

大米蛋白酶解物—大豆苷元复合纳米粒子的构建

Fabrication of rice protein hydrolysate-daidzein composite nanoparticles

陈秀文¹ 焦 叶¹ 崔 波² 郑湘明³

CHEN Xiu-wen¹ JIAO Ye¹ CUI Bo² ZHENG Xiang-ming³

邹飞雪² 程云辉¹

ZOU Fei-xue² CHENG Yun-hui¹

(1. 长沙理工大学化学与食品工程学院, 湖南 长沙 410114; 2. 齐鲁工业大学食品科学与工程学院, 山东 济南 250353; 3. 湖南工业大学城市与环境学院, 湖南 株洲 412007)

(1. School of Chemistry and Food Engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha, Hunan 410114, China; 2. School of Food Science and Engineering, Qilu University of Technology, Jinan, Shandong 250353, China; 3. College of Urban and Environmental Sciences, Hunan University of Technology, Zhuzhou, Hunan 412007, China)

摘要:以大米蛋白为原料,经胰蛋白酶酶解后制备纳米载体,以大豆苷元为输送对象,构建了大米蛋白酶解物—大豆苷元的纳米输送体系,通过试验考察了大米蛋白水解度、大米蛋白酶解物质量浓度与大豆苷元质量浓度对制备的复合纳米粒子性质的影响。在大米蛋白水解度为 12%,酶解物质量浓度为 7.5 mg/mL,大豆苷元质量浓度为 0.75 mg/mL 的条件下制备的大米蛋白酶解物—大豆苷元复合纳米粒子,其平均粒径 449.71 nm、多分散系数 0.23, Zeta-电位 -22.30 mV,稳定性较好;大豆苷元的包封率为 60.07%,荷载量为 6.01 mg/g,证明大米蛋白酶解物具有构建纳米载体荷载大豆苷元的可行性。

关键词:大米蛋白;酶解;大豆苷元;纳米载体

Abstract: Rice hydrolysate (RPH) was obtained by using trypsin, and then the nanoparticles of RPH-daidzein composite were fabricated for daidzein delivering. The effects of hydrolysis degree (DH), RPH concentration and daidzein concentration on the characteristic of the composite nanoparticles were investigated by single factor experiments. When the RPH-daidzein composite nanoparticles was prepared under the conditions of a DH of 12%, an enzymatic hydrolysate concentration of 7.5 mg/mL and a daidzein concentration of 0.75 mg/mL, the particle size, polydispersity index and Zeta-potential of the nanoparticles were

449.71 nm, 0.23 and -22.30 mV, respectively. The encapsulation efficiency of daidzein was 60.07%, and the loading amount was 6.01 mg/g. The composite nanoparticles were verified to have high stability, and the feasibility of using RPH to fabricate nanocarriers loading daidzein was confirmed. Using RPH to prepare a nano-delivery system not only enriches the protein types of protein-based nano-transport carriers, but also provides a theoretical reference for the high-value utilization of rice protein resources.

Keywords: rice protein; enzymatic hydrolysis; daidzein; nanocarrier

大豆苷元又名 4',7-二羟基异黄酮,是一种黄酮类化合物,结构式如图 1 所示,主要存在于豆科植物中,具有抗炎、抗癌、抗肥胖、抗糖尿病、调节肠道菌群和预防骨质疏松症等多种生理活性^[1]。但大豆苷元的水溶性和脂溶性较差,生物利用度低,限制了其在人体内发挥作用^[2]。构建纳米输送体系是改善大豆苷元溶解性和生物利用度的重要手段。制备纳米复合物输送载体的基质主要包括碳水化合物基、蛋白基、脂基和复合基 4 大类,蛋白质因兼具营养价值、安全无毒、生物相容和多样化输送模式而更具优势^[3-4]。Lü 等^[5]和任晓鸣等^[6]分别将乳清分离蛋白和玉米醇溶蛋白用于构建蛋白基纳米载体,探索其作为大豆苷元和大豆异黄酮输送体系的可能性,研究结果表明,蛋白基纳米载体具有构建大豆苷元等黄酮类化合物输送体系的潜力,能够有效改善其溶解性和生物利用度。

基金项目:国家自然科学基金(编号:31771901);长株潭国家自主创新示范区专项(编号:2018XK2007)

作者简介:陈秀文,女,长沙理工大学在读硕士研究生。

通信作者:程云辉(1964—),女,长沙理工大学教授,博士。

E-mail:chengyh6488@sina.com

收稿日期:2020-12-26

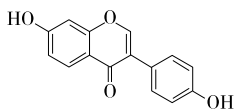


图1 大豆苷元结构式

Figure 1 Structure of daidzein

大米蛋白氨基酸比例均衡,接近 WHO/FAO 所推荐的营养配比模式,且具有低致敏性,是优质蛋白来源^[7-8]。但大米蛋白中含有约 80% 的谷蛋白,其分子量较高且由被二硫键键合的亚基组成,导致大米蛋白的溶解性差,限制了大米蛋白在食品领域的广泛应用^[9]。酶解技术因条件温和、水解易控、可定位酶切等优势,成为改善大米蛋白溶解性的重要方法^[10]。因此,有望通过有限酶解使大米蛋白具备良好的两亲性与自组装特性,进而通过溶剂极性改变诱导纳米复合物形成。

研究拟利用反溶剂法^[11]构建荷载大豆苷元的大米蛋白酶解物复合纳米粒子,考察大米蛋白水解度、大米蛋白酶解物质量浓度与大豆苷元质量浓度对复合纳米粒子性质的影响,以期获得适用于大豆苷元的蛋白基纳米复合物输送体系,丰富蛋白基纳米复合物输送载体的蛋白种类,为大米蛋白资源高值化利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

大米蛋白粉:87.6%(湿基),实验室采用碱提酸沉法自制;

胰蛋白酶:226 U/mg,丹麦诺维信公司;

大豆苷元:纯度大于 99%,南京春秋生物工程有限公司;

其他化学试剂:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

pH 计:Five Easy Plus TM 型,梅特勒—托利多仪器有限公司;

磁力搅拌器:85-1 型,常州国宇仪器制造有限公司;

离心机:TDL-36C 型,上海安亭科学仪器厂;

数显恒温水浴锅:HH 型,江苏省金坛市金城国胜实验仪器厂;

紫外可见分光光度计:UV1800 型,日本岛津公司;

旋转蒸发器:YRE2000B 型,巩义市给予华仪器有限公司;

激光粒度仪:Zetasizer nano 型,英国 Malvern 公司。

1.2 方法

1.2.1 大米蛋白酶解物的制备 根据 Xu 等^[10]的方法制备大米蛋白酶解物,并略作修改。大米蛋白粉分散于去离子水中(1 g/15 mL),室温搅拌水化 3 h,调节 pH 至 8 并在 50 °C 水浴中保持 15 min 后,加入胰蛋白酶,酶底比($m_{\text{酶}}:m_{\text{底物}}$)为 1:100,酶解过程中保持 pH 8 稳定。酶

解结束后,95 °C 水浴 15 min 使酶钝化,迅速冷却至室温,调节 pH 值至中性,3 500 r/min 离心 10 min 取上清液冻干后备用。水解度的测定采用 pH-stat 法^[10],制备水解度(Degree of hydrolysis, DH)分别为 6%,9%,12% 的 3 种大米蛋白酶解物(Rice protein hydrolysates, RPH),分别标记为 RPH-DH6, RPH-DH9, RPH-DH12。

1.2.2 大米蛋白酶解物—大豆苷元复合纳米粒子的制备

将 RPH-DH6, RPH-DH9, RPH-DH12 分别溶于去离子水中,制备成质量浓度分别为 2.5, 5.0, 7.5, 10.0 mg/mL 的大米蛋白酶解物溶液。取 20 mL 大米蛋白酶解物溶液,以 1 mL/min 的速度加入 2 mL 0.75 mg/mL 的大豆苷元乙醇溶液,室温下搅拌 1 h,再在 55 °C 下旋蒸 10 min 除去乙醇并定容,制得复合纳米粒子分散液,考察大米蛋白酶解物质量浓度对复合纳米粒子性质的影响。将 5.0 mg/mL 的 RPH-DH6, RPH-DH9, RPH-DH12 溶液分别与 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 mg/mL 的大豆苷元乙醇溶液,按上述方法制备成复合纳米粒子,考察大豆苷元质量浓度对复合纳米粒子性质的影响。

1.2.3 包封率和荷载量的测定 参照 Tian 等^[12]的方法进行测定,取复合纳米粒子分散液 1 mL,加入 4 mL 乙酸乙酯,涡旋 1 min,3 500 r/min 离心 10 min,取上层溶液移入 10 mL 容量瓶,重复提取两次,合并上层溶液并定容。将样品于 260 nm 下测定吸光度,大豆苷元的质量浓度按照标准曲线计算,包封率(Encapsulation efficiency, EE)和荷载量>Loading amount, LA)分别按式(1)和式(2)计算。

$$E_E = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

E_E ——包封率,%;

m_1 ——加入的大豆苷元含量,mg;

m_2 ——游离的大豆苷元总量,mg。

$$A_L = \frac{m_1 - m_2}{m_3}, \quad (2)$$

式中:

A_L ——荷载量,mg/g;

m_1 ——加入的大豆苷元含量,mg;

m_2 ——游离的大豆苷元总量,mg;

m_3 ——蛋白质总量,g。

1.2.4 粒径、多分散系数和 Zeta-电位的测定 将样品稀释适当倍数后,使用激光粒度仪测定平均粒径、多分散系数和 Zeta-电位,测定温度为 25 °C,平衡时间 5 min。

1.2.5 数据处理 所有试验均重复 3 次,数据表示为平均值±标准差,采用 Statistix 9 软件进行单因素方差分析,用 Tukey 法进行多重比较,使用 Origin Pro 2016 软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 大米蛋白酶解过程中水解度的变化

如图 2 所示,酶解 0~30 min,随着酶解反应的进行,蛋白质的水解度迅速增加;酶解 30 min 以后,酶解速率逐

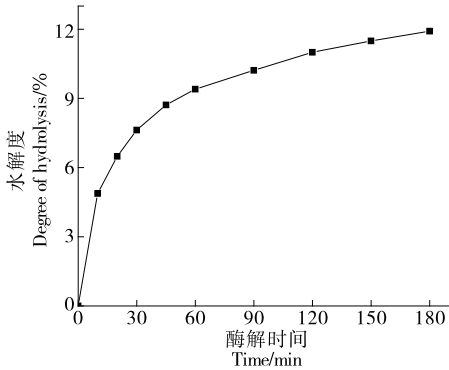


图 2 酶解时间对大米蛋白水解度的影响

Figure 2 Effect of the time on the degree of hydrolysis of rice protein

渐降低,水解度增速逐渐变慢;酶解 120 min 以后,水解度变化趋于平缓。试验获得的水解度曲线与崔沙沙等^[13]用碱性蛋白酶和彭澜兰等^[14]用胰蛋白酶处理大米蛋白得到的水解度曲线变化趋势相一致。

2.2 大米蛋白酶解物质量浓度对复合纳米粒子性质的影响

大米蛋白酶解物质量浓度对复合纳米粒子平均粒径、多分散系数和 Zeta-电位的影响如表 1 所示。同一水解度下,随着大米蛋白酶解物质量浓度的升高,复合纳米粒子的平均粒径总体上呈先减小后增加的趋势,与 Chen 等^[15]报道的荷载槲皮素的米糠蛋白基纳米粒子的平均粒径变化相似。多分散系数接近 0.05 时表明体系是单分散体系,多分散系数 >0.7 时为多分散体系^[16]。试验中复合纳米粒子的多分散系数总体呈递增趋势,但均小于 0.37,说明体系是均匀分散的。复合纳米粒子的 Zeta-电位没有显著变化,绝对值在 18.38~23.69 mV。

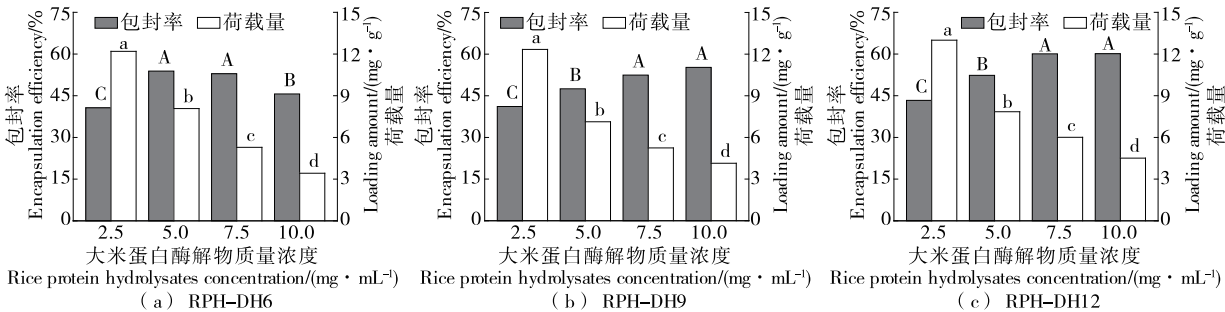
大米蛋白酶解物质量浓度对复合纳米粒子的封装率和荷载量的影响如图 3 所示。随着大米蛋白酶解物质量

表 1 大米蛋白酶解物质量浓度对平均粒径、多分散系数和 Zeta-电位的影响[†]

Table 1 Effects of the concentration of rice protein hydrolysates on particle size, polydispersity index and Zeta-potential

水解度/ %	大米蛋白酶解物质量 浓度/(mg·mL ⁻¹)	平均粒径/ nm	多分散系数	Zeta-电位/ mV
6	2.5	445.06±7.61 ^b	0.23±0.02 ^b	-21.99±2.15 ^a
	5.0	425.13±16.87 ^b	0.24±0.02 ^b	-22.94±2.57 ^a
	7.5	442.67±25.91 ^b	0.23±0.03 ^b	-21.92±2.41 ^a
	10.0	494.46±16.82 ^a	0.35±0.00 ^a	-23.69±2.47 ^a
9	2.5	406.83±1.18 ^{ab}	0.18±0.01 ^c	-20.97±1.00 ^a
	5.0	380.00±8.88 ^b	0.27±0.02 ^b	-22.92±1.46 ^a
	7.5	385.48±7.34 ^b	0.34±0.02 ^a	-23.43±2.92 ^a
	10.0	423.37±23.36 ^a	0.35±0.03 ^a	-18.50±2.62 ^a
12	2.5	417.54±28.40 ^a	0.29±0.00 ^b	-21.18±0.77 ^a
	5.0	423.13±0.71 ^a	0.19±0.02 ^d	-22.78±3.26 ^a
	7.5	449.71±5.80 ^a	0.23±0.01 ^c	-22.30±0.84 ^a
	10.0	510.98±66.63 ^a	0.37±0.02 ^a	-18.38±0.36 ^a

[†] 同列上标字母不同表示存在显著性差异($P<0.05$)。



大写字母不同表示不同质量浓度下的封装率存在显著差异($P<0.05$);小写字母不同表示不同质量浓度下的荷载量存在显著差异($P<0.05$)

图 3 大米蛋白酶解物质量浓度对复合纳米粒子封装率和荷载量的影响

Figure 3 Effects of the concentration of rice protein hydrolysates on encapsulation efficiency and loading amount

浓度的增加,由水解度为6%的RPH-DH6制备的纳米粒子的包封率呈先升高后降低的趋势,由RPH-DH9和RPH-DH12制备的纳米粒子的包封率均升高;所有复合纳米粒子的荷载量则均逐渐降低。疏水物质与蛋白酶解物间以疏水相互作用结合^[17]。酶解使大米蛋白的疏水区域暴露,可与疏水的大豆苷元结合。在大豆苷元质量浓度固定的条件下,较低的大米蛋白酶解物质量浓度不能提供足够疏水区域与之结合,致使一部分大豆苷元游离在大米蛋白酶解物载体表面,从而导致较低包封率。随着大米蛋白酶解物质量浓度的提高,更多的大豆苷元与酶解物结合,因此包封率提高。但是大米蛋白酶解物质量浓度的增加远大于大米蛋白酶解物包封的大豆苷元的量,因此荷载量并没有增加。当RPH-DH6质量浓度为10 mg/mL时,复合纳米粒子的包封率出现下降,可能是由于高浓度的RPH-DH6之间因疏水相互作用而发生聚

集,不利于大豆苷元的结合^[18]。

2.3 大豆苷元质量浓度对复合纳米粒子性质的影响

大豆苷元质量浓度对复合纳米粒子平均粒径、多分散系数和Zeta-电位的影响如表2所示。随着大豆苷元质量浓度由0.25 mg/mL增至1.00 mg/mL,复合纳米粒子的平均粒径逐渐增大,多分散系数均小于0.35,Zeta-电位绝对值在19.93~26.54 mV。平均粒径的增大可能是由于大米蛋白酶解物荷载大豆苷元后形成的疏松的结构和较大的疏水核^[19]。

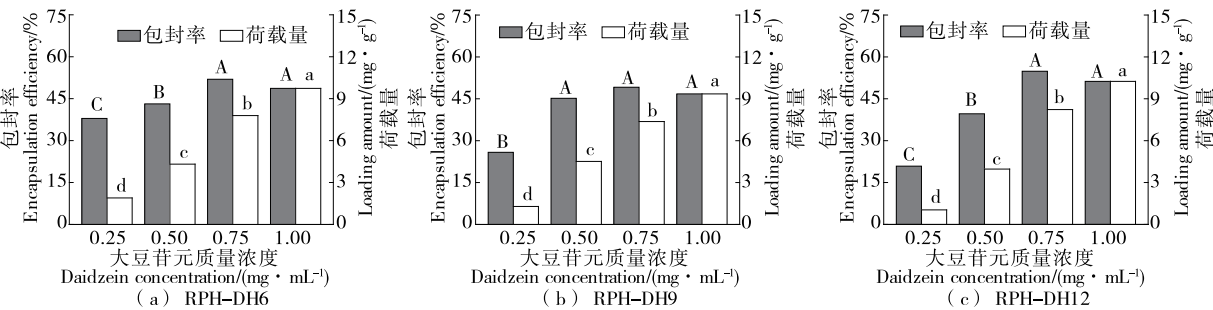
大豆苷元质量浓度对复合纳米粒子的包封率和荷载量的影响如图4所示。随着大豆苷元质量浓度的增加,荷载量逐渐升高,包封率则先呈升高趋势后趋于平缓。大豆苷元质量浓度为1.00 mg/mL时的包封率略低于质量浓度为0.75 mg/mL时的,但二者差异不显著。这是因为大米蛋白酶解物质量浓度一定时,逐步提高大豆苷元

表2 大豆苷元质量浓度对平均粒径、多分散系数和Zeta-电位的影响[†]

Table 2 Effects of the concentration of daidzein on particle size, polydispersity index and Zeta-potential

水解度/ %	大豆苷元质量浓度/ (mg · mL ⁻¹)	平均粒径/ nm	多分散系数	Zeta-电位/ mV
6	0.25	333.21 ± 21.69 ^c	0.31 ± 0.01 ^b	-22.81 ± 4.53 ^a
	0.50	447.51 ± 21.03 ^{ab}	0.34 ± 0.02 ^a	-24.57 ± 0.09 ^a
	0.75	417.06 ± 2.50 ^b	0.24 ± 0.00 ^c	-26.54 ± 1.58 ^a
	1.00	462.70 ± 15.76 ^a	0.23 ± 0.01 ^c	-20.54 ± 0.27 ^a
9	0.25	238.84 ± 15.59 ^c	0.32 ± 0.01 ^{ab}	-23.64 ± 1.13 ^a
	0.50	343.56 ± 5.14 ^b	0.19 ± 0.02 ^c	-24.25 ± 6.03 ^a
	0.75	367.81 ± 15.85 ^b	0.30 ± 0.01 ^b	-23.76 ± 0.69 ^a
	1.00	448.94 ± 11.12 ^a	0.35 ± 0.01 ^a	-21.05 ± 0.27 ^a
12	0.25	227.83 ± 33.19 ^c	0.13 ± 0.03 ^c	-25.26 ± 4.41 ^a
	0.50	364.41 ± 24.78 ^b	0.33 ± 0.01 ^a	-19.93 ± 0.64 ^a
	0.75	415.55 ± 3.01 ^{ab}	0.22 ± 0.02 ^b	-26.38 ± 3.55 ^a
	1.00	451.13 ± 4.92 ^a	0.34 ± 0.01 ^a	-24.70 ± 2.58 ^a

[†] 同列上标字母不同表示存在显著性差异(P<0.05)。



大写字母不同表示不同质量浓度下的包封率存在显著差异(P<0.05);小写字母不同表示不同质量浓度下的荷载量存在显著差异(P<0.05)

图4 大豆苷元质量浓度对复合纳米粒子包封率和荷载量的影响

Figure 4 Effects of the concentration of daidzein on encapsulation efficiency and loading amount

质量浓度,会使其逐渐占据更多的疏水空间,因此复合纳米粒子的包封率和荷载量增加。

当大豆苷元质量浓度达到一定程度时,游离的大豆苷元不再能嵌入大米蛋白酶解物基质中形成纳米颗粒,因此包封率不再增加。Tian 等^[20]的研究显示,随着大豆异黄酮浓度的增加,聚合山羊乳清蛋白-大豆异黄酮复合纳米粒子的包封率呈先升高后降低的趋势。

2.4 大米蛋白水解度对复合纳米粒子性质的影响

根据包封率和荷载量的试验结果,在大米蛋白酶解物

和大豆苷元质量浓度分别为 7.5 mg/mL 和 0.75 mg/mL 的条件下,比较不同大米蛋白水解度对大米蛋白酶解物—大豆苷元复合纳米粒子性质的影响,结果见表 3。由水解度 12% 的大米蛋白酶解物制备的复合纳米粒子的包封率和荷载量分别为 60.07% 和 6.01 mg/g,均显著高于水解度 6% 和 9% 条件下的包封率和荷载量($P<0.05$)。当大米蛋白水解度为 9% 时,复合纳米粒子的平均粒径最小(385.48 nm),但是多分散系数高于其他 2 种。3 种复合纳米粒子的 Zeta-电位无显著性差异。

表 3 大米蛋白水解度对复合纳米粒子性质的影响[†]

Table 3 Effects of the degree of hydrolysis of rice protein on the composite nanoparticles

水解度/%	包封率/%	荷载量/(mg·g ⁻¹)	平均粒径/nm	多分散系数	Zeta-电位/mV
6	52.91±0.91 ^b	5.29±0.09 ^b	442.67±25.91 ^a	0.23±0.03 ^b	-21.92±2.41 ^a
9	52.45±1.81 ^b	5.24±0.18 ^b	385.48±7.34 ^b	0.34±0.02 ^a	-23.43±2.92 ^a
12	60.07±1.92 ^a	6.01±0.19 ^a	449.71±5.80 ^a	0.23±0.01 ^b	-22.30±0.84 ^a

[†] 同列上标字母不同表示存在显著性差异($P<0.05$)。

蛋白质的水解度对酶解物的结构、疏水性、动态界面张力等方面具有重要影响,从而影响复合纳米粒子的形态和特性等^[21]。较低的水解度使大米蛋白疏水部位不能充分暴露,从而导致较低的包封率和荷载量,而过高的水解度会使大米蛋白分解成较小分子,也不利于形成复合纳米粒子。试验中,12% 水解度的大米蛋白酶解物表现出较好的载体性能,但仍需要继续优化以提高其性能,并通过进一步的研究来探究其影响机理。

3 结论

大米蛋白酶解物与大豆苷元通过自组装相互作用可形成复合纳米粒子,证实了以大米蛋白酶解物构建纳米载体输送黄酮类化合物的可行性。但将大米蛋白酶解物作为纳米输送载体的研究尚处于探索阶段,复合纳米粒子的稳定性、包封率和荷载量还有待提高。同时,大米蛋白酶解物的结构特性对复合纳米粒子的尺寸形貌、结构与生物活性的影响规律,以及大米蛋白酶解物与黄酮类化合物的相互作用关系也有待进一步探索。

参考文献

- [1] HSIAO Yu-hsuan, HO Chi-tang, PAN Min-hsiung. Bio-availability and health benefits of major isoflavone aglycones and their metabolites [J]. Journal of Functional Foods, 2020, 74: 104164.
- [2] 彭游, 钟婵娟. 植物雌激素大豆苷元的药物动力学研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(7): 3 796-3 797.
- [3] FANG Zhong-xiang, BHANDARI Bhesh. Encapsulation of polyphenols: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2010, 21: 510-523.
- [4] TANG Chuan-he. Nanocomplexation of proteins with curcumin: From interaction to nanoencapsulation (A review) [J].

Food Hydrocolloids, 2020, 109: 106106.

- [5] LV Liang, FU Cai-li, ZHANG Fang, et al. Thermally-induced whey protein isolate-daidzein co-assemblies: Protein-based nanocomplexes as an inhibitor of precipitation/crystallization for hydrophobic drug[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 273-281.
- [6] 任晓鸣, 王丽娟, 王金梅, 等. 超临界 CO₂ 反溶剂法制备大豆异黄酮—玉米醇溶蛋白复合纳米颗粒 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(24): 273-276.
- [7] HAN Sung-wook, CHEE Kyu-man, CHO Seong-jun. Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein [J]. Food Chemistry, 2015, 172: 766-769.
- [8] AMAGLIANI L, O'REGAN J, KELLY A L, et al. Composition and protein profile analysis of rice protein ingredients [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2017, 59: 18-26.
- [9] GHANGHAS N, MUKILAN M T, SHARMA S, et al. Classification, composition, extraction, functional modification and application of rice (Oryza sativa) Seed protein: A comprehensive review [J]. Food Reviews International, 2020, DOI: 10.1080/87559129.2020.1733596.
- [10] XU Xing-feng, LIU Wei, LIU Cheng-mei, et al. Effect of limited enzymatic hydrolysis on structure and emulsifying properties of rice glutelin [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61(12): 251-260.
- [11] ZHANG Xiao-nan, ZHANG Hong-wei, XIA Xing-hao, et al. Preparation and physicochemical characterization of soy isoflavone (SIF) nanoparticles by a liquid antisolvent precipitation method[J]. Advanced Powder Technology, 2019, 30(8): 1 522-1 530.

(下转第 110 页)

- ice beds[J]. Separation & Purification Technology, 2011, 79 (3): 321-328.
- [10] TOLEDO R. Fundamentals of food process engineering[M]. America: Van Nostrand Reinhold, 1980: 132-141.
- [11] BONILLA-ZAVALATA E, VERNON-CARTER E J, BERISTAIN C I. Thermophysical properties of freeze-concentrated pineapple juice [J]. Italian Journal of Food Science, 2006, 18: 367-376.
- [12] VIRGEN-ORTÍZ J J, IBARRA-JUNQUERA V, ESCALANTE-MINAKATA P, et al. Improving sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis detection of low-abundance protein samples by rapid freeze centrifugation[J]. Analytical Biochemistry, 2013, 443: 249-251.
- [13] VIRGEN-ORTÍZ J J, IBARRA-JUNQUERA V, OSUNA-CASTRO J A, et al. Method to concentrate protein solutions based on dialysis-freezing-centrifugation: Enzyme applications[J]. Analytical Biochemistry, 2012, 426(1): 4-12.
- [14] PETZOLD G, AGUILERA J M. Centrifugal freeze concentration[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2013, 20: 253-258.
- [15] RAO C S, HARTEL R W. Scraped surface heat exchangers[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006, 46 (3): 207-219.
- [16] PETZOLD G, MORENO J, LASTRA P, et al. Block freeze concentration assisted by centrifugation applied to blueberry and pineapple juices[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2015, 30: 192-197.
- [17] SAMSURI S, AMRAN N A, JUSOH M. Spiral finned crystallizer for progressive freeze concentration process[J]. Chemical Engineering Research and Design, 2015, 104: 280-286.
- [18] OSORIO M, MORENO F L, RAVENTÓS M, et al. Progressive stirred freeze-concentration of ethanol-water solutions[J]. Journal of Food Engineering, 2018, 224: 71-79.
- [19] MIYAWAKI O, LIU Ling, SHIRAI Y, et al. Tubular ice system for scale-up of progressive freeze-concentration[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 69(1): 107-113.
- [20] ORELLANA-PALMA P, PETZOLD G, ANDANA I, et al. Retention of ascorbic acid and solid concentration via centrifugal freeze concentration of orange juice[J]. Journal of Food Quality, 2017, 2017: 1-7.
- [21] 李湘勤, 钟瑞敏, 门戈阳, 等. 局部块冰式两级冷冻浓缩制备高浓度苹果醋[J]. 食品与机械, 2019, 35(9): 187-192.
- [22] 于真真, 林要辉, 方婷, 等. 西瓜汁冷冻浓缩工艺条件的优化[J]. 食品与机械, 2011, 27(1): 127-129.
- [23] QIN Frank G F, CHEN Xiao-dong, RAMACHANDRA S. Heat transfer and power consumption in a scraped-surface heat exchanger while freezing aqueous solutions[J]. Separation and Purification Technology, 2006, 48: 150-158.
- [24] QIN Frank G F, YANG Min-lin, YANG Xiao-xi, et al. Experimental and thermal analysis of washing the packed ice bed in wash columns[J]. AIChE Journal, 2009, 55(11): 2835-2847.
- [25] 作彦卿. 多孔介质渗流与污染物迁移数学模型[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 245-281.

(上接第 46 页)

- [12] TIAN Yan, XU Gang, CAO Wei-wei, et al. Interaction between pH-shifted β -conglycinin and flavonoids hesperetin/hesperidin: Characterization of nanocomplexes and binding mechanism[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 140: 110698.
- [13] 崔沙沙, 钟俊桢, 方冲, 等. 不同低水解度的大米蛋白溶解性与结构变化的关系[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7): 86-91.
- [14] 彭澜兰, 陈季旺, 蔡俊, 等. 大米蛋白的复合酶解及酶解物的体外抗氧化活性[J]. 武汉轻工大学学报, 2017, 36(3): 14-22.
- [15] CHEN Wen-ye, JU Xing-rong, ALUKO R E, et al. Rice bran protein-based nanoemulsion carrier for improving stability and bioavailability of quercetin [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 108: 106042.
- [16] SPONTON O E, PEREZ A A, CARRARA C R, et al. Linoleic acid binding properties of ovalbumin nanoparticles[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015, 128: 219-226.
- [17] WANG Yong-hui, WANG Jin-mei, YANG Xiao-quan, et al. Amphiphilic zein hydrolysate as a novel nano-delivery vehicle for curcumin [J]. Food & Function, 2015, 6(8): 2636-2645.
- [18] WANG Mei, FU Yu-ying, CHEN Guo-wei, et al. Fabrication and characterization of carboxymethyl chitosan and tea polyphenols coating on zein nanoparticles to encapsulate β -carotene by anti-solvent precipitation method [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 77: 577-587.
- [19] PENG Hai-long, GAN Zhao-di, XIONG Hua, et al. Self-Assembly of protein nanoparticles from rice bran waste and their use as delivery system for curcumin[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2017, 5(8): 6605-6614.
- [20] TIAN Mu, WANG Cui-na, CHENG Jian-jun, et al. Preparation and characterization of soy isoflavones nanoparticles using polymerized goat milk whey protein as wall material[J]. Foods, 2020, 9: 1198.
- [21] SHEN Peng-hui, ZHOU Fei-bai, ZHANG Yuan-hong, et al. Formation and characterization of soy protein nanoparticles by controlled partial enzymatic hydrolysis[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105: 105844.