

# 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束结肠靶向递送特性的研究

魏富彬<sup>1</sup>, 马雅钦<sup>1</sup>, 李升<sup>1</sup>, 叶发银<sup>1,2</sup>, 赵国华<sup>1,2</sup>

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715) (2. 重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715)

**摘要:** 聚合物胶束因其增溶、靶向递送亲脂性活性成分的特性, 使得其在医药、营养、食品加工等领域具有广阔的应用前景。本文以辛烯基琥珀酸燕麦  $\beta$ -葡聚糖酯 (oat  $\beta$ -glucan octenylsuccinate, OS-glucan) 胶束为研究对象, 初步探讨其对  $\beta$ -胡萝卜素的结肠靶向递送特性。研究表明: OS-葡聚糖酯胶束在模拟胃液环境条件下, 其粒度和多分散性指数 (polydispersity index, PDI) 的变化较小, 荷载的  $\beta$ -胡萝卜素的保留率有所下降; 在模拟肠液环境条件下, OS-葡聚糖酯胶束结构部分被破坏, 导致一定程度降解, 胶束中  $\beta$ -胡萝卜素的含量有所减少、胶束的粒度显著增大、PDI 也显著性增大。在体外结肠发酵试验中, OS-葡聚糖酯胶束发生快速解体, 7 h 内  $\beta$ -胡萝卜素被迅速释放。因此, OS-葡聚糖酯胶束可作为  $\beta$ -胡萝卜素的载体, 有效调控其在模拟胃肠液中的释放行为, 并在一定程度上实现其向结肠部位的递送。

**关键词:** 辛烯基琥珀酸燕麦  $\beta$ -葡聚糖酯;  $\beta$ -胡萝卜素; 模拟胃肠液; 稳定性; 结肠靶向

文章编号: 1673-9078(2016)6-93-97

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.6.015

## Study on Colon-specific Delivery of $\beta$ -carotene with Oat $\beta$ -glucan Octenylsuccinate Micelles

WEI Fu-bin<sup>1</sup>, MA Ya-qin<sup>1</sup>, LI Sheng<sup>1</sup>, YE Fa-yin<sup>1,2</sup>, ZHAO Guo-hua<sup>1,2</sup>

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

(2. Chongqing Engineering Research Center for Special Food, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** Polymeric micelles have broad potential applications in the fields of medicine, nutrition, food processing, and others owing to their capabilities to specifically deliver lipophilic active ingredients and enhance their solubility. In this paper, oat  $\beta$ -glucan octenylsuccinate (OS-glucan) micelles were studied, and the colon-specific delivery of  $\beta$ -carotene using OS-glucan was preliminarily discussed. The study showed that in simulated gastrointestinal fluid, OS-glucan exhibited relatively small changes in particle size and polydispersity index (PDI), and the retention rate of loaded  $\beta$ -carotene was decreased. In simulated intestinal fluid, the partial structure of OS-glucan micelles was damaged, leading to some degradation. The content of  $\beta$ -carotene in the micelles was decreased, the particle size of micelles was significantly increased, and the PDI was also pronouncedly increased. During the *in vitro* colonic fermentation experiment, OS-glucan micelles disintegrated rapidly, and  $\beta$ -carotene was quickly released in seven hours. Therefore, OS-glucan micelles can be used as a carrier of  $\beta$ -carotene to effectively regulate the releasing behavior in simulated gastrointestinal fluid, and the colon-specific delivery of  $\beta$ -carotene can somewhat be achieved.

**Key words:** oat  $\beta$ -glucan octenylsuccinate micelles,  $\beta$ -carotene, simulated gastrointestinal fluid, stability, colon-specific

$\beta$ -胡萝卜素作为一种维生素 A 前体以及功能活性成分, 在许多动物实验、临床研究和流行病学调查中已经确定  $\beta$ -胡萝卜素具有多种生物活性, 包括抗氧化、抗癌、抗老化以及减少心血管疾病等作用<sup>[1-3]</sup>。但是  $\beta$ -胡萝卜素难溶于水的特性使得作为功能活性成分不能

收稿日期: 2015-08-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31371737)

作者简介: 魏富彬 (1992-), 男, 硕士, 研究方向: 食品化学与营养

通讯作者: 赵国华 (1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 非消化性碳水化合物化学与营养

有效地运输到人体下消化道特定部位 (比如结肠), 并且难以被人体所利用, 生物利用度低。

目前, 结肠营养及功能物质代谢吸收的研究受到重视。结肠靶向递送系统能将功能活性成分运载并释放于结肠特定部位, 从而大幅度提高诸如肠易激综合症、溃疡性结肠炎等结肠相关疾病的治疗效果<sup>[4]</sup>。结肠靶向运载系统的设计主要有 3 种方式<sup>[5]</sup>: (1) pH 敏感体系: 根据结肠与上消化道 (胃及小肠) pH 的差异设计; (2) 时间敏感体系: 利用输送体系在消化道崩解释放时间长于其在胃及小肠穿行时间设计; (3) 结肠菌群

活化体系：利用结肠菌群对非消化性多糖的酵解作用设计，这种体系通常为利用非消化性多糖基质对被输送物质进行包被或基质吸附从而构建结肠靶向运输体系<sup>[6]</sup>。

大量研究表明，经疏水化改性的多糖可在水溶液中通过自组装作用形成胶束。鉴于该种胶束具有的亲水性外壳和疏水性内核结构，被广泛作为亲脂性功能活性成分的递送载体。本实验通过对水溶性燕麦 $\beta$ -葡聚糖进行疏水化改性，得到具有自聚集特性的双亲性高分子多糖辛烯基琥珀酸燕麦 $\beta$ -葡聚糖酯（OS-葡聚糖酯）。前期研究表明其对亲脂性功能活性成分姜黄素具有良好的增溶和递送功能<sup>[7]</sup>，因此，本文拟通过 OS-葡聚糖酯荷载 $\beta$ -胡萝卜素形成荷载胶束，并通过对荷载胶束进行模拟胃肠液稳定性以及结肠发酵释放的研究，初步探讨荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束的体外模拟结肠靶向作用，并为后期研究 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束的体内结肠靶向，从而提高 $\beta$ -胡萝卜素生物利用度奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与试剂

燕麦 $\beta$ -葡聚糖：河北省张家口一康生物科技有限公司， $\beta$ -葡聚糖含量为 80%； $\beta$ -胡萝卜素：美国 Sigma-Aldrich 公司；胃蛋白酶（1:10000）：Sigma 公司；胰蛋白酶（1:1000）：Sigma 公司。色谱甲醇与乙腈：天津四友化学试剂有限公司；其他试剂均为分析纯，购于成都科龙试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

WS-26 恒温水浴锅：上海齐欣科学仪器有限公司；PB-10 标准型电化学分析仪/pH 计（酸度计）：德国赛多利斯公司；ALPHA 1-4/2-4LSC 真空冷冻干燥机：德国 CHRIST 公司；LC-20A 高效液相色谱仪：日本岛津公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 OS-葡聚糖酯的制备

OS-葡聚糖酯的制备参考 Liu 等的方法<sup>[7]</sup>。将所制得样品用自封袋封装后，放入干燥器中储存。

#### 1.3.2 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束中 $\beta$ -胡萝卜素含量的测定

参照梁荣等<sup>[8]</sup>的方法进行预处理。将增溶后得到的 $\beta$ -胡萝卜素溶液与二甲亚砜按 1:9 (V/V) 进行混合，涡旋振荡器振荡 1 min 后，混合液按 1:10 (V/V) 比例

加入正己烷混合，涡旋振荡器振荡 1 min 后，静置过夜。两相分离后，采用高效液相色谱法（HPLC）测定 $\beta$ -胡萝卜素浓度。将正己烷萃取液过直径为 0.45  $\mu\text{m}$  有机相滤膜后，进行液相测定。色谱条件：检测器为紫外检测器。色谱柱：C18 固定相。流动相 A：甲醇（90%）；流动相 B：乙腈（10%）；流速：1 mL/min，色谱图检测波长 450 nm；进样量：20  $\mu\text{L}$ ；柱温：35  $^{\circ}\text{C}$ 。 $\beta$ -胡萝卜素出峰时间为 15~15.5 min。

#### 1.3.3 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束的粒度及多分散性指数（polydispersity index, PDI）测定

参考 Sahu 等<sup>[9]</sup>的方法，将增溶后的 $\beta$ -胡萝卜素溶液在 -18 $^{\circ}\text{C}$  的冰箱中预冻 12 h，然后置于真空冷冻干燥机中干燥过夜。取适量胶束溶液装入比色杯中，放入粒径测定仪的样池中测量胶束粒径（nm）和 PDI，测试条件为：氦氖激光器，波长为 633 nm、温度为 25 $\pm$ 0.1  $^{\circ}\text{C}$ 、动态光散射角度为 90<sup>[10]</sup>。

#### 1.3.4 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束的体外模拟胃稳定性评价

##### 1.3.4.1 模拟胃液（Simulated Gastric Fluid, SGF）的配制<sup>[11]</sup>

准确称量 2.0 g NaCl，3.2 g 胃蛋白酶，量取 7 mL 37% HCl，用浓盐酸，调节 pH=1.2，蒸馏水定容至 1000 mL。

##### 1.3.4.2 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯的体外模拟胃液稳定性测试

将荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯和模拟胃液按照 1:4 的比例混合（2.5 mL）于试管中，在漩涡混合器上振荡 1 min。然后将此混合液置于恒温振荡器中，并设置摇床转速为 120 r/min，温度为 37  $^{\circ}\text{C}$ 。分别在 10、20、30、45、60、90 min 处取出 SGF 样品，测定上清液中 $\beta$ -胡萝卜素的含量、粒径和 PDI。

#### 1.3.5 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束的体外模拟肠稳定性评价

##### 1.3.5.1 模拟肠液（Simulated Intestinal Fluid, SIF）的配制<sup>[11]</sup>

准确称取 6.8 g  $\text{KH}_2\text{P}_3\text{O}_4$  溶于 250 mL 蒸馏水中，振荡使之溶解。并加入 0.2 mol/L NaOH 190 mL 和 400 mL 蒸馏水，再加 10.0 g 胰酶，混匀，用 0.2 mol/L 的 NaOH 调节 pH 值为 7.5 $\pm$ 0.1，加蒸馏水定容至 1000 mL。

##### 1.3.5.2 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯的体外模拟肠液稳定性测试

将荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯和模拟肠液按照 1:4 的比例混合（2.5 mL）于试管中，在漩涡混合器上

震荡 1 min。然后将此混合液置于恒温振荡器中，并设置摇床转速为 120 r/min 以及温度为 37 °C。分别在 30 min, 1、2、4、6、8 h 处取出 SIF 样品，测定上清液中  $\beta$ -胡萝卜素的含量、粒径和 PDI。

### 1.3.6 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯的体外结肠发酵<sup>[12]</sup>

#### 1.3.6.1 粪便采集及准备

样本粪便来源于 3 个 (2 男 1 女) 健康成人。要求他们在测试前两个月内未服用任何抗生素类药物，且无肠道疾病 (腹泻和肠炎)。于次日早晨采集每位实验者的新鲜自然粪便 120 g 置于密闭的无菌便盒中，待用。并将待用的实验器具及预培养液在高压灭菌锅中杀菌。预培养液配方为：蒸馏水 1 L，蛋白胨 10 g，酵母 5 g，NaCl 10 g，葡萄糖 5 g，麦芽糖 6 g。

#### 1.3.6.2 肠道微生物预培养

将采集后的粪便按照 12 g/100mL 置于含有预培养液的锥形瓶中，并充入  $N_2$  2 min，保持锥形瓶内为厌氧环境。将此锥形瓶置于恒温振荡器上培养过夜 (12 h)，并设置摇床转速为 120 r/min，温度为 37 °C。待培养结束后，用四层纱布过滤至烧瓶中，充入  $N_2$  后备用。

#### 1.3.6.3 结肠发酵

配制基质溶液，配方如下：NaCl 4.5 g，KCl 4.5 g， $NaHCO_3$  1.5 g， $MgSO_4 \cdot H_2O$  0.69 g，L-赖氨酸 ( $HCl \cdot H_2O$ ) 0.8 g， $KH_2PO_4$  0.5 g， $K_2HPO_4$  0.5 g，胆酸盐 0.4 g， $CaCl_2$  0.08 g， $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  0.005 g，刃天青钠盐 4 mL。将基质溶液，肠道微生物预培养液以及样品，按照 2:2:1 (V/V/V) 混合，置于具塞试管中，在漩涡混合器上混合 1 min，充入  $N_2$  以确保厌氧环境。将试管置于摇床上在 120 r/min 以及 37 °C 的条件下发酵。分别在 10、30 min, 1、2、3、4、5、6、7、8、10、12、14、16 h 处将试管取出，置于离心机中在 3000r/min 离心，吸取上清液过 0.45  $\mu m$  滤膜后，HPLC 测定  $\beta$ -胡萝卜素浓度。

#### 1.3.7 数据处理

所有测定重复 3 次，结果表示为平均值  $\pm$  标准偏差 (SD)。两个不同样本 (独立样本或成对样本) 之间的方差分析采用 t-检验。三个或三个以上样品之间利用单方差分析。数据分析采用 SPSS 19.0 软件。在所有的统计分析中， $p < 0.05$  为显著差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束在模拟

胃液中的稳定性

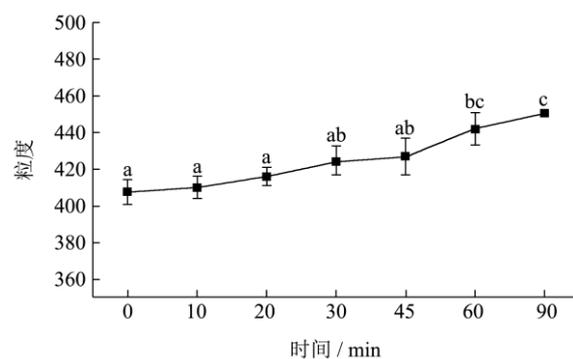


图 1 荷载  $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束在模拟胃液中保温时粒度的变化

Fig.1 Changes in particle size of  $\beta$ -carotene-loaded OS-glucan micelles over time in SGF at a constant temperature

注：图中数据采用不同小写字母标示的，表明存在显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

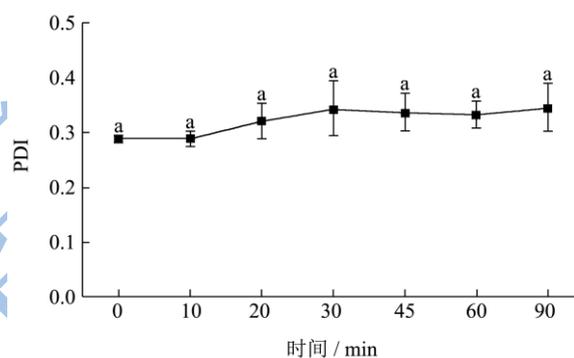


图 2 荷载  $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束在模拟胃液中保温时 PDI 的变化

Fig.2 Changes in PDI of  $\beta$ -carotene-loaded OS-glucan micelles over time in SGF at a constant temperature

注：图中数据采用不同小写字母标示的，表明存在显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

图 1 和图 2 为荷载  $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束在模拟胃液中保温时的粒径和 PDI 的变化情况。如图 1 所示，在模拟胃液环境条件下，胶束的粒度变化较缓慢，粒度大小在前 45 min 未发生显著性变化，在 45 min 以后粒度开始变大，其粒径从 407.4 增加到 450.1 nm。如图 2 所示，在总共 90 min 的胃液稳定性试验中，PDI 从 0.288 缓慢增加到 0.343，未发生显著性变化。胶束的粒度和 PDI 在胃液中未均发生显著性的变化，说明该胶束在模拟胃液中具有较好的稳定性，不容易被胃液所破坏。

该实验还发现  $\beta$ -胡萝卜素在模拟胃液环境中会发生一定程度的降解，如图 3，经过 90 min 的稳定性实验，胶束中胡萝卜素的损失率为 18.4 %。其原因这主要是由于胃液中的 pH 较低，对  $\beta$ -胡萝卜素具有一定的降解作用<sup>[7]</sup>。由图可知，其降解过程主要发生在

前 60 min, 之后变化不显著。这可能是由于位于胶束外层靠近水相的  $\beta$ -胡萝卜素已经降解, 而由于胶束的保护作用, 位于其内部的  $\beta$ -胡萝卜素则不会很快暴露于水相环境, 从而避免了降解的发生。

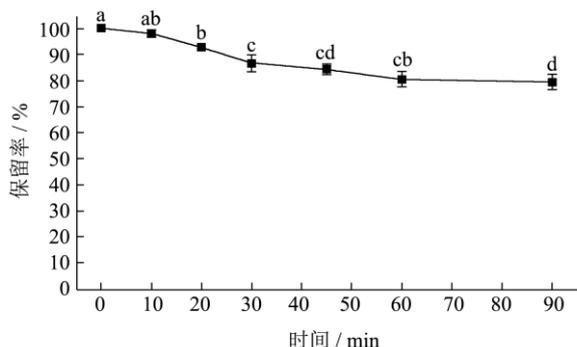


图3 胶束在模拟胃液中保温时  $\beta$ -胡萝卜素保留率的变化  
Fig.3 Changes in retention rate of  $\beta$ -carotene over time when OS-glucon micelles were in SGF at a constant temperature

注: 图中数据采用不同小写字母标示的, 表明存在显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

## 2.2 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束在模拟肠液中的稳定性

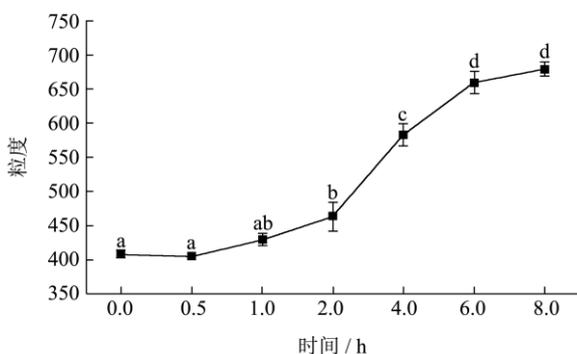


图4 荷载  $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束在模拟肠液中粒度的变化  
Fig.4 Changes in size of  $\beta$ -carotene-loaded OS-glucon micelles over time in SIF

注: 图中数据采用不同小写字母标示的, 表明存在显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

图4和图5为荷载  $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束在模拟肠液中粒径和 PDI 的变化情况。如图4所示, 在模拟肠液环境条件下, 胶束粒度大小在前 1 h 未发生显著性变化。随着时间的延长, 1 h 以后, 胶束粒度逐渐增大, 从最开始的 408.2 nm 增加到 678.6 nm, 发生了显著性变化。其粒度在模拟肠液环境中增大的原因可能是由于  $\beta$ -胡萝卜素降解之后, 胶束的疏水相互作用减弱, 胶束之间发生相互作用或者聚集所导致

[13]。胶束在模拟肠液环境条件下的 PDI 变化趋势与粒度变化趋势趋于一致, 在 1 h 前未发生显著性变化, 1 h 后 PDI 从 0.324 增加到 0.670, 发生了显著性变化。模拟肠液中出现荷载  $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束粒径变大, 且粒径分布变宽的现象, 可能是因为肠液中盐粒子的浓度较大,  $\beta$ -胡萝卜素在盐离子的作用下部分降解所导致。

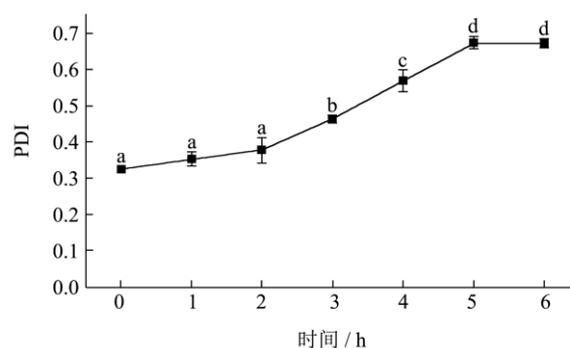


图5 荷载  $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束在模拟肠液中 PDI 的变化  
Fig.5 Changes in PDI of  $\beta$ -carotene-loaded OS-glucon micelles over time in SIF

注: 图中数据采用不同小写字母标示的, 表明存在显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

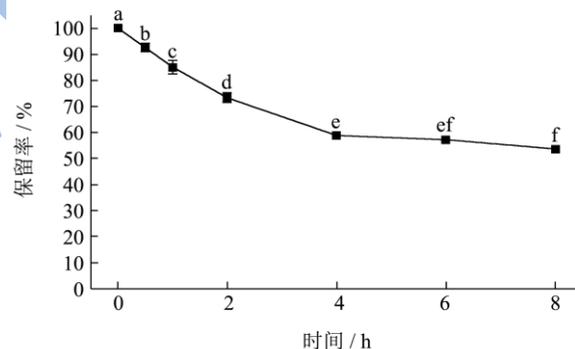


图6 胶束在模拟肠液中保温时  $\beta$ -胡萝卜素保留率的变化  
Fig.6 Changes in retention rate of  $\beta$ -carotene over time when OS-glucon micelles were in SIF at a constant temperature

注: 图中数据采用不同小写字母标示的, 表明存在显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

$\beta$ -胡萝卜素在肠液中会发生降解, 在 8 个小时的稳定性试验结束后, 胶束中的  $\beta$ -胡萝卜素损失率达到了 44%。这主要是由于肠液中的盐离子较多, 促进  $\beta$ -胡萝卜素发生降解。从图6可以看出, 其降解过程主要发生在稳定性实验的前 4 h, 之后变化不显著。究其原因, 与之前的胃液稳定性实验较为相似, 即位于胶束外层靠近水相的  $\beta$ -胡萝卜素已经降解, 而由于胶束的保护, 位于胶束内部的  $\beta$ -胡萝卜素则不会很快裸露在水相中, 从而避免继续发生降解。

## 2.3 荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束的体外结肠发酵试验

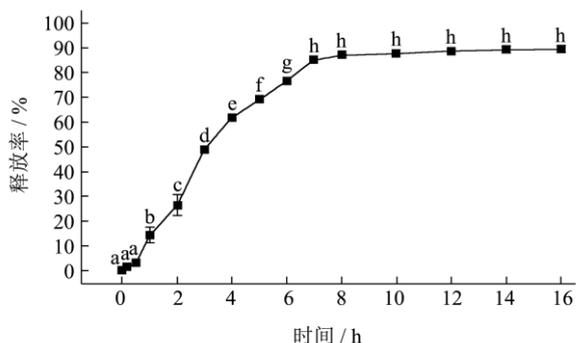


图7 胶束在模拟体外结肠发酵过程中 $\beta$ -胡萝卜素的累积释放率

Fig.7 Cumulative release rate of  $\beta$ -carotene from OS-glucan micelles during *in vitro* colonic fermentation

注：图中数据采用不同小写字母标示的，表明存在显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

图7为荷载 $\beta$ -胡萝卜素 OS-葡聚糖酯胶束的体外结肠发酵试验结果。如图所示，在发酵前7h， $\beta$ -胡萝卜素的平均释放速率相对较快，尤其是在0.5h到7h之间，累积释放率达到88.5%。因为肠液环境和结肠环境的离子条件和pH环境差别不大，而结肠中的微生物比较多。所以，可以推测这可能是由于 $\beta$ -葡聚糖在结肠微生物的作用其胶束结构发生变化，使得包埋其中的 $\beta$ -胡萝卜素被释放出来。由此，可推断OS-葡聚糖酯胶束具有一定的结肠靶向性<sup>[6]</sup>。当荷载 $\beta$ -胡萝卜素的OS-葡聚糖酯胶束到达体内结肠后，能够在微生物作用下释放出 $\beta$ -胡萝卜素，对结肠微环境进行调节，发挥 $\beta$ -胡萝卜素的营养学特性，改善结肠微环境。

## 3 结论

通过对体外模拟胃肠液中的稳定性以及体外结肠发酵进行研究。得出以下结论：(1)在模拟胃液和模拟肠液的稳定性研究中， $\beta$ -胡萝卜素含量随时间的变化而降低，在胃液中前40min降解速度较快，在肠液中前4h降解迅速。胃液中的胶束粒度有小幅提高而PDI未发生较大变化，模拟肠液的胶束粒度和PDI在1~6h间明显增大，说明胶束发生较大范围的破坏。(2)在模拟体外结肠发酵释放试验中， $\beta$ -胡萝卜素释放率随时间而增加，这可能是由于在结肠中大量微生物的分解作用，使得胶束发生破坏，导致 $\beta$ -胡萝卜素迅速释放。研究表明，胶束在胃液中较稳定，在肠液中会

出现一定的损失，并在结肠中释放较迅速，体现出一定的结肠靶向效果，这为OS-葡聚糖酯胶束在荷载难溶性功能活性成分的结肠靶向运输作用提供一定的参考。

## 参考文献

- [1] de Paz E, Martin A, Estrella A, et al. Formulation of beta-carotene by precipitation from pressurized ethyl acetate-on-water emulsions for application as natural colorant [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 26(1), 17-27
- [2] Edge R, McGarvey D J, Truscott T G. The carotenoids as anti-oxidants: a review [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 1997, 41(3), 189-200
- [3] Rock C L. Carotenoids: biology and treatment [J]. Pharmacology & Therapeutics, 1997, 75(3), 185-197
- [4] Liu Z H, Jiao Y P, Wang Y F, et al. Polysaccharides-based nanoparticles as drug delivery systems [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60(15): 1650-1662.
- [5] Yang L, Chu J S, Fix J A. Colon-specific drug delivery: new approaches and *in vitro/in vivo* evaluation [J]. International Journal of Pharmaceutics, 2002, 235: 1-15
- [6] Velikov K P, Pelan E. Colloidal delivery systems for micronutrients and nutraceuticals [J]. Soft Matter, 2008, 10(10): 1964-1980.
- [7] Liu J, Chen F, Tian W, et al. Optimization and characterization of curcumin loaded in octenylsuccinate oat  $\beta$ -glucan micelles with an emphasis on degree of substitution and molecular weight [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(30): 7532-7540
- [8] Liang R, Shoemaker C F, Yang X, et al. Stability and bioaccessibility of  $\beta$ -carotene in nanoemulsions stabilized by modified starches [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(6): 1249-1257
- [9] Sahu A, Kasoju N, Goswami P, et al. Encapsulation of curcumin in Pluronic block copolymer micelles for drug delivery applications [J]. Journal of Biomaterials Applications, 2011, 25(6): 619-639
- [10] Luo Y, Teng Z, Wang Q. Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3 [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60(3): 836-843.
- [11] Maltais A, Remondetto G E., Subirade M. Soy protein cold-set hydrogels as controlled delivery devices for nutraceutical compounds [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(7): 1647-1653.

- [12] Hu J L, Nie S P, Li C, et al. Microbial short-chain fatty acid production and extracellular enzymes activities during in vitro fermentation of polysaccharides from the seeds of *plantago asiatica* L. treated with microwave irradiation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(25): 6092-6101
- [13] Eenschooten C, Vaccaro A, Delie F, et al. Novel self-associative and multiphasic nanostructured soft carriers based on amphiphilic hyaluronic acid derivatives [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(1): 444-451

现代食品科技