

蛋白质-脂质/多糖复合体系递送系统:制备、表征和应用

陈逸玉, 徐朔, 李玉奇, 赵钜阳*

(哈尔滨商业大学 旅游烹饪学院, 哈尔滨 150076)

摘要: 一直以来对于封装生物活性物质的递送系统的研究都广受关注, 蛋白质、脂质和糖都是递送系统中常用的封装载体, 这些递送系统是为了克服纯活性化合物的问题而制造的。然而, 脂质、多糖和蛋白质存在局限性, 限制了它们在递送系统中的有效性。蛋白质-脂质和蛋白质-多糖偶联是用于制造新型递送系统的新兴技术, 其优点是在一个递送系统中同时具有两种递送载体, 与单个载体相比, 这些偶联物在体内具有更好的协同作用和理想的性质。其中, 胶体和生物稳定性、增强机械强度、控释、更长的循环时间、靶向递送、更小的细胞毒性、更高的负载能力、共包封和增强的生物利用度是关键结果。本综述的重点是探究脂质、多糖和蛋白质作为递送系统的重要性、蛋白质-脂质/多糖偶联的益处、偶联方法和营养递送中的各种应用, 并确定研究挑战和未来的研究方向。

关键词: 蛋白-脂质偶联; 蛋白-多糖偶联; 营养递送; 递送系统

Protein-lipid/polysaccharide complex delivery systems: preparation, characterization, and applications

Chen Yiyu, Xu Shuo, Li Yuqi, Zhao Juyang

(College of Tourism and Cuisine, Harbin University of Commerce, Harbin 150076, China)

Abstract: The research on delivery systems for encapsulating bioactive substances has been widely concerned. Proteins, lipids and polysaccharides are commonly used encapsulation carriers in delivery systems. These delivery systems are manufactured to overcome the problem of pure active compounds. However, lipids, polysaccharides and proteins have limitations that limit their effectiveness in delivery systems. Protein-lipid and protein-polysaccharide coupling is an emerging technology for the manufacture of new delivery systems. Its advantage is that there are two delivery carriers in one delivery system. Compared with a single carrier, these conjugates have better synergy and ideal properties in vivo. Among them, colloidal and biological stability, enhanced mechanical strength, controlled release, longer cycle times, targeted delivery, less cytotoxicity, higher loading capacity, co-encapsulation, and enhanced bioavailability are key results. This review focuses on exploring the importance of lipids, polysaccharides and proteins as delivery systems, the benefits of protein-lipid / polysaccharide coupling, coupling methods and various applications in nutritional

delivery, and identifying research challenges and future research directions.

Keywords:Protein-lipid conjugation;Protein-polysaccharide conjugation; Nutraceutical delivery;Delivery system

引言

人们对现代食品营养需求的趋势是加入具有潜在健康益处的生物活性化合物，如抗氧化剂和益生菌。生物活性化合物(通常从天然来源提取，例如维生素、益生菌、矿物质、多酚、 ω -3-脂肪酸和植物甾醇等)的稳定性是它们成功摄取利用的关键参数。但生物活性化合物对氧气、光、热和水都很敏感，这些因素限制了食品的保质期和生物利用率^[56]。此外，生物成分在口服后会经历的胃肠道消化代谢，导致化学结构的变化，改变其生物活性。因此，如何确保生物活性物质在胃肠道的稳定性并在适当的靶点处进行释放是一个问题。在食品生产中实施生物活性化合物过程中产生的另一个问题是这些化合物的摄入量和生物利用度有限。蛋白-脂质/多糖复合系统递送载体是克服上述许多问题的有力工具，因为它能够通过封装一种或多种化合物来保护它们。

1 递送系统中的载体

1.1 蛋白质

蛋白质具有较高的营养价值，且在生物与功能技术方面具表面活性、起泡性、乳化凝胶特性、低毒性和生物相容性等良好的性质^{[1][2]}，因此食品级的蛋白质常常以多种形式（例如纤维、纳米颗粒和水凝胶）广泛地应用于药品、食品递送运输中。除此之外，蛋白质的表面具有多种官能团方便与多种物质相互作用，促进疏水或亲水生物活性分子（例如维生素、益生菌、多酚、抗氧化剂、色素和挥发性香气）的递送^[3]。递送系统中常见的蛋白质可以分为动物蛋白和植物蛋白^[4]。动物蛋白中应用最广泛的是明胶和牛乳蛋白（即乳清蛋白、 β -乳球蛋白、 α -乳清蛋白、卵清蛋白、牛血清白蛋白、酪蛋白、乳铁蛋白）^[5]。例如天然 β -乳球蛋白（ β -LG）可以形成纳米复合物，作为天然纳米载体来封包疏水性营养成分^[27]；姜黄素在生理 pH 下不稳定且水溶性差，而将其封装在乳清蛋白微粒中时，其生物利用度显著提高^[28]。玉米醇溶蛋白、豌豆蛋白、麦醇溶蛋白和大豆蛋白则是广泛用于纳米载体的植物蛋白^[6]。乙醇可以促进玉米醇溶蛋白展开露出疏水核心即二硫键，由此与疏水性 β -胡萝卜素相互作用^[29]，提高封包效率。

大多数食品蛋白质具有物理化学和功能属性，使其适用于封装各种亲水和疏水性生物

活性化合物。然而，这些特性对环境因素高度敏感。例如，基于蛋白质的制剂倾向于在其等电点附近、高离子强度或高于其热变性温度的温度下聚集，这将限制其功能性能^[24]。因此，制造基于蛋白质的输送系统是一项重大挑战，该系统在一系列不同的环境应力（如 pH，离子浓度，温度，机械应力）以及在生产，储存和利用过程中与其他成分的相互作用^[25]。此外，有一些蛋白质会致使过敏反应^[26]。

1.2 脂质

脂质用作递送系统载体，符合美国 FAD 评价食品添加剂安全性指标（GRAS）具有许多理想的特性，例如生物降解性，生物相容性以及优异的乳化性能，这些都有利于工业大规模化的生产^[7]。脂质体，乳液，微乳液，纳米乳液，多重乳液，固体脂质纳米颗粒（SLNs）和纳米结构脂质载体（NLCs）都是一些最常见的基于脂质的输送系统^{[8][9]}。油酸、卵磷脂、亚麻酸和亚油酸则是运输系统中一些常用的脂质物质^[30]。油酸可以作为脂质体和纳米颗粒的稳定剂，其生物相容性可以增加递送系统中的渗透性^[31]；卵磷由于其生物相容性和稳定特性可以用于制备各种纳米载体，所以在输送系统中具有广泛的应用^[32]；亚油酸是人体必须脂肪酸，不仅可以降低患上粥样动脉硬化的风险，还可以时间在递送系统中有效增加负载时间和效果^[33]。

但是脂质价格昂贵，在酸性条件下容易分解^[34]。脂质用于制备乳液时其稳定性和纯度并不稳定^[35]。SLNs 作为递送系统还存在颗粒易聚集、载药量低、储存过程中多晶型转化后生物活性成分泄露等缺点^[36]。

1.3 多糖

碳水化合物是人类饮食中为生命活动提供主要能量的成分，可以从植物、动物和微生物中获取，来源十分广泛。碳水化合物通过水解反应可以分解成单糖、二糖、低聚糖和多糖。在这之中，多糖是具有 α 或 β 糖苷键的大分子聚合物，有易于修饰、含量丰富和加工成本低的优点，是发展前景最为广阔的生物聚合物之一，常常用于封装和递送生物活性成分^[10]。与其他三种糖相比，一些天然多糖（例如果胶和半乳糖）的亲水碳水化合物链中会含有蛋白质或非极性基团，使其具备乳化特性^[11]。同时，多糖不仅具有高分子量更适合捕获和封包活性物质^[12]，还可以在水中形成网络结构增加乳液的粘度提高稳定性^[13]。除此之外，多糖作为细胞膜的组成部分，参与细胞在生命现象中的各种活动^[14]。因此多糖还具有多种生物活性，如免疫调节、抗肿瘤、调节肠道菌群、抗氧化等^[15]。与蛋白质和磷脂相比，多糖广泛可用，并具有多种结构，具有不同的优势，且易于消化，最终要是可以在较大的 pH 和温度范围内保持稳定^[39]。壳聚糖、海藻酸盐、果胶、淀粉、黄原胶和透明质

酸都是常见的用于递送系统的多糖载体。例如海藻酸盐作为未修饰的天然多糖可以用于制备水凝胶，有助于减少葡萄糖和蛋白质通过海藻酸钙球，进而维持食物的芳香化合物并延长食品的保质期^[37]；Chuksinuan 等^[38]制备了一种复合壳聚糖/水解胶原蛋白/透明质酸水凝胶，咖啡酸封包物质又是抗氧化剂，结果表明咖啡因胃肠释放量高达 80%，并具有优异的溶胀性能和抗氧化活性。

多糖虽然具有一定的乳化性，但稳定性不够，可能是因为一些多糖由于其高度亲水性和复杂的大分子构象和结构，在界面处存在吸附困难^[40]，所以往往要通过共价或非共价结合蛋白质或其他分子形成复合体系。

2 制备方法

2.1 蛋白质-脂质

在输送系统中，脂质-蛋白质偶联使用多种技术进行。例如，化学偶联、静电涂层、高压均质和脂膜水化方法被广泛使用^[16]。图一显示了最近文献中用于在药物、基因和营养保健品递送应用中偶联脂质和蛋白质的不同技术。

在化学偶联过程中，脂质的羧基和蛋白质的胺基之间形成酰胺键。化学偶联与其他方法之间的主要区别在于化学偶联中共价键的形成，其中其他方法基于静电相互作用^[19]、疏水相互作用以及乳液中的亲水和疏水相互作用。脂质的羧基官能团在形成酰胺键之前被激活，以促进蛋白质和脂质之间的高效偶联。由于蛋白质由于存在胺和羧基而可以自聚合，从而优先选择在偶联之前活化脂质的羧官能团^[20]。Pooja 等人^[52]使用硬脂胺将氨基引入固体脂质纳米颗粒，以促进与小麦胚芽凝集素的羧基的结合。在同一研究中，硬脂酸在固体脂质纳米粒中引入了一个羧基，以促进其与小麦胚芽凝集素的氨基的偶联，偶联效率从 11.45%提高到 74.1%。

脱溶剂法用于脂质蛋白结合的另一种方法，但由于食品安全等问题目前主要广泛应用于药品递送系统的制备。唐等人^[53]使用脱溶剂法制备脂质-白蛋白纳米组件。在他们的研究中，药物和卵磷脂被溶解在无水乙醇中不断搅拌，然后滴入白蛋白水溶液中，对所得溶液进行超声处理，利用旋转蒸发技术去除无水乙醇。最后，将样品进行离心和过滤，以获得载药的脂-白蛋白纳米颗粒。

静电偶联是一种常用蛋白脂质结合的方法，其机理是当蛋白质的 pH 值高于或低于等电点时，蛋白质具有负电荷或正电荷。在静电包被方法中，带相反电荷的脂质可以通过静电耦合与蛋白质结合。另一种基于这个原理的方法是脂膜水合，同样是将带有相反电荷的蛋

白脂质结合。

高压均质作为蛋白质脂质的偶联方法，常用于制备稳定乳液和悬浮液。Essam Hebishy 等人^[57]通过高压均质制备乳清蛋白-橄榄油-葵花籽油的水包油乳液，高压均质改变了蛋白的构象提高乳化性且将脂质分成更小的液滴从而形成更稳定的乳液。

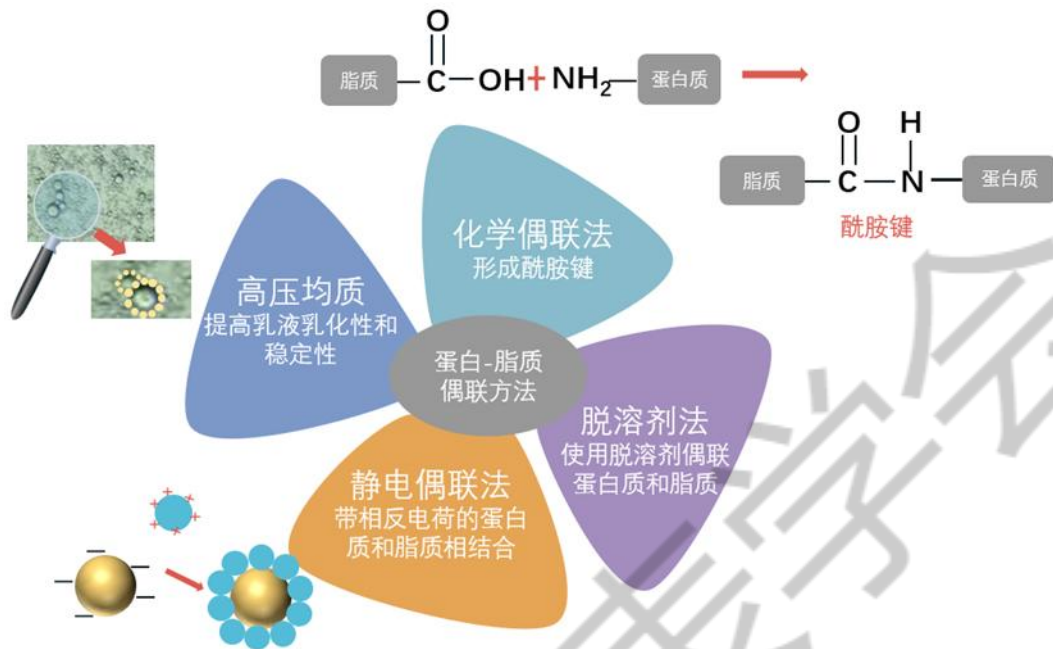


图 1 蛋白质-脂质偶联技术

2.2 蛋白质-多糖

2.2.1 共轭系统

蛋白质和多糖之间的共价相互作用具有很强的特异性和强度，形成了永久的、不可逆的蛋白质-多糖化学键^[17]。这种变化是蛋白质-多糖糖基化，通过蛋白质分子的氨基残基和多糖的羧基共价结合形成酰胺^[18]。这种反应的主要原因主要与赖氨酸残基的存在有关，赖氨酸残基在适当的低水活性和热处理下，经过几个小时的反应可以诱导其与多糖分子的还原糖发生美拉德反应。和共价相互作用不同，离子强度和 pH 的变化对蛋白-多糖共价系统影响较小。但糖链的长度和蛋白质分子的性质对糖基化蛋白质-多糖偶联物的形成有很大的影响。从蛋白质结构的角度来看，酪蛋白等未折叠的蛋白质通常比折叠的蛋白质（例如溶菌酶）与多糖结构的反应更迅速。

2.2.2 静电复合物

大分子之间的络合机制主要源于不同带相反电荷的生物聚合物之间的静电相互作用，特别是蛋白质和多糖。然后，蛋白质-多糖复合物的可溶性物质继续聚集并降低体系的自由能，直到它们的尺寸和表面特征形成了一种不溶解的状态，从而通过非共价和氢键相互作用

用引起液-液相分离和凝聚。蛋白质和多糖之间的静电复合物主要受一系列参数的影响，包括培养基的 pH 和离子强度，生物聚合物浓度或分子量以及蛋白质与多糖的比例^[54]。还有一些其他因素，如温度、压力、柔韧性、电荷密度，甚至搅拌，也被证明会影响凝聚现象^[55]。

3 表征方法

粒径是决定封装物质的稳定性、封装效率、控制释放、生物分布情况、吸附率和细胞摄取的最关键因素之一^[41]。根据陈等人^[42]进行的关于麦醇溶蛋白与磷脂脂比例对影响封装姜黄素的纳米颗粒粒径的影响，结果表明在低水平磷脂浓度下，会抑制麦醇溶蛋白分子聚集和表面张力降低，粒径减小。且粒径的大小会随着磷脂浓度的增加而增加，这是由于磷脂自发聚集导致的表面活性或吸收动力学降低，纳米颗粒内部也会形成更多脂质双层进而导致更大粒径。

Zeta 电位是粒子抗聚集稳定性的测量，因为 Zeta 电位的增加表明电荷量的增加，从而导致液滴之间静电斥力增加，因此可以防止液滴聚集从而提高稳定性，所以 Zeta 电位是在复合递送系统地研究中测定稳定性的最常见方法^[43]。通常来讲稳定的系统都会有较高的 Zeta 电位（绝对值大于 20mV）。Gaber 等^[44]研究发现油酸-明胶颗粒的 Zeta 电位低于 -20 mV，而明胶纳米颗粒通常介于 0-10 mV 之间的低 Zeta 电位，说明复合系统使稳定性大大提高。油酸-明胶颗粒的高 Zeta 电位是由明胶的氨基与油酸反应引起的，该反应导致共轭物表面的阳离子电荷减少。因此，与油酸的偶联可稳定具有阴离子表面电荷的颗粒。吴等人^[45]研究了大豆分离蛋白-大豆可溶性多糖封装金丝桃苷的三元聚集体（SPI-HYP-SSPS）发现，SPI-HYP-SSPS 相较于 HYP-SSPS 的 Zeta 电位显著提高，这是因为 SPI-HYP 和 SSPS 之间通过静电相互作用形成了静电复合物，形成了“核壳”结构。

微观结构图像可以观察递送系统的结构和形态差异，最常用的成像方法是扫描电子显微镜（SEM）和投射电子显微镜（TEM）。SEM 可以用于表征粒子外貌、大小分布和化学键，TEM 则可以表征内部分子结构和形态。陈等人^[42]通过 TEM 可以观察到麦醇溶蛋白与磷脂的比例对其复合系统形态的影响。对比发现，虽然单一的麦醇溶蛋白颗粒大体也可以形成球状，但从麦醇溶蛋白-磷脂复合体系 TEM 图像中可以观察到由磷脂自组装形成的多层内部结构。吴等人^[45]通过表征 SPI-HYP-SSPS 复合物的外貌，发现不同 pH 对复合纳米颗粒的影响，在 pH7.0 下，SPI-HYP-SSPS 复合物结构均匀光滑，表明 SPI 与 SSPS 具有良好的相容性；但在 pH3.5 时，则呈现出不规则的团簇状。这是因为 pH 3.5 更接近其等电点，

纳米颗粒之间的疏水相互作用或静电相互作用的减弱可能导致干燥过程中的部分聚集。

4 应用

生物活性食品成分大致可分为多酚，生物活性肽，多不饱和脂肪酸，维生素，生物活性多糖和矿物质元素^[46]。酚类物质和维生素在近年来都得到了广泛地研究，以下将从三个方面来阐述。

4.1 封装多酚

多酚包括酚酸和类黄酮，是植物的次生代谢产物，广泛分布在植物性食物中，具有深远的健康益处。多酚是天然抗氧化剂，可作为屏障，防止活性氧（ROS）引起的氧化应激^[47]。多酚的完整性和生物利用度会决定以上作用的有效性，但多酚对热敏感容易氧化，在食物制备、摄入和胃肠道的不（弱）稳定性很大程度上限制了多酚的应用，因此通过封装来保证多酚在体内的有效释放收到广泛关注。

多酚和蛋白质可以通过非共价力相互作用，即范德华力、氢键、疏水和静电相互作用^[48]。一般来说，形成的非共价相互作用的类型取决于多酚的性质。因此蛋白-脂质/多糖复合体系在作为负载多酚的递送系统时，需要考虑多酚和蛋白质之间的相互作用对递送系统稳定性、生物利用度的影响。陶等人^[49]制备了包封山奈酚（KAE）和单宁酸（TA）的卵清蛋白-海藻酸钠（OVA-SA）复合载体等 5 种纳米颗粒，其中负载了山奈酚的 OVA-SA 纳米颗粒（pOVA-KAE-SA）有最小的粒径和最大的 Zeta 电位，说明表面电荷最多静电斥力最大因此最稳定。pOVA-KAE/TA-SA 相较 pKAE/TA 表现出了更多的多酚负载量，说明包埋效果更好，能有效提高生物利用度。这是因为 KAE 和 TA 在其嵌入时会暴露更多的羟基与卵清蛋白的极性基团形成氢键，增加了非共价相互作用。同样，在 Muñoz-González 等人^[50]的研究中也存在蛋白和多酚的相互作用，他们构建了一种大豆蛋白和橄榄油的乳化凝胶体系将多酚提取物封装，成功地封装了没食子酸、黄醇单体、儿茶素和原花青素。但非共价相互作用相对化学结合较弱，且多酚与脂质之间不存在化学相互作用，因此只能作为凝胶中的非活性填料，这会使凝胶强度降低，但有利于促进分类在目标位点（即小肠）释放^[51]。

此外，形成蛋白外壳（模）的过程中蛋白质的疏水结构暴露，蛋白质分子之间会相互聚集二级结构发生变化形成更稳定的 β 折叠，陶等人^[49]研究内容表明，与 pOVA 相比，pOVA-KAE 的 α 螺旋含量降低了 25.77%， β -折叠也大幅增加，表明疏水性多酚 KAE 的结合增加了 OVA 的蛋白质折叠，并有助于 OVA 从 α 螺旋到 β -折叠的明显转变。

4.2 封装维生素

维生素分为脂溶性维生素（维生素 A、D、E、K）和水溶性维生素（例如维生素 B 和维生素 C），是人类健康的基本要素，有助于身体健康和发育，一旦缺乏会引起许多疾病，大都需要从食物中摄取，个体无法合成。维生素补剂是最常见最基本的保健品，但维生素对热和氧化剂十分敏感，易被破坏。封装作为一种新方法，可以延长保护维生素的活性，保证其有效地吸收。

从脂溶性维生素的角度来讲，蛋白质既可以作为乳化剂稳定封包到脂质中的维生素，又可以形成蛋白膜或蛋白壳进行保护。Monique Barreto Santos 等人^[59]制备了羧甲基塔拉胶（CMTG）-乳铁蛋白（LF）微胶囊来封包维生素 D，研究发现，LF 和 CMTG 的最适比例为 5:1，因为此时的正电荷（ NH_3^+ ）和负电荷（ COO^- ）数量相近电荷平衡，较为稳定且封装效率最高（81.5%）。此外封装可以提高热稳定性，微胶囊能将维生素 D₃ 较低的变性温度提高到 130°C，这可能是由于封包过程不仅仅是物理混合，根据 FTIR 光谱在 3200-3400 cm^{-1} 的波动发现封包物质之间或与蛋白质之间形成了氢键。在体外消化模拟中维生素 D₃ 大部分的都可以避免过早的在胃部释放顺利的到达小肠被吸收，这是由于胃部的蛋白酶会首先处理微胶囊表面的 LF 蛋白层，剩余的蛋白质会形成凝絮稳定和 CMTG 一起稳定维生素，肠道阶段在胰蛋白酶的作用下胆酶逐步替代 LF 和 CMTG 使 VD₃ 渐进释放，大大提高生物可及性。

从水溶性维生素的角度讲，纳米颗粒是常用的封包手段。刘等人^[60]以全大麦蛋白层、磷脂层和 α -生育酚层为原料制备三层结构的脂质-蛋白质复合纳米颗粒递送维生素 B₁₂。磷脂层和 α 生育酚层由大麦蛋白层以支架方式分离稳定并得到亲水性维生素 B₁₂ 被封装在内部水隔室中。这种结构可以克服与脂质体和基于液的输送系统相关的大多数缺点，包括胃环境中的不稳定和泄漏。另一方面，它可以有效地封装亲水性营养保健品，因为活性化合物和输送系统之间不需要相互作用。蛋白质与纳米颗粒的偶联提高了维生素 B₁₂ 的包封效率，以及增加胃环境中的消化抵抗力和维生素 B₁₂ 的受控释放。

4.3 封装其他生物活性物质

其他的生物活性物质包括一些不饱和脂肪酸或富含必须脂肪酸的油类、益生菌、精油和香料等。比如鱼油，富含多不饱和脂肪酸对预防心血管疾病等方面有积极的作用，但存在气味难闻、水溶性差和氧化不稳定的等问题。但用递送系统封装可以解决这些问题，李等人^[61]使用由大豆分离蛋白（SPI）（1%，2%，3%，4%，5%）磷脂酰胆碱（PC）组成的纳米乳液系统稳定了鱼油的加工和消化率。随着大豆分离蛋白量的增加，纳米乳液粒径和

多分散指数 (PDI) 呈一个先降低后升高的趋势。一方面大豆蛋白浓度过低时, 不能完全覆盖油滴表面, 另一方面, 当大豆蛋白浓度过高时, 蛋白质聚集形成亚胶束使得粒径和 PDI 增加, 进而导致蛋白质絮凝。从热稳定性和均质压力稳定性的结果来看, 都是粒径和 PDI 值最小时最稳定 (2%SPI)。此外在储存稳定性和氧化稳定性的测试中 SPI-PC 纳米乳也表现出的良好的特性, 这是由于 SPI/PC 表面的电荷密度更高, 静电排斥性更强, 对脂质氧化的抑制效果更好。

5 总结

本文概述了蛋白质、脂质和多糖作为单一载体在递送系统中的优缺点, 蛋白-脂质/多糖作为复合系统具有更好的稳定性和递送潜力, 阐述了各自的制备方法和机理, 蛋白-脂质复合物可以通过化学偶联、高压均质等方法制备, 蛋白-多糖则可以通过共价偶联和静电复合而成。复合递送系统在负载多酚、维生素和其他种类生物活性成分又能有效提高包封率、稳定性和生物可及性。但目前对于同时负载多种生物活性成分的研究较少, 除了多酚和载体基质之间的相互作用已经有了较多的研究, 其他成分方面的研究也很少, 这方面可以多多探究未来或许还可以尝试研究蛋白质-多糖-脂质三元的复合递送系统。

参考文献:

- [1] N. He, X. Chen, L. Wang, J. Wen, Y. Li, Q. Cao, et al. Fabrication of composite hydrogels based on soy protein isolate and their controlled globular protein delivery. *Global Challenges*, 3 (9) (2019), Article 1900030
- [2] D. Lucio, M.C. Martínez-Ohárriz, G. Jaras, P. Aranaz, C.J. González-Navarro, A. Radulescu, et al. Optimization and evaluation of zein nanoparticles to improve the oral delivery of glibenclamide. In vivo study using *C. elegans*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 121 (2017), pp. 104-11
- [3] S. Chander, G.T. Kulkarni, N. Dhiman, H. Kharkwal. Protein-based nanohydrogels for bioactive delivery. *Frontiers of Chemistry*, 9 (2021), Article 573748
- [4] M. Fathi, F. Donsi, D.J. McClements. Protein-based delivery systems for the nanoencapsulation of food ingredients. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17 (4) (2018), pp. 920-936
- [5] H. Dai, Y. Li, L. Ma, Y. Yu, H. Zhu, H. Wang, et al. Fabrication of cross-linked β -lactoglobulin

- nanoparticles as effective stabilizers for Pickering high internal phase emulsions. *Food Hydrocolloids*, 109 (2020), Article 10615
- [6] M.B.J. Maviah, M.A. Farooq, R. Mavlyanova, H. Veroniaina, M.S. Filli, M. Aquib, et al. Food protein-based nanodelivery systems for hydrophobic and poorly soluble compounds. *AAPS PharmSciTech*, 21 (3) (2020), pp. 1-11
- [7] L.D.S. Simões, D.A. Madalena, A.C. Pinheiro, J.A. Teixeira, A.A. Vicente, Ó.L. Ramos. Micro- and nano bio-based delivery systems for food applications: In vitro behavior . *Advances in Colloid and Interface Science*, 243 (2017), pp. 23-45
- [8] E. Assadpour, S. Mahdi Jafari. A systematic review on nanoencapsulation of food bioactive ingredients and nutraceuticals by various nanocarriers. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (2018), pp. 1-23
- [9] Chen, J., Hu, L. Nanoscale Delivery System for Nutraceuticals: Preparation, Application, Characterization, Safety, and Future Trends. *Food Eng Rev* 12, 14–31 (2020). <https://doi.org/10.1007/s12393-019-09208-w>
- [10] T.E. Mungure, S. Roohinejad, A.E. Bekhit, R. Greiner, K. Mallikarjunan. Potential application of pectin for the stabilization of nanoemulsions. *Current Opinion in Food Science*, 19 (2018), pp. 72-76, 10.1016/j.cofs.2018.01.011
- [11] E. Dickinson. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17 (1) (2003), pp. 25-39, 10.1016/s0268-005x(01)00120-5
- [12] E. Dickinson, A. Martin, D.J. McClements. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17 (1) (2003), pp. 25-39, 10.1016/s0268-005x(01)00120-5
- [13] L. Bai, F.G. Liu, X.F. Xu, S.Q. Huan, J.Y. Gu, D.J. McClements. Impact of polysaccharide molecular characteristics on viscosity enhancement and depletion flocculation. *Journal of Food Engineering*, 207 (2017), pp. 35-45, 10.1016/j.jfoodeng.2017.03.021
- [14] Gong H, Li W, Sun J, Jia L, Guan Q, Guo Y, Wang Y. A review on plant polysaccharide based on drug delivery system for construction and application, with emphasis on traditional Chinese medicine polysaccharide. *Int J Biol Macromol*. 2022 Jun 30;211:711-728. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.05.087. Epub 2022 May 16. PMID: 35588976.
- [15] Q. Wu, M. Luo, X. Yao, L. Yu. Purification, structural characterization, and antioxidant activity

of the COP-W1 polysaccharide from codonopsis tangshen oliv. *Carbohydr. Polym.*, 236 (2020), Article 116020

- [16] S.R. Elmasry, R.M. Hathout, M. Abdel-Halim, S. Mansour. In vitro transdermal delivery of sesamol using oleic acid chemically-modified gelatin nanoparticles as a potential breast cancer medication. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 48 (2018), pp. 30-39
- [17] J. Yi, T.I. Lam, W. Yokoyama, L.W. Cheng, F. Zhong. Controlled release of β -carotene in β -Lactoglobulin–dextran-conjugated nanoparticles' in vitro digestion and transport with caco-2 monolayers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (35) (2014), pp. 8900-8907
- [18] D. George, P.U. Maheswari, K.M.M.S. Begum. Chitosan-cellulose hydrogel conjugated with L-histidine and zinc oxide nanoparticles for sustained drug delivery: Kinetics and in-vitro biological studies. *Carbohydrate Polymers*, 236 (2020), Article 116101. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116101>
- [19] D.M. Kabary, M.W. Helmy, K.A. Elkhodairy, J.Y. Fang, A.O. Elzoghby. Hyaluronate/lactoferrin layer-by-layer-coated lipid nanocarriers for targeted co-delivery of rapamycin and berberine to lung carcinoma. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 169 (2018), pp. 183-194
- [20] M. Gaber, W. Medhat, M. Hany, N. Saher, J.Y. Fang, A. Elzoghby. Protein-lipid nanohybrids as emerging platforms for drug and gene delivery: Challenges and outcomes. *Journal of Controlled Release*, 254 (2017), pp. 75-91
- [21] S. Jain, P.U. Valvi, N.K. Swarnakar, K. Thanki. Gelatin coated hybrid lipid nanoparticles for oral delivery of amphotericin B. *Molecular Pharmaceutics*, 9 (9) (2012), pp. 2542-2553
- [22] B. Tang, G. Fang, Y. Gao, Y. Liu, J. Liu, M. Zou, et al. Lipid-albumin nanoassemblies co-loaded with borneol and paclitaxel for intracellular drug delivery to C6 glioma cells with P-gp inhibition and its tumor targeting. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10 (5) (2015), pp. 363-371
- [23] X. Zhang, X. Li, L. Liu, et al. Covalent conjugation of whey protein isolate hydrolysates and galactose through Maillard reaction to improve the functional properties and antioxidant activity. *International Dairy Journal*, 102 (2020), Article 104584
- [24] A. Abaee, M. Mohammadian, S.M. Jafari. Whey and soy protein-based hydrogels and nano-hydrogels as bioactive delivery systems. *Trends in Food Science & Technology*, 70 (2017), pp.

- [25] A.I. Bourbon, R.N. Pereira, L.M. Pastrana, A.A. Vicente, M.A. Cerqueira. Protein-based nanostructures for food applications. *Gels*, 5 (2019), p. 9
- [26] P. Meinlschmidt, U. Schweiggert-Weisz, V. Brode, P. Eisner. Enzyme assisted degradation of potential soy protein allergens with special emphasis on the technofunctionality and the avoidance of a bitter taste formation. *Lwt-Food Science and Technology*, 68 (2016), pp. 707-716, 10.1016/j.lwt.2016.01.023
- [27] C.H. Tang. Nanocomplexation of proteins with curcumin: From interaction to nanoencapsulation (a review). *Food Hydrocolloids*, 109 (2020), p. 106106
- [28] Q. Ye, F. Ge, Y. Wang, M.W. Woo, P. Wu, X.D. Chen, C. Selomulya. On improving bioaccessibility and targeted release of curcumin-whey protein complex microparticles in food. *Food Chemistry*, 346 (2021), Article 128900
- [29] R.M. Rodrigues, P.E. Ramos, M.F. Cerqueira, J.A. Teixeira, A.A. Vicente, L.M. Pastrana, et al. Electrospayed whey protein-based nanocapsules for β -carotene encapsulation. *Food Chemistry*, 314 (2020), Article 126157
- [30] Thilini Dissanayake, Xiaohong Sun, Lord Abbey, Nandika Bandara. Recent advances in lipid-protein conjugate-based delivery systems in nutraceutical, drug, and gene delivery. *Food Hydrocolloids for Health*, Volume 2, 2022, 100054, ISSN 2667-0259, <https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2022.100054>.
- [31] D. Mhule, R.S. Kalhapure, M. Jadhav, C.A. Omolo, S. Rambharose, C. Mocktar, et al. Synthesis of an oleic acid based pH-responsive lipid and its application in nanodelivery of vancomycin. *International Journal of Pharmaceutics*, 550 (1–2) (2018), pp. 149-159
- [32] A.G. Perez-Ruiz, A. Ganem, I.M. Olivares-Corichi, J.R. García-Sánchez. Lecithin-chitosan-TPGS nanoparticles as nanocarriers of (-)-epicatechin enhanced its anticancer activity in breast cancer cells. *RSC Advances*, 8 (61) (2018), pp. 34773-34782
- [33] F. Yang, S.A. Oyeyinka, W. Xu, Y. Ma, S. Zhou. In vitro bioaccessibility and physicochemical properties of phytosterol linoleic ester synthesized from soybean sterol and linoleic acid. *LWT-Food Science and Technology*, 92 (2018), pp. 265-271
- [34] Shade CW (2016) Liposomes as advanced delivery systems for nutraceuticals. *Integr Med* 15:33–36

- [35] J. Li, X.L. Wang, T. Zhang, C.L. Wang, Z.J. Huang, X. Luo, Y.H. Deng. A review on phospholipids and their main applications in drug delivery systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10 (2) (2015), pp. 81-98, 10.1016/j.ajps.2014.09.004
- [36] da Silva SV, Badan Ribeiro AP, Andrade Santana MH (2019) Solid lipid nanoparticles as carriers for lipophilic compounds for applications in foods. *Food Res Int* 122:610–626
- [37] R. Gheorghita Puscaselu, A. Lobiuc, M. Dimian, M. Covasa. Alginate: From food industry to biomedical applications and management of metabolic disorders. *Polymers*, 12 (10) (2020), p. 2417
- [38] P. Chuysinuan, T. Thanyacharoen, K. Thongchai, S. Techasakul, S. Ummartyotin. Preparation of chitosan/hydrolyzed collagen/hyaluronic acid based hydrogel composite with caffeic acid addition. *Int. J. Biol. Macromol.*, 162 (2020), pp. 1937-1943
- [39] A.M. Grumezescu, A.M. Holban. *Biopolymers for food design* (2018)
- [40] H. Melanie, N. Taarji, Y.G. Zhao, N. Khalid, M.A. Neves, I. Kobayashi, M. Nakajima. Formulation and characterisation of O/W emulsions stabilised with modified seaweed polysaccharides. *International Journal of Food Science & Technology* (2020), 10.1111/ijfs.14264
- [41] M. Danaei, M. Dehghankhold, S. Ataei, F. Hasanzadeh Davarani, R. Javanmard, A. Dokhani, et al. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems. *Pharmaceutics*, 10 (2) (2018), p. 57
- [42] X. Chen, Y. Chen, L. Zou, X. Zhang, Y. Dong, J. Tang, et al. Plant-based nanoparticles prepared from proteins and phospholipids consisting of a core-multilayer-shell structure: Fabrication, stability, and foamability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67 (23) (2019), pp. 6574-6584
- [43] W. Chen, X. Ju, R.E. Aluko, Y. Zou, Z. Wang, M. Liu, et al. Rice bran protein-based nanoemulsion carrier for improving stability and bioavailability of quercetin. *Food Hydrocolloids*, 108 (2020), Article 106042
- [44] M. Gaber, W. Medhat, M. Hany, N. Saher, J.Y. Fang, A. Elzoghby. Protein-lipid nanohybrids as emerging platforms for drug and gene delivery: Challenges and outcomes. *Journal of Controlled Release*, 254 (2017), pp. 75-91
- [45] Di Wu, Lan Tang, Zhen Zeng, Jing Zhang, Xia Hu, Qingqing Pan, Fang Geng, Hui Li, Delivery

of hyperoside by using a soybean protein isolated-soy soluble polysaccharide nanocomplex: Fabrication, characterization, and in vitro release properties, *Food Chemistry*, Volume 386, 2022, 132837, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132837>.

- [46] C. Bao, P. Jiang, J.J. Chai, Y.M. Jiang, D. Li, W.E. Bao, Y. Li, The delivery of sensitive food bioactive ingredients: Absorption mechanisms, influencing factors, encapsulation techniques and evaluation models, *Food Research International*, 120 (2019), pp. 130-140, 10.1016/j.foodres.2019.02.024
- [47] K.D.P.P. Gunathilake, K.K.D. Somathilaka Ranaweera, H.P. Vasantha Rupasinghe, Effect of different cooking methods on polyphenols, carotenoids and antioxidant activities of selected edible leaves, *Antioxidants*, 7 (9) (2018), 10.3390/antiox7090117
- [48] S.-D. Zhou, Y.-F. Lin, X. Xu, L. Meng, M.-S. Dong, Effect of non-covalent and covalent complexation of (–)-epigallocatechin gallate with soybean protein isolate on protein structure and in vitro digestion characteristics, *Food Chem*, 309 (2020), Article 125718, 10.1016/j.foodchem.2019.125718
- [49] Xiaoya Tao, Hang Shi, Ailing Cao, Luyun Cai, Influence of polyphenol-metal ion-coated ovalbumin/sodium alginate composite nanoparticles on the encapsulation of kaempferol/tannin acid, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 209, Part A, 2022, Pages 1288-1297, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.04.108>.
- [50] I. Muñoz-González, C. Ruiz-Capillas, M. Salvador, A.M. Herrero, Emulsion gels as delivery systems for phenolic compounds: Nutritional, technological and structural properties, *Food Chemistry*, 339 (2021), Article 128049
- [51] P.V. Gadkari, M.G. Shashidhar, M. Blaraman, Delivery of green tea catechins through oil-in-water (O/W) nanoemulsion and assesment of storage stability, *Journal of Food Engineering*, 199 (2017), pp. 65-76, 10.1016/j.jfoodeng.2016.12.009
- [52] D. Pooja, H. Kulhari, M. Kuncha, S.S. Rachamalla, D.J. Adams, V. Bansal, et al. Improving efficacy, oral bioavailability, and delivery of paclitaxel using protein-grafted solid lipid nanoparticles, *Molecular Pharmaceutics*, 13 (11) (2016), pp. 3903-3912
- [53] B. Tang, G. Fang, Y. Gao, Y. Liu, J. Liu, M. Zou, et al. Lipid-albumin nanoassemblies co-loaded with borneol and paclitaxel for intracellular drug delivery to C6 glioma cells with P-gp inhibition and its tumor targeting, *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10 (5) (2015), pp.

- [54] V. Aylanc, S. Ertosun, L. Akyuz, et al. Natural β -chitin-protein complex film obtained from waste razor shells for transdermal capsaicin carrier, *International Journal of Biological Macromolecules*, 155 (2020), pp. 508-515
- [55] B. Chen, Z. Guo, S. Miao, et al. Preparation and characterization of lotus seed starch-fatty acid complexes formed by microfluidization, *Journal of Food Engineering*, 237 (2018), pp. 52-59
- [56] Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A. et al. Trends in Encapsulation Technologies for Delivery of Food Bioactive Compounds. *Food Eng Rev* 7, 452–490 (2015). <https://doi.org/10.1007/s12393-014-9106-7>
- [57] Essam Hebishy, Martin Buffa, Buenaventura Guamis, Anabel Blasco-Moreno, Antonio-José Trujillo, Physical and oxidative stability of whey protein oil-in-water emulsions produced by conventional and ultra high-pressure homogenization: Effects of pressure and protein concentration on emulsion characteristics, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, Volume 32, 2015, Pages 79-90, ISSN 1466-8564, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.013>.
- [58] Jia Zhang, Ruotong Zhang, Yage Zhang, Yi Pan, Ho Cheung Shum, Zhuo Jiang,
- [59] Monique Barreto Santos, Mário Geraldo de Carvalho, Edwin Elard Garcia-Rojas, Carboxymethyl tara gum-lactoferrin complex coacervates as carriers for vitamin D3: Encapsulation and controlled release, *Food Hydrocolloids*, Volume 112, 2021, 106347, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106347>.
- [60] G. Liu, J. Yang, Y. Wang, X. Liu, L.L. Guan, L. Chen, Protein-lipid composite nanoparticles for the oral delivery of vitamin B12: Impact of protein succinylation on nanoparticle physicochemical and biological properties, *Food Hydrocolloids*, 92 (2019), pp. 189-197
- [61] Y. Li, M. Li, Y. Qi, L. Zheng, C. Wu, Z. Wang, et al. Preparation and digestibility of fish oil nanoemulsions stabilized by soybean protein isolate-phosphatidylcholine, *Food Hydrocolloids*, 100 (2020), Article 105310