

基于聚合物载体的益生菌递送系统：载体类型、性能评价及新技术应用

贾国超^{*}, 陈晓凤, 张军, 王岚, 职爱民, 陈文博, 李靖靖
(郑州工程技术学院化工食品学院, 河南郑州 450044)

摘要: 益生菌赋予宿主多种健康益处, 并可用于防治胃肠道和非胃肠道疾病, 例如腹泻、结肠癌、肥胖症、神经系统疾病、糖尿病和炎症等。然而益生菌在生产加工, 储存和消化过程中受各种环境因子作用进而影响其活菌存活率。如何最大限度的保持益生菌的活力和稳定性成为当前益生菌的研究热点之一。具有生物相容性和可降解性的聚合物可作为益生菌的给药载体, 能有效增强益生菌活性、延长储存时间、减少益生菌在胃部的损失, 甚至实现结肠和粘膜的靶向递送。该研究综述了当前封装益生菌聚合物载体的类型以及益生菌递送系统的评价方式, 并探讨了制备益生菌递送系统的新技术。结果表明有机结合递送系统新技术和多样化评估手段, 建立具有稳定性、功能性、安全性、有效性以及靶向能力的益生菌递送系统, 可实现对益生菌的高效递送, 将进一步促进多功能益生菌在食品或药物领域的应用。

关键词: 益生菌; 聚合物载体; 递送系统评价方式; 递送系统新技术

文章编号: 1673-9078(2022)07-338-344

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.7.1030

Polymer-based Delivery Systems for Probiotics: Carrier Type, Performance Evaluation and Application of New Technologies

JIA Guochao^{*}, CHEN Xiaofeng, ZHANG Jun, WANG Lan, ZHI Aimin, CHEN Wenbo, LI Jingjing

(Department of Chemical Engineering and Food, Zhengzhou Institute of Technology, Zhengzhou 450044, China)

Abstract: Probiotics confer a variety of health benefits on the host, and can be used to prevent and treat gastrointestinal and non-gastrointestinal diseases, such as diarrhea, colon cancer, obesity, neurological diseases, diabetes, and inflammation. However, the survival rates of probiotics are affected by various environmental factors in the process of production, processing, storage and digestion. How to maintain the vitality and stability of probiotics to the maximum extent has become one of the current probiotic research hotspots. Biocompatible and degradable polymers can be used as delivery carriers for probiotics, which can effectively enhance the activities of probiotics, prolong storage time, reduce the loss of probiotics in the stomach, and even achieve targeted delivery to the colon and mucosa. This article reviews the types of current polymer carriers for probiotics encapsulation, and the evaluation methods for probiotic delivery systems. New techniques for preparing probiotic delivery systems are also discussed. The results show that combining properly the new delivery system technologies with diversified evaluation methods allows the establishment of probiotic delivery systems with high stability, functionality, safety, effectiveness, and targeting capability. These new delivery systems can achieve efficient delivery of probiotics, which will further promote the application of multifunctional probiotics in food or pharmaceutical fields.

Key words: probiotics; polymer carrier; evaluation method of delivery system; new technology of delivery system

引文格式:

贾国超,陈晓凤,张军,等.基于聚合物载体的益生菌递送系统:载体类型、性能评价及新技术应用[J].现代食品科技,2022,38(7):338-344

JIA Guochao, CHEN Xiaofeng, ZHANG Jun, et al. Polymer-based delivery systems for probiotics: carrier type, performance evaluation and application of new technologies [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(7): 338-344

收稿日期: 2021-09-15

基金项目: 河南省高等学校重点科研项目 (22B550020); 郑州工程技术学院校内科研启动基金项目 (zggk202105); 河南省青年骨干教师项目 (2019GGJS272); 河南省本科高校省级大学生创新创业训练计划项目 (S202111068012); 食品科学与工程优秀基层组织项目 (教高[2020]393号)

作者简介: 贾国超 (1987-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 功能性益生菌, E-mail: jiaguochao2007@163.com

益生菌是一类摄入充足的活菌,能维护宿主机体微生态平衡、有益于机体健康的微生物,主要来源于乳杆菌属、乳球菌属、明串珠菌属、链球菌属、肠球菌属、双歧杆菌属和酵母菌属等^[1]。科技界与产业界在益生菌安全性、功效性和生产技术上开展了大量研究,发现益生菌能在保证安全性的前提下发挥多种益生功能,如抑制金黄色葡萄球菌、大肠杆菌等病原菌的生长或生物膜的形成,维持肠道菌群平衡,降低胆固醇水平,增强机体免疫功能,缓解便秘,改善骨质疏松症状等,为益生菌在保健食品领域中应用提供了重要科技支撑^[2-7]。目前,国内外市场上已陆续出现可缓解或治疗口腔疾病、胃肠道疾病、糖尿病、骨质疏松等多种疾病的商品化益生菌^[8]。此外,益生菌还被广泛应用于巧克力、涂抹酱、糖衣以及烘焙食品中。为了充分发挥益生菌的优越性能并达到维护机体健康效果,益生菌必须能耐受胃的低 pH 环境并保持足够

的数量和活性并顺利到达肠道(特别是大肠或结肠),尤其是用于烘焙食品中的益生菌对益生菌的性质要求更高,不仅要耐受烤箱高温,还需在食品货架期间保持稳定。但是益生菌的生产过程(温度、氧气和剪切力等)、储存过程(水分、氧气和与温度等)以及通过胃肠道的过程都会影响益生菌的活力,因此如何保持益生菌的高活性和稳定性显得非常重要^[9]。

具有生物相容性和可降解性的聚合物,可作为益生菌的给药载体(见表1),能增强益生菌活性、延长储存时间、减少益生菌在胃部的损失,甚至实现结肠和粘膜的靶向递送,为高活性益生菌在食品工业中的应用提供了巨大潜力。本文阐述了用于封装益生菌的聚合物载体类型、评价方式以及对基于聚合物载体的靶向益生菌递送系统存在的问题进行了分析与展望,以期对靶向益生菌递送系统在食品领域的相关研究及应用提供参考。

表1 用于递送益生菌的部分聚合物载体

Table 1 Part of polymer carrier for delivery of probiotics

递送载体	益生菌类型	封装技术	参考文献
聚赖氨酸-海藻酸微囊	植物乳杆菌 80	挤压/涂层	[10]
壳聚糖/羧甲基纤维素聚电解质复合物	嗜酸乳杆菌	静电自组装	[11]
壳聚糖/硫酸葡聚糖聚电解质复合物	布拉氏酵母菌	逐层组装	[12]
邻苯二甲酸醋酸纤维素微球	假长双歧杆菌	相分离-凝聚	[13]
聚乙烯醇纤维微囊	加氏乳杆菌	静电纺丝	[14]
乳清浓缩蛋白/普鲁兰多糖微胶囊	双歧杆菌动物亚种 Bb12	冷冻干燥/电喷雾	[15]
(淀粉甲酸酯/甘油)复合纤维微囊	副干酪乳杆菌	同轴静电纺丝	[16]
藻酸盐/鱼精蛋白复合微胶囊	干酪乳杆菌	共挤微流体	[17]
海藻酸盐/改性淀粉微胶囊	嗜酸乳杆菌和乳双歧杆菌	乳化	[18]

1 封装益生菌的聚合物载体

随着益生菌在食物基化合物和非食物基化合物的广泛应用,用于封装益生菌的各类聚合物因具有生物相容性、可生物降解、可加工且对益生菌中性等特点也受到研究者的普遍关注。目前这些聚合物主要分为酶敏感聚合物、氧化还原敏感聚合物、pH 敏感聚合物以及其他聚合物。

1.1 酶敏感聚合物

酶敏感聚合物是益生菌靶向递送的主要载体之一。直链淀粉、壳聚糖、硫酸软骨素、环糊精、右旋糖酐、菊粉、瓜尔豆胶、果胶和刺槐豆胶等多糖类物质均属于酶敏感聚合物,可用作载体将益生菌靶向递送至结肠^[19]。其主要机制是结肠中分泌了多种水解酶,如 β -D-半乳糖苷酶、 β -D-葡萄糖苷酶、糖苷酶、淀粉酶、果胶酶、葡聚糖酶和 α -D-木糖苷酶,这些酶

可切割多糖的糖苷键,因此具备这些糖苷键的多糖在胃和小肠中保持稳定,但在结肠中降解^[19,20]。壳聚糖是由 β -D-氨基葡萄糖和N-乙酰基-D-氨基葡萄糖随机分布组成的阳离子线性多糖,具有生物相容性、生物可降解性。此外壳聚糖还具有与阴离子聚合物以及带负电的粘膜表面相互作用的能力,适合作为载体应用于高活性益生菌食品和药品中。

1.2 氧化还原敏感聚合物

结肠菌群会产生还原酶,例如硝基还原酶,偶氮还原酶,N 氧化物还原酶,亚砷还原酶和氢化酶。与降解多糖的水解酶类似,这些酶也可以降解带有特定化学基团的聚合物载体,有效的释放靶向递送至结肠的“聚合物-益生菌”。最常见的还原酶是偶氮还原酶,它可以破坏含偶氮聚合物(如含偶氮的聚氨酯和偶氮聚合物水凝胶)中的偶氮键,进而控制益生菌从聚合物中释放的速度^[21]。利用硫代透明质酸的自交联特性

成功制备了包被鼠李糖乳杆菌的透明质酸水凝胶,该水凝胶对氧化还原敏感,可控释益生菌,能有效保护益生菌免受胃肠道胃酸、胆汁酸等胁迫,且对病原菌鼠伤寒沙门氏菌(ST)具备较好的抑制作用;该系统具备可控性好、稳定性强、生物相容性高等优点,并在肠炎小鼠模型中显示出较好的治疗效果,促进了多功能益生菌输送系统在食品或药物领域的应用^[22]。

1.3 pH 敏感聚合物

鉴于胃、小肠和结肠之间的 pH 存在明显差异,可以使用对 pH 敏感的聚合物将益生菌靶向递送至目标部位。这些聚合物可以在胃的酸性 pH 环境中保护益生菌,并在结肠和回肠中较高的 pH 环境中递送、释放益生菌。合成的 pH 敏感聚合物主要有丙烯酸衍生物,纤维素聚合物。Singh 等^[23]利用滴制法或喷制法在水介质中制备新型的羧甲基纤维素-壳聚糖聚合物颗粒,交联后的聚合物孔隙率和机械稳定性更高,在 pH 2.40 环境下稳定性强,而在 pH 7.40 条件下有效崩解。该壁材封装鼠李糖乳杆菌 LGG 胶囊后活菌存活率提高了 61.81%,可用于益生菌胶囊化及肠道递送系统。

值得注意的是,基于 pH 敏感型聚合物的输送系统有一些局限性。例如,受饮食、疾病等体内和体外多因素的影响,胃肠道的 pH 值会发生不同程度的变化。因此,不同类型递送聚合物(如 pH 敏感聚合物和酶敏感聚合物)的配伍组合是未来靶向益生菌递送系统的主要研究方向之一。

1.4 其他聚合物

具有两亲性质的蛋白质(如明胶,乳清蛋白和酪蛋白等)也是一类重要的聚合物,可用于封装益生菌。聚乳酸-羟基乙酸共聚物(PLGA)、聚丙烯酰胺和聚乙烯醇(PVA)等合成聚合物是也可用于递送益生菌,但因需要有机溶剂来溶解聚合物,限制了此类合成聚合物用在靶向益生菌递送系统中的应用。

2 递送手段的评价方式

优质的靶向益生菌递送系统是能够在胃和小肠等特殊生理环境中维持益生菌的完整性和活性,并在结肠等部位靶向释放益生菌。目前主要通过各种体外或体内释放效率评估实验来评估靶向益生菌递送系统的优劣。

2.1 溶出度实验

溶出度指活性益生菌、药物等从片剂、胶囊剂或

颗粒剂等制剂在规定条件下溶出速率和溶出程度。溶出度测试是评估靶向益生菌递送系统使用最广泛的方法之一,具有重复性好、精准度高等特点。最新的 Vision 溶出度仪系列可使用转篮法、桨法、桨-碟法、转筒法、小杯法、大杯法等来评估不同聚合物材料制备的靶向益生菌递送系统^[24]。目前常用动力学模型包括零阶模型、一阶模型、Higuchi 模型、Ritger-Peppas 模型和 Weibull 模型来研究负载在不同靶向载体中生物活性物质的释放机理^[24,25]。

体外溶出度实验过程中,常采用不同 pH 值的缓冲液来模拟胃肠液,然而该实验无法精准反映靶向益生菌递送系统在人类胃肠道的真正释放性能。近年来,相关学者添加胃蛋白酶、胰蛋白酶、和 β -葡萄糖苷酶等至模拟胃肠液中,或添加动物盲肠内容物或人类粪便至释放介质中进行递送系统体外释放研究,研究发现改良后释放介质中的包埋成分体外释放率显著升高^[24,26]。然而胃肠道非常复杂,即使存在相关的酶,模拟培养基也无法准确代表体内胃肠道的真实环境,因此选择合适的培养基以准确评估靶向载体中益生菌的释放曲线至关重要。

2.2 细胞实验

细胞体外模型实验也是评价益生菌递送系统的重要手段,如评估益生菌递送系统及释放的益生菌对正常细胞或癌细胞等的杀伤性能、免疫性能^[24]。也可通过构建细胞模型,评价聚合物载体保护益生菌或药物等活性物质在胃肠道被物理化学作用破坏的情况、细胞摄取方式的变化以及对胃肠道上皮紧密连接的作用等^[27]。如利用 Caco-2 细胞模型研究载体材料的毒性和及其被细胞吸收、外排机制,建立 MDCK 细胞单层跨膜转运模型,综合分析递送系统在细胞表面的吸附,被细胞内吞及跨膜转运机制^[28]。

2.3 成像实验

活体成像、荧光成像等成像技术为评价药物递送系统提供了一种高效、实时、直观的新方法,可评估所递送的生物活性物质的部位特异性、生理功效以及其释放行为^[24]。例如,利用多光谱荧光成像可以有效实现药物载体材料、负载药物、肿瘤细胞等的实时成像及监控,并可以实时动态揭示药物释放与疾病治疗效果的相关性,为更高效的药物递送系统设计提供研究基础^[29]。基于光学成像技术的益生菌体内示踪技术也可通过同一组实验动物对象在不同的时间点进行记录检测,示踪封装的益生菌在体内胃肠道的变化,避免了体外实验的繁琐,效率高且无创伤性^[30]。Nandy

等^[31]通过 X 射线成像技术评价结肠靶向递送系统在胃肠道的耐受性及崩解率,证实了该成像技术监测结肠靶向微球变化的可行性。除了上述成像技术外,还有相关研究使用荧光图像分析仪监测标记有 FITC 的微胶囊或藻酸盐-壳聚糖微球在体内的靶向递送轨迹^[32,33]。

2.4 离体实验

益生菌具有抑菌、抗炎、调节微生态平衡、分泌细菌素等多种功能^[34]。为了保护益生菌的活性及生物利用度,相关学者利用离体实验对靶向益生菌递送系统进行了大量研究,主要集中在利用组织切片、胃肠道离体组织培养等技术评估靶向益生菌递送系统的黏膜黏附特性及其负载的益生菌生物活性物质对肠道等患病器官的影响等方面^[35]。例如,Ramesh 等^[36]通过测定果胶和聚合体材料(聚乙烯吡咯烷酮)的离体黏膜黏附强度来研究其黏膜黏附特性。Ivanovska 等^[37]利用三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的大鼠结肠炎评估了“壳聚糖-Ca-藻酸盐”递送系统装载的“干酪乳杆菌 01+低聚果糖+菊粉”合生素的抗炎活性。病理切片结果表明装载在递送系统中的合生素在改善结肠黏膜炎性浸润、缓解结肠炎疾病方面显示出更好的疗效,MPO 活性值降低了 3.5 倍,初步表明递送系统显著改善干酪乳杆菌 01 的细胞的活力及其生物利用度。此外,通过离体胃肠道(胃、十二指肠、空肠、回肠和结肠)组织培养技术也表明基于乳清蛋白分离物 WPI 的微胶囊对 FITC 标记的发酵乳杆菌 39-183 具有出色的保护作用(成活率高于 86%),最大限度的弱化了胃酸的杀菌作用,并使到达回肠、结肠中益生菌的数量达到最大化^[24,38]。

3 益生菌递送系统新技术的应用

3.1 逐层涂覆技术

益生菌递送系统逐层涂覆技术是指益生菌微囊化之后,将其置于与壁材表面电荷相反的多种聚合物溶液中,在微囊粒子表面进行逐层涂覆,减少益生菌在高氧、高 pH 值等“恶劣”环境中的暴露^[39,40]。逐层涂覆技术原理是基于聚合物材料之间的氢键和静电相互作用。离子型水凝胶如藻酸盐等是封装益生菌常用的包被材料,但因壁材固有的理化特性容易导致封装的益生菌泄露,因此利用壳聚糖等基质进行二次涂覆,有效克服单一离子型水凝胶封装益生菌存在的缺陷。Cook 等^[41]将短双歧杆菌封装到藻酸盐基质中,并使用壳聚糖或聚赖氨酸对藻酸盐进行逐层包衣,利用壳聚

糖带正电荷的氨基与藻酸盐带负电荷的羧酸基之间的相互作用形成了更具保护性的外壳。经多层包被、封装后的短双歧杆菌的生存率从 3.00 lg CFU/mL 提高至 8.84 lg CFU/mL。此外多层包被的藻酸盐基质还表现出靶向递送至肠道的作用。Fareez 等^[42]利用藻酸钠/黄原胶/ β -环糊精/壳聚糖经涂层涂覆技术制备的聚合物表现出理想的益生菌载体的特征,如耐酸(pH 1.80),耐热(90 °C)并且能够在大肠(pH 6.80)定向释放,可增强对游离乳酸菌如植物乳杆菌 LAB12 抵抗恶劣环境;其中 β -环糊精还能增强 LAB12 降低胆固醇的能力。此外藻酸钠/壳聚糖与 MgO 等金属离子制备的益生菌递送系统还可有效降低微凝胶内孔隙率,抑制氧气对益生菌的侵蚀,增强益生菌的稳定性^[43,44]。虽然经逐层涂覆技术包埋的益生菌暴露到恶劣的环境时具有较高的稳定性和存活率,但是按照国标 GB 4789.35-2016 检测乳酸菌活菌总数时,其前处理方法无法破壁充分释放活菌,致使部分活菌受损或死亡进而影响检测结果。

3.2 聚电解质络合技术

利用正、负电荷聚电解质之间的静电作用建立聚电解质络合技术也是构建益生菌递送系统的重要技术之一。壳聚糖分子链上的伯氨基与海藻酸钠分子链上的羧基反应而形成的聚电解质络合物,Zacim 等^[45]将植物乳杆菌 PTCC1896 包埋在该络合物中制成微胶囊后,活菌数由 6.63 lg CFU/g 增加至 8.10 lg CFU/g,结果表明该微胶囊在储存和冰淇淋生产过程中显著提高了益生菌的存活率($p < 0.05$)。壳聚糖的氨基和黄原胶的羧基之间的离子相互作用形成的水凝胶网络具有 pH 敏感溶胀特性,可实现益生菌的靶向递送以及和控制释放功能。Chen 等^[46]发现络合条件对黄原胶-壳聚糖聚电解质复合凝胶中嗜酸乳杆菌微胶囊化的影响,优化嗜酸乳杆菌微胶囊化过程,可显著提高嗜酸乳杆菌微囊活菌数和包封率。聚电解质络合工艺会直接影响微胶囊的形状、尺寸以及均匀度,并影响其物化特性,所以需要根据微囊材料的具体特性改进相应的络合工艺技术。

3.3 电流体动力学技术

利用电流体动力学技术(如静电纺丝和电喷雾)制备功能性纳米微纤维(或微囊)和封装益生菌菌体成为近年来的研究热点。与传统方法相比,电流体动力学技术是一种温和、高效、直接、经济的方法。据报道,通过静电纺丝方法可封装敏感的生物活性化合物,如 Omega-3 脂肪酸、维生素、天然抗氧化剂和益

生菌^[47]。与冷冻干燥技术相比, Ma 等^[48]利用静电纺丝技术开发出一种基于阿拉伯树胶/普鲁兰多糖纳米纤维的新型益生菌递送系统对乳酸杆菌显示出了优越的保护性能,存活率提高了 8.89%。阿拉伯树胶/普鲁兰多糖具有益生元特性,其分子之间混溶性和氢键相互作用致使该纳米纤维在用作乳酸杆菌封装壁材时具有良好的热稳定性,为提高益生菌的活性提供了新途径。此外电流体动力学技术工艺还能够封装益生菌共培养物或包含其他功能化合物(例如益生元),满足益生菌活菌的某些营养需求,提高存活率^[49]。虽然电流体动力学技术在部分食品应用中面临着如何高效降解并释放包埋物质、静电纺丝液的联合配置、纺丝的均匀性与稳定性差以及纺丝产量低等问题,但该技术投资相对较低,安装维护方便,有望在益生菌行业中得到更广泛的应用。

4 展望

益生菌因其作为健康补充剂的巨大潜力而受到越来越多的关注,也是治疗许多胃肠道和非胃肠道疾病的有效选择。基于聚合物载体的靶向益生菌递送系统提供了一种物理屏障,保护了益生菌活菌免受食品加工、储存以及胃肠道环境等不利条件的影响,顺利的将益生菌靶向递送至结肠和/或粘膜环境。然而不同的候选菌株、制备方法、聚合物的种类和目标递送部位等都可能影响聚合物载体对益生菌的保护效果,需要针对不同种类益生菌构建相应适宜的递送系统,有机结合递送系统新技术和多样化评估手段,创新靶向益生菌递送系统技术运用于益生菌产品的生产,进一步促进多功能益生菌在食品或药物领域的应用。

参考文献

- [1] 艾连中,贾国超.口腔益生菌的研究现状[J].食品科学技术学报,2020,38(1):17-25
AI Lianzhong, JIA Guochao. Research progress on oral probiotics [J]. Journal of Science and Technology, 2020, 38(1): 17-25
- [2] Piewngam P, Zheng Y, Nguyen T H, et al. Pathogen elimination by probiotic *Bacillus* via signalling interference [J]. Nature, 2018, 562: 532-537
- [3] Michael D R, Davies T S, Moss J, et al. The anti-cholesterolaemic effect of a consortium of probiotics: an acute study in C57BL/6J mice [J]. Scientific Reports, 2017, 7: 2883
- [4] Lin S, Mukherjee S, Li J, et al. Mucosal immunity-mediated modulation of the gut microbiome by oral delivery of probiotics into Peyer's patches [J]. Science Advances, 2021, 7(20): eabf0677
- [5] Dimidi E, Christodoulides S, Mark S S, et al. Mechanisms of action of probiotics and the gastrointestinal microbiota on gut motility and constipation [J]. Advances in Nutrition, 2017, 8(3): 484-494
- [6] Tan A H, Lim SY, Chong K K, et al. Probiotics for constipation in parkinson disease: a randomized placebo-controlled study [J]. Neurology, 2020, 96: e772-e782
- [7] Behera J, Ison J, Voor M J, et al. Probiotics stimulate bone formation in obese mice via histone methylations [J]. Theranostics, 2021, 11: 8605-8623
- [8] Suez J, Zmora N, Segal E, et al. The pros, cons, and many unknowns of probiotics [J]. Nature Medicine, 2019, 25: 716-729
- [9] Yao M, Bo L, Ye H, et al. Enhanced viability of probiotics (*Pediococcus pentosaceus* Li05) by encapsulation in microgels doped with inorganic nanoparticles [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 83: 246-252
- [10] Martoni C, Bhatena J, Jones M L, et al. Investigation of microencapsulated BSH active *Lactobacillus* in the simulated human GI tract [J]. Biomed Research International, 2007, 7:13684
- [11] Thomas M B, Vaidyanathan M, Radhakrishnan K, et al. Enhanced viability of probiotic *Saccharomyces boulardii* encapsulated by layer-by-layer approach in pH responsive chitosan-dextran sulfate polyelectrolytes [J]. Journal of Food Engineering, 2014, 136: 1-8
- [12] Klayraung S, Viernstein H, Okonogi S. Development of tablets containing probiotics: effects of formulation and processing parameters on bacterial viability [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2009, 370(1-2): 54-60
- [13] Rao A V, Shiwainarain N, Maharaj I. Survival of microencapsulated *Bifidobacterium pseudolongum* in simulated gastric and intestinal juices [J]. Canadian Institute of Food Science & Technology Journal, 1989, 22(4): 345-349
- [14] Amna T, Hassan M S, Pandeya D R, et al. Classy non-wovens based on animate *L. gasseri*-inanimate poly (vinyl alcohol): upstream application in food engineering [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(10): 4523-4531
- [15] Lopez-Rubio A, Sanchez E, Wilkanowicz S, et al. Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living *Bifidobacteria* in food hydrocolloids [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28(1): 159-167

- [16] Lancuški A, Ammar A A, Avrahami R, et al. Design of starch-formate compound fibers as encapsulation platform for biotherapeutics [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 158: 68-76
- [17] Mei L, He F, Zhou R Q, et al. Novel intestinal-targeted Ca-alginate-based carrier for pH-responsive protection and release of lactic acid bacteria [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(8): 5962-5970
- [18] Kailasapathy K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt [J]. LWT - Food Science and Technology, 2006, 39(10): 1221-1227
- [19] Rajpurohit H, Sharma P, Sharma S, et al. Polymers for colon targeted drug delivery [J]. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010, 72(6): 689-696
- [20] Tiwari A, Verma A, Panda P K, et al. Stimuli-responsive Polysaccharides for Colon-targeted Drug Delivery [M]. Cambridge: Woodhead Publishing, 2019: 416-421
- [21] Philip A K and Philip B. Colon targeted drug delivery systems: a review on primary and novel approaches [J]. Oman Medical Journal, 2016, 25: 79-87
- [22] Xiao Y, Lu C, Liu Y, et al. Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in hyaluronic acid-based hydrogel for pathogen-targeted delivery to ameliorate enteritis [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2020, 12(33): 36967-36977
- [23] Singh P, Medronho B, Alves L, et al. Development of carboxymethyl cellulose-chitosan hybrid micro- and macroparticles for encapsulation of probiotic bacteria [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 175: 87-95
- [24] Feng K, Wei Y S, Hu T G, et al. Colon-targeted delivery systems for nutraceuticals: a review of current vehicles, evaluation methods and future prospects [J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 102: 203-222
- [25] Sinha P, Ubaidulla U and Nayak A K. Okra (*Hibiscus esculentus*) gum-alginate blend mucoadhesive beads for controlled glibenclamide release [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 72: 1069-1075
- [26] Wen P, Wen Y, Huang X, et al. Preparation and characterization of protein-loaded electrospun fiber mat and its release kinetics [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2017, 65(23): 4789-4796
- [27] Li M, Cui J, Ngadi M O, et al. Absorption mechanism of whey-protein-delivered curcumin using Caco-2 cell monolayers [J]. Food Chemistry, 2015, 180: 48-54
- [28] 何冰. PLGA 纳米粒经 MDCK 及 Caco-2 细胞单层吸附, 内吞及跨膜转运过程机理研究[D]. 北京: 北京大学, 2012
- HE Bing. The characteristics and mechanisms of adsorption, uptake and trans-membrane of the PLGA nanoparticles in MDCK and Caco-2 cells monolayer [D]. Beijing: Peking University, 2012
- [29] 魏畅. 荧光影像可视化水凝胶药物递送系统及肿瘤联合治疗研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2018
- WEI Chang. Fluorescence imaging visualization hydrogel drug delivery system and tumor combined therapy research [D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2018
- [30] 王津, 李萍, 赵宁, 等. 基于光学成像的益生菌体内示踪技术 [J]. 科学通报, 2019, 64: 34-46
- WANG Jin, LI Ping, ZHAO Ning, et al. Tracer technology of probiotics based on optical imaging [J]. Chinese Science Bulletin, 2019, 64: 34-46
- [31] Mazumder B, Dey S, Verma V, et al. Three levels face centered central composite design of colon targeted micro-particulates system of celecoxib: screening of formulations variables and *in vivo* studies [J]. Current Drug Delivery, 2014, 11(5): 621-635
- [32] Bie P, Chen L, Li X, et al. Characterization of concanavalin a-conjugated resistant starch acetate bioadhesive film for oral colon-targeting microcapsule delivery system [J]. Industrial Crops & Products, 2016, 84: 320-329
- [33] Wang Q S, Wang G F, Zhou J, et al. Colon targeted oral drug delivery system based on chitosan/alginate microspheres loaded with icariin in the treatment of ulcerative colitis [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2016, 515(1-2): 176-185
- [34] Sanders M E, Merenstein D J, Reid G, et al. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic [J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2019, 16: 605-616
- [35] Situ W B, Li X X, Liu J, et al. Preparation and characterization of glycoprotein-resistant starch complex as a coating material for oral bioadhesive microparticles for colon-targeted polypeptide delivery [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(16): 4138-4147
- [36] Ramesh R K, Rubeena B H, Sai S H G, et al. Preparation and *in-vitro* evaluation of prednisolone mucoadhesive tablets for colon targeted drug delivery system [J]. International Journal of Innovative Pharmaceutical Research, 2015, 6: 485-490
- [37] Ivanovska T P, Mladenovska K, Zhivikj Z, et al. Synbiotic loaded chitosan-Ca-alginate microparticles reduces inflammation in the TNBS model of rat colitis [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2017, 527(1-2):

- 126-134
- [38] Le N T M, Hieu N V. Use of whey protein for encapsulation and controlled release of probiotic from protein microcapsule *in ex vivo* porcine gastrointestinal contents [J]. Vietnam Journal of Science and Technology, 2018, 56: 208-215
- [39] 纪瑞,邵雷,王健,等.益生菌微囊制备中常用的包衣技术与材料[J].中国医药工业杂志,2018,49:893-900
- JI Rui, SHAO Lei, WANG Jian, et al. Coating technology and materials used in preparation of probiotics microcapsules [J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2018, 49: 893-900
- [40] Wang M, Yang J, Li M, et al. Enhanced viability of layer-by-layer encapsulated *Lactobacillus pentosus* using chitosan and sodium phytate [J]. Food Chemistry, 2019, 285: 260-265
- [41] Cook M T, Tzortzis G, Charalampopoulos D, et al. Layer-by-layer coating of alginate matrices with chitosan-alginate for the improved survival and targeted delivery of probiotic bacteria after oral administration [J]. Journal of Materials Chemistry, 2013, 1: 52-60
- [42] Fareez I M, Lim S M, Lim F T, et al. Microencapsulation of *Lactobacillus* sp. using chitosan-alginate-xanthan gum- β -cyclodextrin and characterization of its cholesterol reducing potential and resistance against pH, temperature and storage [J]. Journal of Food Process Engineering, 2017, 40(3): e12458
- [43] Yao M, Chen J, Li L. Ameliorating DSS-induced colitis in mice using a *Lactobacillus salivarius* Li01 encapsulated delivery system [J]. Current Developments in Nutrition, 2019, 3(Supplement1): 1788
- [44] Qi X, Simsek S, Ohm J B, et al. Viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG microencapsulated in alginate/chitosan hydrogel particles during storage and simulated gastrointestinal digestion: role of chitosan molecular weight [J]. Soft Matter, 2020, 16(7): 1877-1887
- [45] Zaeim D, Sarabi-Jamab M, Ghorani B, et al. Microencapsulation of probiotics in multi-polysaccharide microcapsules by electro-hydrodynamic atomization and incorporation into ice-cream formulation [J]. Food Structure, 2020, 25: 100147
- [46] Chen H, Song Y, Liu N, et al. Effect of complexation conditions on microcapsulation of *Lactobacillus acidophilus* in xanthan-chitosan polyelectrolyte complex gels [J]. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 2015, 14(3): 207-213
- [47] Yilmaz M T, Taylan O, Karakas C Y, et al. An alternative way to encapsulate probiotics within electrospun alginate nanofibers as monitored under simulated gastrointestinal conditions and in kefir [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 244: 116447
- [48] Ma J, Xu C, Yu H, et al. Electro-encapsulation of probiotics in gum Arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 111: 106381
- [49] Mojaveri S J, Hosseini S F, Gharsallaouic A. Viability improvement of *Bifidobacterium animalis* Bb12 by encapsulation in chitosan/poly (vinyl alcohol) hybrid electrospun fiber mats [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 241: 116278

(上接第 239 页)

- [33] Zhang L L, Yong X, Jie X, et al. Effects of high-temperature treatment (≥ 100 °C) on Alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) surimi gels [J]. Journal of Food Engineering, 2013, 115(1): 115-120
- [34] 余永名,仪淑敏,徐永霞,等.鲢鱼与金线鱼混合鱼糜的凝胶特性[J].食品科学,2016,37(5):17-22
- YU Yongming, YI Shumin, XU Yongxia, et al. Gel properties of mixed surimi from silver carp and *Nemipterus virgatus* [J]. Food Science, 2016, 37(5): 17-22
- [35] 仪淑敏,杨领,赵珺泽,等.不同鸡肉与金线鱼糜混合比例香肠的凝胶品质对比[J].现代食品科技,2020,36(5):207-213
- YI Shumin, YANG Ling, ZHAO Junze, et al. Comparison of gelation properties on different proportions of chicken -*Nemipterus-virgatus* surimi mixture sausage [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 207-213