustration of membrane emulsification coupled with the internal gelation process<sup>[45]</sup>

Liu 等<sup>[46]</sup>将引发剂 GDL 加入到海藻酸钠和  $\text{CaCO}_3$  的混合溶液中,通过 GDL 释放出的  $\text{H}^+$ 使得  $\text{CaCO}_3$  缓慢释放  $\text{Ca}^{2+}$ ,从而形成海藻酸钙水凝胶。值得注意的是,GDL 加入后带来 pH 降低并没有影响海藻酸钠包埋的细胞活性<sup>[47]</sup>。

近年来,PAG 作为一种新型引发剂,已受到越来越得关注。Javvaji 等<sup>[48]</sup>指出,在紫外光照射下,PAG 会解离出  $\text{H}^+$ ,从而促使  $\text{CaCO}_3$  的解离释放出  $\text{Ca}^{2+}$ ,与海藻酸钠溶液形成凝胶。

Cui 等<sup>[49]</sup>用一种新的水溶性并具有光敏性的  $\text{Ca}^{2+}$ 螯合物(nitr- $\text{T-Ca}^{2+}$ )代替  $\text{CaCO}_3$ ,在 360 nm 光源照射下,nitr- $\text{T-Ca}^{2+}$ 会缓慢地释放出  $\text{Ca}^{2+}$ ,与海藻酸钠溶液形成水凝胶。该方法制备的海藻酸钠水凝胶展示了更高的机械强度,甚至在海藻酸钠含量为 10%的溶液中也呈现出良好的均一性。

外部凝胶法采用可溶的多价阳离子盐溶液(通常为  $\text{CaCl}_2$ ),因其高溶解度,导致凝胶几乎为瞬间完成,难以控制, $\text{Ca}^{2+}$ 分布不均匀,从而导致凝胶呈现出外部致密内部疏松的结构<sup>[12]</sup>。内部凝胶法则采用难溶的多价阳离子盐(通常为  $\text{CaCO}_3$ ),因其低溶解度,释放  $\text{Ca}^{2+}$ 速率缓慢,凝胶时间延长,制备出的凝胶结构更加均一。凝胶速率是控制凝胶结构的关键因素,凝胶速率可控不仅可以获得更均一的凝胶结构,而且可以获得更好的机械性能<sup>[50]</sup>。

无论是外部凝胶法还是内部凝胶法,都存在一个显著的缺点:由于凝胶中的  $\text{Ca}^{2+}$ 会与周围环境介质

中的单价阳离子发生置换反应,所以离子交联型海藻酸钙水凝胶在生理条件下无法保持长期稳定。但凝胶中  $\text{Ca}^{2+}$  会缓慢释放的特点,却有益于创伤敷料的应用, Suzuki 等<sup>[51]</sup>以水凝胶作为血小板和红细胞聚集基质时,  $\text{Ca}^{2+}$  的释放会促进止血作用。

### 3.2 聚电解质复合物

聚电解质复合物(Polyelectrolyte complexes, PECs)是通过混合两种带相反电荷的聚合物水溶液形成的。其主要相互作用力是静电吸附,同时也可能存在一些其他作用力,如氢键、库仑力、范德华力等<sup>[52]</sup>。

近年来,研究者通常会用海藻酸钠水凝胶包埋不与之发生竞争反应的生物分子,进行靶向给药。但一些药物从海藻酸钙水凝胶中释放时出现了突释现象,人们常用一些聚阳离子电解质与海藻酸钠形成聚电解质复合物,来缓解突释现象。常用的聚阳离子电解质有壳聚糖(CS)、聚 L-赖氨酸(PLL)、二乙氨基葡聚糖(DEAE-dextran)等。

CS 是甲壳素脱乙酰化后制备的碱性多糖,具有良好的生物相容性和生物可降解性,被广泛应用于制备聚电解质复合物。常见的制备方法有 3 种:一步法、两步法和复合法。一步法<sup>[53]</sup>是将海藻酸钠溶液缓慢滴加到 CS 溶液中,从而形成 PECS,反之亦可形成 PECS。两步法<sup>[54]</sup>是先让海藻酸钠溶液与  $\text{Ca}^{2+}$  形成凝胶微球,再转移到 CS 溶液中,凝胶微球的表面会形成一层聚电解质复合膜。复合法<sup>[25]</sup>是先制备海藻酸钠/CS 复合物微囊,再以双官能团小分子交联剂对微囊表面进行修饰。

由于 CS 与海藻酸钠需要在酸性条件下溶解并质子化,进而与海藻酸钠才可以发生静电络合反应,而在中性和碱性条件下 CS 会发生沉淀现象,这就使 CS 的应用受到了一定的局限性。Huguet 等<sup>[55]</sup>指出, DEAE-dextran 主链上的胺基可以在任何 pH 条件下溶解,并与海藻酸钠反应,理论上比 CS 具有更大优势,但需要更高的浓度才可以防止蛋白质的泄露。

PLL 也常作为聚阳离子与海藻酸钠形成聚电解质复合物,来缓解药物突释现象。Hong 等<sup>[56]</sup>研究了海藻酸钠和 PLL 复合物包埋异硫氰酸荧光素/葡聚糖(FITC-dextran)在不同 pH 条件下的释放情况。pH 在 5.0~9.0 时,葡聚糖在 240 min 内的释放达到 70%左右,而且 pH 的不同并没有引起显著性的差异;而在 pH 为 3.5 和 4.0 时,葡聚糖释放量降低到 33%和 50%左右。这是因为在较低的 pH 环境中,PLL 链段上的氨基会逐渐质子化,海藻酸钠和 PLL 静电作用变得更强,从而使 PLL 变得更加紧凑和致密,阻碍葡聚糖的扩散。

### 2.3 氢键和疏水作用

当在海藻酸钠溶液中,缓慢地或者可控地释放出质子时可以得到海藻酸钠水凝胶。此方法是运用质子化的羧酸基团之间形成的氢键和疏水相互作用,从而形成海藻酸钠水凝胶。常见的提供质子的溶剂有 GDL 和  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 。

Cao 等<sup>[57]</sup>以  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  为质子源,随着质子的缓慢释放,海藻酸钠主链上的羧基部分质子化,从而出现生物大分子聚集行为,使海藻酸钠自组装形成具有核壳结构的胶束(图 4)。此类型胶束具有 pH 响应性,随着 pH 升高,胶束会变为中空结构。这种制备方法避免了有害有毒化合物的添加,并提供了高功能性表面和 pH 响应性,在生物医药领域有广阔的前景。

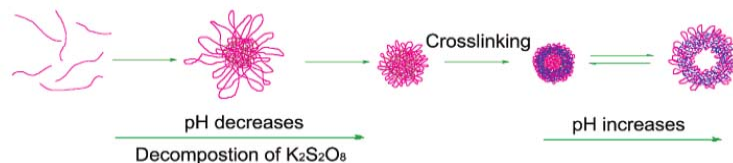


图 4  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  为质子源制备海藻酸钠水凝胶示意图<sup>[57]</sup>

Fig. 4 Schematic representation of pH-induced formation of sodium alginate assemblies<sup>[57]</sup>

Gao 等<sup>[58]</sup>研究了 GDL 存在下, 羧甲基化魔芋葡甘露聚糖(CM-KGM)和海藻酸钠两种阴离子型多糖混合物的凝胶动力学和流变学性质。GDL 缓慢释放出质子, 一部分作用于无电荷的聚合物链, 一部分屏蔽静电排斥, 从而产生相互分离, 最终形成凝胶。CM-KGM 会与海藻酸钠之间产生静电排斥作用, 随着 CM-KGM 含量的增加, 会减缓海藻酸钠水凝胶的形成。

## 2.4 互穿网络聚合物

以物理交联为主的海藻酸钠水凝胶制备方法简单, 反应条件温和, 具有一定应用前景。但大量的实验研究表明, 物理方法交联的海藻酸钠水凝胶机械强度较差<sup>[59]</sup>, 而通过互穿网络技术可以有效地解决此问题<sup>[60]</sup>, 同时还可以赋予海藻酸钠水凝胶新的功能, 如热敏感型<sup>[61]</sup>、双重敏感型<sup>[62]</sup>等。

互穿网络聚合物一般分为两大类: 全互穿网络聚合物(IPN)和半互穿网络聚合物(semi-IPN)。

国际理论和应用化学联合会(IUPAC)对互穿网络聚合物(IPN)定义为: 两种或两种以上的聚合物在分子水平上至少部分的相互交错在一起, 但是不能通过共价键结合在一起, 除非化学键断裂否则不能被分离。值得注意的是, 两种或两种以上先成形的聚合物网络的混合物不是 IPN。Wen 等<sup>[63]</sup>通过酶促反应和离子交联法合成了具有高机械性能的明胶/海藻酸钠 IPN (图 5)。首先在明胶/海藻酸钠混合水凝胶中添加转谷氨酰胺酶, 使明胶形成交联网络, 再加入  $\text{Ca}^{2+}$ , 使海藻酸钠形成交联网络, 从而形成明胶/海藻酸钠 IPN。通过机械强度测试, 新合成的 IPN 在压缩强度和拉伸强度方面得到了明显的提高, 为以后作为组织工程支架提供了依据。

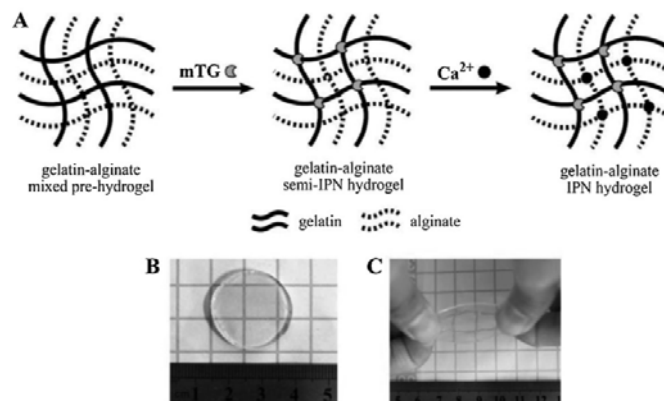


图 5 明胶/海藻酸钠互穿网络聚合物示意图<sup>[63]</sup>

Fig. 5 Schematic illustration of the formation of IPN hydrogel<sup>[63]</sup>

IUPAC 把只需要一种或一种以上的聚合物形成网络结构, 而另一种或以上的链状或分枝状的聚合物在分子水平上贯穿于网络结构中定义为 semi-IPN。与 IPN 所不同的是, 链状或分枝状的聚合物无需破坏化学键就可以从交联的网络结构中实现分离, semi-IPN 只是简单的聚合物共混。Dhanapal 等<sup>[64]</sup>以过硫酸铵(APS)作为光引发剂, 合成海藻酸钠贯穿于 N-异丙基丙烯酰胺(NIPAAm)的 semi-IPN。该聚合物对工业废水中的有毒重金属和染料有较强的吸附性能, 并通过染料扩散实验证明 semi-IPN 符合非费克扩散机制, 染料吸附实验也符合拟二级动力学模型和朗格缪尔吸附等温式, 而且根据热力学参数实验结果说明该吸附过程是自发和放热的过程。

## 3 海藻酸钠水凝胶的性能表征方法

随着新型材料不断的涌现, 研究者迫切需要知道新材料的特性和价值所在, 因此, 大量的先进表征技术应运而生, 对于了解材料的组成、结构与性能之间的相互关系发挥了重要作用。30 年前, Andresen 等<sup>[65]</sup>在电子显微镜下, 观察到海藻酸钙微球孔径分布在 5~200 nm 之间, 但分辨率过低, 观察效果欠佳。

而现在的电子显微镜技术能够清楚地观测到材料表面纹理。

海藻酸钠水凝胶材料的表征技术主要根据凝胶材料的化学结构、凝胶时间、凝胶热力学以及凝胶形貌等特性应用相应的表征仪器, 得出表征结果。

### 3.1 凝胶结构

凝胶结构的表征主要是明确凝胶的化学结构。表征方法有: 红外光谱、核磁共振。

傅里叶变换红外光谱技术(FT IR)是目前最广泛使用的化学结构表征技术。Gogoi 等<sup>[66]</sup>以 CS 凝胶为原料制备出的碳点(CD)与海藻酸钙胶珠(CA)形成海藻酸钙胶珠/碳点复合物(CA-CD)。对 CA-CD 和 CA 进行 FT IR 检测, 发现 CA-CD 链段上的 COO<sup>-</sup>伸缩振动峰在 1631 和 1410 cm<sup>-1</sup> 处出现明显的转移和减弱, 这主要是由于 CS 中的 -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> 基团与海藻酸钙中的 COO<sup>-</sup> 基团发生了静电作用的结果。由于 FT IR 存在固体压片或液膜法制样的麻烦, 会使测量产生误差, 而漫反射傅里叶变换红外光谱技术(DRIFT)无需制样且是无损测定, 很好地解决了这个问题。Illanes 等<sup>[67]</sup>用 FT IR 和 DRIFT 研究海藻酸钙水凝胶与包埋物酶的提取物 araujiain 之间的相互作用。FT IR 显示, 海藻酸钙水凝胶会引起 araujiain 化学结构的改变, 而 DRIFT 进一步显示出酶提取物已经形成具有  $\alpha$ -螺旋的次级结构, 表明酶提取物与海藻酸钙水凝胶之间存在相互作用。全反射傅里叶变换红外光谱技术(ATR-FTIR)除了无需制样、无损测定等优点, 还可以测定含水和潮湿的样品。Harper 等<sup>[68]</sup>测定不同阳离子与海藻酸钠形成膜状水凝胶的物理性能。用 ATR-FTIR 直接测定含水率高的膜状海藻酸锌水凝胶发现, 海藻酸链段上 COO<sup>-</sup> 振动峰出现轻微的变化。

高场核磁共振(HFNMR), 即通常所说的核磁共振(NMR), 也是测量化合物化学结构的表征技术。Sæther 等<sup>[69]</sup>在考察海藻酸钠和 CS 聚电解质复合物的性能前, 用 HFNMR 分别测量了海藻酸钠 G 链段的含量和 CS 的脱乙酰度, 以便后续考察 GM 比例和脱乙酰度产生的影响。低场核磁共振(LFNMR)相对于 HFNMR 测出的谱图信噪比低, 解析不易, 但常常需要用 LFNMR 测待测物质的含水量以及更为准确的偶合常数去推算样品性质。Abrami 等<sup>[70]</sup>运用 HFNMR 和 LFNMR 测定海藻酸钙水凝胶包埋普朗尼克 F127 的性能。实验结果显示, LFNMR 可以利用公式推算出样品的网孔大小和水分迁移情况, HFNMR 可以推算出扩散系数来说明海藻酸钠/普朗尼克 F127 形成不均匀凝胶结构。

### 3.2 凝胶时间

凝胶形成的时间是海藻酸钠水凝胶的重要特性之一。根据凝胶时间的长短, 应用方法也有所不同。Alexander 等<sup>[71]</sup>采用内部凝胶法制备海藻酸钙水凝胶用作伤口敷料, 指出凝胶时间和凝胶均质性是评价伤口敷料的重要指标, 过快的凝胶时间会产生不均匀的凝胶结构, 不宜用作伤口敷料。

目前凝胶时间主要的表征方法分为两种: 倒置法和流变仪分析法。倒置法操作简便, 反应直观, 但凝胶时间不够精准。流变仪用于测定凝胶流变性质, 而凝胶时间的测定是依据储能模量( $G'$ )和损耗模量( $G''$ )变化而决定的。当  $G'=G''$  时, 即为凝胶形成时间点。Sarker 等<sup>[72]</sup>对比了试管倒置法和流变仪分析法测定海藻酸钠/二乙醛(ADA)和明胶(GEL)复合物(ADA-GEL)的凝胶时间。倒置法是使 GEL 缓慢地加入到搅拌的 ADA 溶液中, 倒置小瓶, 直至观察到凝胶停止流动为止, 记录下凝胶时间。当 ADA/GEL 的混合比例为 50/50 时, 凝胶时间为 8 min 左右。同时用流变仪测定 ADA/GEL 混合比例为 50/50 凝胶的流变特性, 当  $G'=G''$  时, 凝胶形成时间点为 3.7 min, 加上凝胶过程时间 4.5 min, 总凝胶时间为 8.2 min, 这与上述用倒置法测得的时间基本相同, 但时间更加精确。

### 3.3 凝胶热力学

差热分析(DTA)是测量温度与热流关系的方法, 广泛应用于测定含水化合物在加热过程中失水时发生吸热作用而在差热曲线上形成吸热峰。差示扫描量热法(DSC)也是测量温度与热流的关系, 与 DTA 所



不同的是, DSC 主要定量测定焓变、比热等, 而 DTA 主要定性测量玻璃转化温度( $T_g$ )等。Benli 等<sup>[73]</sup>采用 DTA/DSC 联用, 发现膨润土和海藻酸钠生物复合凝胶在 100 °C 时会损失非结合水, 在 200~250 °C 之间损失结合水并发生聚合物的分解。

热重分析(TGA)是测量温度和重量关系的方法, 主要用来研究材料的热稳定性和组份。Benli 等<sup>[73]</sup>指出, 膨润土和海藻酸钠生物复合凝胶随着膨润土含量的增加, 热稳定性逐渐升高, 这与海藻酸钠/Na-累托石膜、海藻酸钠/羟磷灰石等其它生物复合材料得到的结果是一致的; 但增加海藻酸钠的含量, 热稳定性并没有明显的变化。Samanta 等<sup>[74]</sup>用 TGA 表征了丙烯酰胺和海藻酸钠以物理共混的方式形成的具有半互穿网络结构的水凝胶(SIPN)。SIPN 在 335 °C 时, 热降解曲线会突然下降, 说明存在主链的断裂和聚合物的热分解。

动态力学分析(DMA)是测量温度与模量关系的方法。Saarai 等<sup>[75]</sup>用 DMA 测定了明胶和海藻酸钠共混水凝胶的粘弹性和热稳定性, 证明了含有高 G 链段的海藻酸钠与明胶形成的水凝胶具有更高的粘弹性以及热稳定性。

### 3.4 海藻酸钠水凝胶形貌

对海藻酸钠水凝胶形貌的表征可以更加直接的得到材料的感官认识, 而且随着海藻酸钠水凝胶材料的不同, 呈现出多种多样的表面形貌, 不同的表面形貌又会影响到凝胶与应用环境的相互作用。海藻酸钠水凝胶的形貌表征主要分为海藻酸钠水凝胶尺寸和海藻酸钠水凝胶表面纹理。

3.4.1 海藻酸钠水凝胶尺寸 在不同的凝胶应用领域, 对海藻酸钠水凝胶尺寸有着不同的要求。例如, 在生物医药方面, Zhu 等<sup>[76]</sup>考察了黄连素盐酸从海藻酸钠/羧甲基 CS 复合物释放的情况, 指出微囊粒径的大小直接影响到药物释放的性能、载药量以及药物在体内的分布等。

海藻酸钠水凝胶尺寸的表征主要通过凝胶形状(球状凝胶和非球状凝胶)来区分。非球状凝胶由于其形状可控, 通常依靠模具尺寸(膜状凝胶)和喷头尺寸(纤维状凝胶)可直接判断, 或采用 Image 软件间接测量; 而球状凝胶由于其粒径尺寸分布不均且数量较多, 难以统计, 所以需要较为先进的仪器进行表征。

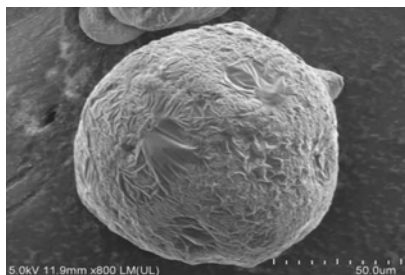
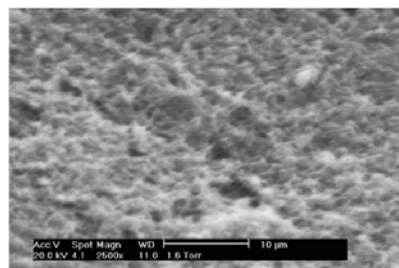
根据球状水凝胶粒径的大小, 需要采取不同表征仪器。球状水凝胶粒径为毫米级时, 可以使用 150 mm 游标卡尺<sup>[77]</sup>测量多组粒径, 利用公式  $D = (D_1 + D_2 + \dots + D_n) / n$  计算出平均粒径的大小; 而球状水凝胶粒径为微米级时, 通常采用激光粒度分析仪(LPSA)。Xiao 等<sup>[78]</sup>运用 LPSA 测定磁性海藻酸钠/CS 凝胶微球粒径, 平均分布在 150  $\mu\text{m}$  左右, 这与用光学显微镜观察到的结果一致; 球状水凝胶粒径为纳米级时, 则使用纳米粒度仪检测粒径。纳米粒度仪采用动态光散射原理和光子相关光谱技术, 根据颗粒在液体中布朗运动的速度测定颗粒大小, 检测精度极高。Yang 等<sup>[79]</sup>用纳米粒度仪测定了不同浓度的 CS/海藻酸钠(CS/Alg)自组装纳米颗粒的粒径, CS/Alg 的比例为 2:1、1:1、1:2 时, 平均粒径依次为 403、205 和 318 nm, 随着 CS/Alg 浓度比例的增加, 纳米颗粒粒径呈上升趋势。

3.4.2 海藻酸钠水凝胶表面纹理 随着电子显微镜技术的不断提升, 极大地改善了研究者对微观世界的感官认知。

扫描电子显微镜(SEM)技术在测样前需要进行导电处理, 即喷金干燥, 会对水凝胶表面的观察产生影响。Zhao 等<sup>[80]</sup>用 SEM 观察了海藻酸钙微球和 PLGA-PEG-PLGA 复合材料制备的水凝胶, 从图 6 中清晰地看出, 所有的微球都显现出致密的表面, 但由于在测试 SEM 前需要进行干燥处理, 因此, 微球出现了不同程度的皱缩, 粒径减小了 30~85  $\mu\text{m}$ 。

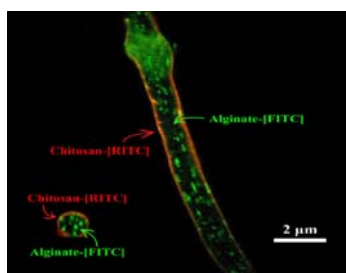
对于纳米级的海藻酸钠水凝胶, 可以采用透射电子显微镜(TEM)进行检测。对于液体样品, 通常是滴加在预处理过的铜网上进行观察。Yu 等<sup>[81]</sup>用 TEM 表征海藻酸钠/CS 复合物(AL-CS)纤维, 从 TEM 图中可以看出核壳结构, 并且可以清晰地看到核壳结构的分界线, 纤维直径为 300~500 nm。

海藻酸钙水凝胶微球中含有大量的水分,而且在体内应用时,都需要在水的环境下与蛋白质、细胞、组织相互作用,通过微球表面输送底物和信号分子。然而,脱水过程会导致水凝胶的皱缩和结构的塌陷,所以,通过 SEM 和 TEM 脱水处理后的表征结果并不能充分表现出水凝胶的形貌,而且可能会误导研究者对水凝胶结构和反应机理的理解,并造成相反的应用导向。

图 6 海藻酸钙凝胶微球 SEM 图片<sup>[80]</sup>Fig.6 SEM image of ALG microspheres<sup>[80]</sup>图 7 CP/A SMIPMs ESEM 图片<sup>[82]</sup>Fig.7 ESEM image of CP/A SMIPMs<sup>[82]</sup>

环境扫描电子显微镜(ESEM)技术是近年来发展的观测技术,样品既不需要脱水,也不必进行导电处理,可在一定真空度下湿态观测,因此,非常适于对生物样品、含水样品的形貌表征。Zhao 等<sup>[82]</sup>通过 ESEM 研究了大分子蛋白印迹的磷酸钙/海藻酸钠复合物微球(CP/A SMIPMs)的表面形貌,在湿态下复合微球表面显示出大量的 0.2~1.0  $\mu\text{m}$  微孔结构(图 7),该结构增加了微球比表面积,从而可以增加传质效率。

无论是 SEM 还是 ESEM 都需要对样品进行一定的处理,这便难以观测到海藻酸钠水凝胶在含水状态下的真实结构。Liu 等<sup>[30]</sup>将分子和细胞生物学领域中用于观测细胞形态的激光共聚焦显微扫描技术(CLSM)首次引入到观测海藻酸钠水凝胶领域中。经过多次尝试,最终在样品无表面水的状态下,成功观测到凝胶珠网络结构。CLSM 技术不但可以观测到含水状态下海藻酸钠水凝胶的真实结构,还可以通过选用一种或几种荧光染料标记样品,以便清晰观测到水凝胶分布情况。Chang 等<sup>[83]</sup>用异硫氰酸荧光素(FITC)标记海藻酸钠,用异硫氰酸若丹明 B(RITC)标记 CS,通过静电纺丝技术制备出海藻酸钠/CS 复合物(AL-CS)纤维,通过 CLSM 处理,可以清晰观测到 AL-CS 纤维呈现出核壳结构,这与 Yu 等<sup>[81]</sup>用 TEM 表征 AL-CS 纤维呈现出的结构一致,但荧光标记更易于观测(图 8)。

图 8 荧光标记的 AL-CS CLSM 图片<sup>[83]</sup>Fig.8 CLSM image of fluorescent AL-CS<sup>[83]</sup>

#### 4 存在问题及展望

海藻酸钠是一种天然高分子多糖,具有良好的生物相容性和 pH 敏感性,能在温和条件下形成非共价键交联的水凝胶,而且可以加工成为球状、纤维状和膜状凝胶,因此,海藻酸钠作为细胞或药物的载体在细胞移植、固定化细胞培养、组织工程支架及药物释放等生物医学领域备受关注。

非共价键交联海藻酸钠水凝胶的制备方法越来越趋于多样化,既有传统的乳化法、静电液滴法,也有微流控和静电纺丝等新技术,而且多为操作简便、过程温和的制备方法。但是,从应用和调控水凝胶结构及性能角度考虑,目前的制备方法或多或少还存在着一些问题,例如,内部凝胶化技术中引发剂会

影响生物成分活性；微流控过程的工艺放大等；这些都有待进一步优化。

以非共价键交联的海藻酸钠水凝胶的机械强度较差，在应用环境中受到挤压或剪切作用会出现结构变形、缺损甚至坍塌，造成包埋物的泄露而引起副作用，借助聚电解质复合技术和互穿网络技术可以提高海藻酸钠水凝胶结构的致密性，从而增强机械强度，今后仍需开发适宜的聚电解质或高分子共混材料，研究其组成及比例对凝胶结构和性能的调控规律，发展高强度且生物相容性好的新型水凝胶材料。

海藻酸钠水凝胶的功能化也是发展的一个方向，可以对海藻酸钠分子中羟基或羧基进行化学修饰，赋予水凝胶新的功能，例如，硫化修饰海藻酸钠以提高材料的血液相容性和抗凝血功能<sup>[84]</sup>；或者对海藻酸钠进行疏水改性，解决其作为亲水性药物载体时易出现的药物突释问题<sup>[85]</sup>。

非共价键交联的海藻酸钠水凝胶因其制备方便及未使用毒性较大的化学交联剂，会在今后的生物医药领域得到快速的发展。而且此类水凝胶能够有效地控制生物因子(如蛋白质)的局部浓度，该特点在伤口敷料应用方面尤为显著。并且单一的药物释放已不能解决现有多种并发症，今后包埋多种有效生物因子及可持续的药物释放是非共价键水凝胶在生物医药领域的新思路。

海藻酸钠水凝胶的性能表征技术对于了解其组成与结构至关重要，进而会影响人们对海藻酸钠性能及应用效果的评价。例如，目前水凝胶表面形貌的表征大多采用喷金干燥处理的扫描电镜技术，而得到的结构及表面信息是与水环境下应用的水凝胶结构及表面形貌不匹配的，容易对海藻酸钠水凝胶与蛋白质、细胞之间的相互作用产生认识偏差，因此，开发能在湿态条件下观测水凝胶结构和形貌的表征技术将具有更广阔的应用前景。

#### 参考文献

- [1] W R Gombotz, S F Wee. *Adv. Drug Del. Rev.*, 2012, 64: 194-205.
- [2] L Salvia-Trujillo, M A Rojas-Grati, R Soliva-Fortuny et al. *Food Hydrocolloid.*, 2013, 30(1): 401-407.
- [3] S G Caridade, C Monge, F Gilde et al. *Biomacromolecules*, 2013, 14(5): 1653-1660.
- [4] Y K Lee, S Y Lee. *Dyes Pigments*, 2014, 108: 1-6.
- [5] H S Kim, C-G Lee, E Y Lee. *Biotechnol. Bioproc. E.*, 2011, 16(5): 843-851.
- [6] Smidsrod, G Skjakbraek. *Trends Biotechnol.*, 1990, 8(3): 71-78.
- [7] Muhammadi, N Ahmed. *Curr. Genomics*, 2007, 8(3): 191-202.
- [8] K Y Lee, D J Mooney. *Prog. Polym. Sci.*, 2012, 37(1): 106-126.
- [9] 刘袖洞, 于炜婷, 王为 等. *化学进展*, 2008, (01): 126-139.
- [10] X Xu, X T Wu, Q Q Wang et al. *J. Agr. Food Chem.*, 2014, 62(14): 3168-3176.
- [11] M George, T E Abraham. *J. Control. Rel.*, 2006, 114(1): 1-14.
- [12] A Martinsen, G Skjakbraek, O Smidsrod et al. *Carbohydr. Polym.*, 1991, 15(2): 171-193.
- [13] T Ostberg, L Vesterhus, C Graffner. *Int. J. Pharm.*, 1993, 97(1-3): 183-193.
- [14] H Kong. *Biomaterials*, 2003, 24(22): 4023-4029.
- [15] H J Kong, K Y Lee, D J Mooney. *Polymer*, 2002, 43(23): 6239-6246.
- [16] S N Pawar, K J Edgar. *Biomaterials*, 2012, 33(11): 3279-3305.
- [17] S N Pawar, K J Edgar. *Biomacromolecules*, 2011, 12(11): 4095-4103.
- [18] S K Tam, J Dusseault, S Bilodeau et al. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2011, 98(1): 40-52.
- [19] M Otterlei, K Ostgaard, G Skjakbraek et al. *J. Immunother.*, 1991, 10(4): 286-291.
- [20] U Zimmermann, G Klock, K Federlin et al. *Electrophoresis*, 1992, 13(5): 269-274.
- [21] J Dusseault, S K Tam, M Menard et al. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2006, 76(2): 243-251.
- [22] J Lee, K Y Lee. *Pharm. Res.*, 2009, 26(7): 1739-1744.
- [23] S C Chen, Y C Wu, F L Mi et al. *J. Control. Rel.*, 2004, 96(2): 285-300.
- [24] Y Wang, X Wang, L Li et al. *RSC Adv.*, 2014, 4(47): 24810-24815.
- [25] 高春梅, 柳明珠, 吕少瑜 等. *化学进展*, 2013, (06): 1012-1022.
- [26] I Donati, S Holtan, Y A Morch et al. *Biomacromolecules*, 2005, 6(2): 1031-1040.
- [27] Y A Morch, I Donati, B L Strand et al. *Biomacromolecules*, 2006, 7(5): 1471-1480.
- [28] R Russo, M Malinconic, G Santagata. *Biomacromolecules*, 2007, 8(10): 3193-3197.
- [29] S M Selimoglu, M Elibol. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 2010, 30(2): 145-159.
- [30] X D Liu, W Y Yu, Y Zhang et al. *J. Microencaps.*, 2002, 19(6): 775-782.
- [31] H Yao, H Yao, J Zhu et al. *Int. J. Pharm.*, 2012, 422(1-2): 211-219.
- [32] G S Zheng, X D Liu, X L Wang et al. *Macromol. Biosci.*, 2014, 14(5): 655-666.
- [33] A C Lima, P Batista, T A Valente et al. *Tissue Eng. Part A*, 2013, 19(9-10): 1175-1187.

- [34] H Hirama, T Kambe, K Aketagawa et al. *Langmuir*, 2013, 29(2): 519~524.
- [35] S A Theron, E Zussman A L Yarin. *Polymer*, 2004, 45(6): 2017~2030.
- [36] C D Saquing, C Tang, B Monian et al. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2013, 52(26): 8692~8704.
- [37] Y Liu, S Sakai, M Taya. *J. Biosci. Bioeng.*, 2012, 114(3): 353~359.
- [38] M Hu, R Deng, K M Schumacher et al. *Biomaterials*, 2010, 31(5): 863~869.
- [39] I Liakos, L Rizzello, D J Scurr et al. *Int. J. Pharm.*, 2014, 463(2): 137~145.
- [40] M A de Moraes, M F Silva, R F Weska et al. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, 2014, 40: 85~91.
- [41] H Y Song, W T Yu, X D Liu et al. *Carbohydr. Polym.*, 2014, 108: 10~16.
- [42] T Sato, A Kochi, Y Shirotsaki et al. *J. Ceram. Soc. Jpn.*, 2013, 121(1417): 775~781.
- [43] S Cai, M Zhao, Y Fang et al. *Food Hydrocolloid*, 2014, 39: 295~300.
- [44] Y Han, Q Zeng, H Li et al. *Acta Biomater.*, 2013, 9(11): 9107~9117.
- [45] X D Liu, D C Bao, W M Xue et al. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2003, 87(5): 848~852.
- [46] H Liu, C Wang, Q Gao et al. *Int. J. Pharm.*, 2008, 351(1-2): 104~112.
- [47] S J Bidarra, C C Barrias, K B Fonseca et al. *Biomaterials*, 2011, 32(31): 7897~7904.
- [48] V Javvaji, A G Baradwaj, G F Payne et al. *Langmuir*, 2011, 27(20): 12591~12596.
- [49] J Cui, M Wang, Y Zheng et al. *Biomacromolecules*, 2013, 14(5): 1251~1256.
- [50] C K Kuo, P X Ma. *Biomaterials*, 2001, 22(6): 511~521.
- [51] Y Suzuki, Y Nishimura, M Tanihara et al. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1998, 39(2): 317~322.
- [52] A F Thünemann, M Müller, H Dautzenberg et al. *Adv. Polym. Sci.*, 2004, 166: 113~171.
- [53] R C Nagarwal, R Kumar, J K Pandit. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2012, 47(4): 678~685.
- [54] K L Douglas, M Tabrizian. *J. Biomat. Sci.-Polym. E.*, 2005, 16(1): 43~56.
- [55] M L Huguet, R J Neufeld, E Dellacherie. *Proc. Biochem.*, 1996, 31(4): 347~353.
- [56] Y J Hong, M S Lee, J C Kim. *J. Ind. Eng. Chem.*, 2011, 17(3): 410~414.
- [57] Y Cao, X C Shen, Y Chen et al. *Biomacromolecules*, 2005, 6(4): 2189~2196.
- [58] S Gao, C Wu, K Nishinari. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2008, 108(5): 2825~2832.
- [59] C Y Wang, H X Liu, Q X Gao et al. *Carbohydr. Polym.*, 2008, 71(3): 476~480.
- [60] P Matricardi, C Di Meo, T Coviello et al. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2013, 65(9): 1172~1187.
- [61] M R de Moura, F A Aouada, M R Guilherme et al. *Polym. Test.*, 2006, 25(7): 961~969.
- [62] J Shi, N M Alves, J F Mano. *Macromol. Biosci.*, 2006, 6(5): 358~363.
- [63] C Wen, L Lu, X Li. *Macromol. Mater. Eng.*, 2014, 299(4): 504~513.
- [64] V Dhanapal, K Subramanian. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2014:
- [65] I L Andresen, O Skipnes, O Smidsrød et al. 1977, 48: 361~381.
- [66] N Gogoi, D Chowdhury. *J. Mater. Chem. B*, 2014, 2(26): 4089.
- [67] C O Illanes, E Quiroga, G E Camí et al. *Biochem. Eng. J.*, 2013, 70: 23~28.
- [68] B A Harper, S Barbut, L T Lim et al. *J. Food Sci.*, 2014, 79(4): E562~567.
- [69] H V Sæther, H K Holme, G Maurstad et al. *Carbohydr. Polym.*, 2008, 74(4): 813~821.
- [70] M Abrami, I D'Agostino, G Milcovich et al. *Soft Matter*, 2014, 10(5): 729~737.
- [71] B R Alexander, K E Murphy, J Gallagher et al. *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, 2012, 100(2): 425~431.
- [72] B Sarker, D G Papageorgiou, R Silva et al. *J. Mater. Chem. B*, 2014, 2(11): 1470~1482.
- [73] B Benli. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2013, 128(6): 4172~4180.
- [74] H S Samanta, S K Ray. *Carbohydr. Polym.*, 2014, 99: 666~678.
- [75] A Saarai, V Kasparkova, T Sedlacek et al. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, 2013, 18: 152~166.
- [76] A M Zhu, J Hua Chen, Q L Liu et al. *J. Appl. Polym. Sci.*, 2011, 120(4): 2374~2380.
- [77] Z Wu, Y He, L Chen et al. *Carbohydr. Polym.*, 2014, 110: 259~267.
- [78] C Xiao, F Sun. *Carbohydr. Polym.*, 2013, 98(2): 1366~1370.
- [79] J S Yang, Q Q Zhou, W He. *Carbohydr. Polym.*, 2013, 92(1): 223~227.
- [80] J Zhao, B Guo, P X Ma. *RSC Advances*, 2014, 4(34): 17736~17742.
- [81] C C Yu, J J Chang, Y H Lee et al. *Mater. Lett.*, 2013, 93: 133~136.
- [82] K Zhao, G Cheng, J Huang et al. *React. Funct. Polym.*, 2008, 68(3): 732~741.
- [83] J J Chang, Y H Lee, M H Wu et al. *Carbohydr. Polym.*, 2012, 87(3): 2357~2361.
- [84] L Fan, L Jiang, Y Xu et al. *Carbohydr. Polym.*, 2011, 83(4): 1797~1803.
- [85] A Khames, A H Abdelazeem, M Habash et al. *Pharm. Dev. Technol.*, 2014, 19(7): 881~890.