

纳米动物蛋白包埋技术研究进展

李尽哲¹, 冯鑫², 黄雅琴^{1,3}

(1. 信阳农林学院, 河南 信阳 464000; 2. 西南大学 食品科学学院, 重庆 400715;
3. 郑州大学 离子束生物工程省重点实验室, 郑州 450052)

摘要: **目的** 为了进一步明晰纳米动物蛋白包埋技术未来的研究方向, 为后来的研究者提供一些可供参考的思路和方法。**方法** 通过追踪国内外纳米动物蛋白包埋技术的研究趋势, 概述纳米动物蛋白包埋技术涉及的基本原料、形成机理、研究方法和包埋效果。**结论** 为后续科研人员深入研究纳米动物蛋白包埋技术明晰了方向, 为纳米动物蛋白包埋技术在新型包装材料、功能性食品、靶向药物和高档化妆品方面的开发利用奠定基础。

关键词: 纳米动物蛋白; 包埋技术; 研究进展

中图分类号: TS251.92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2022)09-0122-09

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2022.09.016

Research Progress of Nano-animal Protein Encapsulation Technology

LI Jin-zhe¹, FENG Xin², HUANG Ya-qin^{1,3}

(1. Xinyang Agriculture and Forestry University, Henan Xinyang 464000, China; 2. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China; 3. Henan Provincial Key Laboratory of Ion Beam Bio-Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: This paper is to further clarify the future research direction of nano-animal protein encapsulation technology and provide some reference ideas and methods for later researchers. The basic raw materials, formation mechanism, research methods and encapsulation effects involved in nano-animal protein encapsulation technology were outlined by tracking the research trend of nano-animal protein encapsulation technology at home and abroad in this paper, which clarifies the direction for the subsequent researchers to conduct in-depth research on nano-animal protein encapsulation technology, and lays a foundation for the development and utilization of nano-animal protein encapsulation technology in the new packaging materials, functional foods, targeted drugs and high-end cosmetics.

KEY WORDS: nano-animal protein; encapsulation technology; research progress

近年来, 随着新型包装材料在食品工程中的应用, 以及缓释、控释、靶向递送的药物制剂技术的不断发展, 纳米包埋技术作为新兴纳米技术被广泛应用于保健食品和靶向药品等领域。一方面, 如今的消费

者越来越重视食品的营养保健功能和药品的靶向功效, 由于许多功能成分(营养素、保健分子、药用成分等)对环境条件(温度、pH、光照等)较敏感, 易发生氧化或降解, 极大地限制了功能成分在食品、

收稿日期: 2021-09-08

基金项目: 国家自然科学基金(31901683)

作者简介: 李尽哲(1982—), 男, 硕士, 信阳农林学院副教授, 主要研究方向为生物制药。

通信作者: 黄雅琴(1986—), 女, 博士, 信阳农林学院副教授, 主要研究方向为保健食品开发。

生物制药、组织工程和化妆品等领域的应用。包埋技术可以很好地保护功能成分,提高其抗氧化及稳定能力^[1]。同时,因其粒度较小达到纳米级水平,延长了其在肠道中的滞留时间,达到缓释或者控释的理想效果,并且促进了小肠的吸收,从而提高人体对活性成分的生物利用率^[2]。另一方面,与植物蛋白相比,动物蛋白原料具有来源广泛、价廉易得、可降解、无毒无害、生物活性高,致敏性低、特异性强等优点,使其逐渐成为食品乃至药品等领域的重要的载体物质,但是由于其容易受到肠道微环境影响,以及利用率低下等缺点限制了蛋白类物质的应用^[3-4]。相关研究表明,利用动物蛋白为壁材,功能性成分为芯材所生产出的食品和药品具有良好的稳定性、较好的生物相容性、高效的利用率、较小的毒副作用和更高的抗氧化效果等特点,让其在新型食品和靶向药品开发方面受到广泛重视^[5-7]。通过使用纳米包埋技术,调整纳米蛋白包埋物的理化性质,实现其高效装载、可控释放和降低潜在生物毒性已经成为当下食品和药品等领域研究的热点。

文中主要围绕动物蛋白与功能成分的包埋递送体系,归纳总结近几年动物蛋白和功能分子纳米包埋物的制备、包埋机制及研究方法、包埋效果等方面的研究,进一步探讨纳米动物蛋白载体所面临的挑战和发展趋势,为构建新型纳米动物蛋白包埋物提供理论支撑。

1 纳米包埋物的构成

纳米复合物是一种包含多组分的均相或者多相体系,这些体系中至少有一种组分或者一种分散相处于纳米级,即为纳米复合物。这些纳米复合物主要有颗粒体系、乳液体系、脂质体体系和微胶束体系等,而以颗粒体系存在的纳米包埋物由于制备工艺简单等优势被广泛应用于食品、生物医药、组织工程等领域。一般来说,纳米包埋物主要由壁材和芯材组成,壁材常由一种或者多种水溶性物质构成,主要的壁材成分有环糊精^[8]、直链淀粉^[9]、植物蛋白^[10]、动物蛋白等^[11]。纳米动物蛋白包埋物是由动物性蛋白构成壁材,功能性成分充当芯材,通过一定的物理化学方法制成的纳米级蛋白包埋物。

动物蛋白由于其廉价易得、生物利用度高以及可以提高功能性小分子的稳定性等特点,是新型纳米包埋物壁材的发展方向,Zhang等^[12]研究表明牛血清蛋白(BSA)与叶酸结合形成纳米颗粒,可以减少叶酸的降解。芯材一般包含一种或者多种脂溶性或水溶性物质,主要涉及各种具有保健功效的成分,如虾青素^[13]、番茄红素^[14]、紫杉醇^[15]、灵芝多糖^[16]、人参皂苷^[17]等。

1.1 壁材

越来越多的研究发现,利用动物蛋白作为壁材对功能性成分进行包裹进而形成纳米蛋白包埋物能够显著提高其稳定性、增加其生物利用度、降低了生物毒性、更好地实现缓控释效果等,以便发挥其保健功效。大量研究资料表明,充当壁材的动物蛋白主要包括人血清白蛋白(HSA)^[18]、牛血清白蛋白(BSA)^[19]、 β -乳球蛋白^[20]、酪蛋白(CS)^[21]、乳清蛋白(WP)^[22]、乳清分离蛋白(WPI)^[23]、乳铁蛋白(LF)和动物明胶^[24-25]等。刘建奎等^[26]利用牛血清蛋白对槲皮素进行了包裹,形成了50 nm左右的纳米蛋白包埋物,与未包埋相比,其水溶性和抗氧化方面有了显著提高。Qing等^[27]采用乳清蛋白偶联法对硫酸软骨素进行了包埋,制备出了乳清蛋白-硫酸软骨素纳米蛋白包埋物,经过各种测试表明其物理结构稳定性、热稳定性等都有显著提升。

1.2 芯材

据大量研究资料表明,充当芯材的功能组分大概可以分为三大类。第1类是抗癌药物(主要有紫杉醇、肝素钠以及盐酸阿霉素等)^[28-31]。这类药物直接使用的时候经常出现稳定性不好、对正常细胞和组织毒副作用较大、释放效果不够持久、不具备靶向功效等缺点,通过包合形成的纳米包埋物具有稳定性好、生物毒性小、具有缓释效果等特点,显著地改善了上述缺陷。崔晓娟等^[32]利用交联法制备出聚乙二醇聚丙交酯-乙交酯聚赖氨酸-紫杉醇纳米颗粒,在体内外对卵巢癌细胞进行测试,结果发现,跟紫杉醇本身相比,紫杉醇纳米包埋物具有缓释、靶向和抗耐药性等效果。蔡畅等^[33]用白蛋白对紫杉醇进行包埋,研究发现,与紫杉醇本身相比,紫杉醇-白蛋白纳米包埋物的稳定性更好,具有缓释效果,抗癌活性更显著。第2类是具有各种保健作用的功能分子(主要有姜黄素、茶多酚、白藜芦醇、原花青素、虾青素以及叶黄素等)^[34-38]。这类功能分子单独使用的时候,常出现容易氧化、不稳定、容易失活等特点,通过包埋形成纳米包埋物后,这些功能分子更加稳定,抗氧化效果更加突出。尤宗琦等^[39]对虾青素纳米颗粒进行研究发现,与常规虾青素相比,纳米化后其稳定性、生物相容性有显著提升,体内试验证实其具有神经靶向性。刘焯等^[40]利用白藜芦醇纳米颗粒进行研究发现,与白藜芦醇本身相比,其纳米颗粒在生物利用度和抗炎功效方面都有显著提升。第3类是营养素(主要是维生素类物质、微量元素等)^[41-44],这类物质主要存在生物利用度低等方面的问题。钱柳等^[45]借助乳清蛋白制备出乳清蛋白/矢车菊素-3-O-葡萄糖苷纳米粒,对其研究发现该包埋物的贮藏稳定性和胃肠消化稳定性均有明显改善。

2 包埋机制及研究方法

纳米蛋白包埋物制备的方法主要分为物理法和化学法制备两大类,具体方法见表1。影响包埋效果的因素主要包括温度、光照、酸碱度、离子强度、生物酶作用等^[46-47]。针对包埋机制通常研究的项目主要分为2类。第1类为功能分子对蛋白的猝灭类型、猝灭常数、热力学参数、驱动力、结合常数等的影响。通常情况下,功能分子和蛋白质是以非共价作用(主要是通过疏水键、氢键、离子键和范德华力等)为主、共价作用为辅进行相互作用,同时也会对蛋白质造成以静态猝灭为主的荧光猝灭,静态猝灭是与包埋物稳定性相关的猝灭方式,同时大多试验研究利用 Stern-Volmer 方程可得相关数据^[48]。Wu 等^[49]研究发现,表没食子酸儿茶素(EGC)与 β -乳球蛋白的结合是一个静态猝灭及自发的过程(吉布斯自由能为负值),并且在二者的结合过程中,范德华力和氢键是主要的驱动力,同时引起 β -乳球蛋白结构的变化,相关内容在 Kanakis 等^[50]和 Israeli 等^[51]的研究都有所体现。第2类是功能分子对蛋白结构和功能性质的影响。结构性质上常用的研究方法是电子显微镜(扫描电镜、原子力显微镜等)和同步荧光分析、三维荧光和圆二色谱等荧光光谱分析,而功能性质上主要用 ANS(1-苯胺基-8-萘磺酸)荧光探针测定疏水性,对溶解性、黏弹性、起泡性等其他功能性质研究较少。Hasni 等^[52]采用傅里叶变换红外光谱、紫外可见光谱、圆二色谱、荧光光谱法和分子模拟技术等方法在分子水平上研究了 α -酪蛋白与 β -酪蛋白与茶多酚的相互作用。研究表明,茶多酚主要通过疏水相互作用与 α -酪蛋白和 β -酪蛋白结合,多酚减少了酪蛋白的 α -螺旋和 β -折叠结构,增加了无规则卷曲,酪蛋白的构象改变。由于 β -酪蛋白具有更强的疏水性,因此,其与茶多酚结合得更紧密,相关内容在 Raci 等^[53]的研究中有所体现。

表1 不同纳米蛋白包埋物的制备方法

Tab.1 Preparation methods of different nano proteins

包埋方法	包埋技术	参考文献
物理法	研磨法	[54]
	静电吸附法	[24]
	高压均质法	[55]
	喷雾干燥法	[56]
化学法	超声波法	[21-22]
	离子凝胶法	[57]
	抗溶剂沉淀法	[58]
	薄膜水化法	[59]

3 包埋效果

包埋率、释放特性及功效变化是评价纳米动物蛋白包埋物包埋效果的重要指标,据相关研究表明,良好的纳米蛋白包埋物的粒径应为 50~600 nm、Zeta 电位绝对值较大、包埋率相对较高(80%以上)、有一定的缓释或控释效果,同时还具备相对较好的抗氧化性、稳定性、生物活性、适口性,以及较低的生物毒性和致敏性等,具体见表2。

3.1 包埋率

包埋率是指纳米包埋物中包埋功能成分的质量与试验材料中功能组分总的质量的比值。包埋率的大小是衡量纳米动物蛋白包埋物质量好坏的首要因素,其常用的测定方法主要有分光光度法、高效液相色谱法等^[21,60-61,65]。据相关研究发现,目前所利用动物蛋白进行包埋递送研究的包埋率都在40%以上,在良好的制备工艺下,包埋率一般可达到80%,甚至最高者可达到96%左右。Shen 等^[66-67]以乳清分离蛋白(WPI)

表2 不同纳米动物蛋白包埋物包埋效果对比

Tab.2 Comparison in encapsulation effects of different nano-animal proteins

壁材	芯材	包埋率/%	释放特性	功效变化	参考文献
乳蛋白	香芹酚	80~90	缓释效果	提高抗菌性	[21]
	槲皮素	87~89	—	提高抗氧化性和热稳定性	[60]
	β -胡萝卜素	—	缓释效果	提高生物利用度和稳定性	[61]
	盐酸洛哌丁胺	92~98	缓释效果	提高适口性	[62]
明胶	姜黄素	—	缓释效果	提高水溶性	[63]
	淫羊藿苷	—	缓释效果	提高生物利用度	[64]
	仿生甲壳素	—	—	提高弹性	[25]
血浆蛋白	槲皮素	—	—	提高抗氧化活性	[26]
	紫杉醇	—	缓释效果	提高抗肿瘤活性	[33]

注:“—”表示未报道。

和聚合乳清蛋白(PWP)为乳化剂,利用超声乳化-蒸发法制备虾青素纳米分散体,包埋率更是达到90%以上,并且通过细胞毒性试验证明WPI和PWP稳定的纳米分散体是无毒的,且具有良好的生物相容性。Peng等^[68]在包埋姜黄素时所形成姜黄素纳米颗粒粒径较小,为61 nm, Zeta电位为-41 mV,包埋率为82%,包埋率相对较高,且体内试验和体外消化均显示出较高的生物利用度。薛瑾等^[69]利用酪蛋白和糖基化酪蛋白对EGCG进行包埋,可得包埋物的包埋率达到86%~93%,平均粒径达到88 nm和72 nm,进而得到酪蛋白的糖基化有助于提高酪蛋白对EGCG的包埋和稳定能力。

3.2 释放特性

很多功能组分由于其稳定性差、水溶性差、易氧化,同时在胃肠液中易受消化液中的物质(胃蛋白酶、胰蛋白酶)、pH值等影响,导致理化性质改变,结构易被破坏,易降解等,其保健功能和药用功效无法充分发挥,成药性较差。通过动物蛋白进行包埋之后,所形成的包埋物可有效发挥缓释或者控释的作用,同时还能够防止功能组分在被吸收之前发生化学成分改变^[70-71]。目前,关于纳米包埋物在胃肠液释放的研究中,通常采用的方法是模拟胃肠道环境,使包埋物在极接近人体胃肠道环境中释放,从而得到纳米包埋物的释放特性^[72]。姚慧芳等^[73]研究结果表明,BSA-花青素在磷酸盐缓冲液(pH=7.4)中能通过自组装形成纳米颗粒,其纳米颗粒粒径可达到15~20 nm,并且在体外胃肠液释放中发现,胃液中BSA与花青素结合对花青素稳定性没有显著性影响,肠液中BSA与花青素结合对花青素的氧化稳定性有明显保护作用,可达到明显控释或者缓释。柴少虎等^[74]以表没食子儿茶素没食子酸酯为芯材,通过戊二醛交联制备载EGCG壳聚糖微球,其包埋率达80%以上,其释放性能在短时间内有较低释放率,在一定时间内具有良好的释放性能,同时发现其具有良好的抗氧化稳定性,但是,目前针对纳米包埋物,尤其是纳米蛋白复合物释放情况的研究缺乏在动物体释放机理的相关证据,随着研究的深入,相信在未来纳米蛋白包埋物在动物实验和释放建模等方面将会有更多深入研究。

3.3 功效变化

目前,关于纳米动物蛋白包埋物组装前后功能变化研究有很多,具体见表2。第1类是天然色素化合物,如槲皮素、虾青素、胡萝卜素,其抗氧化活性和稳定性在动物蛋白包合后抗氧化活性和稳定性变化。纳米动物蛋白包埋物稳定性研究主要借助光照、pH、离子强度、热处理以及储藏时间对包埋物的影响进行验证。对其抗氧化活性的验证主要通过体外抗氧化试验进行验证,主要涉及DPPH(1,1-二苯基-2-三硝基

苯胍)自由基清除试验、ABTS⁺(2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸))二铵盐自由基清除试验和Fe³⁺还原性试验。在开展抗氧化和稳定性试验验证的同时,也对纳米动物蛋白包埋物的浊度、粒径和形态学指标进行了检测,以进一步证明包埋物抗氧化和稳定性试验结果。例如,Sponton等^[75]研究了pH值和热处理时间对包埋物稳定性的影响,评价了加热时间(0~20 min)和pH值(9.6~11.4)对粒径、表面疏水性和结合能力的影响。研究发现,随着pH值的升高,粒径逐渐减小,由于蛋白质之间的电荷排斥,纳米包埋物表现出更高的表面疏水性和更强的结合能力,且稳定性较好,而加热时间对包埋物特性并没有显著性的影响。薛瑾等^[69]研究了光照、热处理和储藏时间对蛋白包埋物抗氧化稳定性的影响。光照前,由于溶液中的蛋白分子与部分EGCG发生氢键相互作用,使EGCG的自由羟基数减少,从而使游离的EGCG对DPPH抑制率及Fe³⁺还原能力均明显优于EGCG-蛋白包埋物。光照2 h后,EGCG对光的敏感性使其发生氧化降解,游离EGCG对DPPH的清除能力和Fe³⁺的还原能力明显弱于EGCG-蛋白包埋物,热处理之后发现其抗氧化稳定性有所降低,并且随着储藏时间的延长,抗氧化稳定性也会降低,这进一步说明蛋白可在一定程度上具有保护EGCG的作用,但是经过热处理和储藏时间的延长,其抗氧化稳定性都有一定程度的下降,相关研究在舒豪等^[76]的研究中也有所体现。第2类是一些具有药用功效的成分,如香芹酚、淫羊藿苷、紫杉醇、石杉碱等,这些药物具有抗菌、抗肿瘤、治疗神经系统疾病等功效,但受到毒副作用、生物利用度低、透过屏障能力弱的因素影响,其通过包合后形成纳米动物蛋白包埋物,其抗菌活性增强、生物利用度提高、透过血脑屏障能力提升、毒副作用减少,开始具有靶向功能等。如花春阳等^[21]利用酪蛋白对抗菌成分香芹酚进行包合后,其抗枇杷炭疽病能力显著增强。宋效庆等^[64]利用明胶对淫羊藿苷进行包合后,形成的纳米包合物在促进骨组织修复方面的生物利用度提升明显。姜悦垚等^[24]利用乳铁蛋白对石杉碱进行包埋后,该药物的其毒副作用减小,透过血脑屏障能力增加,包合物具有神经系统靶向性,在治疗阿尔茨海默病方面效果提升明显。

4 结语

在食品、药品和化妆品等众多领域中,纳米动物蛋白包埋技术得到了相对广泛应用,对其进行持续、深入研究和应用,对开发出新型包装材料、特殊功能食品、缓释和靶向药物制剂和高档化妆品将具有重要意义。目前在该领域的研究也存在2个方面的缺陷:针对纳米包埋物的研究主要集中在反应机制、体外稳定性和抗氧化试验上,动物体内稳定性、代谢动力学、

毒理学、靶向性和生物利用率方面的试验研究较少,这对纳米动物蛋白包埋技术后期的新产品研发方面是不利的;壁材-动物蛋白的化学处理方式对包埋物稳定性方面的研究不够深入。笔者认为,后续除了要加大纳米动物蛋白包埋物动物体内实验研究力度之外,借助于计算机建模是一个较好的思路。除此之外,通过深入研究化学处理方式(糖基化、甲基化、交联化等方式)处理壁材对纳米蛋白包埋物性能的影响来弥补第2个缺陷。再者,通过充分考虑食品、药品的功能性质等因素,不断优化纳米包埋物的制备方法,深入研究形成机理、释放特性及潜在的生物毒性等,建立一系列高包埋率、高稳定性、良好释放特性和较低生物毒性等的包埋技术体系。相信在不远的将来,纳米蛋白包埋物的在新型包装材料、功能性食品、靶向药物和高档化妆品开发领域的应用必将有质的飞跃。

参考文献:

- [1] 魏雪林, 钟艳, 刘雪, 等. 疏水性功能性因子纳米包埋体系研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(14): 300-306.
WEI Xue-lin, ZHONG Yan, LIU Xue, et al. Review of Hydrophobic Functional Factor Nano-Embedding System[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(14): 300-306.
- [2] 陈超. 影响燕麦生物碱生物利用率的因素探究与纳米共包埋粒子的构建[D]. 无锡: 江南大学, 2020: 10-20.
CHEN Chao. Study on the Factors Affecting Bioavailability of Avenanthramides and Construction of Nano Co-Encapsulated Particle[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020: 10-20.
- [3] 包华燕. 基于乳清分离蛋白乳化/凝胶的营养活性成分共包埋研究[D]. 无锡: 江南大学, 2020: 10-15.
BAO Hua-yan. Study on the Co-Encapsulation of Bioactive Components Based on Emulsification/Gelation of Whey Protein Isolate[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020: 10-15.
- [4] 李佳洁, 李江华. 纳米保健食品安全性及研究动向[J]. 食品科学, 2011, 32(17): 366-370.
LI Jia-jie, LI Jiang-hua. Safety and Prospects of Nanotechnology in Functional Foods[J]. Food Science, 2011, 32(17): 366-370.
- [5] 冯鑫, 苏现波, 马明思, 等. 兔皮胶原快速明胶化分子机制[J]. 食品科学, 2019, 40(17): 65-71.
FENG Xin, SU Xian-bo, MA Ming-si, et al. Molecular Mechanism of Rapid Gelatinization of Rabbit Skin Collagen[J]. Food Science, 2019, 40(17): 65-71.
- [6] FENG Xin, DAI Hong-jie, MA Liang, et al. Food-Grade Gelatin Nanoparticles: Preparation, Characterization, and Preliminary Application for Stabilizing Pickering Emulsions[J]. Foods, 2019, 8(10): 479.
- [7] GOMADO F D, WANG Yan-ling, KOBINA F, et al. Impact of Nanoparticles Concentration on the Properties of a Reversible Emulsion Stabilized by PH-Responsive Cationic Surfactant[J]. Journal of Dispersion Science and Technology, 2020, 41(10): 1445-1454.
- [8] 余岚岚. 基于环糊精复合物传质体的共递送体系的构建与表征[D]. 无锡: 江南大学, 2020: 10-15.
SHE Lan-lan. Construction and Characterization of Co-Delivery System Based on Active-in-Cyclodextrin-in-Transfersomes[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2020: 10-15.
- [9] 钱露. 溶剂对直链淀粉和天然纤维素纳米力学性能的影响[D]. 成都: 西南交通大学, 2019: 5-10.
QIAN Lu. Effects of Solvent on the Nanomechanical Properties of Amylose and Natural Cellulose[D]. Chengdu: Southwest Jiaotong University, 2019: 5-10.
- [10] 李青, 曹婷, 杨韵仪, 等. 用大豆蛋白-甜菊糖苷复合稳定剂制备植物甾醇纳米乳液及其稳定性研究[J]. 现代食品科技, 2019, 35(3): 133-139.
LI Qing, CAO Ting, YANG Yun-yi, et al. Stability of Phytosterol-Loaded Nanoemulsions Prepared Using Soy Protein-Stevioside Complex as the Stabilizer[J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(3): 133-139.
- [11] 李榕, 何玉凤, 马琼, 等. 蛋白质高分子药物载体研究进展[J]. 化学通报, 2014, 77(6): 484-489.
LI Rong, HE Yu-feng, MA Qiong, et al. Advances in Protein-Based Polymer Drug Carriers[J]. Chemistry, 2014, 77(6): 484-489.
- [12] ZHANG Liang-ke, HOU Shi-xiang, MAO Sheng-jun, et al. Uptake of Folate-Conjugated Albumin Nanoparticles to the SKOV3 Cells[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2004, 287(1/2): 155-162.
- [13] 安君. 红法夫酵母发酵钝顶螺旋藻合成虾青素及载虾青素微粒功能性质研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2020: 5-10.
AN Jun. Astaxanthin Synthesis by Xanthophyllomyces Dendrorhous Fermentation with Spirulina Platensis and Functional Properties of Astaxanthin-Loading Microparticles[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2020: 5-10.
- [14] 吴婉仪, 李璐, 李达鸿, 等. 番茄红素纳米乳液体系的稳定性能研究[J]. 中国食品学报, 2019, 19(12): 96-103.
WU Wan-yi, LI Lu, LI Da-hong, et al. Stability Studies for Lycopene-Load Nanoemulsions System[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2019, 19(12): 96-103.
- [15] 张倩, 杨坛, 黎枰坪, 等. 左旋肉碱修饰的壳聚糖-硬脂酸协载褪皮素口服紫杉醇纳米胶束的制备、表征及在体肠循环研究[J]. 中草药, 2020, 51(21): 5440-5446.
ZHANG Qian, YANG Tan, LI Ping-ping, et al. Study on

- L-Carnitine Modified Quercetin-Coloading Chitosan-Stearic Acid Nanomicelles as Oral Paclitaxel Delivery System: Preparation, Characterization and in Vivo Intestine Absorption in Rats[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2020, 51(21): 5440-5446.
- [16] 肖益东, 蔡文斐, 郑赵敏, 等. 超声作用下虎乳灵芝多糖-硒纳米粒子的非酶糖基化抑制作用[J]. *食品科学*, 2020, 41(15): 134-139.
- XIAO Yi-dong, CAI Wen-fei, ZHENG Zhao-min, et al. Inhibition Effect of *Lignosus Rhinocerotis* Polysaccharides-Selenium Nanoparticles Prepared by Ultrasound Treatment on Non-Enzymatic Glycosylation[J]. *Food Science*, 2020, 41(15): 134-139.
- [17] 曹发昊, 张百胜, 王艳萍, 等. 复方人参皂苷纳米乳对OVA接种小鼠免疫功能的影响[J]. *西北农业学报*, 2018, 27(12): 1731-1735.
- CAO Fa-hao, ZHANG Bai-sheng, WANG Yan-ping, et al. Effect of Compound Ginsenoside and Levamisole Hydrochloride Nanoemulsion on Immune Function of Mice Inoculated with OVA[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2018, 27(12): 1731-1735.
- [18] 焦培培, 郭艳丽, 牛爱华, 等. 人血清白蛋白微/纳米管的制备及影响因素[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(1): 191-195.
- JIAO Pei-pei, GUO Yan-li, NIU Ai-hua, et al. Preparation of Human Serum Albumin Micro/Nanotubes[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2016, 36(1): 191-195.
- [19] 蒋晓菡. 牛血清白蛋白复合纳米材料的合成及对猪繁殖与呼吸综合征病毒的抑制作用研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2019: 15-40.
- JIANG Xiao-han. Synthesis of Nanocomposites Based on Bovine Serum Albumin and the Inhibition of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2019: 15-40.
- [20] DAI Hong-jie, LI Yuan, MA Liang, et al. Fabrication of Cross-Linked β -Lactoglobulin Nanoparticles as Effective Stabilizers for Pickering High Internal Phase Emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 109: 106151.
- [21] 花春阳, 李卓焯, 金鹏, 等. 香芹酚-酪蛋白纳米颗粒制备及其对枇杷果实炭疽病的抑制作用[J]. *食品科学*, 2020, 41(15): 282-287.
- HUA Chun-yang, LI Zhuo-ye, JIN Peng, et al. Preparation of Carvacrol-Loaded Casein Nanoparticles and Its Inhibitory Activity Against *Colletotrichum Acutatum* on Loquat Fruit(*Eriobotrya Japonica*)[J]. *Food Science*, 2020, 41(15): 282-287.
- [22] 杨贵妃, 杨柳, 钟金锋, 等. 超声均质法制备以乳清蛋白-OSA 变性淀粉为乳化剂的纳米乳液[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(12): 169-175.
- YANG Gui-fei, YANG Liu, ZHONG Jin-feng, et al. Ultrasound Homogenization of Nanoemulsions Stabilized by Whey Protein-Octenyl Succinic Anhydride Modified Starch[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(12): 169-175.
- [23] 姚晓琳, 徐凯, 刘宁, 等. 乳清分离蛋白/阿拉伯胶载铁纳米颗粒的特性研究[C]// 中国食品科学技术学会第十七届年会摘要集, 西安, 2020: 192-193.
- YAO Xiao-lin, XU Kai, LIU Ning, et al. Characteristics of Iron Loaded Whey Protein/Gum Arabic Nanoparticles[C]// Proceedings of 17th Annual Meeting of CIFST, Xi'an, 2020: 192-193.
- [24] 姜悦焱. 乳铁蛋白修饰的石杉碱甲纳米乳构建及其经鼻脑靶向机制研究[D]. 长春: 吉林大学, 2020: 3-10.
- JIANG Yue-yao. The Design of Lactoferrin Loaded Hupa Nanoemulsion and Research of Brain Targeting Mechanism via Intranasal Route[D]. Changchun: Jilin University, 2020: 3-10.
- [25] 陈楚楚, 吴启静, 王怡仁, 等. 仿生高强度甲壳素纳米纤维/明胶水凝胶的制备与性能[J]. *高分子材料科学与工程*, 2020, 36(8): 152-157.
- CHEN Chu-chu, WU Qi-jing, WANG Yi-ren, et al. Synthesis and Characterization of Bioinspired Chitin Nanofiber/Gelatin Hydrogels with High Mechanical Properties[J]. *Polymer Materials Science & Engineering*, 2020, 36(8): 152-157.
- [26] 刘建奎, 邢效娟, 周瑞, 等. 牛血清白蛋白与槲皮素及花青素相互作用方式及其纳米颗粒特征的比较[J]. *食品科学*, 2017, 38(5): 7-13.
- LIU Jian-kei, XING Xiao-juan, ZHOU Rui, et al. Interaction Modes and Nanoparticle Characteristics of Bovine Serum Albumin with Quercetin and Anthocyanin[J]. *Food Science*, 2017, 38(5): 7-13.
- [27] DAI Qing-yuan, ZHU Xiu-ling, YU Jing-yan, et al. Mechanism of Formation and Stabilization of Nanoparticles Produced by Heating Electrostatic Complexes of WPI-Dextran Conjugate and Chondroitin Sulfate[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(27): 5539-5548.
- [28] TONG Ling-xia, CHEN Wei, WU Jing, et al. Folic Acid-Coupled Nano-Paclitaxel Liposome Reverses Drug Resistance in SKOV3/TAX Ovarian Cancer Cells[J]. *Anti Cancer Drugs*, 2014, 25(3): 244-254.
- [29] BAYAZEED A, ALJUHANI E, MORAD M, et al. Designed Anticancer Agent from VO(II) Complexes: Spectroscopic Characterization, Structural Optimization, and in Vitro and in Silico Assays towards Breast Cancer[J]. *ChemistrySelect*, 2020, 5(44): 14091-14099.
- [30] 范晓慧. 紫杉醇阿霉素共载药胶束的制备及体内外评价[D]. 济南: 山东大学, 2016: 15-25.
- FAN Xiao-hui. Preparation and in Vitro and in Vivo Evaluation of Polyion Complex Micelles for Co-Delivery of Doxorubicin and Paclitaxel[D]. Jinan: Shandong University, 2016: 15-25.

- [31] 滕丽萍, 张艺壤, 付海田, 等. 载肝素钠的鱼精蛋白-去氧胆酸纳米复合物的制备及其抗肿瘤活性[J]. 中国医药工业杂志, 2015, 46(11): 1192-1196.
TENG Li-ping, ZHANG Yi-rang, FU Hai-tian, et al. Preparation and Anti-Tumor Activity of Protamine-Deoxycholic Acid Nanocomplexes Loaded with Heparin Sodium[J]. Chinese Journal of Pharmaceuticals, 2015, 46(11): 1192-1196.
- [32] 崔晓娟, 陆晓兰, 冯炜炜. 载紫杉醇的聚乙二醇聚丙交酯-乙交酯聚赖氨酸纳米粒制备及其对耐药卵巢癌细胞的作用[J]. 中国新药与临床杂志, 2020, 39(9): 552-557.
CUI Xiao-juan, LU Xiao-lan, FENG Wei-wei. Preparation of Paclitaxel-Loaded MPEG-PLGA-PLL Nanoparticles and Their Effects on Drug-Resistant Ovarian Cancer Cells[J]. Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies, 2020, 39(9): 552-557.
- [33] 蔡畅. 白蛋白为基础的系列紫杉醇纳米粒的制备及体内评价[D]. 聊城: 聊城大学, 2019: 5-10.
CAI Chang. A Series of Albumin-Based Paclitaxel Nanoparticles: Preparation, in Vitro and in Vivo Evaluation[D]. Liaocheng: Liaocheng University, 2019: 5-10.
- [34] SHEN Xue, FANG Tian-qi, GAO Feng, et al. Effects of Ultrasound Treatment on Physicochemical and Emulsifying Properties of Whey Proteins Pre-and Post-Thermal Aggregation[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 668-676.
- [35] 王永辉, 杨晓泉, 王金梅, 等. 蛋白水解物及多糖负载姜黄素制备纳米颗粒及其稳定性[J]. 农业工程学报, 2015, 31(10): 296-302.
WANG Yong-hui, YANG Xiao-quan, WANG Jin-mei, et al. Preparation of Curcumin Nanoparticles by Protein Hydrolysates and Polysaccharids and Its Stabilization[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(10): 296-302.
- [36] LIU Fei, ANTONIOU J, LI Yue, et al. Preparation of Gelatin Films Incorporated with Tea Polyphenol-Nano Particles for Enhancing Controlled Release Antioxidant Properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(15): 3987-3995.
- [37] 万百惠, 李敬, 赵英源, 等. 微/纳米封装技术在改善虾青素水溶性和稳定性中的应用[J]. 食品工业科技, 2014, 35(23): 382-386.
WAN Bai-hui, LI Jing, ZHAO Ying-yuan, et al. Applications of Micro/Nano-Encapsulation Technology on Improving the Solubility and Stability of Astaxanthin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(23): 382-386.
- [38] 赵英源. 虾青素/DNA/壳聚糖纳米复合物的制备及其稳定性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015: 5-15.
ZHAO Ying-yuan. Preparation and Stability Study of Astaxanthin/DNA/Chitosan Nano-Complex[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015: 5-15.
- [39] 尤宗琦, 吴琪, 周晓明, 等. 虾青素纳米载药颗粒靶向神经元细胞的可行性研究[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(8): 1387-1390.
YOU Zong-qi, WU Qi, ZHOU Xiao-ming, et al. Feasibility Study of Astaxanthin-Loaded Nanoparticles Targeting Neurons[J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2019, 36(8): 1387-1390.
- [40] 刘焯. 负载白藜芦醇的 zein/pectin 核壳型纳米颗粒生物利用度及抗炎抗氧化活性研究[D]. 广州: 广东药科大学, 2020: 5-10.
LIU Ye. Bioavailability, Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Resveratrol-Loaded Zein/Pectin Core-Shell Nanoparticles[D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University, 2020: 5-10.
- [41] 王磊. 基于乳清分离蛋白乳状液体系的维生素 E 的包埋和保护研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015: 8-20.
WANG Lei. Study on the Encapsulation and Protection of Vitamin E Based on Whey Protein Isolate Stabilized Emulsion System[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015: 8-20.
- [42] DUHEM N, DANHIER F, PRÉAT V. Vitamin E-Based Nanomedicines for Anti-Cancer Drug Delivery[J]. Journal of Controlled Release, 2014, 182: 33-44.
- [43] CHAPEAU A L, BERTRAND N, BRIAND-BION V, et al. Coacervates of Whey Proteins to Protect and Improve the Oral Delivery of a Bioactive Molecule[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 38: 197-204.
- [44] 沈阳, 边成原, 詹家荣, 等. 铁蛋白系统纳米粒子的构建及其相互作用[J]. 华东理工大学学报(自然科学版), 2018, 44(3): 308-315.
SHEN Yang, BIAN Cheng-yuan, ZHAN Jia-rong, et al. Construction and Interaction of Ferritin Based System Nanoparticles[J]. Journal of East China University of Science and Technology (Natural Science Edition), 2018, 44(3): 308-315.
- [45] 钱柳, 米亚妮, 陈雷, 等. 乳清蛋白/矢车菊素-3-O-葡萄糖苷纳米粒的制备[J]. 食品科学, 2020, 41(10): 14-20.
QIAN Liu, MI Ya-ni, CHEN Lei, et al. Fabrication and Study of Whey Protein/Cyanidin-3-O-Glucoside Nanoparticles[J]. Food Science, 2020, 41(10): 14-20.
- [46] 胡杰, 郜海燕, 房祥军, 等. 不同包埋处理对杨梅酚酸稳定性的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(19): 72-77.
HU Jie, GAO Hai-yan, FANG Xiang-jun, et al. Effect of Different Coating Materials on the Stability of Phenolic Acid Isolated from Bayberry[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(19): 72-77.
- [47] IKAI A. Invited Review Nano-Mechanics of Proteins with Possible Applications[J]. Superlattices and Microstructures, 2002, 31(1): 43-62.
- [48] PAN Xing-ren, QIN Peng-fei, LIU Ru-tao, et al. Cha-

- racterizing the Interaction between Tartrazine and Two Serum Albumins by a Hybrid Spectroscopic Approach[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(12): 6650-6656.
- [49] WU Xu-li, WU Hui, LIU Mei-xia, et al. Analysis of Binding Interaction Between (-)-Epigallocatechin (EGC) and β -lactoglobulin by Multi-Spectroscopic Method[J]. *Spectrochimica Acta Part a Molecular & Biomolecular Spectroscopy*, 2011, 82(1): 164-168.
- [50] KANAKIS C D, HASNI I, BOURASSA P, et al. Milk B-Lactoglobulin Complexes with Tea Polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2011, 127(3): 1046-1055.
- [51] ISRAELI L G, YOAV D L. Self-Assembly of Hydrophobin and Its Co-Assembly With Hydrophobic Nutra-ceuticals in Aqueous Solutions: Towards Application as Delivery Systems[J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 35(1): 28-35.
- [52] HASNI I, BOURASS P, HAMDANI S, et al. Interaction of Milk α - and β -Caseins with Tea Polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2011, 126(2): 630-639.
- [53] RAEI M, SHAHIDI F, FARHOODI M, et al. Application of Whey Protein-Pectin Nano-Complex Carriers for Loading of Lactoferrin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 105: 281-291.
- [54] MAHESH K V, SINGH S K, GULATI M. A Comparative Study of Top-Down and Bottom-Up Approaches for the Preparaton of Nanosus-Pensions of Glipizide[J]. *Power Technology*, 2014, 256(4): 436-449.
- [55] JIN X, LUO Y, CHEN Y, et al. Novel Breviscapine Nanocrystals Modified by Panax notoginseng Saponins for Enhancing Bioavailability and Synergistic Anti-Platelet Aggregation Effect[J]. *Colloids Surf B Bio-interfaces*, 2018, 175(3): 333-342.
- [56] SOLEIMNIFAR M, JAFARI S M, ASSADPOUR E. Encapsulation of Olive Leaf Phenolics Within Electro-sprayed Whey Protein Nanoparticles[J]. *Production and Characterization* 2019, 101(4): 105572.
- [57] LOYEAU P A, SPOTTI M J, VINDEROLA G, et al. Encapsulation of Potential Probiotic and Canola Oil Through Emulsification and Ionotropic Gelation, Using Protein/Polysaccharides Maillard Conjugates as Emulsifiers[J]. *LWT*, 2021, 150: 111980.
- [58] KAKRAN M, SAHOO N G, TAN I L, et al. Preparation of Nanoparticles of Poorly Water-Soluble Antioxidant Curcumin by Antisolvent Precipitation Methods[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2012, 14(3): 1-11.
- [59] THABET Y, ELSABAHY M, EISSA N G. Methods for Preparation of Niosomes: A Focus on Thin-Film Hydration Method[J]. *Methods (San Diego, Calif)*, 2022, 199: 9-15.
- [60] 樊永康, 项婷, 崔心禹, 等. 负载槲皮素的酪蛋白-果胶纳米粒子的构建[J]. *精细化工*, 2019, 36(7): 1308-1315.
- FAN Yong-kang, XIANG Ting, CUI Xin-yu, et al. Construction of Casein-Pectin Nanoparticles Loaded with Quercetin[J]. *Fine Chemicals*, 2019, 36(7): 1308-1315.
- [61] 张怡欣. 基于酪蛋白自组装与乳化作用提高 β -CE 稳定性及生物利用率[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2016: 5-10.
- ZHANG Yi-xin. Based on the re-Assembly and Emulsification of Casein to Improve the Stability and Bioavailability of B-Carotene[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2016: 5-10.
- [62] 周佳敏, 蒋婷婷, 尹莹, 等. 盐酸洛哌丁胺-酪蛋白纳米复合物的制备及体外释放的研究[J]. *华西药理学杂志*, 2018, 33(1): 24-27.
- ZHOU Jia-min, JIANG Ting-ting, YIN Ying, et al. Study on the Preparation and Release in Vitro of Loperamide-Loaded Casein Nanoparticles[J]. *West China Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2018, 33(1): 24-27.
- [63] 田会婷. 姜黄素纳米复合物稳定的 Pickering 乳液的研究[D]. 开封: 河南大学, 2019: 10-15.
- TIAN Hui-ting. Study on Pickering Emulsion Stabilized by Curcumin Nanocomplexes[D]. Kaifeng: Henan University, 2019: 10-15.
- [64] 宋效庆, 刘红, 陈天杰, 等. 淫羊藿苷/载明胶纳米复合物-PLGA 缓释系统的制备及工艺优化[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2018, 44(2): 438-443.
- SONG Xiao-qing, LIU Hong, CHEN Tian-jie, et al. Preparation of Icaritin/Gelatin Nanocomposite-PLGA Sustained Release System and Its Optimization of Technology[J]. *Journal of Jilin University (Medicine Edition)*, 2018, 44(2): 438-443.
- [65] CHAVOSHPOUR N Z, SAHIHI M. Encapsulation of Querce-Tin-Loaded β -Lactoglobulin for Drug Delivery Using Modified Anti-Solvent Method[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 96(11): 493502.
- [66] SHEN Xue, SHAO Sheng-nan, GUO Ming-ruo. Ultrasound-Induced Changes in Physical and Functional Properties of Whey Proteins[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2017, 52(2): 381-388.
- [67] 沈雪. 乳清蛋白的超声改性及其包埋体系的应用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017: 5-20.
- SHEN Xue. Effects of Ultrasound on Functional Properties of Whey Proteins and Whey Protein-Based Delivery System for Functional Ingredients[D]. Changchun: Jilin University, 2017: 5-20.
- [68] PENG Sheng-feng, LI Zi-ling, ZOU Li-qiang, et al. Enhancement of Curcumin Bioavailability by Encapsulation in Sophorolipid-Coated Nanoparticles: An in Vitro and in Vivo Study[J]. *Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(6): 1488-1497.
- [69] 薛瑾. 茶多酚-蛋白纳米复合物的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014: 5-10.

- XUE Jin. Study on Tea Polyphenol-Protein Nano-Complexes[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2014: 5-10.
- [70] 崔梦妮. 改性乳清蛋白磁性纳米粒子药物载体的制备及载药性研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017: 15-30.
- CUI Meng-ni. Preparation and Study on Drug Loaded of Modified Whey Protein Magnetic Nanoparticles as Drug Carriers[D]. Changchun: Jilin University, 2017: 15-30.
- [71] DUBE A, NICOLAZZO J A, LARSON I. Chitosan Nanoparticles Enhance the Plasma Exposure of (-)-Epigallocatechin Gallate in Mice Through an Enhancement in Intestinal Stability[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011, 44(3): 422-426.
- [72] 伍妍俊, 汪小钢, 宛晓春. 甲基化 EGCG 的合成及其在人工模拟胃肠液中的稳定性[J]. *安徽农业大学学报*, 2010, 37(4): 688-691.
- WU Yan-jun, WANG Xiao-gang, WAN Xiao-chun. Synthesis of Methylated EGCG and Its Stability in Artificial Simulation Gastric Juice and Artificial Simulation Intestinal Juice[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2010, 37(4): 688-691.
- [73] 姚惠芳, 董学艳, 景浩. 牛血清白蛋白与花青素纳米颗粒的特性及稳定性研究[J]. *食品科学*, 2014, 35(1): 1-6.
- YAO Hui-fang, DONG Xue-yan, JING Hao. Characteristics of Bovine Serum Albumin-Anthocyanin Bioactive Nanoparticles[J]. *Food Science*, 2014, 35(1): 1-6.
- [74] 柴少虎. 壳聚糖微球的制备及其对茶多酚 EGCG 的微胶囊载体作用[D]. 上海: 华东理工大学, 2012: 5-10.
- CHAI Shao-hu. Microcapsule Carrier Effects of Chitosan Microspheres on EGCG[D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2012: 5-10.
- [75] SPONTON O E, PEREZ A A, RAMEL J V, et al. Protein Nanovehicles Produced from Egg White Part 1: Effect of pH and Heat Treatment Time on Particle Size and Binding Capacity[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 73(6): 67-73.
- [76] 舒蒙, 姚晓雪, 陈玉, 等. 乳清分离蛋白/阿拉伯胶复合物纳米颗粒制备及其 pH 稳定性[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(13): 122-127.
- SHU Meng, YAO Xiao-xue, CHEN Yu, et al. Preparation and pH Stability of the Whey Protein Isolate/Gum Arabic Complex Nanoparticles[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(13): 122-127.

责任编辑: 曾钰婵