

# 交联壳聚糖薄膜及其水凝胶骨架片的制备与控释性能探讨

司徒文贝, 梁妍, 陈晓玲, 徐能莉

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510640)

**摘要:** 针对活性物质生物利用度提高这一热点问题, 本文以三聚磷酸钠为交联剂, 研究了交联壳聚糖薄膜的相关结构性能, 探讨了交联壳聚糖水凝胶骨架片对活性物质的控释性能。壳聚糖来源广泛、生物相容性好, FT-IR-ATR 分析显示, 通过交联反应壳聚糖薄膜上引入一定基团, 增强了薄膜的三维网络结构, 从而使其具有一定的溶胀吸水性能。同时, 交联后的壳聚糖薄膜耐酸性能明显提升, 通过扫描电镜观察, 交联壳聚糖薄膜经模拟胃液运转后表面仍然致密, 无破损, 具有作为活性物质载体材料的潜质。另外, 以 5-ASA 为模型活性物质, 通过压制得到交联壳聚糖水凝胶骨架片, 在模拟释放实验中, 5-ASA 在胃液中 0.5~1 h 的释放率明显降低。研究结果显示, 交联改性壳聚糖在活性物质传递及药物控释等领域都具有良好的应用前景。

**关键词:** 壳聚糖; 水凝胶; 控制释放; 三聚磷酸钠

文章编号: 1673-9078(2017)8-155-160

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.8.023

## Preparation and Study of the Controlled Release Properties of Crosslinked Chitosan Film and its Hydrogel Matrix Tablet

SITU Wen-bei, LIANG Yan, CHEN Xiao-ling, XU Neng-li

(College of Food Sciences and Technology, South China Agricultural University, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** The bioavailability enhancement of bioactive compounds is an interesting research topic. Sodium tripolyphosphate (STPP) was used as a cross-linking agent to study the structural properties of crosslinked chitosan film and the controlled release property of a crosslinked chitosan-based hydrogel matrix tablet. Chitosan has an abundant source and good biocompatibility. Fourier transform infrared spectroscopy-attenuated total reflectance (FT-IR-ATR) analysis showed that some chemical groups were introduced to chitosan film via crosslinking reactions, which improved the strength of the three-dimensional network structure, and endowed the film with certain swelling and water absorption properties. Meanwhile, the acid resistance of the chitosan film was significantly improved after crosslinking; scanning electron microscopy showed that after transport in simulated gastric fluid (SGF), the surface of the crosslinked chitosan film was still compact with no damage, and it had the potential to be a carrier material for bioactive substances. Moreover, 5-aminosalicylic acid (5-ASA) was used as a model bioactive compound, and a crosslinked chitosan-based hydrogel matrix tablet was prepared by compression. In the simulated release experiment, the release rate of 5-ASA in SGF was dramatically reduced. These results suggest that chitosan crosslinked with STPP could have a wide range of applications in the transport of bioactive substances and the controlled release of drugs.

**Key words:** chitosan; hydrogels; controlled delivery; sodium tripolyphosphate

随着人民对生活品质的追求越来越高, 具有特殊生理调节作用的活性物质备受人们的关注, 因此对于含有这些物质的功能食品及相关制剂的需要也越来越高。但由于人体消化道的生理及消化吸收的特点以及活性物质半衰期段、易降解等因素的制约, 尽可能的发挥此类活性蛋白的生理作用是此类产品所面临的关

键性问题<sup>[1,2]</sup>。针对这一关键性问题通常借助一定的载体材料, 利用载体材料与活性物质进行包埋或微囊化, 从而减少其在人体上消化道中不必要的失活<sup>[3]</sup>。目前, 乳清蛋白、醇溶蛋白、果胶、淀粉和壳聚糖等天然大分子物质均有用作活性物质传输的载体材料的相关研究<sup>[4-6]</sup>。

壳聚糖是甲壳素的 N-脱乙酰基产物, 来源广泛, 具有良好的生理活性, 可生物降解, 安全无毒, 其氮原子上带有一对未共用的电子, 能从周围体系中结合一个氢离子, 使壳聚糖成为带阳离子的聚电解质, 破

收稿日期: 2017-07-29

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31601422)

作者简介: 司徒文贝 (1987-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 活性物质控释传输

壳聚糖分子间和分子内的氢键,使之溶于水<sup>[7]</sup>,利用壳聚糖的带电性能可用于对活性物质的传递<sup>[8,9]</sup>。此外,还可对壳聚糖进行改性处理,如交联改性<sup>[10,11]</sup>、磁性化<sup>[12]</sup>和脉冲电场改性<sup>[13]</sup>等,而交联改性壳聚糖具有一定的溶胀性能,可形成较容易被人们接受的水凝胶。交联改性壳聚糖可使用甲醛和戊二醛等试剂,但存在毒性以及安全问题,此外三聚磷酸钠和六偏磷酸钠等无机试剂亦可作为交联剂,用于改性壳聚糖。

本研究采用三聚磷酸为交联剂、分子量为 150000 的壳聚糖为原料,进行交联壳聚糖水凝胶骨架片的相关实验。由于对壳聚糖水凝胶骨架片外层的衣膜材料难以进行直接研究,因此通过薄膜实验,对交联壳聚糖薄膜的溶胀性、耐酸性、分子链结构以及表面形貌等进行研究,在此基础上进一步制备交联壳聚糖水凝胶骨架片,并研究其控释释放机理,为交联壳聚糖作为活性物质传递的载体材料提供基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

壳聚糖:上海楷洋生物技术有限公司,分子量 150000;三聚磷酸钠(STPP):天津市大茂化学试剂厂,分析纯;盐酸:广州化学试剂厂,分析纯;5-氨基水杨酸(5-ASA):山东西亚化学工业有限公司,药用级;微晶纤维素:山东西亚化学工业有限公司,药用级;药用淀粉:曲阜市天利药用辅料有限公司,药用级。

### 1.2 主要仪器设备

电子天平:梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司,ME204/02;冷冻干燥机:上海爱朗仪器有限公司,FDU-1200;磁力搅拌器:金坛市城东新瑞仪器厂,HJ-6;恒温水浴振荡器:常州澳华仪器有限公司,SHA-BA;压片机:上海减压器厂有限公司,量程 0~40 MPa;台式高速离心机:湖南赫西仪器装备有限公司,H/T16MM;紫外分光光度仪:上海美谱达仪器有限公司;电子扫描显微镜:德国 Zeiss 公司,EVO18。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 交联壳聚糖薄膜的制备

称取一定量的壳聚糖,溶解于 100 mL、1% 乙酸溶液中,磁力搅拌 1 h;充分溶解的壳聚糖溶液,倒于一定大小的平板(23 cm×16 cm),置于 45 °C 的烘箱中烘干 12 h;将烘干后的壳聚糖薄膜浸泡于一定浓度的三聚磷酸钠(STPP)溶液中,交联一定时间,交联结

束后,调整溶液 pH 至 4.5,取出壳聚糖薄膜,用蒸馏水清洗干净,置于 45 °C 的烘箱中烘干 12 h。

#### 1.3.2 交联壳聚糖薄膜溶胀性能的测定

称取 0.100 g 交联壳聚糖薄膜( $W_0$ ),置于 20 mL 蒸馏水中,放于 100 r/min 摇床中,2 h 后将薄膜取出,用吸水纸擦去表面的水珠,称量溶胀后的壳聚糖薄膜的重量( $W_1$ ),比较壳聚糖薄膜溶胀前后重量的差异( $W_1-W_0$ ),计算壳聚糖薄膜的溶胀率。

$$\text{溶胀率}(\%)=(W_1-W_0)/W_0 \times 100\%$$

#### 1.3.3 交联壳聚糖薄膜耐酸性能的测定

选取不交联以及 STPP 浓度为 1%、2% 和 4% 交联所得的壳聚糖薄膜,称取 0.200 g 所选用的薄膜( $W_a$ ),分别放置在 50 mL、pH 1.2 的模拟人工胃液(移取 7.0 mL 盐酸于 1000 mL 容量瓶中,用蒸馏水定容)中,置于 100 r/min,37 °C 的摇床中,分别间隔 10 min、30 min、60 min、90 min 和 120 min,将薄膜取出,在 60 °C 下烘干,称量( $W_b$ ),比较前后壳聚糖的重量变化,计算壳聚糖薄膜的溶解率。

$$\text{溶解率}(\%)=(W_a-W_b)/W_a \times 100\%$$

#### 1.3.4 交联壳聚糖薄膜的 FTIR-ATR 分析

交联壳聚糖薄膜在 105 °C 干燥 2 h 后,置于 ATR 附件上,用压头压紧,使薄膜材料的被测试表与浸提表面紧密接触。以空气为背景,扫描 600  $\text{cm}^{-1}$  到 4000  $\text{cm}^{-1}$ ,分辨率为 4  $\text{cm}^{-1}$ ,扫描 32 次。所得谱图进行基线校正处理。

#### 1.3.5 壳聚糖水凝胶骨架片的制备及其释放性能

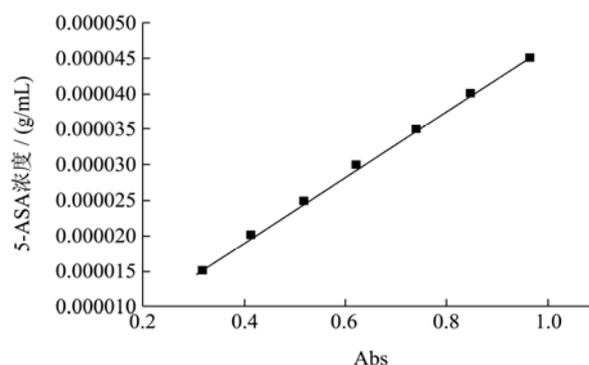


图 1 5-ASA 在模拟胃液中含量的标准曲线

Fig.1 5-ASA standard curve in simulated gastric fluid (SGF)

称取一定量的 5-ASA、药用淀粉和微晶纤维素(微晶纤维素和药用淀粉的比例为 3:1,有效成分 5-ASA 占总重量的 20%),混合均匀,通过压制,制成内芯片;再分别称取 2 份 0.12 g 的壳聚糖材料粉末,两面压制,将药物压制在片剂内部。

称取 1.00 g 含有 5-ASA 的壳聚糖水凝胶骨架片,置于 200 mL 模拟胃液(pH 1.2 盐酸溶液)2 h,37 °C

下 100 r/min 振荡, 进行模拟胃部运转, 分别在运转的第 0.5、1 和 2 h 对溶出介质进行取样, 每次取样 5 mL, 并同时补充 5 mL 相同的溶出介质。利用紫外分光光度计, 在 302 nm 下测定 5-ASA 的吸光值, 根据标曲, 计算 5-ASA 中的累积释放率。

模拟胃液作为空白对照, 在 302 nm 波长处测定不同浓度的 5-ASA 标准溶液的吸光度 Abs, 以 5-ASA 的浓度与吸光度 Abs 的关系曲线, 得到模拟胃液中 5-ASA 的浓度 Y 与吸光度 Abs 的关系:  $Y=0.00005Abs+0.000009$  ( $R^2=0.99991$ )。

### 1.3.6 壳聚糖薄膜及水凝胶骨架片的微观形貌表征

根据实验需要选择一定条件下获得的壳聚糖薄膜及水凝胶骨架片, 固定于样品台上, 在真空条件下喷金处理, 利用扫描电子显微镜进行观察, 在电压 10 kV 的条件下, 放大 100~5000 倍, 拍摄具有代表性的壳聚糖薄膜表面的形貌照片。

### 1.3.7 数据统计

实验数据通过 SPSS 软件, 经过单因素方差分析处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 交联壳聚糖薄膜的溶胀性能分析

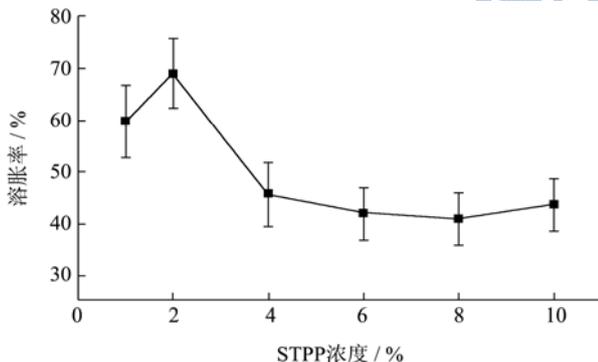


图2 三聚磷酸钠溶液的浓度对交联壳聚糖薄膜溶胀性能的影响

Fig.2 Effect of STPP concentration on the swelling rate of crosslinked chitosan film

随着 STPP 浓度的增加, 交联壳聚糖薄膜的溶胀率呈现先增后逐渐减少的趋势; STPP 溶液浓度为 2% 时, 溶胀率最高 68.91%。交联剂浓度较低时, 壳聚糖中的-NH<sub>3</sub> 与三聚磷酸钠的-OP 基团没有交联完全, 且壳聚糖薄膜空间位阻较小, 容易溶胀, 因此 1% STPP 交联薄膜溶胀率较高。随着 STPP 浓度升高, 交联反应促使壳聚糖薄膜中的三维网络结构趋于完善, 因此薄膜溶胀率升高。当 STPP 浓度增加到一定程度, 由

于壳聚糖薄膜表面不断进行交联, 新形成的交联结构逐渐形成空间位阻, 水分子难以渗透, 从而薄膜溶胀率降低。

在 STPP 浓度为 2% 条件下, 壳聚糖用量为 0.5 g 时, 溶胀率最低, 溶胀率为 30.02%; 随着壳聚糖用量增加, 薄膜溶胀率逐渐增加, 在 60%~70% 之间。

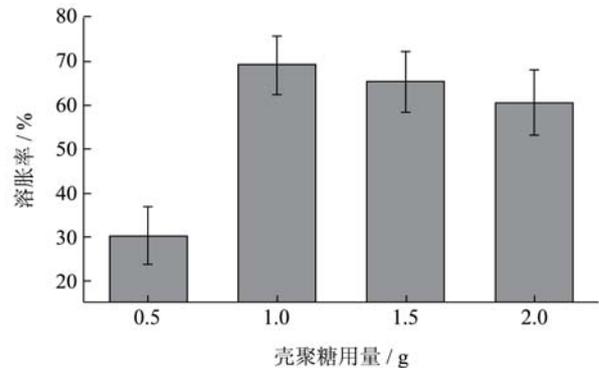


图3 壳聚糖用量对交联壳聚糖薄膜溶胀性能的影响  
Fig.3 Effect of chitosan content on the swelling rate of crosslinked chitosan film

壳聚糖用量为 0.5 g 时, 溶胀率最低, 溶胀率为 30.02%; 随着壳聚糖用量增加, 薄膜溶胀率在 60%~70% 之间。当壳聚糖用量较低, 所得薄膜中的交联结构数量不足, 薄膜的刚性和强度有限, 薄膜持水力度不足。随着壳聚糖用量增加, 壳聚糖中的-NH<sub>3</sub> 与三聚磷酸钠的-OP 基团反应充分, 薄膜交联后, 其中的三维网络结构具有一定的刚性, 当吸水溶胀时, 具有一定的持水力, 因此交联壳聚糖薄膜的溶胀率升高。在 STPP 浓度一定的情况下, 参与交联反应的-OP 基团数量一定, 交联反应达到一定程度, 所形成的三维网络结构不再增加, 薄膜的溶胀率相差不大。

### 2.2 交联壳聚糖薄膜的耐酸性能分析

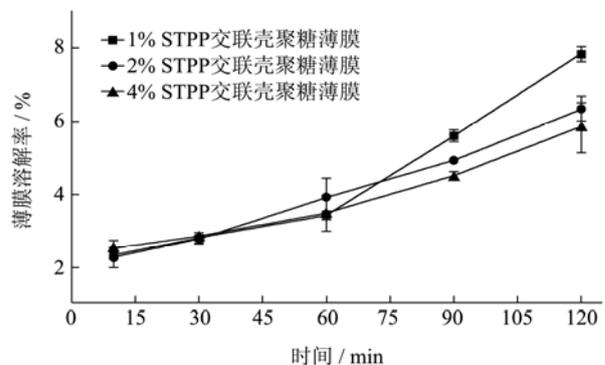


图4 交联壳聚糖膜在人工模拟胃液中的溶解情况

Fig.4 Dissolution of crosslinked chitosan film in SGF

活性物质要发挥其生理作用, 需要传递至人体中的靶部位。目前, 活性物质传送到人体各部位有多种途径, 但口服由于具有多种优势是功能食品及药物控

释领域常采用的方式。根据人体消化道的生理特点，食物会在胃部停留 1~2 h，经胃酸 (pH 1.2) 和胃蛋白酶的充分消化后再转运至小肠。同时由于胃部的生理特点，活性物质在其中极易失活，因此需要具有耐酸性能的载体材料进行包载。

为考察交联壳聚糖的耐酸性能，将其置于模拟胃液中浸泡 2 h，结果显示 3 种不同 STPP 浓度制备的交联壳聚糖薄膜在胃酸浸泡前期 (10~60 min)，薄膜溶解率较接近，溶解率约在 2%~4%。浸泡结束后，1% STPP 交联壳聚糖薄膜溶解率约为 8%，其余交联壳聚糖薄膜溶解率约为 6%。在酸性条件下，壳聚糖分子链中未参与交联的氨基发生质子化，此外壳聚糖氨基与交联剂离子基团之间的静电相互作用容易受到破坏，交联壳聚糖薄膜有少量溶解。

### 2.3 交联壳聚糖薄膜的 FT-IR-ATR 分析

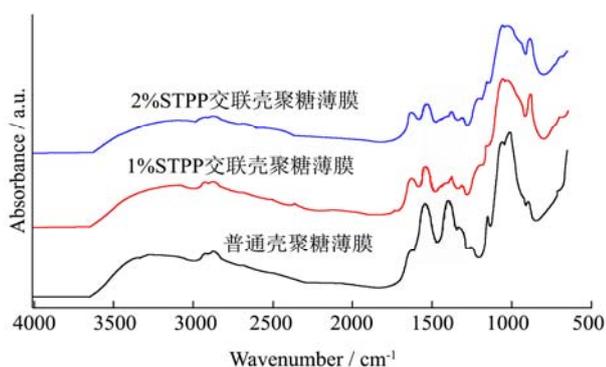


图5 壳聚糖薄膜材料的 FT-IR-ATR 光谱图

Fig.5 FT-IR-ATR spectra of chitosan film

图 5 是普通壳聚糖薄膜、1% STPP 交联壳聚糖薄膜和 2% STPP 交联壳聚糖薄膜 FT-IR-ATR 光谱图。有壳聚糖薄膜的谱图可知，在 3201 cm<sup>-1</sup> 处的宽峰为羟基和氨基的伸缩振动峰；2921.7 cm<sup>-1</sup> 附近为 C-H 伸缩振动峰；1544.7 cm<sup>-1</sup> 为 N-H 的变形振动峰；1018.2 cm<sup>-1</sup> 和 1153.2 cm<sup>-1</sup> 为 C-OH 的振动峰；896.8 cm<sup>-1</sup> 为 β 型多糖的 C<sub>1</sub>-H 的吸收峰，此外在 1402 cm<sup>-1</sup>、1334 cm<sup>-1</sup> 和 1060.7 cm<sup>-1</sup> 的吸收峰，说明壳聚糖中仍存有少量的乙酰胺基<sup>[14]</sup>。

与普通壳聚糖薄膜相比，经交联后的薄膜在 1550 cm<sup>-1</sup> 处壳聚糖上 N-H 的特征吸收谱带峰值明显减弱，主要由于壳聚糖上的氨基与三聚磷酸钠中的磷酸根之间有较强烈的静电相互作用。反映壳聚糖分子内和分子间的氢键作用情况的 3200 cm<sup>-1</sup> 处，壳聚糖分子中 N-H 和 O-H 伸缩振动的吸收谱带，在交联后，吸收谱带变宽，说明交联后增加了壳聚糖分子的氢键作用力。此外，交联膜在 800~1000 cm<sup>-1</sup> 出现了吸收峰，为 P-O-C 键的伸展振动。FT-IR-ATR 谱图说明，交联壳聚糖薄

膜通过静电相互作用和氢键作用力，作用于壳聚糖分子链上的氨基官能团和壳聚糖分子上的 C-H 键，以此形成一定的三维网络结构。

### 2.4 交联壳聚糖薄膜的微观形貌

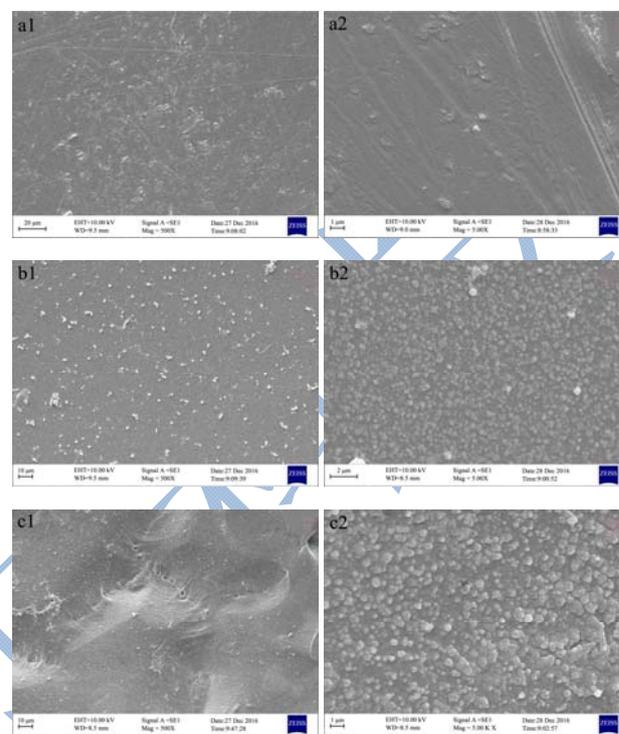


图 6 吸水前壳聚糖薄膜材料的微观形貌 (SEM)

Fig.6 Microstructure of chitosan film before water absorption (SEM)

注：其中，a 为普通壳聚糖薄膜，b 为 1% STPP 溶液交联壳聚糖薄膜，c 为 2% STPP 溶液交联壳聚糖薄膜。

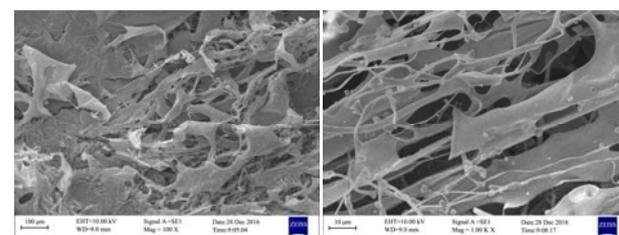


图 7 吸水后普通壳聚糖薄膜的微观形貌

Fig.7 Microstructure of chitosan after water absorption (SEM)

注：左图 100×，右图 1000×。

未交联的壳聚糖薄膜在吸水前，表面平整、无沟壑。在放大 5000 倍后，薄膜仍然平整，无明显凸起。而交联壳聚糖薄膜，在 500 倍下进行观察，薄膜表面有不规则的凸起，随着进一步放大倍数 (5000 倍)，可以观察到薄膜表面有密集的鼓包，而且随着交联浓度的增加，鼓包的密集程度越大。

未交联壳聚糖薄膜吸水后完全断裂，呈乱絮状 (图 7)，1% STPP 溶液交联壳聚糖薄膜表面形成了一

定的颗粒物质,并存在些细微破裂的孔洞,而2% STPP 溶液交联的薄膜吸水后无破裂仍能保持完整;同时,由于交联反应程度的增加,2% STPP 交联的薄膜表面皱缩形成密集膜泡。

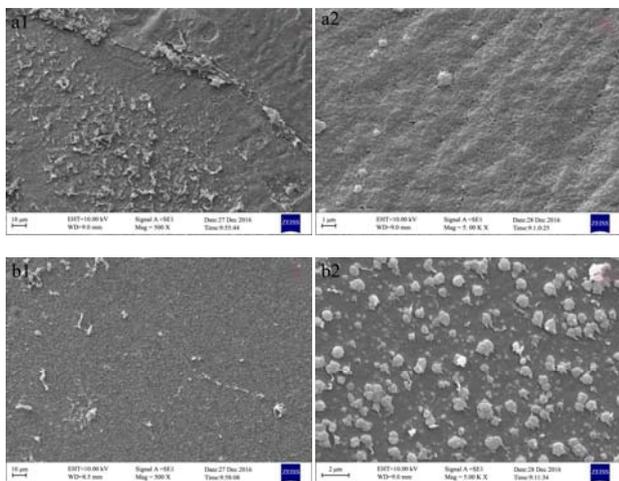


图8 吸水后壳聚糖薄膜材料的微观形貌 (SEM)

Fig.8 Microstructure of crosslinked chitosan after water absorption (SEM)

注: 其中, a 为 1% STPP 溶液交联壳聚糖薄膜, b 为 2% STPP 溶液交联壳聚糖薄膜。

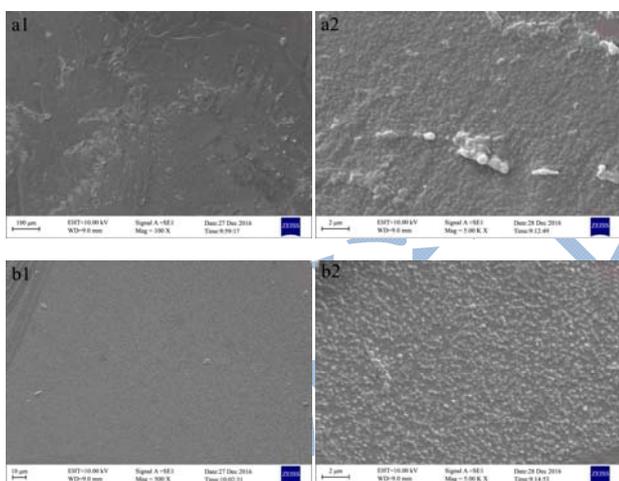


图9 经模拟胃液浸泡后交联壳聚糖薄膜的微观形貌 (SEM)

Fig.9 Microstructure of crosslinked chitosan after immersion in SGF (SEM)

注: 其中, a 为 1% STPP 溶液交联壳聚糖薄膜, b 为 2% STPP 溶液交联壳聚糖薄膜。

结合交联薄膜的吸水溶胀的数据,经 1% STPP 溶液交联的壳聚糖薄膜,其表面分子之间联接后存在细微空隙允许水分子自由进出,而 2% STPP 溶液交联的壳聚糖薄膜能在其表面形成良好的三维网络结构,薄膜表面均匀致密,水分子进入薄膜后,由于薄膜致密的三维网络结构而停留在其中,溶胀率较高。

1% STPP 交联的壳聚糖薄膜经模拟胃液浸泡后,

薄膜表面原有的颗粒逐渐消失,表面不平整。2% STPP 交联的壳聚糖薄膜没有出现溶解的现象,薄膜表面仍有细密的微小颗粒,但颗粒逐渐变小。因此,交联后的壳聚糖薄膜具有一定抵御胃酸的能力,具有作为活性物质载体材料的潜力。

## 2.5 水凝胶骨架片的释放性能

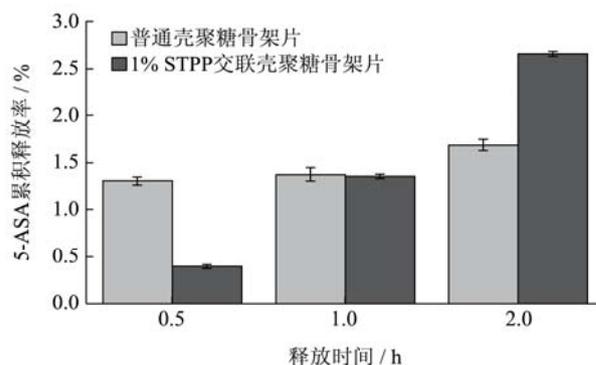


图10 壳聚糖水凝胶骨架片在模拟人工胃液中的释放情况

Fig.10 5-ASA release rate of chitosan-based hydrogel matrix tablet in SGF

活性物质的传递形式众多,如微球<sup>[15]</sup>、纳米脂质体<sup>[16]</sup>和骨架片<sup>[17]</sup>等。本实验借助交联壳聚糖吸水溶胀及耐酸等特性,以 5-ASA 为模型活性物质,制备水凝胶骨架片,考察其在胃液中的释放情况。

如图 10,以普通壳聚糖为外层的水凝胶骨架片,在 0.5 h 时的释放率为 1.30%,在 1 h 后累计释放率为 1.37%,2 h 后有 1.68% 的累计释放率。而以 1% STPP 交联壳聚糖为外层的水凝胶骨架片,在 0.5 h 时的释放率为 0.41%,在 1 h 后累计释放率为 1.35%,2 h 后有 2.65% 的累计释放率。从实验结果可以看出,在释放初期 (0.5 h),1% STPP 交联壳聚糖水凝胶骨架片 5-ASA 释放率不到 0.5%,低于同一时间的普通壳聚糖水凝胶骨架片。在释放后期,1% STPP 交联壳聚糖水凝胶骨架片中的 5-ASA 逐渐释放,释放率大于普通壳聚糖水凝胶骨架片。

## 2.6 水凝胶骨架片的表面形貌

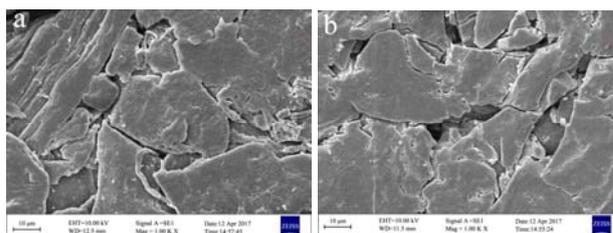


图11 水凝胶骨架片模拟胃液运转前表面形貌图

Fig.11 Surface morphology of hydrogel matrix tablet before SGF immersion

注: a 表示壳聚糖; b 表示 1% STPP 交联壳聚糖。

如图 11, 水凝胶骨架片未经模拟胃液运转, 其表面存在一定沟壑, 由于片剂通过压片制备, 其表面略有不平, 但由于 5-ASA 存在于内芯中再由外壳包被, 外表面并无药物暴露, 能较好的保护内芯, 可避免其在消化吸收过程中提前在胃液中大量消耗。如图 12, 在模拟胃液中运转 2 h 后, 普通壳聚糖为外壳的水凝胶骨架片表面形成乱絮, 孔隙增大, 而 1% STPP 交联壳聚糖为外层的水凝胶骨架片则外形皱缩, 片剂表面有一定的沟壑和空隙。

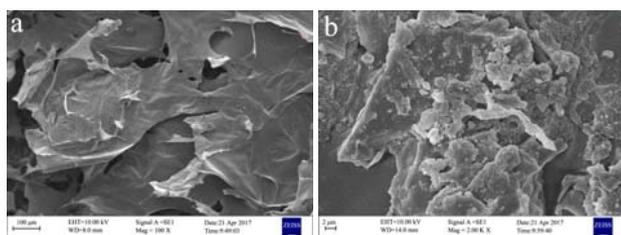


图 12 水凝胶骨架片模拟胃液运转后表面形貌图

Fig.12 Surface morphology of hydrogel matrix tablet after SGF immersion

注: a 表示壳聚糖; b 表示 1% STPP 交联壳聚糖。

结合水凝胶骨架片在模拟胃液中的释放数据, 普通壳聚糖为外壳的水凝胶骨架片, 虽然在释放过程中, 外层壳聚糖逐渐发生溶解, 产生较大孔隙, 但所形成的絮状物在溶解过程中吸收释放介质中的水分, 形成一定厚度的凝胶层, 减缓了 5-ASA 与胃酸的直接接触, 在释放后期减缓其释放。而 1%STPP 交联壳聚糖为外层的水凝胶骨架片, 外层的载体材料有一定的耐酸性, 在释放前期能较好的控制 5-ASA 的释放。在释放后期, 由于改性后的壳聚糖载体材料空间结构发生转变, 片剂表面所形成的凝胶层存在缺陷, 部分区域内芯暴露, 致使 5-ASA 释放率升高明显。

### 3 结论

本研究结果表明, 以三聚磷酸钠为交联剂的交联壳聚糖, 通过引入一定化学基团, 促使壳聚糖交联, 能良好地抵御胃酸的侵蚀, 具有作为活性物质载体材料的潜质。同时, 通过压制得到的交联壳聚糖水凝胶骨架片, 交联壳聚糖能明显降低 5-ASA 在胃液中前期的释放率, 显示出了其对活性物质递送的能力。通过进一步对壳聚糖载体的微观结构的调整, 交联改性壳聚糖在功能食品及药物传输领域都具有广阔的应用前景。

### 参考文献

[1] M C Clements D J, Li Y. Structured emulsion-based delivery

systems: Controlling the digestion and release of lipophilic food components [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2010, 159(2): 213-228

[2] Rokka S, Rantamaki P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications [J]. *European Food Research and Technology*, 2010, 231(1): 1-12

[3] De Vos P, Faas M M, Spasojevic M, et al. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components [J]. *International Dairy Journal*, 2010, 20(4): 292-302

[4] McClements D J. Encapsulation, protection, and release of hydrophilic active components: Potential and limitations of colloidal delivery systems [J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2015, 219: 27-53

[5] Joye I J, Nelis V A, McClements D J. Gliadin-based nanoparticles: Stabilization by post-production polysaccharide coating [J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 43: 236-242

[6] Hasanvand E, Fathi M, Bassiri A, et al. Novel starch based nanocarrier for vitamin D fortification of milk: Production and characterization [J]. *Food and Bioproducts Processing*, 2015, 96: 264-277

[7] Suginta W, Khunkaewla P, Schulte A. Electrochemical biosensor applications of polysaccharides chitin and chitosan [J]. *Chemical Reviews*, 2013, 113(7): 5458-5479

[8] Li L, Wang L, Li J, et al. Insights into the mechanisms of chitosan-anionic polymers-based matrix tablets for extended drug release [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, 476(1-2): 253-265

[9] Onishi H, Tokuyasu A. Preparation and evaluation of enteric-coated chitosan derivative-based microparticles loaded with salmon calcitonin as an oral delivery system [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(19): 1546

[10] Shekhawat A, Kahu S, Saravanan D, et al. Tin(IV) cross-linked chitosan for the removal of As(III) [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 172: 205-212

[11] Bashir S, Teo Y Y, Naeem S, et al. pH responsive N-succinyl chitosan/Poly (acrylamide-co-acrylic acid) hydrogels and *in vitro* release of 5-fluorouracil [J]. *Plos One*, 2017, 12(7)

[12] Varshosaz J, Hassanzadeh F, Aliabadi H S, et al. Targeted delivery of doxorubicin to breast cancer cells by magnetic LHRH chitosan bioconjugated nanoparticles [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93: 1192-1205

[13] Luo W B, Han Z, Zeng X A, et al. Study on the degradation

- of chitosan by pulsed electric fields treatment [J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2010, 11(4): 587-591
- [14] Sun Y, Zhu C, Sun W, et al. Plasma-initiated polymerization of chitosan-based CS-g-P(AM-DMDAAC) flocculant for the enhanced flocculation of low-algal-turbidity water [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 164: 222-232
- [15] Pu H Y, Chen L, Li X X, et al. An oral colon-targeting controlled release system based on resistant starch acetate: synthetization, characterization, and preparation of film-coating pellets [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(10): 5738-5745
- [16] Zhao L, Temelli F, Curtis J M, et al. Preparation of liposomes using supercritical carbon dioxide technology: Effects of phospholipids and sterols [J]. *Food Research International*, 2015, 77(1): 63-72
- [17] Wang X, Li X, Chen L, et al. Preparation and characterisation of octenyl succinate starch as a delivery carrier for bioactive food components [J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(3): 1218-1225