

常雨, 郑逸梅, 罗碧英, 等. 食品级共价复合物在递送生物活性物质方面的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(13): 389–399. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060017

CHANG Yu, ZHENG Yimei, LUO Biying, et al. Application of Food Grade Complexes in the Delivery of Bioactive Substances[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(13): 389–399. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060017

· 专题综述 ·

食品级共价复合物在递送生物活性物质方面的研究进展

常 雨, 郑逸梅, 罗碧英, 滕 慧, 陈 雷*
(广东海洋大学食品科技学院, 广东湛江 524088)

摘 要:生物活性物质由于具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化和降血脂活性, 是功能性食品开发的良好原料, 但在生产加工和储存的过程中大多容易分解。为解决这一问题, 围绕蛋白质、多糖和多酚设计了食品级的递送系统, 形成的复合物改变了食品的功能和营养特性。本文综述了利用蛋白质、多糖、多酚为原料制备不同功能性质的二元或三元食品级复合物的共轭方法、表征和功能性质的研究进展, 总结了复合物作为载体的主要类型, 以及在生物活性物质传递系统中的应用, 并总结了递送体系与人体胃肠道之间的相互作用, 强调了在制备和分析复合物作为递送体系时要注意的主要问题并展望了其应用前景。

关键词:蛋白质-多糖-多酚复合物, 生物活性物质, 递送系统, 胃肠道

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)13-0389-11

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021060017



本文网刊:

Application of Food Grade Complexes in the Delivery of Bioactive Substances

CHANG Yu, ZHENG Yimei, LUO Biying, TENG Hui, CHEN Lei*

(School of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Bioactive substances are good raw materials for functional food development due to their anti-tumor, anti-inflammatory, antioxidant and hypolipidemic activities, but most of them are easy to decompose in the process of production, processing and storage. To address this problem, food-grade delivery systems have been designed around proteins, polysaccharides and polyphenols, forming complexes that alter the functional and nutritional properties of foods. In this paper, the research progress of conjugation method, characterization and functional properties of binary and ternary food-grade complexes with different functional properties prepared from proteins, polysaccharides, polyphenols are reviewed, the main type of complexes as carriers and its application in bioactive substances transfer system are summarized, and the interaction between delivery system and human gastrointestinal tract are also summarized. The main problems to be paid attention to in preparation and analysis of complex as delivery system are emphasized and its application prospect is forecasted.

Key words: protein-polysaccharide-polyphenol complex; bioactive substances; delivery system; gastrointestinal tract

近年来, 随着人类生活水平的提高和食品科学的进步, 生物活性物质因能改善多种慢性疾病(如糖尿病、肥胖症、心血管病), 被广泛应用和研究^[1]。然而, 大多数生物活性物质在水中溶解性差, 易降解, 此

外, 其口服途径受到 pH、胃肠液、黏液层等多种因素限制^[2]。为了提高生物活性物质的生物利用度和稳定性, 人们研究了乳液、纳米粒子、纳米凝胶、微胶囊作为递送体系, 控制生物活性物质在人体消化系统

收稿日期: 2021-06-03

作者简介: 常雨 (1996-) (ORCID: 0000-0002-5819-4448), 女, 硕士, 研究方向: 分子营养学, E-mail: chang64131629@163.com。

* 通信作者: 陈雷 (1984-) (ORCID: 0000-0002-5733-5026), 男, 博士, 教授, 研究方向: 分子营养学, E-mail: chenlei841114@hotmail.com。

不同部位(如口腔、胃和小肠)的消化速率^[3],从而提高生物利用度。

蛋白质、多糖、多酚是食品中的重要组成成分。蛋白质和多糖能够稳定乳液和泡沫、增稠溶液和形成凝胶,植物多酚具有有益的生理功能,如抗肿瘤、抗氧化剂、抗菌和抗病毒特性。蛋白质、多糖、多酚之间可以通过化学和酶的方法形成二元或三元的复合物,其所形成的复合物具有较好的乳化性和稳定性,且能够作为载体将生物活性物质传递至特定位置,提高生物活性物质的生物利用度。He等^[4]制备了大豆分离蛋白(SPI)-葡聚糖复合物,并包裹姜黄素以形成纳米颗粒,结果表明,共轭姜黄素纳米颗粒的抗氧化能力是单独姜黄素的两倍多。Fan等^[5]研究指出咖啡酸-牛血清蛋白/玉米蛋白复合物制备的纳米颗粒对白藜芦醇的降解有明显的保护作用,且显著提高白藜芦醇的热稳定性、紫外光稳定性和抗氧化活性,此外,纳米颗粒膜也可以提高口服型药剂的稳定性。总之,蛋白质、多糖、多酚所制备的二元或三元的共价复合物能够作为递送生物活性物质的较好的载体,进而促进在食品工业中的发展。

本文主要概述了蛋白质、多糖、多酚之间形成共价复合物的方法、表征方法和功能性质的变化,同时对复合物构建的食品级递送体系及其应用进行了综述,讨论递送体系与人体胃肠道之间的相互作用,为更好理解蛋白质-多糖-多酚复合物在生物活性物质递送体系中的应用提供了视角。

1 蛋白质-多糖-多酚复合物的共轭方法

通过控制所使用的组分和制备条件,可以制备出具有不同分子和物理化学特性的食品级共价复合物。一般来说,食品级复合物的形成可以分为非酶法

和酶法。非酶方法包括美拉德反应、自由基接枝、碱性处理和碳二酰亚胺介导的偶联反应。酶法是基于利用特定的交联酶,如转谷氨酰胺酶、漆酶、酪氨酸酶、脂氧合酶、多酚氧化酶和过氧化物酶^[6]。

1.1 蛋白质-多糖复合物共轭方法

蛋白质-多糖复合物共轭方法最常见的方法是在控制时间、温度、pH和水分的条件下进行美拉德反应^[7]。美拉德反应可分为三个阶段:早期、中期和后期(图1)。研究表明晚期终产物与糖尿病、慢性肾衰竭、心血管、神经性疾病的病理过程密切相关^[7]。因此,应该控制美拉德反应条件,避免进入后期阶段产生有害物质。美拉德反应可以在干热、湿热的条件下进行^[8]。干加热是指在干燥状态下,在一定温度和相对湿度下加热生物聚合物的混合物,此方法要彻底混合生物聚合物,以确保糖基化的有效发生。目前常用的方法是先将蛋白质和多糖单独溶解在水性介质中,然后混合溶液,最后冻干混合溶液。但操作时间需要几十小时甚至几周,具体取决于生物聚合物的类型和反应条件^[9]。湿热法一般是将一定比例的蛋白质与多糖的溶液采用水浴或油浴加热下反应一定时间,然后经过冰浴冷却后制得蛋白质-多糖复合物。与干热法相比,湿热法反应较为剧烈^[10],反应时间较短,反应温度较高,肽链结构易发生变化,接枝物的颜色较深。此外,还可以使用辅助技术,如超声波、高压和脉冲电场。无论采用何种制备方法,主要影响因素是蛋白质和多糖的固有特性(如分子量、氨基酸组成和还原基团数量)、生物聚合物的质量比、相对湿度以及反应温度和时间。在控制的反应条件下,蛋白质-多糖结合物可以形成增强的功能属性,如良好的乳化性能、热稳定性、抗氧化活性和抗菌活性。

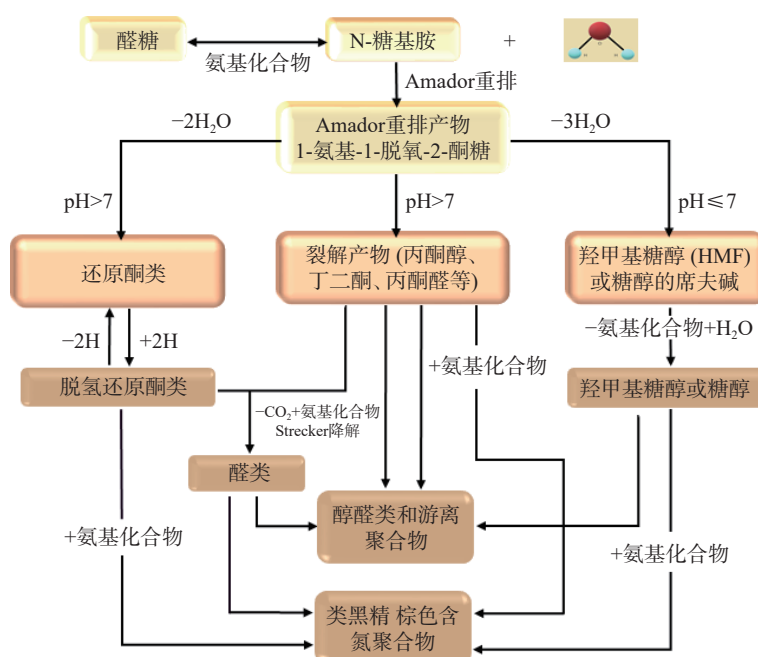


图1 美拉德反应路线图^[8]

Fig.1 Maillard reaction roadmap^[8]

蛋白质-多糖复合物还可以通过静电相互作用以复凝聚的形式形成,复凝聚反应是指胶体溶液中的两种带不同电荷的聚电解质通过静电相互作用发生分离而产生沉淀的一种现象,由于参与复凝聚反应的聚电解质来源广泛,安全性高,可生物降解,反应可控性强,而且所得复合物有望获得新的功能性质,因此蛋白质多糖复凝聚反应在食品领域也具有极其广阔的应用前景^[11]。表 1 列出了一些制备蛋白质-多糖复合物的方法、表征技术及功能性质。

1.2 多糖-多酚复合物的共轭方法

自由基接枝是最常用的形成多糖-多酚复合物的方法之一,自由基接枝是化合物的共价键发生均裂形成自由基,然后自由基反应形成复合物^[21]。多糖和多酚主要是通过氧化还原使组分(如抗坏血酸/过氧化氢)相互作用产生羟基自由基攻击多糖分子中的残基,产生自由基,然后,这些自由基与多酚反应,促进多糖-多酚共价键的形成,这种方法快速且不使用有机溶剂或有毒自由基引发剂^[8]。

多糖-多酚复合物也可以通过碳二亚胺介导的偶联形成,该方法主要是含氨基的分子与含羧基的分子之间形成酰胺键^[22-22]。碳二亚胺介导的偶联法高效、方便,是一种较好的将多糖物质偶联于多酚上的化学方法。多糖-多酚复合物也可以使用各种类型的酶形成,如多酚氧化酶和过氧化物酶以及脂肪酶、磷酸化酶和转谷氨酰胺酶^[23],酶法往往具有更环保的优势。表 2 列出了一些制备多糖-多酚复合物的方法、表征技术及功能性质。许多研究表明,多糖可以与多

酚结合,可以获得新的或改善功能的物质成分。

1.3 蛋白质-多酚复合物的共轭方法

最常用方法的是在非酶条件下进行,如在氧气存在下,蛋白质与多酚在碱性溶液中结合。在这些条件下,多酚首先被氧化成醌类化合物,然后再与蛋白质中的游离氨基、赖氨酸、半胱氨酸和色氨酸基团等亲核物质发生反应,从而形成交联蛋白聚合物^[31-32]。多酚的二酚部分很容易氧化成邻醌,然后在副反应中形成聚合物,或者与蛋白质上的氨基或巯基反应形成共价 C-N 或 C-S 键酚环,导致对苯二酚的再生。该加成产物进一步氧化形成其醌后,可能会发生第二次加成,从而形成交联的蛋白质聚合物^[33]。

多酚的酶促氧化主要使用多酚氧化酶,如儿茶素氧化酶和漆酶进行催化反应^[34-35]。在氧的存在下,处于邻位的芳香羟基的邻苯二酚基团可以形成邻醌,进而与蛋白质参与亲核加成反应。蛋白质-多酚共轭物的研究结果如表 3 所示。从这些研究中可以清楚地看出,蛋白质与多酚的共价反应会影响它们的理化特性(如溶解度、热稳定性、表面活性、凝胶特性和抗氧化活性)以及它们的营养特性(如消化率、生物利用度和必需氨基酸含量)。

1.4 蛋白质-多糖-多酚复合物共轭方法

根据所需的不同的功能性质,形成蛋白质-多糖-多酚复合物的方法主要有以下三种类型。第一种方法是先合成蛋白质-多糖复合物,然后由多酚修饰。当蛋白质-多糖复合物由美拉德反应形成时,蛋白质中存在一些氨基、半胱氨酸和酪氨酸以及多糖中的

表 1 具有代表性的蛋白质-多糖复合物的形成方法、表征及性质

复合物	形成方法	表征技术	功能性质
乳清蛋白-果胶 ^[12] ;酪蛋白-葡聚糖 ^[13] ; 乳清分离蛋白-菊粉 ^[14]	干热条件下的美拉德反应	电泳、傅里叶红外、氨基酸分析、荧光光谱、表面疏水性、圆二色谱、电子显微结构、扫描电镜	水溶性和乳化性得到改善。
牛血清蛋白-葡聚糖 ^[5] ;卵清蛋白-葡聚糖 ^[15] ;乳清蛋白分离物-金合欢树胶 ^[16]	超声处理条件下的美拉德反应	电泳、圆二色谱、透射电子显微镜、扫描电镜、X射线衍射、粒径分析、抗氧化能力测定法	有效地提高了生物利用度。
大豆蛋白-葡聚糖 ^[17] ;油菜籽分离蛋白-阿拉伯树胶 ^[9] ;豌豆分离蛋白-果胶 ^[18]	碱处理条件下的美拉德反应	傅里叶红外、圆二色谱、等温滴定微量热仪、荧光光谱、流变学测量、光学显微镜、褐变度、电泳	提高了抗氧化能力和稳定性。
大豆分离蛋白-壳聚糖 ^[19] ;卵清蛋白-羧甲基纤维素钠 ^[20]	复凝聚	参数研究	提高了稳定性和生物利用度。

表 2 具有代表性的多糖-多酚复合物的形成方法、表征及性质

复合物	形成方法	表征技术	功能性质
果胶、壳聚糖-花色苷 ^[24] ;果胶-柚皮素 ^[24] ;麦芽糖糊精菊糖与绿茶多酚 ^[25]	碱处理	差示扫描量热法、X射线衍射、静态光散射、动态光散射、荧光光谱、高效液相色谱法、抗氧化能力测定	提高抗氧化活性、稳定性。
柚皮素、可溶性膳食纤维-儿茶素、没食子酸 ^[26] ;单宁酸和β-葡聚糖 ^[27]	自由基接枝	X射线衍射、扫描电子显微镜、荧光、动态光散、紫外-可见光吸收光谱、傅里叶红外	改善抗菌活性、提高热稳定性。
壳聚糖-没食子酸儿茶素 ^[28] ;壳聚糖-咖啡酸 ^[29]	碳二亚胺法	电泳、傅里叶红外、圆二色谱、扫描电子显微镜、表面疏水性、抗氧化能力、核磁共振、紫外可见光谱	有效抑制脂质氧化和细胞生长,清除自由基。
壳聚糖-没食子酸儿茶素 ^[30]	酶法	傅里叶红外、核磁共振	抗氧化活性,抗菌和抗癌活性。

表 3 具有代表性的蛋白质-多酚复合物的形成方法、表征及性质

Table 3 Formation method, characterization and properties of representative protein-polyphenol complexes

复合物	形成方法	表征技术	功能性质
β -乳球蛋白-表没食子酸儿茶素-绿原酸 ^[36] ; 乳清分离蛋白-绿原酸/迷迭香酸 ^[37] ; 乳铁蛋白-绿原酸/表没食子酸儿茶素 ^[38]	碱处理	电泳、质谱	提高抗氧化活性和功能特能。
牛血清蛋白-咖啡酸 ^[39] ; 乳清分离蛋白-迷迭香酸 ^[40]	酶促反应	圆二色谱、抗氧化能力测定、高效液相色谱、扫描电镜、傅里叶红外	改善了热稳定性和紫外光稳定性、提高抗菌性能。
乳清分离蛋白-表没食子酸儿茶素 ^[5] ; 乳清分离蛋白-原花青素 ^[39] ; 乳清分离蛋白-绿原酸 ^[40]	自由基接枝	光盘、傅里叶红外、电喷雾质谱法、圆二色谱、荧光光谱、电泳、差示扫描量热仪	改善抗氧化活性和乳化性, 增强热稳定性。

表 4 具有代表性的蛋白质-多糖-多酚复合物的形成方法、表征及性质

Table 4 Formation method, characterization and properties of representative protein-polysaccharide-polyphenol complexes

复合物	形成方法	表征技术	功能性质
β -乳球蛋白-多酚-果胶 ^[42] ; 牛血清蛋白-绿原酸-葡聚糖 ^[43]	酶催化反应	电泳, 荧光光谱、傅里叶红外	改善抗氧化活性, 提高叶黄素富集乳液的化学稳定性、生物可及性。
牛血清蛋白-绿原酸-葡聚糖 ^[44] ; 大豆分离蛋白-表没食子儿茶素 ^[45]	碱性处理和美拉德反应	电泳、基质辅助激光解吸电离质谱仪、差示扫描量热仪	提高了物理和化学稳定性、乳化性、抗氧化性。

羧基团可与多酚反应。但这种方法所形成的复合物容易影响蛋白质的活性, 所以, 要注意选择的反应条件。第二种方法是先形成蛋白质-多酚复合物, 其结合物所暴露的反应基团再与多糖形成三元复合物。第三种方法是先形成多糖-多酚复合物, 然后再与蛋白质反应形成三元复合物。后两种方法在产品纯化方面具有优势, 因为小分子(多酚)、未反应的单体和催化剂更容易去除。基于这些策略, 可以实现多种化学功能^[41]。表 4 给出了使用不同共轭方法的一些例子。

2 共价复合物结构特性的表征

2.1 电泳

电泳是应用最为广泛的共轭表征技术之一, 主要根据其分子量、分子构象或等电点的差异在外加电场中分离带电分子^[46]。十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(Twelve sodium sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)可用作蛋白质纯度的鉴定、证实蛋白质中的胺基与多糖中的羰基之间的共价键结合或蛋白质和多酚的结合。SDS-PAGE 同时具有电荷效应和分子筛选效应, 可以将分子大小相同而带有不同数量电荷的物质分开, 并且可以将带有相同数量电荷而分子大小不同的物质分开。该技术分辨率极高, 可用于区分纯蛋白和蛋白质-多糖或蛋白质-多酚复合物。另外, SDS-PAGE 还被应用于自由基和碱性方法研究卵转铁蛋白和儿茶素的结合中。毛细管电泳(Capillary electrophoresis, CE)是表征食品复合物的另一种强大的分析工具。CE 方法已被用于区分游离蛋白和蛋白质-多酚结合物。结合色谱法, CE 也可以用来表征富含多酚的食品和饮料中的复合物^[47]。

Ma 等^[48]利用 SDS-PAGE 分析大豆分离蛋白与果胶的复合结构, 结果显示, 复合物显示出较暗的大豆分离蛋白新带和较浅的特征带, 表明大豆分离蛋白与果胶发生了复合, 且显著增加了复合物表面疏水性

和乳化特性。Liu 等^[38]通过 SDS-PAGE 证实了碱性条件下乳铁蛋白-EGCG 或乳铁蛋白-绿原酸复合物的形成, 同时使用圆二色谱和内在荧光分析监测多酚结合后蛋白质二级和三级结构的变化。SDS-PAGE 以方便、快速、廉价的特点, 在分析蛋白质和多糖或蛋白质和多酚的结合中应用较为广泛。

2.2 质谱 (Mass spectrometry, MS)

质谱法即用电场和磁场将运动的离子按它们的质荷比分离后进行检测的方法。可用于确定分子的电荷比, 从而能够确定共轭物的化学计量和结构^[49]。在最近的研究中, 常使用基质辅助激光解吸电离质谱(Matrix assisted laser desorption ionization mass spectrometry, MALDI-MS)和电喷雾电离质谱(Electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS)对蛋白质结合物的结构进行表征。MALDI-MS 是一种软电离质谱技术, 可以提供关于生物聚合物平均分子质量和分子质量分布的定量信息。ESI-MS 能直接分析溶液样品^[50]。

Liu 等^[51]用 MS 对乳铁蛋白、乳铁蛋白-绿原酸共轭物、绿原酸-乳铁蛋白-葡聚糖复合物进行了表征, 根据结果所提供的分子量, 表明碱诱导多酚和蛋白质分子的共轭和美拉德诱导的蛋白质和多糖分子的共轭可以实现乳铁蛋白(Lactoferrin, LF)、绿原酸(Chlorogenic acid, CA)和葡聚糖(Glucan, Dex)的聚合。Yi 等^[52]制备 α -乳清蛋白-儿茶素复合物作为一种新型乳化剂, 通过自由基方法改善纳米乳剂中 β -胡萝卜素的保留, 根据 ESI-MS 结果, 观察到两者发生共价结合, 并且至少有一个儿茶素分子与 α -乳清蛋白结合。质谱主要识别和定位食品蛋白质上的糖基化复合物, 理解糖结合物的结构-功能关系。此外, 质谱还被用来检测多酚和蛋白质的结合情况^[53]。

2.3 傅立叶透射红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)

FTIR 用于基于氢键力反映蛋白质的结构变化,

提供关于多糖、蛋白质、多酚的结构和相互作用的信息。

Dai 等^[54]制备了玉米醇溶蛋白-鼠李糖脂复合纳米颗粒以递送姜黄素,通过 FTIR 和荧光光谱结果表明,静电引力、氢键和疏水作用是形成复合纳米粒子的主要驱动力。Wang 等^[55]对乳清分离蛋白-菊粉复合物进行表征,结果表明,结合物的 FT-IR 中的 N 键证实了乳清分离蛋白与菊粉之间共价键的形成。另外,Wen 等^[56]通过 FTIR 对大豆分离蛋白-香菇多糖复合物进行了表征,结果表明大豆分离蛋白的结构发生了变化,分析由于香菇多糖与其发生美拉德反应的结果。FTIR 因其信噪比高、重现性好、扫描速度快等特点,被广泛的应用于食品级复合物结构特性分析的研究中。

2.4 其他

许多其他技术也可以用于共轭表征。如尺寸排斥色谱(Size exclusion chromatography, SEC)可以根据样品的分子大小将其分离,获取生物聚合物的摩尔质量平均值和摩尔质量分布的信息;激光共聚焦显微镜^[57]可以直观地显示乳液的粒径,分散度和稳定性;紫外可见光谱^[58]可以用来计算每个蛋白质-多酚结合物的多酚结合量。此外,当蛋白质或多糖与多酚结合时,差示扫描量热仪^[55]可用于测定它们的热稳定性的变化。总之,根据其所需要研究的食品共价复合物的结构特性,选择适宜的表征方法。

3 共价复合物的功能性质

3.1 乳化性

共轭方法已被广泛用于改善食品生物聚合物的乳化性能。表面疏水性和亲水性平衡是决定乳化性质的重要因素,提高乳化性质可以通过增加生物聚合物吸附到油水界面的趋势来实现,也可以通过提高生物聚合物包覆液滴聚集的稳定性来实现。

Arima 等^[59]利用柑橘果胶和苹果果胶对大豆分离蛋白进行修饰,结果表明,通过超声处理和美拉德反应后形成蛋白质-碳水化合物结合物可以提高乳液稳定性。Wei 等^[60]使用蛋白质多酚结合物形成的 β -胡萝卜素乳液比单独由蛋白质形成的乳液更物理和化学稳定。Yan 等^[44]使用碱处理制备牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)-绿原酸(Chlorogenic acid, CA)复合物 24 h 后,使用干加热方法制备 BSA-CA-葡聚糖三元复合物。进一步制备负载叶黄素的纳米乳液。结果表明,由 BSA-CA-葡聚糖偶联物稳定的负载叶黄素的纳米乳剂在 4 或 15 d 的储存中始终保持在 220 nm 左右的粒径和 3~8 的 pH 范围内的相对稳定的粒径分布。Jung^[61]等制备了甜菜果胶(Sweet beet pectin, SBP)-壳聚糖复合物,研究表明,用 SBP-壳聚糖共轭复合物制备的乳液具有显着更小的点位直径和均匀的液滴尺寸,从而提高了乳液的稳定性。

蛋白质、多糖、多酚相互作用所形成的复合物由

于具有更强排斥性相互作用的较小液滴或液滴表面存在抗氧化多酚,有利于利用它们制备递送系统,从而降低了生物活性物质在胃肠道中的降解,提高了生物利用度。

3.2 溶解度

生物聚合物的溶解度与溶剂-溶剂、生物聚合物-生物聚合物和生物聚合物-溶剂之间相互作用的平衡有关,这取决于生物聚合物的结构、电荷和疏水性^[62]。通常,高电荷密度和低平均疏水性导致生物聚合物具有良好的溶解度。蛋白质和多酚的共价附着将改变蛋白质的特性,并改变它们的溶解度。非极性多酚的共价结合会增加蛋白质的表面疏水性,这不仅可能增加它们的表面活性,而且降低其水溶性。多酚与蛋白质的反应可促进蛋白质的交联,这可能也会导致其水溶性的改变^[63],所有此类相互作用会影响复合物的溶解度。

Qu 等^[64]通过接枝反应制备油菜分离蛋白和葡聚糖复合物,研究其功能性质,结果发现共轭物大大提高了蛋白质的 pH 稳定性,溶解度也得到了显著提高,这一现象可归因于右旋糖酐的加入,增加了共轭物结构公式中亲水性基团-OH 的数量。Khalifa 等^[65]制备了乳清蛋白和桑树多酚的复合物可提高其溶解性、聚集稳定性和质构特性,并降低其形成晚期糖基化终产物的趋势。良好的水溶性是许多功能性成分应用的关键条件,如用于强化水、运动饮料和营养饮料等产品中的成分。

3.3 抗氧化性

抗氧化性是多酚与蛋白质或多糖结合后评价其活性的最重要的指标之一。蛋白质与多糖共轭复合物,由于蛋白质暴露的巯基可以很好地清除自由基,从而改善抗氧化活性。许多多酚具有较强的抗氧化活性,即具有保护生物分子抗氧化、清除自由基和延缓活性氧生成的能力。Nasrollahzadeh 等^[66]研究了牛血清白蛋白-麦芽糖糊精不同加热方法(微波和水浴加热)对美拉德反应的影响,结果表明,微波下处理的蛋白质-多糖复合物显示出显著的功能性和抗氧化活性。Fan 等^[67]用牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)-葡聚糖(Glucan, Dex)结合物负载有姜黄素制成纳米颗粒,结果表明,BSA-Dex 纳米颗粒中的姜黄素具有更好的稳定性。另外,BSA-Dex 纳米颗粒可以改善姜黄素在 CaCO₂ 细胞中的细胞抗氧化活性。

多酚和多糖之间的反应也能产生抗氧化结合物。Lee 等^[68]研究了不同接枝率的壳聚糖-咖啡酸、壳聚糖-阿魏酸和壳聚糖-芥子酸偶联物的抗氧化和抗菌活性,结果表明,所有共轭物具有更强的抗氧化活性,证实了壳聚糖在共轭后的抗氧化能力有所提高。Ahmed 等^[69]通过在不同 pH 条件下使用交联剂化学将 β -乳球蛋白与咖啡酸共价复合,制备多功能酚类乳化剂,结果表明 β -乳球蛋白与咖啡酸复合物

可作为有效的抗氧化乳化剂和稳定剂,可用于食品和化妆品行业。

4 共价复合物作为传递系统的类型

由于食品功能成分蛋白质-多糖的共轭体系具有较高的乳化能力、溶解性和抗氧化能力,现已被应用于输送具有生物活性的食品成分,以提高它们的分散性、稳定性或活性。然而,这些传递系统不应对其加入的食品成分的特性产生不利影响,并且保证它们能够将活性化合物传递到所需的作用位点^[70]。目前有四种主要类型的胶体传递系统利用食品级共轭物,分别是:乳液、纳米粒子、纳米凝胶和微胶囊。

4.1 乳状液

水包油(O/W)乳液和纳米乳液是输送系统的主要平台,用于将疏水活性物质包埋在乳液油滴中,这两种体系由分散在水中的乳化剂包埋的油滴组成,但只有纳米乳液中较小的液滴才能提高其在水溶液中的稳定性和溶解度^[71]。O/W 乳剂已被广泛应用于水不溶生物活性化合物的传递中,然而,由于酸性 pH、温度、离子强度、消化酶以及其他表面活性剂的影响,这种稳定的乳液容易聚结、裂解和相互分离。此外,一些基于脂质的传递系统,特别是纳米乳液有时在热力学上也不稳定,为了提高这种乳液的性能,可将蛋白质、多糖、多酚进行结合,形成二元或三元复合物作为载体输送生物活性物质。

Gumus 等^[72]使用酪蛋白或酪蛋白-葡聚糖复合物作为乳化剂制备水包油乳液。结果发现,酪蛋白-葡聚糖共价复合物可以提高富含叶黄素的乳液的物理稳定性,并且可以提高对生物活性剂的生物可及性。Hu 等^[73]在可控湿加热条件下,用美拉德反应制备了大豆分离蛋白(Soy protein isolate, SPI)-杏鲍菇多糖(Pleurotus eryngii polysaccharide, PEP)复合物。将 β -胡萝卜素封装在 SPI-PEP 结合物稳定的乳液中,评估其胃肠道行为和抗氧化活性,结果表明, SPI-PEP 共轭物稳定乳液的消化和混合胶束的形成,从而提高了 β -胡萝卜素的生物利用度。这种改善有助于 β -胡萝卜素通过减少活性氧细胞的产生和增强抗氧化酶活性,缓解叔-丁基过氧化氢诱导的氧化应激。

因此,通过蛋白质、多糖、多酚制备的共价复合物为乳化剂的乳状液稳定性较好,使 O/W 乳液对环境应力(pH、离子强度、温度和酶)有更好的物理稳定性和抗氧化能力。水包油乳剂($d>100$ nm)和纳米乳剂($d<100$ nm)可以广泛用于封装食品中的疏水性生物活性化合物。

4.2 纳米粒子

基于纳米粒子的药物传递系统已被广泛用于改善口服中生物活性化合物的吸收,这是由于纳米粒子通过小肠上皮细胞进行渗透。食品级纳米粒子或微粒可以由蛋白质和多糖制成^[74],其具有逃避网状内皮系统和靶肿瘤组织摄取的能力,避免细胞内溶酶体等的破坏而导致的药物释放^[75]。

Jin 等^[76]通过二氧化钛光催化制备了 SPI-葡聚糖复合物纳米颗粒。简而言之,将 4 mL 氯化钙逐滴添加到 SPI-葡聚糖偶联物水溶液中以促进纳米颗粒的形成,结果表明,这些负载茶碱的纳米粒子显示出较高的包封和负载效率。用葡聚糖结合的纳米粒合成的设计和特征是蛋白质异构物(SPI),并在模拟胃肠介质中评估其包封容量和释放轮廓。Guo 等^[77]合成了一种新型聚合物半乳糖基邻羧甲基壳聚糖接枝硬脂酸(Grafting stearic acid onto galactosyl O-carboxymethyl chitosan, Gal-OCMC-g-SA)。研究发现, Gal-OCMC-g-SA 纳米粒子具有持续的 pH 依赖性释药方式。此外,溶血试验证明 Gal-OCMC-g-SA 在血液接触应用中具有有良好的安全性。这些结果表明 Gal-OCMC-g-SA 纳米颗粒在肿瘤治疗中具有很高的应用潜力。Meng 等^[78]制备了酪蛋白-葡聚糖复合物后,将两种复合物的水溶液 pH 调节至 4.6,形成酪蛋白-葡聚糖纳米颗粒。然后将姜黄素乙醇溶液添加到纳米颗粒溶液中,从而制备负载姜黄素的酪蛋白-葡聚糖纳米颗粒,结果表明,制备的纳米颗粒提高了姜黄素的稳定性和释放性,并且表现可以作为一种潜在的载体,将疏水性活性成分封装到肠道中。

因此,食品级纳米颗粒或微粒可以由蛋白质和/或多糖制成。这些胶体颗粒可用于封装、保护和输送活性食品成分,在功能性食品和药物中具有潜在应用,也可以使用复合物设计制备具有改善的物理化学稳定性及保护胃肠道的生物聚合物颗粒。

4.3 纳米凝胶

纳米凝胶的三维网络通常是通过天然或合成的蛋白质和多糖交联形成的。纳米凝胶能够包裹大量的水,而不溶于水^[79]。虽然热诱导凝胶方法已被经常用于从蛋白质中制备纳米凝胶,但所获得的纳米颗粒在相当高的盐浓度和某些接近 pI 的 pH 下容易聚集。因此,共轭方法所形成的复合物在较大的 pH 范围和离子强度下具有高分散性和稳定^[80]。要注意的是,许多食品级水凝胶颗粒在较高的温度下会发生解离。

Feng 等^[15]在热凝胶化工艺下制备了卵清蛋白-葡聚糖纳米凝胶,经过对其表征,结果表明,纳米凝胶具有极好的 pH 稳定性,储存稳定性和再分散性的球形结构,另外,纳米凝胶包封可以改善姜黄素粉的口服生物利用度。Liang 等^[81]等基于透明质酸-没食子儿茶素(Hyaluronic acid gallcatechin, HA-EGCG)、线性聚乙烯亚胺(Linear polyethyleneimine, PEI)和颗粒酶 B(Granzyme B, GzmB)开发了一种新型三元纳米凝胶,用于 GzmB 的向靶细胞内递送。研究表明,相比之下, GzmB 包裹的 HA-EGCG 纳米凝胶对 CD44 缺陷细胞几乎没有细胞毒性作用。这项研究强调了 HA-EGCG 作为有效的细胞内蛋白载体在肿瘤治疗中的潜在应用。

因此,水凝胶颗粒可由食品级成分(如蛋白质、

多糖和多酚)制备,水凝胶颗粒的组成和特性可以作为在储存期间保护封装的成分,然后随特定的环境因素(例如 pH、离子强度、温度或酶活性)而释放。

4.4 微胶囊技术

一些微胶囊化技术,如复合凝聚、喷雾干燥和挤压,通常用于多不饱和脂肪酸的包封,延缓氧化并提高稳定性。在这些方法中,复合凝聚由于较高的封装效率受到广泛关注^[82]。复合凝聚可以在温和的条件下进行,而不使用任何有毒溶剂,所获得的凝聚复合物比蛋白质和多糖单独具有更高的表面活性。因此,在食品乳剂中可以用复合凝聚剂作为有效的乳化和稳定剂。值得注意的是,这种技术是由非共价相互作用触发的,需要一些交联剂如戊二醛或甲醛(硬化剂)用于稳定壁材,并提高其热稳定性和机械稳定性^[83]。然而,这些交联剂存在毒性问题,食品工业迫切需要找到更安全的交联剂来取代它们,但是需要较长的处理时间,而现阶段不是生产的适当选择。因此,共轭方法稳定凝聚剂被广泛应用。

Yuan 等^[84]研究了大豆蛋白分离物(Soybean protein isolate, SPI)与壳聚糖(Chitosan, CS)的复合凝聚,以及使用 SPI-CS 凝聚微囊化藻油的方法。结果表明,通过微囊化工艺, SPI 和 CS 之间的复合凝聚层可以显著提高藻油的包封率及氧化稳定性,可以防止其在食品加工过程中施加的不稳定应力。Jia 等^[85]通过制备了乳清分离蛋白-低聚木糖复合物,并使用微胶囊技术对番茄红素进行了包埋,结果表明该复合物可用于包裹番茄红素或其他生物活性物质,改善其性能。Lee 等^[86]使用微胶囊技术制造含有从玛咖叶中提取的多酚-麦芽糊精/中性多糖,结果表明,从玛咖叶中提取的多酚成功微囊化在芽糊精/中性多糖涂层中,且提高了储存稳定性。由此可见,以蛋白质、多糖、多酚为壁材的微胶囊所包埋的生物活性物质具有较高的稳定性。

5 传递系统与人体胃肠道的相互作用

人类胃肠道口是由口腔食道、胃、小肠和大肠组成的高度复杂的器官。当人体摄入食物并通过胃肠道时,许多疏水营养物质由于其化学稳定性低、水溶性低和口服生物利用度低,对身体并没有起到促进作用。因此,了解胃肠道内的物理化学和生理条件对设计共轭的传递系统是至关重要的,要预测控制、保留和最终释放营养物,保证结构设计食品基质有能力通过提高生物可获得性和改善吸收来提高胃肠道中营养物质的生物利用度^[87]。

5.1 口腔

食物乳化消化从口腔开始,当与口腔中的唾液接触时,由于受到各种消化酶(舌脂酶、淀粉酶、蛋白酶)的影响,会发生一系列的物理化学和生理变化,如唾液稀释、与电解质的相互作用、pH、离子强度、温度等的变化^[88]。另外,粘蛋白与舌头之间的摩擦产生的复杂的力能够诱导胶体颗粒和油滴的聚结和絮凝,

因此,食物与唾液的相互作用机制对于理解食品乳剂的口腔加工具有重要意义。

Wang 等^[89]等设计并合成了一种两亲性羧甲基壳聚糖(Amphiphilic carboxymethyl chitosan, PMs)-槲皮素(Chitosan-quercetin, CQ)复合物,通过增加其水溶性来提高紫杉醇(Paclitaxel, PTX)的口服生物利用度,研究表明,负载紫杉醇的 CQ-PMs 显著增强了 PTX 的口服生物利用度,从而产生了对肿瘤异种移植模型具有更安全性的强抗肿瘤功效。Chang 等^[90]报道了单独用蛋白质与人工唾液稳定的乳液的孵育,表明乳液的平均粒径增加以及 Zeta 电位降低。液滴尺寸的增加主要归因于唾液粘蛋白或无机盐引起的絮凝,而 Zeta 电位的降低则归因于与唾液中盐离子的存在相关的静电筛选效应。但在乳液中加入多糖,其平均粒径和 Zeta 电位没有明显变化。这一效应可归因于在口腔阶段,多糖和脂滴都是带负电荷的。因此,推测多糖不会被静电吸附在液滴表面^[91]。而蛋白质、多糖、多酚的共轭结合所形成的复合物可以提高唾液引发的絮凝的稳定性,从而减少了生物递送系统中生物利用度的降低。

5.2 胃

在口腔中停留短时间后,通过食道进入胃中,食物在高酸性条件、相对离子强度较高的环境下,经历胃蠕动,与含有矿物离子、蛋白水解酶和脂解酶以及胃粘蛋白、和其他成分的胃液进行混合。在胃中,由于胃蛋白酶与界面蛋白的相互作用以及低 pH 和离子强度对液滴电荷的影响,乳液发生了一系列的物理化学和结构变化^[92]。

Lesmes 等^[93]制备了乳球蛋白-葡聚糖复合物,将其作为乳化剂研究对 O/W 乳状液的影响,结果表明,在模拟胃液条件下,复合物为乳化剂的乳液具有较高的稳定性。Davidov 等^[94]制备了由酪蛋白酸钠-葡聚糖美拉德复合物包被的纳米颗粒,并将白藜芦醇包裹在其中,在模拟胃液条件下,不含复合物的纳米颗粒悬浮液的粒径大大增加,而复合物纳米颗粒悬浮液的粒径增加较小,这表明美拉德复合物制备的纳米颗粒在胃液环境下稳定性较高。Yi 等^[95]通过美拉德反应制得包埋 β -胡萝卜素的 β -乳球蛋白-葡聚糖纳米颗粒,在 pH 为 2.0 且存在胃蛋白酶的条件下,2 h 内只有 5.4% 的 β -胡萝卜素被释放。由此可见,由美拉德制备的蛋白质-多糖共价复合物可以抵抗胃蛋白酶的水解,提高包埋的生物活性物质在人体胃肠道消化中的稳定性。这主要归因于复合物在油滴周围提供了的厚实而完整的界面层,通过强烈的空间排斥阻止了油滴的絮凝。

5.3 小肠

通常,食物乳液在胃和小肠中开始被消化吸收,但是并不是所有食物都可以被完全消化和吸收,用于稳定和制造乳液的一些不可消化的化合物可以到达结肠,随后进行消化^[96]。

Hu 等^[73]用湿法加热法制备大豆分离蛋白-杏鲍菇多糖(Soy protein isolate-*Pleurotus eryngii* polysaccharide conjugates, SPI-PEP)共轭物,将其作为载体制备 β -胡萝卜素-SPI-PEP共轭物乳液,测试 β -胡萝卜素结合乳剂的胃肠行为,结果表明,采用SPI-PEP共轭稳定乳剂结构,能够提高 β 胡萝卜素在模拟小肠中的生物利用度,这种改善有助于 β 胡萝卜素减轻对CaCO₂细胞的氧化应激反应。Zhong 等^[58]模拟小肠消化后,与未添加燕麦分离蛋白-平菇 β -葡聚糖共价复合物的乳液相比,添加复合物的乳状液平均粒径较小,这表明其包裹的 β -胡萝卜素大多被消化吸收,提高了 β -胡萝卜素的口服利用度。

6 结论与展望

本文综述了蛋白质、多糖、多酚复合物的共轭方法,以及它们的功能性质(乳化性、溶解性、抗氧化性)和递送系统体系的主要类型(乳液、纳米粒子、纳米凝胶、微胶囊),并说明了递送系统与人体胃肠道的相互作用。结论与展望如下:

食品级复合物可以由蛋白质、多糖和多酚利用特定的复合方式形成。主要方法有美拉德反应、自由基接枝、碱性处理和碳二酰亚胺介导的偶联反应。根据需求,设计成具有不同于天然原料的物理化学属性和功能特性的二元或三元复合物。

复合物在食品工业中可以作为一种递送载体,如乳液、纳米粒、纳米凝胶、微胶囊,提高物理和化学稳定性,用于开发新的功能性食品产品。

蛋白质、多糖、多酚相互作用形成的复合物作为乳化剂和包封剂在水包油乳状液和其他输送载体在胃肠道中运送多种生物活性物质,能够显著地提高生物利用度。因此,蛋白质、多糖、多酚复合物可作为亲脂性和其他生物活性化合物的载体,从而提高它们的稳定性和生物利用度,并可设计用于食品和医药的功能性产品。

目前,对蛋白质、多糖和多酚复合物的研究主要集中在体外研究,建议未来研究集中在体内(细胞、动物体)的递送,另外,还需要开发新的方法,以确定蛋白质、多酚和多糖的结合位点和结合类型,利用共轭物设计功能性能得到改善的新型运载系统。

参考文献

[1] 舒心,郭擎,高彦祥. 槲皮素及其传递体系的研究进展[J/OL]. 食品科学: 1-16 [2021-06-01]. [SHU X, GUO, GAO Y X. Complexation of maltodextrin-based inulin and green tea polyphenols via different ultrasonic pretreatment[J/OL]. Food Science: 1-16 [2021-06-01].]

[2] BORDENAVE N, HAMAKERBRUCE R, FERRUZZIMARIO G. Nature and consequences of non-covalent interactions between flavonoids and macronutrients in foods[J]. Food & Function, 2014, 5(1): 18-34.

[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] HE W Y, TIAN L, ZHANG S S, et al. A novel method to prepare protein-polysaccharide conjugates with high grafting and low browning: Application in encapsulating curcumin[J]. LWT, 2021, 145: 111349.

[5] FAN Y T, LIU Y X, GAO L Y, et al. Improved chemical stability and cellular antioxidant activity of resveratrol in zein nanoparticle with bovine serum albumin-caffeic acid conjugate[J]. Food Chemistry, 2018, 265: 283-291.

[6] MAJID N, MEHDI V. Maillard conjugate-based delivery systems for the encapsulation, protection, and controlled release of nutraceuticals and food bioactive ingredients: A review[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105389.

[7] CHAUDHURI J, BAINS Y, GUHA S, et al. The role of advanced glycation end products in aging and metabolic diseases: Bridging association and causality[J]. Cell Metabolism, 2018, 28(3): 337-352.

[8] GIANFRANCO S U, FRANCESCA I, FRANCESCO P, et al. Synthesis of antioxidant polymers by grafting of gallic acid and catechin on gelatin[J]. Biomacromolecules, 2009, 10(7): 1923-1930.

[9] 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, 169(40): 169-196.

[10] 陈晨,陈复生,刘伯业. 蛋白质-多糖复合物研究进展[J]. 食品工业, 2019, 40(2): 225-229. [CHEN C, CHEN F S, LIU B Y. Complexation of maltodextrin-based inulin and green tea polyphenols via different ultrasonic pretreatment[J]. Food Industry, 2019, 40(2): 225-229.]

[11] CAROLE E, GUYZUBER S, HERLIN C, et al. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(3): 469-489.

[12] ARIMA D S, ALEXIS R, PAUL V M. The influence of degree of methoxylation on the emulsifying and heat stabilizing activity of whey protein-pectin conjugates[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 96: 54-64.

[13] MENF J, KANG T T, WANG H F, et al. Physicochemical properties of casein-dextran nanoparticles prepared by controlled dry and wet heating[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107: 2604-2610.

[14] WANG W D, LI C, BIN Z, et al. Physicochemical properties and bioactivity of whey protein isolate-inulin conjugates obtained by Maillard reaction[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 150: 326-335.

[15] FENG J, WU S S, WANG H, et al. Improved bioavailability of curcumin in ovalbumin-dextran nanogels prepared by Maillard reaction[J]. Journal of Functional Foods, 2016, 27: 55-68.

[16] CHEN W J, MA X B, WANG W J, et al. Preparation of modified whey protein isolate with gum acacia by ultrasound Maillard reaction[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 298-307.

[17] ZHANG Z Y, WANG X B, YU J, et al. Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions stabilized by soy protein isolate-dextran

- conjugates[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 78: 241–249.
- [18] SAHARB T, HAMED M, TAN C P, et al. Physicochemical properties, rheological behavior and morphology of pectin-pea protein isolate mixtures and conjugates in aqueous system and oil in water emulsion[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 56: 405–416.
- [19] 肖军霞, 黄国清, 孙燕婷, 等. 一种以大豆分离蛋白和壳聚糖为壁材的大蒜油微胶囊及其制备方法和应用: 中国, ZL20121024999.8 [P]. 2013. [XAO J X, HUANG G Q, SUN Y T, et al. Method for the preparation of garlic oil microcapsules by using soybean protein isolate and chitosan as wall materials and its application: China, ZL201210249889.8 [P]. 2013.]
- [20] NIU F G, HU D M, GU F N, et al. Preparation of ultra-long stable ovalbumin/sodium carboxymethylcellulose nanoparticle and loading properties of curcumin[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 271: 118451.
- [21] FREITAS V D, CARVALHO E, MATEUS N. Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry[J]. *Food Chemistry*, 2003, 81(4): 503–509.
- [22] YANG J S, XIN Y J, HE W. Research progress on chemical modification of alginate: A review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84(1): 33–39.
- [23] ALYAWISH A, CHEVALT I, JASNIEWSKI J, et al. Enzymatic synthesis of chitosan derivatives and their potential applications[J]. *Journal of Molecular Catalysis B, Enzymatic*, 2015, 112: 25–39.
- [24] VEMANA G, NAYMUL K, XIE L H, et al. *In vitro* study of bioaccessibility, antioxidant, and α -glucosidase inhibitory effect of pelargonidin-3-O-glucoside after interacting with beta-lactoglobulin and chitosan/pectin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 154(5): 380–389.
- [25] JYOTI M, MUNISH A, PRADEEP K, et al. Improved antioxidant, antimicrobial and anticancer activity of naringenin on conjugation with pectin[J]. *3 Biotech*, 2019, 9(8): 312.
- [26] LIS Y, LEI D, ZHU Z Z, et al. Complexation of maltodextrin-based inulin and green tea polyphenols via different ultrasonic pretreatment[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 74(publish): 105568.
- [27] HU Q B, LUO Y C. Polyphenol-chitosan conjugates: Synthesis, characterization, and applications[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 151(5): 624–639.
- [28] LI R Y, PENG S F, ZHANG R J, et al. Formation and characterization of oil-in-water emulsions stabilized by polyphenol-polysaccharide complexes: Tannic acid and β -glucan[J]. *Food Research International*, 2019, 148: 333–342.
- [29] WU S, WANG T, HU Q B, et al. Partition and stability of folic acid and caffeic acid in hollow zein particles coated with chitosan[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 183: 2282–2292.
- [30] 罗舒茜. 乳清蛋白-多酚复合物及壳聚糖-多酚复合物的制备、表征及对乳液油脂体外消化的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2020. [LUO S H. Complexation of maltodextrin-based inulin and green tea polyphenols via different ultrasonic pretreatment[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020.]
- [31] ROHN S. Possibilities and limitations in the analysis of covalent interactions between phenolic compounds and proteins[J]. *Food Research International*, 2014, 65: 13–19.
- [32] OZDAL T, ESRA C, ALTAY F. A review on protein-phenolic interactions and associated changes[J]. *Food Research International*, 2013, 51(2): 954–970.
- [33] 杨慧, 曲也直, 高雅然, 等. 植物多酚-蛋白质复合物生物活性及应用研究进展[J/OL]. *食品科学*: 1–13 [2021-09-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210524.0900.020.html>.
- [34] YANG H, QU Y Z, GAO Y R, et al. Research advances in understanding the biological activities and applications of polyphenol-protein complexes[J/OL]. *Food Science*: 1–13 [2021-09-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20210524.0900.020.html>.
- [35] KROLL J, RAWEL H M, RONH S. Reactions of plant phenolics with food proteins and enzymes under special consideration of covalent bonds[J]. *Japanese Society for Food Science and Technology*, 2003, 9(3): 205–218.
- [36] BOURVELLEC C L E, RENAR D C. Interactions between polyphenols and macromolecules: Quantification methods and mechanisms[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2012, 52(3): 213–248.
- [37] WU X L, LU Y Q, XU H X, et al. Reducing the allergenic capacity of β -lactoglobulin by covalent conjugation with dietary polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2018, 256: 427–434.
- [38] XU H X, ZHANG T T, LU Y Q, et al. Effect of chlorogenic acid covalent conjugation on the allergenicity, digestibility and functional properties of whey protein[J]. *Food Chemistry*, 2019, 298: 125024.
- [39] LIU F G, WANG D, SUN C X, et al. Utilization of interfacial engineering to improve physicochemical stability of β -carotene emulsions: Multilayer coatings formed using protein and protein-polyphenol conjugates[J]. *Food Chemistry*, 2016, 205(5): 129–139.
- [40] CHEN Y S, HHANG F H, XIE B J, et al. Fabrication and characterization of whey protein isolates-lotus seedpod proanthocyanin conjugate: Its potential application in oxidizable emulsions[J]. *Food Chemistry*, 2021, 346: 128680.
- [41] MOSTAFA A. Chemical structural and functional properties of whey proteins covalently modified with phytochemical compounds[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2019, 13(4): 2970–2979.
- [42] BUDRRN G, RACHWALROSIK D. Interactions of hydroxycinnamic acids with proteins and their technological and nutritional implications[J]. *Food Reviews International*, 2013, 29(3): 217–230.
- [43] LIVERIRA A, PINTADO M. *In vitro* evaluation of the effects of protein-polyphenol-polysaccharide interactions on (+)-catechin and cyanidin-3-glucoside bioaccessibility[J]. *Food & Function*, 2015, 6(11): 3444–3453.
- [44] ZHAO Y, WANG X, LI D, et al. Effect of anionic polysaccharides on conformational changes and antioxidant properties of protein-polyphenol binary covalently-linked complexes[J]. *Process Biochemistry*, 2020, 89: 89–97.

- [44] YAN Y, ZHU Q M, DIAO C R, et al. Enhanced physico-chemical stability of lutein-enriched emulsions by polyphenol-protein-polysaccharide conjugates and fat-soluble antioxidant[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 101(C): 105447–105447.
- [45] OLIVERIRA F C D, CORMBRA J S D R, OLIVERIA D E B, et al. Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the Maillard reaction: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, 56(7): 1108–1125.
- [46] 陈丽霞, 赵志毅, 刘明霞, 等. 毛细管电泳分析中手性化合物的定性检测[J]. *色谱*, 2020, 38(9): 1038–1045. [CHEN L X, ZHAO Z Y, LIU M X, et al. Complexation of maltodextrin-based inulin and green tea polyphenols via different ultrasonic pretreatment[J]. *Chromatographic*, 2020, 38(9): 1038–1045.]
- [47] NURFAIDAH, METUSALACH M. Analysis of molecular weight albumin concentrate on various types of freshwater fish using SDS-page electrophoresis method[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2020, 564(1): 012057.
- [48] MA X B, HOU F R, ZHAO H H, et al. Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin by ultrasound treatment[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 108(publish): 106056.
- [49] ZHU Y, FANG Q. Analytical detection techniques for droplet microfluidics-A review[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2013, 787: 24–35.
- [50] RIZZARELLI P, CARROCCIO S. Modern mass spectrometry in the characterization and degradation of biodegradable polymers[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2014, 808: 18–43.
- [51] LIU F G, MA C, MCCLEMENTS D J, et al. Development of polyphenol-protein-polysaccharide ternary complexes as emulsifiers for nutraceutical emulsions: Impact on formation, stability, and bioaccessibility of β -carotene emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 61: 578–588.
- [52] YI J, FAN Y T, ZHANG Y Z, et al. Characterization of catechin- α -lactalbumin conjugates and the improvement in β -carotene retention in an oil-in-water nanoemulsion[J]. *Food Chemistry*, 2016, 205: 73–80.
- [53] KIM Y R, KANG H S. Multi-residue determination of twenty aminoglycoside antibiotics in various food matrices by dispersive solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Food Control*, 2021, 130: 108374.
- [54] 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(5): 617–628.
- [55] WANG Y Y, ZHANG A Q, WANG X B, et al. The radiation assisted-Maillard reaction comprehensively improves the freeze-thaw stability of soy protein-stabilized oil-in-water emulsions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 103(C): 105684–105684.
- [56] WEN C T, ZHANG J X, QIN W, et al. Structure and functional properties of soy protein isolate-lentinan conjugates obtained in Maillard reaction by slit divergent ultrasonic assisted wet heating and the stability of oil-in-water emulsions[J]. *Food Chemistry*, 2020, 331: 127374.
- [57] ZHA F C, YANG Z Y, RAO J J, et al. Gum arabic-mediated synthesis of glyco-pea protein hydrolysate via Maillard reaction improves solubility, flavor profile, and functionality of plant protein[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(36): 10195–10206.
- [58] ZHONG L, MA N, WU Y L, et al. Gastrointestinal fate and antioxidant of β -carotene emulsion prepared by oat protein isolate-*Pleurotus ostreatus* β -glucan conjugate[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 221: 10–20.
- [59] ARIMA D S, SERVEH S, WAHYU W, et al. Improved heat stability of whey protein isolate stabilized emulsions via dry heat treatment of WPI and low methoxyl pectin: Effect of pectin concentration, pH, and ionic strength[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 716–726.
- [60] WEI Z H, YANG W, FAN R, et al. Evaluation of structural and functional properties of protein-EGCG complexes and their ability of stabilizing a model β -carotene emulsion[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 45: 337–350.
- [61] JUNG J Y, WICKER L. Laccase mediated conjugation of sugar beet pectin and the effect on emulsion stability[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 28(1): 168–173.
- [62] SCHIEE C, SANCHEZ C, BANON S D, et al. Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1998, 38(8): 689–753.
- [63] BASU A, KUNDURU K R, ABTWE E, et al. Polysaccharide-based conjugates for biomedical applications[J]. *Bioconjugate Chemistry*, 2015, 26(8): 1396–412.
- [64] QU W J, ZHANG X X, HAN X, et al. Structure and functional characteristics of rapeseed protein isolate-dextran conjugates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 82: 329–337.
- [65] IBRAHIM K, PENG J J, JIA Y Y, et al. Anti-glycation and anti-hardening effects of microencapsulated mulberry polyphenols in high-protein-sugar ball models through binding with some glycation sites of whey proteins[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123: 10–19.
- [66] NASROLLAHZADEH F, VARIDI M, KOOCHKEI A, et al. Effect of microwave and conventional heating on structural, functional and antioxidant properties of bovine serum albumin-maltodextrin conjugates through Maillard reaction[J]. *Food Research International (Ottawa, Ont)*, 2017, 100(Pt 2): 289–297.
- [67] FAN Y T, YI J, ZHANG Y Z, et al. Fabrication of curcumin-loaded bovine serum albumin (BSA)-dextran nanoparticles and the cellular antioxidant activity[J]. *Food Chemistry*, 2018, 239: 1210–1218.
- [68] LEE D S, WOO J Y, AHN C B, et al. Chitosan-hydroxycinnamic acid conjugates: Preparation, antioxidant and antimicrobial activity[J]. *Food Chemistry*, 2014, 148: 97–104.
- [69] AHMED D A, ELMAKSOD A, ISMAIL H, et al. Adding functionality to milk-based protein: Preparation, and physico-chemical characterization of β -lactoglobulin-phenolic conjugates[J]. *Food Chemistry*, 2018, 241(5): 281–289.
- [70] LESMES U, MCCLEMENTS D J. Structure-function relationships to guide rational design and fabrication of particulate food delivery systems[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2009,

20(10): 448–457.

[71] WANG C N, LIU Z J, XU G R, et al. BSA-dextran emulsion for protection and oral delivery of curcumin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 61: 11–19.

[72] GUMUS C E, DAVIDOVPARDO G, MOCLEMENMENTS D J. Lutein-enriched emulsion-based delivery systems: Impact of Maillard conjugation on physicochemical stability and gastrointestinal fate[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 60: 38–49.

[73] HU Q H, WU Y L, ZHONG L, et al. *In vitro* digestion and cellular antioxidant activity of β -carotene-loaded emulsion stabilized by soy protein isolate-*Pleurotus eryngii* polysaccharide conjugates[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 112: 106340.

[74] DENG W, LI J, YAO P, et al. Green preparation process, characterization and antitumor effects of doxorubicin-BSA-dextran nanoparticles[J]. *Macromolecular Bioscience*, 2010, 10(10): 1224–1234.

[75] SONI K S, DESALE S S, BRONICH T K. Nanogels: An overview of properties, biomedical applications and obstacles to clinical translation[J]. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 2016, 240: 109–126.

[76] JIN B, ZHOU X S, CHEN C Y, et al. Preparation, characterization and *in vitro* evaluation of theophylline nanoparticles prepared with dextran-conjugated soy protein[J]. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2015, 14(8): 1323–1332.

[77] GUO H J, ZHANG D R, LI C Y, et al. Self-assembled nanoparticles based on galactosylated O-carboxymethyl chitosan-graft-stearic acid conjugates for delivery of doxorubicin[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, 458(1): 31–38.

[78] MENG J, KANG T T, WANG H F, et al. Physicochemical properties of casein-dextran nanoparticles prepared by controlled dry and wet heating[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 107(5): 2604–2610.

[79] LII J, YU S Y, YAO P, et al. Lysozyme-dextran core-shell nanogels prepared via a green process[J]. *Langmuir: the ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 2008, 24(7): 3486–3492.

[80] YAO M F, MOCLEMENMENTS D J, XIAO H. Improving oral bioavailability of nutraceuticals by engineered nanoparticle-based delivery systems[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2015, 2: 14–19.

[81] LIANG K, NG S J, LEE F, et al. Targeted intracellular protein delivery based on hyaluronic acid-green tea catechin nanogels[J]. *Acta Biomaterialia*, 2016, 33: 142–152.

[82] 杨伟,李波,徐响,等.蛋白质多酚多糖三元复合物的结构和功能特性研究进展[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(17): 329–334.

[YANG W, LI B, XU X, et al. Complexation of maltodextrin-based inulin and green tea polyphenols via different ultrasonic pretreatment[J]. *Food Industry Technology*, 2017, 38(17): 329–334.]

[83] TIMLENA Y P, WANG B, ADHIKARI R, et al. Advances in microencapsulation of polyunsaturated fatty acids (PUFAs)-rich plant oils using complex coacervation: A review[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 69: 369–381.

[84] YUAN Y, KONG Z Y, SUN Y E, et al. Complex coacerva-

tion of soy protein with chitosan: Constructing antioxidant microcapsule for algal oil delivery[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2017, 75: 171–179.

[85] JIA C S, CAO D D, SU J I, et al. Whey protein isolate conjugated with xylo-oligosaccharides via maillard reaction: Characterization, antioxidant capacity, and application for lycopene microencapsulation[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 118: 108837.

[86] YUN K Y L, YOONHYUK C. Microencapsulation of a maca leaf polyphenol extract in mixture of maltodextrin and neutral polysaccharides extracted from maca roots[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 150(5): 546–558.

[87] CHEN X, MOCLEMENMENTS D J, ZHU Y, et al. Gastrointestinal fate of fluid and gelled nutraceutical emulsions: Impact on proteolysis, lipolysis, and quercetin bioaccessibility[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(34): 9087–9096.

[88] MCCLEMENMENTS D J. Food emulsions: Principles, practices, and techniques, Third Edition[M]. CRC Press: 2015-11-05.

[89] WANG X, CHEN Y, DAHMANI F Z, et al. Amphiphilic carboxymethyl chitosan-quercetin conjugate with P-gp inhibitory properties for oral delivery of paclitaxel[J]. *Biomaterials*, 2014, 35(26): 7654–7665.

[90] CHANG Y G, MCCLEMENMENTS D J. Influence of emulsifier type on the *in vitro* digestion of fish oil-in-water emulsions in the presence of an anionic marine polysaccharide (fucoidan): Caseinate, whey protein, lecithin, or Tween 80[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 61: 92–101.

[91] SING H, SARKER A. Behaviour of protein-stabilised emulsions under various physiological conditions[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2021, 165(1): 47–57.

[92] FENG J L, QI J R, YIN S W, et al. Fabrication and characterization of stable soy β -conglycinin-dextran core-shell nanogels prepared via a self-assembly approach at the isoelectric point[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(26): 6075–6083.

[93] LESMES S U, MCCLEMENMENTS D J. Controlling lipid digestibility: Response of lipid droplets coated by β -lactoglobulin-dextran Maillard conjugates to simulated gastrointestinal conditions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 26(1): 221–230.

[94] DAVIDOVPARDO G, PEREZCIORDIA S, MARIN-ARROYO M R, et al. Improving resveratrol bioaccessibility using biopolymer nanoparticles and complexes: Impact of protein carbohydrate Maillard conjugation[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(15): 3915–3923.

[95] LAMTI Y J, YOKOYAMA W, et al. Controlled release of β -carotene in β -lactoglobulin-dextran-conjugated nanoparticles *in vitro* digestion and transport with CaCO₂ monolayers[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(35): 8900–8907.

[96] LI Y, ARRANZ E, CURI A, et al. Mucus interactions with liposomes encapsulating bioactives: Interfacial tensiometry and cellular uptake on CaCO₂ and cocultures of CaCO₂/HT29-MTX[J]. *Food Research International*, 2017, 92: 128–137.