

乳清蛋白纳米载体递送生物活性物质研究进展

胡文梅, 李慧雪, 孙亚鹏, 刘霄莹, 张润峰, 陈山*

(广西大学轻工与食品工程学院 南宁 530004)

摘要 生物活性物质因在健康调节和疾病预防等方面表现出优异的功效而被研究者广泛关注,然而,其生物利用度低且易受环境条件影响,使应用范围受到限制。纳米递送体系已成为包埋生物活性物质和提高其生物利用度的有效途径之一。以乳清蛋白为基材的纳米载体体系具有出色功能特性,可以负载生物活性物质并实现控制释放,提高其生物利用度和稳定性,在众多纳米载体体系中脱颖而出。本文综述乳清蛋白的组成和功能特性,总结基于乳清蛋白的纳米递送体系类型,包括纳米乳液、多重乳液、乳液凝胶、自组装和纳米颗粒,同时概述相关递送体系的应用现状,并指出该研究领域存在的问题以及未来的研究方向,为后续研究提高乳清蛋白载体的稳定性和负载率,拓展其应用领域提供参考。

关键词 乳清蛋白; 生物活性物质; 递送体系; 应用

文章编号 1009-7848(2024)11-0424-14 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.11.039

近年来,类胡萝卜素、酚类化合物、黄酮类化合物及植物甾醇等生物活性物质被广泛应用于食品、药品和保健品,对人体健康有益且可以降低非传染性疾病的风险,例如糖尿病、肥胖症和癌症等^[1]。然而,由于大多数生物活性物质溶解度差,易受环境因素影响,在加工和储存过程中以及在胃肠条件下不稳定,易发生降解,从而降低了生物活性物质的生物利用度,因此提高生物活性物质的稳定性对充分发挥其生物利用度具有重要意义^[2-3]。封装技术可以保护生物活性物质免受环境的影响并利于优化输送和控释活性物质,也可以设计食品所需的风味、质地、颜色等感官特性,从而在新型功能食品的设计和开发中发挥重要作用^[4-5]。纳米递送体系作为一种可以封装和保护生物活性物质的方式,具有小尺寸,高比表面积/体积,良好的分散性以及负载活性物质的有效靶向或控释等优点,已成为包埋生物活性物质和提高其生物利用度的有效途径^[6-7]。目前,纳米递送体系的组成包括合成材料和天然材料,然而,其潜在毒性问题以及消费者对绿色健康饮食的追求,使天然材料更受消费者的青睐^[8]。天然材料中,蛋白质因出色的功能特性(如凝胶化、乳化和保水能力等),在开发生

物活性物质的递送系统方面极具前景^[9],现已有许多基于蛋白质的递送体系,如乳液凝胶^[10]、纳米颗粒^[11]、乳液^[12]等。

乳清蛋白来源于牛奶,营养价值高,且在乳化、胶凝、发泡等方面表现出优异特性,被广泛应用于食品和生物医药领域。近年来,乳清蛋白作为纳米递送体系的理想材料越来越受到关注,主要有以下几个原因^[13-16]:1)乳清蛋白是一种公认的安全生物材料,具有毒性低,生物降解性高和生物相容性高等特性;2)由于其基本构建单位(氨基酸)的化学性质,乳清蛋白分子同时具有疏水性和亲水性区域,能与不同特性(疏水性、亲水性、带正电荷和负电荷)的分子相互作用,是生物活性物质的优良载体;3)乳清蛋白中 β -乳球蛋白能与疏水物质高度结合,适用于包埋疏水性活性物质;4)乳清蛋白易与其它化合物相互作用形成复合物,从而封装疏水性和亲水性生物活性物质以提高它们的稳定性、生物活性和生物利用度。

由此可见,将乳清蛋白作为载体递送生物活性物质具有巨大优势,然而,目前相关研究主要集中在论述制备过程中如何调节纳米递送体系的理化特性方面,鲜有针对乳清蛋白功能特性构建的纳米载体类型的综述。因不同载体类型在递送不同生物活性物质上具有指导性意义,故本文介绍乳清蛋白的组成和功能特性,重点论述乳清蛋白纳米载体提高生物活性物质稳定性的研究现状和不同纳米载体类型的优缺点,并总结其在食品与

收稿日期: 2023-11-19

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(32260561)

第一作者: 胡文梅,女,硕士生

通信作者: 陈山 E-mail: chenshan@gxu.edu.cn

生物领域的应用, 以期为乳清蛋白纳米递送体系的进一步研究提供参考。

1 乳清蛋白的组成与功能特性

1.1 乳清蛋白的组成

乳清蛋白约占牛奶总蛋白的 18%~20%, 是奶酪加工的副产品, 由各种功能的球状蛋白质组合而成^[17], 包括 β -乳球蛋白、 α -乳清蛋白、牛血清白蛋白等, 其理化特性如表 1 所示。其中, β -乳球蛋白是乳清蛋白的主要成分, 属于脂质运载蛋白家

族, 可以作为疏水分子的纳米载体^[18]。Zimet 等^[19]成功制备出由 β -乳球蛋白和果胶组成的纳米复合物包裹的 ω -3 多不饱和脂肪酸分子, 并显示出良好的胶体稳定性, 具有应用于酸性脱脂饮料的前景。乳清蛋白的主要产品是乳清分离蛋白(Whey protein isolate, WPI)和乳清浓缩蛋白(Whey protein concentrate, WPC), 可以用作胶凝剂、乳化剂、发泡剂等, 且因其高蛋白质含量而具有广泛的食物应用。

表 1 乳清蛋白的类型^[20]

Table 1 Types of whey proteins^[20]

种类	分子质量/ku	氨基酸数量	等电点	质量分数%	功能特性
β -乳球蛋白	18.4	162	5.1	50	乳化、发泡、凝胶性
α -乳白蛋白	14.2	123	4.2	20	营养特性
牛血清白蛋白	69.0	582	4.7~4.9	6	凝胶性
免疫球蛋白	25.0~70.0				抗菌、抗病毒
乳铁蛋白	80.0	691	8.6		抗氧化、抗菌

1.2 乳清蛋白的凝胶特性

乳清蛋白因富含 β -乳球蛋白而具有出色的凝胶性, 可作为胶凝剂应用于食品, 也能用于构建活性成分封装系统。热诱导凝胶化是制备乳清蛋白纳米递送体系的传统凝胶化方法, 可实现缓释和提高负载药物的口服生物利用度。当加热到 80 °C 以上, 乳清蛋白部分或完全展开, 暴露出疏水基团及游离的巯基, 此时分子间通过疏水相互作用和二硫键相互结合, 形成凝胶网络, 适用于活性分子的载体^[17]。Xu 等^[21]采用超声辅助 pH 值法制备出粒径约 200 nm 的负载白藜芦醇的乳清蛋白凝胶, 与线性蛋白质明胶相比, 含有 β -乳球蛋白的乳清蛋白复合物的稳定性更高, 封装率高达 92%, 且乳清蛋白通过疏水相互作用与白藜芦醇相结合, 减小了其与促氧化剂相互作用的概率, 显著提高了其抗氧化能力。针对热诱导凝胶化造成的热敏性活性物质的损失, 前人开发出两步法制备冷凝固凝胶, 用作热敏性活性物质的载体, 即乳清蛋白加热至变性温度后形成乳清蛋白聚集体, 在酸、盐离子或酶诱导下形成冷凝胶。Beaulieu 等^[22]利用乳清蛋白的凝胶特性, 成功制备出负载视黄醇的冷凝胶乳清蛋白珠, 能保护视黄醇不被胃消化降解, 提高

其生物利用度, 具有在制药、食品和化妆品等领域应用的前景。

1.3 乳清蛋白的乳化特性

乳清蛋白具有优异的乳化特性, 是目前食品工业中广泛使用的天然乳化剂之一。乳清蛋白的乳化性归因于其中含有 β -乳球蛋白。 β -乳球蛋白是一种刚性且构象稳定性高的球状蛋白, 其表面活性低于非球状(通常被称为无规则卷曲)蛋白, 例如 β -酪蛋白或其它热力学稳定性较低的蛋白质^[23]。将 β -乳球蛋白加热到 60 °C 左右, 使其结构展开暴露出表面的基团(如游离巯基和疏水残基), 可增强其乳化性^[24]。Ha 等^[25]利用加热改善 β -乳球蛋白乳化性, 制备负载辅酶 Q10 的纳米乳液, 发现较小的液滴更有利于辅酶 Q10 在胃肠道中释放和溶解, 从而提高了辅酶 Q10 的生物可及性。此外, 乳清蛋白因含有游离巯基和芳香族氨基酸而具有一定抗氧化活性。此外, 乳清蛋白也可以通过螯合过渡金属并清除自由基从而减少氧化, 有利于提高被封装物质的稳定性^[26]。有研究发现, 乳清蛋白在油包水乳液中具有良好的抑制脂质氧化的能力, 且中性条件下抑制效果最好, 提示乳清蛋白作为递送系统能增强生物活性物质的氧化稳定性^[27]。

因此,基于乳清蛋白的乳化性,可以利用单一乳液^[28]、多重乳液^[29]、纳米乳液^[30]等方式递送生物活性分子。

1.4 乳清蛋白的疏水特性

乳清蛋白结构具有特殊性,含有一个核心疏水区域,能够以不同类型的相互作用与疏水性(精油、香料和香气成分等)和弱极性的小分子(如脂溶性维生素、脂肪酸、功能性肽等)结合^[31],结合过程主要是 β -乳球蛋白发挥重要作用。 β -乳球蛋白结构由9条反平行 β 链、一个主要的 α 螺旋和随机线圈组成, β 链构成疏水结构域,利于 β -乳球蛋白与疏水配体相结合,如多酚^[32]、花青素^[33]和辅酶Q10^[25]等都具有该结构,是纳米递送体系的理想递送材料。此外, β -乳球蛋白还含有两个二硫键和一个游离硫醇,可与金属离子进行结合,如银、铜和钙等^[34-35]。生物活性物质与 β -乳球蛋白结合主要是疏水相互作用,热处理可以暴露 β -乳球蛋白内部的疏水残基,增加 β -乳球蛋白表面疏水性,利于其与活性物质结合和提高封装率。为了提高对生物活性物质的封装率,已有研究对乳清蛋白的表面疏水性进行了提升,如Zhong等^[36]采

用乙醇法和pH值法制备了乳清蛋白/透明质酸钠纳米颗粒用于负载姜黄素,发现pH值法制备纳米颗粒负载率(70%~80%)显著高于乙醇法(50%~60%),这是由于在酸性条件下蛋白质结构展开,暴露出更多的疏水残基促进了纳米颗粒与姜黄素的结合,从而使得负载率更高。

2 基于乳清蛋白的纳米递送体系

纳米递送体系是利用纳米级(粒径通常<1 000 nm)载体封装生物活性物质,改善其溶解度,保护其免受环境因素的影响,提高储存稳定性,且具有缓释功效和靶向性,进而提高了生物活性物质生物利用度^[37]。基于乳清蛋白的纳米递送体系具有多种功能,能够满足不同应用领域的需求,其能提高生物活性物质的生物利用度,实现靶向释放,且其降解产物安全性高。目前,利用乳清蛋白纳米体系封装生物活性物质物质的类型主要有纳米乳液、多重乳液、乳液凝胶、自组装和纳米颗粒,表2概述不同类型纳米递送体系的优点和局限性。

表2 不同类型纳米递送体系的优点和局限性

Table 2 The advantages and limitations of different nano-delivery systems

包埋体系	优点	局限性
纳米乳液	粒径小、体系均匀,能够提高封装物质的生物利用度,适用于递送亲脂性成分	稳定性不高,不利于长期储存,易受脂质氧化的影响
双重乳液	用于亲水和亲脂性生物活性物质的共同递送和封装,以提高其稳定性和生物可及性	稳定性较差,易发生聚结、絮凝和重力分离等不可逆现象
乳液凝胶	具有乳液和凝胶的优点,能够包埋亲水和亲脂性生物活性物质,具有可调节性、控制释放包埋物质,提高包埋物质的生物利用性	负载率不高,稳定性易受乳液中油相的影响
自组装	用于亲水和疏水性活性物质的递送,提高其溶解度、稳定性和生物利用度	制备时间长,自组装产物不稳定,易发生聚集
纳米颗粒	增加包埋物质的溶解度,保护活性成分免于降解,提高生物利用度 ^[38]	制备较为困难,颗粒的形状和大小不好控制

2.1 纳米乳液

纳米乳液液滴尺寸小且分布均匀,粒径在10~1 000 nm之间,在贮存时不易发生聚集、分层,具有良好的储存稳定性^[39]。此外,纳米乳液中液滴的粒径越小,越容易在胃肠道中被消化和吸收,从而增加了生物活性物质的生物利用度^[40-41]。

乳清蛋白具有两亲性,可以降低界面张力并保持液滴稳定性,且相比于合成表面活性剂,乳清蛋白更符合消费者对天然、环保和安全材料的需求,适用于纳米乳液制备。Flores-Andrade等^[30]研究表明,乳清蛋白可以有效乳化辣椒油树脂(类胡萝卜素来源),获得粒径约160 nm的类胡萝卜素

并改善了其生物利用度,且乳清蛋白通过静电相互作用与金属离子相结合,减少了乳液中的脂质氧化,从而有效地提高了类胡萝卜素的储存和化学稳定性。同样的,Nejadmansouri 等^[42]利用乳清蛋白纳米乳液稳定鱼油(多不饱和脂肪酸来源),在 4 °C 和 25 °C 下能够稳定储存 1 个月,相比于传统乳液,纳米乳液中多不饱和脂肪酸抗氧化性更高,这归因于乳清蛋白与挥发性氧化物质之间的相互作用以及其自身优异抑制脂质氧化的能力,从而降低了脂质氧化。

目前,针对乳清蛋白在酸性条件下乳液液滴聚集导致其稳定性变差的问题,研究者发现乳清蛋白与其它天然成分如多糖、多酚和植酸等形成复合物,可以提高其乳化稳定性和生物活性。Fan 等^[43]利用乳清蛋白-葡聚糖偶联物作为乳化剂负载 β -胡萝卜素在 pH=5 时稳定性高于单一乳清蛋白纳米乳液,在 25 °C 和 50 °C 下储存 30 d 内保持稳定,且糖基化进一步提高了乳清蛋白抗氧化活性,对 β -胡萝卜素的保护作用增强。此外,糖基化后的纳米乳液在胃中不易被降解,实现了 β -胡萝卜素在肠道的靶向释放,提高了其生物利用度。另外,Chen 等^[44]探究了具有强抗氧化性莲蓬原花青素(Lotus seedpod proanthocyanidin, LSPC)对负

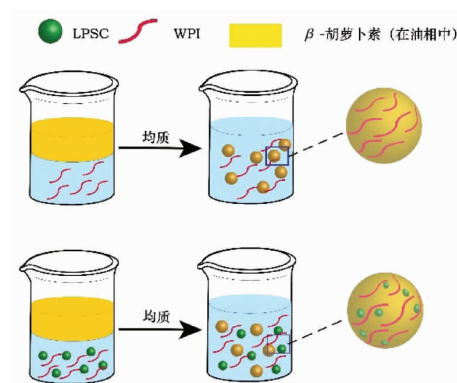


图 1 LPSC-WPI 纳米乳液封装 β -胡萝卜素的机理图^[44]
Fig.1 Mechanism diagram of LPSC-WPI nano-emulsion encapsulation of β -carotene^[44]

载 β -胡萝卜素的 WPI 纳米乳液的影响,发现在 55 °C 下储存 7 d, LPSC-WPI 纳米乳液仍处于稳定状态, β -胡萝卜素的保留率(72.3%)远高于纯 WPI 纳米乳液(33.2%),这表明 LPSC-WPI 复合物用作乳化剂可以显著提高 β -胡萝卜素的化学稳定性。表 3 展示了一些乳清蛋白纳米乳液的制备及负载生物活性物质的主要特性。

综上所述,纳米乳液体系的制备过程简单,可以提高生物活性物质的溶解度、化学稳定性和生

表 3 包埋生物活性物质的纳米乳液

Table 3 Nano-emulsions used to encapsulate bioactive components

生物活性物质	纳米乳液组成	粒径/nm	特性	参考文献
叶黄素	油相:中链甘油三酯/乙醇 水相:乳清分离蛋白、聚合乳清蛋白	WPI:192~237 聚合乳清蛋白:205~237	乳清分离蛋白乳液在 4 °C 下 4 周内稳定,聚合乳清蛋白乳液一夜出现分层	[45]
姜黄素	油相:中链甘油三酯 水相:乳清分离蛋白	186 ± 3.9	在 4 °C 下稳定 35 d, 提高姜黄素的生物可及性和显示出比游离姜黄素更高的 Caco-2 细胞抗氧化能力	[46]
β -胡萝卜素	油相:玉米油 水相:乳清分离蛋白	237.8 ± 5.1	乳清分离蛋白乳液的粒径在整个胃肠消化期保持稳定,实现 β -胡萝卜素缓释功效	[47]
β -胡萝卜素	油相:中链甘油三酯 水相:乳清分离蛋白、乳清分离蛋白-肉桂醛	160 左右	乳液在 4 °C 储存一个月保持稳定;乳清分离蛋白-肉桂醛乳液对 β -胡萝卜素的包封率高于乳清分离蛋白乳液,且具有更好的生物可及性	[48]
大麻二酚	油相:中链甘油三酯、长链甘油三酯、中链甘油三酯/长链甘油三酯 水相:乳清蛋白-麦芽糖糊精	<100	以中链甘油三酯为油相的乳液分别具有较快的消化速度和较高的生物可及性;以长链甘油三酯为油相的乳液具有较高生物利用度,实现肠道的靶向释放	[49]

物活性,广泛应用于食品和生物医药行业。此外,针对纳米乳液易受脂质氧化的影响,未来的研究应集中在优化纳米乳液抗氧化稳定性方面,可以针对纳米乳液的制造方法、使用的乳化剂和表面活性剂、抗氧化剂和储存条件进行优化。

2.2 多重乳液

多重乳液(或双乳液)的典型结构为分散相的液滴中仍含有更小的液滴($<1\ \mu\text{m}$),分为水包油包水(W/O/W)型和油包水包油(O/W/O)型2种,W/O/W是常见的多重乳液类型^[39]。相比于单乳液,多重乳液具有将不同极性的生物活性成分共同包封的优势, W_1 或 W_2 相能够封装亲水性活性物质,O相能包埋疏水性活性物质,使其在胃肠道内稳定性更高,起到输送和控释生物活性成分的作用,提升其生物利用度等优点被广泛应用于食品、生物医药和化妆品等领域^[50-51]。Cui等^[52]利用乳清蛋白双乳液共负载脂溶性姜黄素和水溶性表没食子儿茶素没食子酸酯(Epigallocatechin gallate, EGCG),两者的封装效率分别为98%,89.7%,双乳液的共包埋递送显著提高了姜黄素和EGCG在模拟胃消化过程中的稳定性,从而保护两者不被降解并促进它们在肠道中靶向释放,使得姜黄素和EGCG生物可及性分别提高40倍和10倍。乳清蛋白双乳液可以包封多相生物活性物质,对不同成分均具有较高的封装作用,且提高了它们的稳定性和生物可及性,拓展功能性食品的开发和应用。

蛋白质-多糖复合物可以用于生产稳定性更高的多重乳液,作为天然乳化剂和稳定剂的蛋白质(如乳清蛋白)可以通过在油滴上形成黏弹性吸附层而产生热力学和动力学稳定的乳液,充当乳液主要稳定剂,多糖通过提高水相的黏度和形成多层膜来提高界面膜质量从而提高乳液的稳定性^[29]。Liang等^[53]制备了负载鼠李糖乳杆菌的乳清蛋白-果胶双乳液,果胶提高了双乳液在酸性条件下的稳定性,研究发现在4℃下储存28d后益生菌的活力远高于游离鼠李糖乳杆菌,此外,封装提高了益生菌抵抗胃部消化的能力,实现缓慢释放和肠靶向性释放,利于其发挥益生元作用,为益生菌在食品工业中的开发和生产提供一种有效的方法。Lv^[54]等利用带负电荷的WPI分子和带正电荷

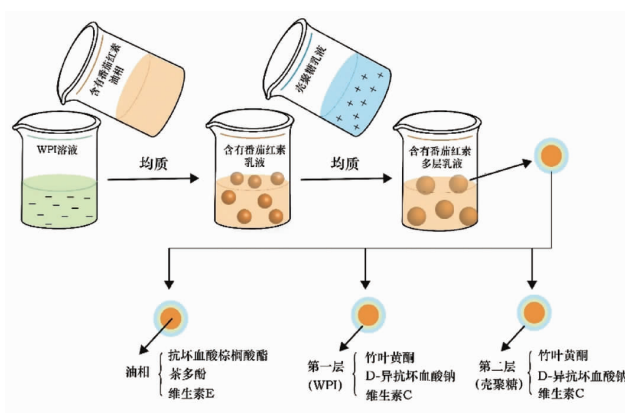


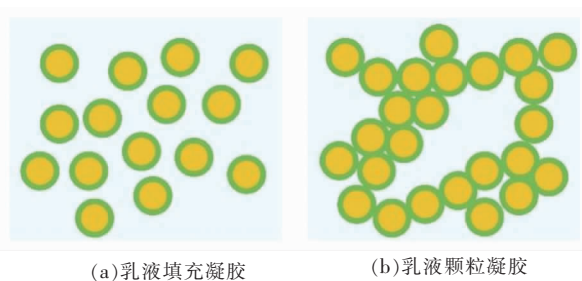
图2 WPI-壳聚糖多重乳液封装番茄红素的机理图^[54]

Fig.2 Mechanism diagram of WPI-chitosan multi-emulsion encapsulation of lycopene^[54]

壳聚糖之间产生的静电相互作用形成WPI-壳聚糖双乳液,用于负载番茄红素,并将不同抗氧化剂分别添加到每一相中。研究发现,与WPI单层乳液相比,双乳液表现出更好的pH值稳定性和抗离子强度的影响能力,抗氧化剂的加入可以提高番茄红素在双乳液中的储存稳定性和光稳定性。由此可见,以乳清蛋白-多糖复合物作为乳化剂形成的双乳液具有更高的物理化学稳定性,且多糖在胃肠道中不易消化,可以有效避免生物活性物质口服给药的局限性。

2.3 乳液凝胶

乳液凝胶是指油滴分散在凝胶基质中的一种典型的半固状食品体系,蛋白质形成的乳液凝胶有2种类型:一种是含较低油相的乳液填充到具有三维网络结构的凝胶基质中(即乳液填充凝胶,如图3a),另一种是乳液液滴通过聚集形成凝胶网络(即乳液颗粒凝胶,如图3b),兼具乳液和凝胶的优点^[55-56]。乳液凝胶能够同时包埋亲水或疏水



(a)乳液填充凝胶

(b)乳液颗粒凝胶

图3 乳液凝胶示意图

Fig.3 Schematic diagram of emulsion-gel structures

成分,其致密凝胶网络能够增强活性成分对不良环境的抵抗能力,且可以通过调节凝胶条件等来设计适宜特性的乳液凝胶体系,从而达到控制释放速率的效果,实现靶向释放的功能^[57]。

蛋白质稳定的乳液适用于食品工业中制备乳液凝胶,常采用热处理、调节 pH 值、添加离子和酶诱导等方式形成蛋白质基的乳液凝胶^[58]。Zhao 等^[48]利用 WPI 乳液凝胶负载 β -胡萝卜素并研究这种体系对 β -胡萝卜素保护作用,评估其在胃肠道中的消化和利用特性。发现与 WPI 乳液相比,60 °C 下储存 35 d 后,乳液凝胶中 β -胡萝卜素的保留率更高(64.37%)。从乳液到乳液凝胶的转化提高了 β -胡萝卜素的生物可及性(从 27.54% 增加到 59.87%),这是因为 WPI 乳液凝胶具有更致密的网络结构,在胃消化过程中保护了 β -胡萝卜素,实现缓释效果和肠道靶向释放的功能,从而增强其生物可及性。此外,基于 W/O/W 型的乳液凝胶是封装、稳定和递送多种活性物质的理想系统^[59]。Khan 等^[60]将 W/O/W 乳液凝胶用于 L-抗坏血酸和 α -生育酚共封装和递送,在 25 °C 下储存 15 d 后它们的保留率为 76%,稳定性得到提高,可能的原因是具有网络结构的乳液凝胶阻碍了氧气和其它促氧化剂接触封装的生物活性成分。这表明乳清蛋白稳定的 W/O/W 乳液凝胶可以有效地用于亲水性 L-抗坏血酸和亲脂性 α -生育酚的共封装和保护。然而,基于蛋白质的乳液凝胶机械性能较差并且易受环境变化(如 pH 值、离子强度和温度)的影响,限制了其在食品工业中的应用。因此,可以将具有凝胶性和增稠性的多糖添加到基于蛋白

质的乳液凝胶中,提高乳液凝胶网络结构的致密性和对生物活性物质的封装率。

2.4 自组装

蛋白质自组装由于操作简单且具有独特结构和优异的功能特性而备受研究者关注,目前,大多数研究针对乳清蛋白展开,因其功能特性多样、营养价值高和价格低廉,适用与食品、生物医药和化妆品等领域^[61]。在强酸条件(通常 pH=2)和低离子强度下加热一定的时间,分子构象发生变化并依赖分子间非共价键的协同作用而形成聚集体,这个聚集的过程就称之为乳清蛋白自组装。与天然乳清蛋白相比,经自组装形成的乳清蛋白原纤维直径约为 10 nm,且其乳化性、凝胶性和抗氧化性均有所提升,适用于递送生物活性成分^[62]。Zhu 等^[63]利用乳清蛋白原纤维的凝胶性,制备出了负载姜黄素的水凝胶,包封率可达到 89.76%,且保留率高达 75.18%,表明该水凝胶对姜黄素的热稳定性和光降解稳定性具有很好的保护作用。

单一乳清蛋白原纤维易聚集导致水分散性较差,且作为递送体系时易受环境因素的影响,通过静电相互作用与多糖复合,增加复合物的稳定性,进而提高封装物质的包封率、稳定性和生物利用度。李媛等^[64]利用反溶剂沉淀法制备负载 β -胡萝卜素的纳米粒子,研究发现乳清分离蛋白纤维与多糖复合后暴露出更多疏水基团,利于与 β -胡萝卜素结合,包封率高达 94%,且多糖的存在使得复合物在模拟胃肠道消化条件下释放率很低,实现结肠靶向释放。类似地,Hu 等^[65]利用乳清蛋白原纤维-壳聚糖载体包埋姜黄素,复合物提高了姜黄素的溶解度和稳定性,实现缓释功能。与乳清蛋白相比,经过自组装形成的乳清蛋白原纤维暴露出更多的氨基酸和具有更高的表面疏水性,利于其与姜黄素的结合,同时提高姜黄素的抗氧化性。此外,Liu 等^[66]利用乳清蛋白原纤维的乳化特性,制备出含亚油酸(多不饱和脂肪酸来源)的乳清蛋白原纤维乳液,发现乳化后的亚油酸的抗氧化性有所提高,这是因为乳清蛋白原纤维能在油滴上形成黏弹性的薄膜,减少油与自由基和金属离子的直接接触,从而减少脂质氧化反应发生。另外,Liu 等^[67]开发了乳清蛋白纳米纤维稳定玉米醇溶蛋白纳米颗粒,发现该纳米颗粒仅在肠道中被降解,具

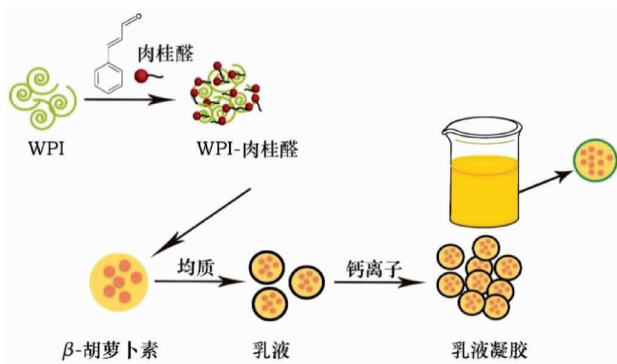


图 4 WPI-肉桂醛乳液凝胶封装 β -胡萝卜素的机理图^[48]

Fig.4 Mechanism diagram of WPI-cinnamaldehyde emulsion gels encapsulation of β -carotene^[48]

有肠道靶向递送疏水性物质的前景。

乳清蛋白自组装为构建新型蛋白质纳米递送载体提供了有效的方法,其形成的乳清蛋白原纤维具有优异的功能特性,有效提高了所负载生物活性物质的稳定性和生物利用度。然而,目前关于乳清蛋白自组装构建递送载体以及其形成的机制研究较少,未来的研究方向不仅要集中在乳清蛋白自组装的形成过程、转化率和相关机制,也应针对不同形态乳清蛋白自组装形成机制进行系统的研究,为构建蛋白质自组装载体提供方法和理论基础,促进其在食品、生物医药和化妆品等领域的应用。

2.5 纳米颗粒

纳米颗粒因其高比表面积从而在负载活性成分方面表现出独特优势,使活性成分的负载率大大增加,从而增强被包埋物质的水溶性和稳定性^[68]。蛋白质纳米颗粒不仅具备蛋白质本身优点(如生物相容性、可降解性等),同时也有独特的理化特性(如更大的反应表面、更好的吸附能力),使得其成为优良的生物活性物质载体^[69]。Liu等^[70]采用pH循环法制备大豆异黄酮封装效率达90%的乳清蛋白纳米颗粒,并且具有肠道靶向递送的特性,显著提高了大豆异黄酮的生物可及性。

单一蛋白质纳米颗粒稳定性易受到温度、离子、pH值等环境因素的影响,通过与多糖结合可以有效减少蛋白质聚集,提高对包埋物质的稳定性。Zhong等^[36]制备了负载姜黄素的乳清蛋白-透明质酸钠纳米颗粒,显示出良好的储存稳定性、生物

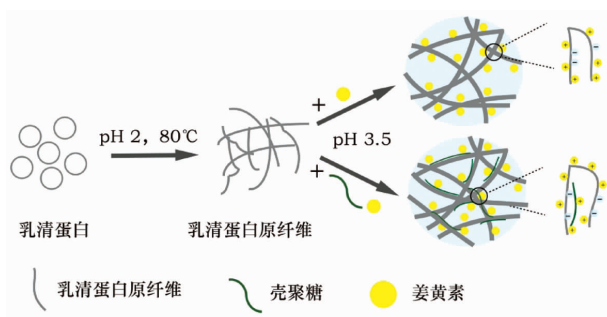


图5 乳清蛋白原纤维-壳聚糖封装姜黄素的机理图^[65]

Fig.5 Mechanism diagram of whey protein fibril-chitosan emulsion gels encapsulation of curcumin^[65]

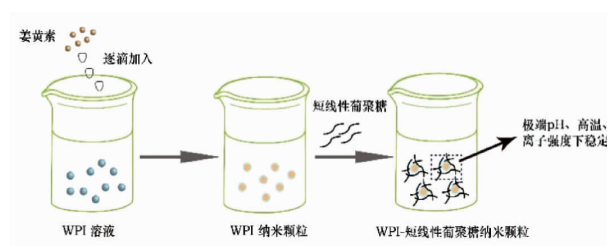


图6 WPI-短线性葡聚糖纳米颗粒封装姜黄素的机理图^[71]

Fig.6 Mechanism diagram of WPI- short linear glucan nanoparticles encapsulation of curcumin^[71]

利用度和控释能力,提高姜黄素的抗氧化活性和光、热稳定性。同样的,Li等^[71]利用WPI-短线性葡聚糖纳米颗粒负载姜黄素并研究该复合物稳定性和姜黄素的抗氧化能力,发现纳米复合物在极端pH值条件下(2~4和8~10)、高温(60~70℃)和离子强度(<400 mmol/L)下保持相对稳定,高浓度的姜黄素几乎没有细胞毒性,且显著增强了姜黄素

表4 包埋生物活性物质的纳米颗粒

Table 4 Nanoparticles used to encapsulate bioactive substances

原料	制备方法	粒径/nm	多分散指数	封装率/%	功能	参考文献
乳清分离蛋白 纳米颗粒	pH循环法	410.0	0.2	97.0	提高β-胡萝卜素的稳定性	[72]
聚合乳清蛋白 纳米颗粒	乳化蒸发法	54.1~59.6	0.4左右	82.9~92.0	提高大豆异黄酮的光化学稳定性、抗氧化活性和生物可及性	[73]
聚合乳清蛋白 纳米颗粒	乳化-蒸发 共沉淀法	<500.0	<0.6	98.0	提高辅酶Q10的抗氧化活性和生物可及性	[74]
乳清蛋白浓缩 纳米颗粒	盐析法	<200.0	0.3左右	14.4±0.7~ 27.9±0.9	控制类黄酮的释放,在体外模拟胃肠道条件下保持其抗氧化活性	[75]
乳清蛋白纳 米颗粒	电喷雾	371.2~881.6		85.5±0.4~ 88.2±0.3	提高姜黄素的溶解度和生物可及性	[76]

的自由基清除活性和还原能力。此外,在模拟胃消化过程中,短线性葡聚糖不易被消化,使得姜黄素的释放率仅为 15.27%,从而利于纳米复合物在肠道条件下缓慢且持续释放姜黄素,提高姜黄素的生物利用度,同时也拓宽疏水性营养素在食品中的应用。表 4 展示了基于乳清蛋白纳米颗粒包埋生物活性物质的方法和纳米颗粒功能性质,乳清蛋白纳米颗粒的种类多、制备方法多样,能够显著提高活性物质稳定性和生物利用度。由此可见,基于乳清蛋白纳米颗粒作为生物活性物质递送载体具有巨大潜力,拓展了其在食品、医药和化妆品等领域的应用。

3 基于乳清蛋白纳米递送体系的应用

3.1 精油包封

精油是一种具有多种功能的挥发性芳香物质,如杀菌、抗炎和调节中枢神经系统等,而其易挥发,易发生氧化、聚合等反应,在食品中的应用受到限制^[77]。乳清蛋白纳米递送体系作为精油的有效载体,可以提高其溶解度、稳定性和抗菌活性等,拓展其在食品行业中的应用。Liang 等^[78]制备出包封肉桂精油的乳清蛋白纳米乳液,精油稳定性、抗菌活性和抗氧化活性得到提高,同时也提高其在食品和药物应用中的生物利用度潜力。此外,Sharma 等^[79]利用乳清蛋白纳米乳液包埋丁香油并研究其抗菌性,发现其对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌表现出良好灭菌效果,在食品保鲜中对抗各种食品腐败和病原微生物方面极具潜力。目前,研究者发现将具有广谱抗菌活性的精油添加到食用复合膜中,可以增强复合膜的物理特性及抗菌活性,同时拓展了精油在食品包装领域的应用。如 Ghoshal 等^[80]将负载百里香精油的 WPC 纳米乳液添加到食用复合膜中,膜的性能得到提升并且具有良好抗氧化和抗微生物特性,将其应用于番茄的保鲜可以延长保质期至 14 d。

3.2 益生菌包封

益生菌已被证明可以改善肠道健康、调节免疫反应和降解毒素等,对人体健康有促进作用,而其物理化学稳定性差、生物利用度低限制了在食品工业中的应用^[81]。乳清蛋白纳米载体可以靶向释放物质,保护其免受环境因素影响,提高它们的

生物利用度,被视为优良的益生菌包封材料^[82]。Mabrouk 等^[83]将乳清蛋白纳米凝胶用于包埋 3 种益生菌,发现其能够促进和保护益生菌并起到益生元的作用。此外,Qin 等^[84]制备了负载植物乳杆菌的乳清蛋白乳液,提高了益生菌的储存和胃肠道活力,且具有肠道靶向递送的特性,说明该乳液是良好的益生菌载体,可作为功能性食品的开发应用于食品工业中。将具有不同特性的多种生物活性成分封装到单一基质中,可以提高它们的生物活性和应用潜力。Sharifi 等^[85]利用乳清蛋白-阿拉伯胶复合物共包封植物甾醇与植物乳杆菌,结果表明,共包封复合物中的益生菌活性高于单一形式封装的益生菌,能够作为乳制品、饮料和其它谷物产品的补充剂,为食品强化和功能性食品生产开辟了新的途径。

3.3 不良风味的抑制或掩盖

一些天然食品添加剂和营养保健品具有特殊的异味,会对食品的感官品质造成影响,不能直接添加到食品配方中,限制了它们在食品工业的应用。乳清蛋白纳米载体被视为安全的材料,适用于包埋食品成分,也可以降低或掩盖食品中某些不良风味。Shakoury 等^[86]采用乳清蛋白纳米颗粒包埋蜂胶提取物,在减少蜂胶不良风味的同时能保持其抗氧化性,拓展了蜂胶在食品中的应用。此外,Lu 等^[87]利用 WPI 纳米脂质体封装木犀草素,与游离木犀草素相比,封装后木犀草素的苦味降低了 75%,说明该脂质体可以作为掩盖木犀草素的苦味的有效载体,拓展了木犀草素在食品和制药行业中的应用。Jamshidi 等^[88]利用响应面法制备了双乳液稳定的鱼油,将其添加至酸奶中后发现并未对酸奶的品质与风味产生影响,说明双乳液可以掩盖鱼油本身的异味,为酸奶的功能强化提供了一种有效的方法。

3.4 营养素功能食品开发

铁、锌等必需矿物质对人体健康有着非常重要的作用,缺乏微量营养素会导致疾病的发生,并对人体造成一定的伤害,可以使用富含必需矿物质的功能性食品解决这一关键健康问题。乳清蛋白具有理想的功能和结构特性,能与必需矿物质相结合,用于生产蛋白质-矿物质复合物。Prasad 等^[89]制备了不同葡聚糖-乳清蛋白纳米颗粒负载

锌,发现 β -葡聚糖-乳清蛋白纳米颗粒中复合锌浓度高于葡聚糖-乳清蛋白纳米颗粒,为复合锌在功能饮料的应用提供参考价值。Zeng等^[90]制备了乳清蛋白原纤维-铁纳米颗粒复合物,研究发现其能够将大量的铁还原为生物可利用的二价铁状态,且在储存期(30 d)内均表现出良好的铁生物利用度,表明乳清蛋白原纤维是一种很有前途的铁强化剂载体,具有在功能食品应用的前景。此外,有研究发现在多重乳液包封铁的模拟体外消化中,成人铁的生物可及性为49.54%,婴儿为39.71%,这表明即使在婴儿的消化系统中,乳液也可以形成具有良好的铁生物可及性的稳定系统^[91]。这一研究结论拓展了乳液递送系统在制备营养素功能食品的开发和应用。

4 结语与展望

生物活性物质具有许多生物效应,而稳定性差、生物利用度低限制了其在食品、生物和化妆品等领域的实际应用。乳清蛋白具有优异的功能特性,例如与疏水性生物活性成分结合的能力、凝胶性和乳化特性等优异的功能特性,是生物活性物质的理想递送材料。乳清蛋白纳米递送体系除了能增加生物活性物质的溶解度和稳定性外,还能保护生物活性物质免受光、热和氧等因素降解,并延长生物活性物质在胃肠道中的滞留时间,起到缓释效果,提高生物利用度。与单一乳清蛋白纳米载体相比,经过与多糖、多酚和蛋白质等复合后形成的纳米载体的稳定性以及对生物活性物质的负载率、在体外模拟胃肠条件下的控释能力都有所提升,提高了生物活性物质生物利用率,使其能广泛应用于食品、生物医药和化妆品等领域。同时,乳清蛋白纳米载体拓展了精油、益生菌和营养保健品在食品工业的应用,为功能性食品的开发提供新途径。可以预见,随着乳清蛋白纳米载体及其对生物活性物质递送效能在消化系统的直接跟踪和量化分析,以及乳清蛋白纳米递送体系释放机制及调控途径的明确,乳清蛋白纳米载体递送体系的稳定性、负载率和安全性将得到进一步改善,将有助于相关生物活性物质的生物可及性,扩展其在食品、生物医药和化妆品领域的应用。

参 考 文 献

- [1] BANWU K, OLOJEDE A O, ADESULU-DAHUNSI A T, et al. Functional importance of bioactive compounds of foods with potential health benefits: A review on recent trends[J]. Food Bioscience, 2021, 43: 101320.
- [2] ZHANG Q, ZHOU Y Y, YUE W T, et al. Nanostructures of protein-polysaccharide complexes or conjugates for encapsulation of bioactive compounds [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 109: 169-196.
- [3] BAO C, JIANG P, CHAI J J, et al. The delivery of sensitive food bioactive ingredients: Absorption mechanisms, influencing factors, encapsulation techniques and evaluation models[J]. Food Research International, 2019, 120: 130-140.
- [4] ALU'DATT M H, ALROSAN M, GAMMOH S, et al. Encapsulation-based technologies for bioactive compounds and their application in the food industry: A roadmap for food-derived functional and health-promoting ingredients [J]. Food Bioscience, 2022, 50: 101971.
- [5] MARCILLO-PARRA V, TUPUNA-YEROVI D S, GONZALEZ Z, et al. Encapsulation of bioactive compounds from fruit and vegetable by-products for food application - A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 116: 11-23.
- [6] 张晶晶, 李艾黎, 程金菊. 美拉德反应修饰的酪蛋白递送生物活性物质的应用研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(23): 316-325.
ZHANG J J, LI A L, CHENG J J. Progress in the application of Maillard reaction modified-casein in the delivery of bioactive substances [J]. Food Science, 2022, 43(23): 316-325.
- [7] FATHI M, MOZAFARI M R, MOHEBBI M. Nanoencapsulation of food ingredients using lipid based delivery systems[J]. Trends in Food Science & Technology, 2012, 23(1): 13-27.
- [8] LU Y, CHEN S C. Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2004, 56 (11): 1621-1633.
- [9] WALSTRA P. Studying food colloids: Past, present and future[J]. Food Colloids, Biopolymers and Mate-

- rials, 2003, 284: 391–399.
- [10] LI M, FENG L, XU Y Y, et al. Rheological property, β -carotene stability and 3D printing characteristic of whey protein isolate emulsion gels by adding different polysaccharides[J]. Food Chemistry, 2023, 414: 135702.
- [11] DAI L, LI R R, WEI Y, et al. Fabrication of zein and rhamnolipid complex nanoparticles to enhance the stability and *in vitro* release of curcumin[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 617–628.
- [12] HUANG H, BELWAL T, AALIM H, et al. Protein-polysaccharide complex coated W/O/W emulsion as secondary microcapsule for hydrophilic arbutin and hydrophobic coumaric acid[J]. Food Chemistry, 2019, 300: 125171.
- [13] SANTOS M B, DA COSTA N R, GARCIA-ROJAS E E. Interpolymeric complexes formed between whey proteins and biopolymers; Delivery systems of bioactive ingredients[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2018, 17(3): 792–805.
- [14] GUNASEKARAN S, KO S, XIAO L. Use of whey proteins for encapsulation and controlled delivery applications[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 83(1): 31–40.
- [15] ZANDONA E, BLAZIC M, JAMBRAK A R. Whey utilisation: Sustainable uses and environmental approach[J]. Food Technology and Biotechnology, 2021, 59(2): 147–161.
- [16] HE N P, CHEN X N, WANG L, et al. Fabrication of composite hydrogels based on soy protein isolate and their controlled globular protein delivery[J]. Global Challenges, 2019, 3(9): 190030.
- [17] ABAEE A, MOHAMMADIAN M, JAFARI S M. Whey and soy protein-based hydrogels and nano-hydrogels as bioactive delivery systems[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 70: 69–81.
- [18] KONTOPIDIS G, HOLT C, SAWYER L. Invited review: Beta-lactoglobulin: Binding properties, structure, and function[J]. Journal of Dairy Science, 2004, 87(4): 785–796.
- [19] ZIMET P, LIVNEY Y D. Beta-lactoglobulin and its nanocomplexes with pectin as vehicles for omega-3 polyunsaturated fatty acids[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(4): 1120–1126.
- [20] PIRES A F, MARNOTES N G, RUBIO O D, et al. Dairy by-products: A review on the valorization of whey and second cheese whey[J]. Foods, 2021, 10(5): 1067.
- [21] XU Y Z, WU J L, WANG S Y. Comparative study of whey protein isolate and gelatin treated by pH-shifting combined with ultrasonication in loading resveratrol[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 117: 106694.
- [22] BEAULIEU L, SAVOIE L, PAQUIN P, et al. Elaboration and characterization of whey protein beads by an emulsification/cold gelation process: Application for the protection of retinol[J]. Biomacromolecules, 2002, 3(2): 239–248.
- [23] MITROPOULOS V, MUTZE A, FISCHER P. Mechanical properties of protein adsorption layers at the air/water and oil/water interface: A comparison in light of the thermodynamical stability of proteins[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2014, 206: 195–206.
- [24] MEZZENGA R, FISCHER P. The self-assembly, aggregation and phase transitions of food protein systems in one, two and three dimensions[J]. Reports on Progress in Physics, 2013, 76(4): 046601.
- [25] HA H K, LEE M R, LEE W J. Bioaccessibility of beta-lactoglobulin nanoemulsions containing coenzyme Q(10): Impact of droplet size on the bioaccessibility of coenzyme Q (10)[J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2018, 38(6): 1294–1304.
- [26] HWANG J Y, HA H K, LEE M R, et al. Physicochemical property and oxidative stability of whey protein concentrate multiple nanoemulsion containing fish oil[J]. Journal of Food Science, 2017, 82(2): 437–444.
- [27] YI J H, ZHU Z B, MCCLEMENTS D J, et al. Influence of aqueous phase emulsifiers on lipid oxidation in water-in-walnut oil emulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(9): 2104–2111.
- [28] YAO M X, QI X, ZHANG J H, et al. Whey protein isolate-mesona chinensis polysaccharide conjugate: Characterization and its applications in O/W emulsions[J]. Foods, 2023, 12(5): 1068.
- [29] ESFANJANI A F, JAFARI S M, ASSADPOUR E. Preparation of a multiple emulsion based on pectin-whey protein complex for encapsulation of saffron extract nanodroplets[J]. Food Chemistry, 2017, 221:

- 1962–1969.
- [30] FLORES-ANDRADE E, ALLENDE-BALTAZAR Z, SANDOVAL-GONZALEZ P E, et al. Carotenoid nanoemulsions stabilized by natural emulsifiers: Whey protein, gum Arabic, and soy lecithin[J]. Journal of Food Engineering, 2021, 290: 110208.
- [31] ZHANG Z, HAO G Y, LIU C, et al. Recent progress in the preparation, chemical interactions and applications of biocompatible polysaccharide-protein nanogel carriers[J]. Food Research International, 2021, 147: 110564.
- [32] REN Y F, ZHU Y H, QI X, et al. Noncovalent interaction of chlorogenic acid and/or gallic acid with β -lactoglobulin: Effect on stability and bioaccessibility of complexes and nanoparticles[J]. LWT, 2023, 175: 114493.
- [33] SENDRI N, BHATT V, SINGH S, et al. Impact of chitosan-*Prunus cerasoides* gum exudates on the thermal properties, storage stability and antioxidant activity of anthocyanins from *Berberis lycium* Royle[J]. International Journal of Food Science and Technology, 2022, 57(2): 995–1004.
- [34] RODZIK A, RAILEAN V, POMASTOWSKI P, et al. Study on silver ions binding to β -lactoglobulin[J]. Biophysical Chemistry, 2022, 291: 106897.
- [35] FEI S W, ZHOU J W, WU Y, et al. Change in conformational, digestive and immunological characteristics of bovine allergen beta-lactoglobulin induced by metal ions in combination with heating[J]. Food Chemistry, 2021, 364: 130030.
- [36] ZHONG W G, LI J T, WANG C A, et al. Formation, stability and *in vitro* digestion of curcumin loaded whey protein/ hyaluronic acid nanoparticles: Ethanol desolvation v.s. pH-shifting method[J]. Food Chemistry, 2023, 414: 135684.
- [37] 黎晨晨, 马永强, 井弘书, 等. 新型纳米递送系统研究动态及在食品中的应用进展[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(5): 126–131.
- LI C C, MA Y Q, JING H S, et al. Research trends on application and development of new nanodelivery systems in food industry[J]. China Food Additives, 2021, 32(5): 126–131.
- [38] ANDRE DE ALMEIDA CAMPOS L, FRANCISCO SILVA NETO A, CECILIA SOUZA NORONHA M, et al. Zein nanoparticles for drug delivery: Preparation methods and biological applications[J]. International Journal of Pharmaceutics, 2023, 635: 122754–122754.
- [39] 陈美妙, 王浩楠, 邱哲瀚, 等. 乳液基递送体系对植源活性物健康效应的影响研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(13): 351–360.
- CHEN M M, WANG H N, QIU Z H, et al. Progress in research on the enhanced health effects of phytochemicals by emulsion-based delivery systems[J]. Food Science, 2022, 43(13): 351–360.
- [40] DE OLIVEIRA J G, MIRANDA M, FERREIRA M D, et al. Nanoemulsions as edible coatings: A potential strategy for fresh fruits and vegetables preservation[J]. Foods, 2021, 10(10): 2438.
- [41] ISLAM F, SAEED F, AFZAAL M, et al. Food grade nanoemulsions: Promising delivery systems for functional ingredients[J]. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 2022, 60(5): 1461–1471.
- [42] NEJADMANSOURI M, HOSSEINI S M H, NI-AKOSARI M, et al. Physicochemical properties and storage stability of ultrasound-mediated WPI-stabilized fish oil nanoemulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61: 801–811.
- [43] FAN Y T, YI J, ZHANG Y Z, et al. Physicochemical stability and *in vitro* bioaccessibility of beta-carotene nanoemulsions stabilized with whey protein dextran conjugates[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 63: 256–264.
- [44] CHEN Y S, ZHANG R J, XIE B J, et al. Lotus seedpod proanthocyanidin-whey protein complexes: Impact on physical and chemical stability of beta-carotene-nanoemulsions[J]. Food Research International, 2020, 127: 108738.
- [45] ZHAO C H, SHEN X, GUO M R. Stability of lutein encapsulated whey protein nano-emulsion during storage[J]. PLoS One, 2018, 13(2): 0192511.
- [46] SILVA H D, BELDIKOVA E, POEJO J, et al. Evaluating the effect of chitosan layer on bioaccessibility and cellular uptake of curcumin nanoemulsions[J]. Journal of Food Engineering, 2019, 243: 89–100.
- [47] CHEN L, YOKOYAMA W, LIANG R, et al. Enzymatic degradation and bioaccessibility of protein encapsulated beta-carotene nano-emulsions during *in vitro* gastro-intestinal digestion[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105177.
- [48] ZHAO R N, FU W T, CHEN Y J, et al. Struc-

- tural modification of whey protein isolate by cinnamaldehyde and stabilization effect on beta-carotene-loaded emulsions and emulsion gels [J]. Food Chemistry, 2022, 366: 130602.
- [49] WANG C, DONG C, LU Y C, et al. Digestion behavior, *in vitro* and *in vivo* bioavailability of cannabidiol in emulsions stabilized by whey protein-maltodextrin conjugate: Impact of carrier oil[J]. Colloids and Surfaces B, Biointerfaces, 2023, 223: 113154.
- [50] ASSADPOUR E, MAGHSOUDLOU Y, JAFARI S M, et al. Evaluation of folic acid nano-encapsulation by double emulsions [J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 9(12): 2024-2032.
- [51] 许杨杨, 朱力杰, 刘秀英, 等. 蛋白种类对大豆皂苷-蛋白 W/O/W 型乳液稳定性的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(10): 36-42.
- XU Y Y, ZHU L J, LIU X Y, et al. Effect of protein type on the stability of soyasaponin-soybean protein water-in-oil-in-water type emulsion[J]. Food Science, 2022, 43(10): 36-42.
- [52] CUI F Z, HAN S, WANG J Y, et al. Co-delivery of curcumin and epigallocatechin gallate in W/O/W emulsions stabilized by protein fibril-cellulose complexes[J]. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 2023, 222: 113072.
- [53] LIANG Z Q, CHU H, HOU Z Q, et al. W/O/W emulsions stabilized with whey protein concentrate and pectin: Effects on storage, pasteurization, and gastrointestinal viability of *Lactocaseibacillus rhamnosus*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 232: 123477.
- [54] LV P F, WANG D, LIANG R, et al. Lycopene-loaded bilayer emulsions stabilized by whey protein isolate and chitosan [J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 151: 112122.
- [55] DICKINSON E. Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 28(1): 224-241.
- [56] 冯有楠, 苏春霞, 叶晶, 等. 乳液凝胶的力学性质及应用研究进展[J]. 中国食品学报, 2018, 18(11): 268-276.
- FENG Y N, SU C X, YE J, et al. Research progress in the mechanical properties and application of emulsion-gel[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(11): 268-276.
- [57] 刁小琴, 李曦, 孙薇婷, 等. 乳液凝胶的构建及应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(4): 1036-1043.
- DIAO X Q, LI X, SUN W T, et al. Research progress in the fabrication and application of emulsion gels [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2022, 13(4): 1036-1043.
- [58] QIN X S, BO Q L, QIN P Z, et al. Fabrication of WPI-EGCG covalent conjugates/gellan gum double network emulsion gels by duo-induction of GDL and CaCl₂ for colon-controlled *Lactobacillus plantarum* delivery[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134513.
- [59] ZHUANG H, LI X Q, WU S J, et al. Fabrication of grape seed proanthocyanidin-loaded W/O/W emulsion gels stabilized by polyglycerol polyricinoleate and whey protein isolate with konjac glucomannan: Structure, stability, and *in vitro* digestion [J]. Food Chemistry, 2023, 418: 135975.
- [60] KHAN M A, BAO H Y, CHENG H, et al. Fabrication of whey-protein-stabilized G/O/W emulsion for the encapsulation and retention of L-ascorbic acid and α -tocopherol [J]. Journal of Food Engineering, 2023, 341: 111335.
- [61] MOHAMMADIAN M, MADADLOU A. Characterization of fibrillated antioxidant whey protein hydrolysate and comparison with fibrillated protein solution[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52: 221-230.
- [62] ZHAO Y G, WANG C X, LU W, et al. Evolution of physicochemical and antioxidant properties of whey protein isolate during fibrillization process [J]. Food Chemistry, 2021, 357: 129751.
- [63] ZHU Y Q, HAN Y L, PENG S F, et al. Hydrogels assembled from hybrid of whey protein amyloid fibrils and gliadin nanoparticles for curcumin loading: Microstructure, tunable viscoelasticity, and stability[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 994740.
- [64] 李媛, 傅玉颖, 李泽亚, 等. 乳清分离蛋白纤维-多糖复合纳米颗粒负载 β -胡萝卜素特性研究[J]. 中国食品学报, 2021, 21(12): 25-32.
- LI Y, FU Y Y, LI Y Z, et al. Studies on characteristic of β -carotene loaded by whey protein nanofibrils-polysaccharide composite nanoparticles[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(12): 25-32.
- [65] HU Y, HE C X, JIANG C J, et al. Complexation

- with whey protein fibrils and chitosan: A potential vehicle for curcumin with improved aqueous dispersion stability and enhanced antioxidant activity[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 104: 105729.
- [66] LIU G, LI W R, QIN X G, et al. Flexible protein nanofibrils fabricated in aqueous ethanol: Physical characteristics and properties of forming emulsions of conjugated linolenic acid[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 114: 106573.
- [67] LIU Q G, CHENG J J, SUN X M, et al. Preparation, characterization, and antioxidant activity of zein nanoparticles stabilized by whey protein nanofibrils[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 167: 862–870.
- [68] HASSAN E A, HATHOUT R M, GAD H A, et al. A holistic review on zein nanoparticles and their use in phytochemicals delivery[J]. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2022, 73: 103460.
- [69] 高琦, 张首央, 唐子程, 等. 蛋白质纳米颗粒的制备及其在食品领域的应用研究进展[J]. *食品工业科技*: 2023, 44(11): 30–37.
- GAO Q, ZHANG S Y, TANG Z C, et al. Research progress on preparation and application of protein nanoparticles in food field[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(11): 30–37.
- [70] LIU Q G, SUN Y X, ZHANG J M, et al. Physicochemical and *in vitro* digestion properties of soy isoflavones loaded whey protein nanoparticles using a pH-driven method[J]. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2022, 82: 103209.
- [71] LI X J, XU T, WU C E, et al. Fabrication and characterization of self-assembled whey protein isolate/short linear glucan core-shell nanoparticles for sustained release of curcumin[J]. *Food Chemistry*, 2023, 407: 135124.
- [72] SALEM A, RAMADAN A R, SHOEIB T. Entrapment of beta-carotene and zinc in whey protein nanoparticles using the pH cycle method: Evidence of sustained release delivery in intestinal and gastric fluids[J]. *Food Bioscience*, 2018, 26: 161–168.
- [73] LIU Q G, SUN Y X, CHENG J J, et al. Development of whey protein nanoparticles as carriers to deliver soy isoflavones[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 155: 112953.
- [74] LIU Q G, SUN Y X, CUI Q, et al. Characterization, antioxidant capacity, and bioaccessibility of coenzyme Q10 loaded whey protein nanoparticles[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 160: 113258.
- [75] HU Y, KOU G N, CHEN Q Y, et al. Protection and delivery of mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) peel extracts by encapsulation of whey protein concentrate nanoparticles[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 99: 24–33.
- [76] MAHALAKSHMI L, CHOUDHARY P, MOSES J A, et al. Emulsion electrospraying and spray drying of whey protein nano and microparticles with curcumin[J]. *Food Hydrocolloids for Health*, 2023, 3: 100122.
- [77] HAO Q L, PENG H, ZHAO R C, et al. Reactive nano-essential oils for sustained release of essential oils and application to wallpaper[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2022, 33(1): 320–323.
- [78] LIANG D Y, FENG B J, LI N, et al. Preparation, characterization, and biological activity of *Cinnamomum cassia* essential oil nano-emulsion[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2022, 86: 106009.
- [79] SHARMA M, MANN B, POTHURAJU R, et al. Physico-chemical characterization of ultrasound assisted clove oil-loaded nanoemulsion: As enhanced antimicrobial potential[J]. *Biotechnology Reports (Amsterdam, Netherlands)*, 2022, 34: e00720.
- [80] GHOSHAL G, BHATNAGAR S D S S. Thyme essential oil nano-emulsion/tamarind starch/whey protein concentrate novel edible films for tomato packaging[J]. *Food Control*, 2022, 138: 108990.
- [81] HUANG S, VIGNOLLES M L, CHEN X D, et al. Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 63: 1–17.
- [82] RASHIDINEJAD A, BAHRAMI A, REHMAN A, et al. Co-encapsulation of probiotics with prebiotics and their application in functional/synbiotic dairy products[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2022, 62(9): 2470–2494.
- [83] MABROUK A M, SALAMA H H, EL SAYED H S, et al. Preparation of symbiotic whey protein gel as a carrier of free and encapsulated probiotic bacteria[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, 45(7): e15612.
- [84] QIN X S, GAO Q Y, LUO Z G. Enhancing the storage and gastrointestinal passage viability of pro-

- biotic powder (*Lactobacillus plantarum*) through encapsulation with pickering high internal phase emulsions stabilized with WPI-EGCG covalent conjugate nanoparticles[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 116: 106658.
- [85] SHARIFI S, REZAZAD-BARI M, ALIZADEH M, et al. Use of whey protein isolate and gum Arabic for the co-encapsulation of probiotic *Lactobacillus plantarum* and phytosterols by complex coacervation: Enhanced viability of probiotic in Iranian white cheese[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 113: 106496.
- [86] SHAKOURY N, ALIYARI M A, SALAMI M, et al. Encapsulation of propolis extract in whey protein nanoparticles[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 158: 113138.
- [87] LU H, WANG J, HUANG M G, et al. Bitterness-masking assessment of luteolin encapsulated in whey protein isolate-coated liposomes[J]. *Food & Function*, 2023, 14(7): 3230-3241.
- [88] JAMSHIDI A, SHABANPOUR B, POURASHOURI P, et al. Optimization of encapsulation of fish protein hydrolysate and fish oil in W-1/O/W-2 double emulsion: Evaluation of sensory quality of fortified yogurt[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2019, 43(9): e14063.
- [89] PRASAD W, WANI A D, SHENDE V, et al. Effect of glucan addition on complexed zinc concentration and physicochemical attributes of buffalo milk paneer whey[J]. *Food Bioscience*, 2022, 49: 101912.
- [90] ZENG A Q, LENG J C, YANG R J, et al. Preparation of a novel and stable iron fortifier: Self-assembled iron-whey protein isolate fibrils nanocomposites[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2022, 57(7): 4296-4306.
- [91] BAE M, LEWIS A, LIU S H, et al. Novel biopesticides based on nanoencapsulation of azadirachtin with whey protein to control fall armyworm[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(26): 7900-7910.

Research Progress in the Whey Protein Nanocarriers Deliver Bioactive Components

Hu Wenmei, Li Huixue, Sun Yapeng, Liu Xiaoying, Zhang Runfeng, Chen Shan*
(College of Light Industry and Food Engineering, Guangxi University, Nanning 530004)

Abstract Bioactive components are of great interest to researchers because of their excellent efficacy in health regulation and disease prevention. However, their bioavailability is low and easily affected by environmental conditions, limiting their application scope. The nano-delivery system has become one of the effective ways to embed bioactive components and improve their bioavailability. The nano-delivery system based on whey protein stands out among many nano-delivery systems because of its excellent functional characteristics, the advantages of loading bioactive components and achieving controlled release to improve their bioavailability and stability. This paper reviewed the composition and functional properties of whey protein, summarized the types of whey protein-based nano-delivery systems, including nano-emulsion, multi-emulsion, emulsion gels, self-assembly, and nanoparticles, and summarized the application status of these methods for delivering bioactive components. At the same time, the application status of relevant delivery systems was summarized, and the existing problems and future research directions in this research field were summarized, which provided a reference for subsequent research to improve the stability and loading rate of whey protein carriers and expand their application fields.

Keywords whey protein; bioactive components; delivery systems; application