赵旺, 余雄燊, 陈忠琴, 等. 壳聚糖-牡蛎肽纳米颗粒的构建、稳定性及体外模拟消化研究 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(15): 268−279. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070305

ZHAO Wang, YU Xiongshen, CHEN Zhongqin, et al. Construction, Stability, and *in Vitro* Simulated Digestion of Chitosan-Oyster Peptide Nanoparticles[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(15): 268−279. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070305

· 工艺技术 ·

壳聚糖-牡蛎肽纳米颗粒的构建、稳定性及体外模拟消化研究

赵　旺[1], 余雄燊[1], 陈忠琴[1,2], 陈　铭[1,2], 谭明堂[1,2], 高加龙[1,2], 郑惠娜[1,2], 曹文红[1,2,*]

（1.广东海洋大学食品科技学院, 国家贝类加工技术研发分中心（湛江）, 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东省海洋生物制品工程实验室, 广东省海洋食品工程技术研究中心, 广东省水产预制食品加工与品质控制工程技术研究中心, 广东湛江 524088;
2.海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 大连工业大学, 辽宁大连 116034）

摘　要: 为解决牡蛎肽（oyster peptide，OP）经胃肠道消化后生物利用度低的问题，该研究优化并探究了壳聚糖-牡蛎肽纳米颗粒（chitosan-oyster peptide nanoparticles，CONP）的制备工艺和胶体特性。利用扫描电子显微镜、傅里叶红外光谱仪、差示扫描量热仪及 X 射线衍射仪对 CONP 进行表征分析，并评价其稳定性、模拟消化特性和释放动力学。结果表明，CONP 的最佳制备工艺为壳聚糖（chitosan，CS）与三聚磷酸钠（sodium tripolyphosphate，TPP）质量比为 4.8:1、CS 浓度为 2.4 mg/mL、CS 与 OP 质量比为 1:2、CS 溶液 pH 为 5.5，该条件下包埋率达 85.44%，粒径为 259.67 nm。CONP 主要通过静电和氢键相互作用生成无定形纳米颗粒，呈不规则的椭圆形，几何尺寸约 100 nm，粒径分布均匀。包埋后的 OP 热分解峰值温度提高了 37 ℃。CONP 经 200 mmol/L 的 NaCl、90 ℃ 120 min 的水浴和 pH 为 2 的 PBS 处理，其粒径分别为 709、338、431 nm。经模拟胃肠连续消化 360 min，累积释放率为 70.80%，经模拟胃肠单独消化 24 h，在胃液中的释放率明显小于在肠液中的。CONP 的形成机制和结构特性使其离子强度稳定性、热稳定性和 pH 响应性显著提升，在模拟胃液中表现出极高的稳定性并遵循 Fick 扩散，在模拟肠液中表现出溶胀行为并遵循 Super Case Ⅱ释放，OP 快速释放。该研究为 OP 在功能食品开发中的应用提供了理论依据。

关键词: 壳聚糖, 牡蛎肽, 纳米颗粒, 稳定性, 释放动力学

中图分类号: TS201.2　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)15−0268−12

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025070305　　本文网刊:

Construction, Stability, and *in Vitro* Simulated Digestion of Chitosan-Oyster Peptide Nanoparticles

ZHAO Wang[1], YU Xiongshen[1], CHEN Zhongqin[1,2], CHEN Ming[1,2], TAN Mingtang[1,2], GAO Jialong[1,2], ZHENG Huina[1,2], CAO Wenhong[1,2,*]

（1.College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, National Research and Development Branch Center for Shellfish Processing (Zhanjiang), Guangdong Provincial Key Laboratory of Aquatic Products Processing and Safety, Guangdong Province Engineering Laboratory for Marine Biological Products, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Seafood, Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center of Prefabricated Seafood Processing and Quality Control, Zhanjiang 524088, China;
2.Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China）

收稿日期: 2025−07−25

基金项目: 贝类产业技术体系（CARS-49）。

作者简介: 赵旺（2000−）, 男, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 18723839417@qq.com。

*** 通信作者:** 曹文红（1977−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 海洋生物资源利用, E-mail: cchunlin@163.com。

Abstract: To address the low bioavailability of oyster peptide (OP) after gastrointestinal digestion, this study optimized and investigated the preparation process and colloidal properties of chitosan-oyster peptide nanoparticles (CONP). The CONP were characterized using scanning electron microscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry, and X-ray diffraction, with evaluations of their stability, simulated digestion characteristics, and release kinetics. Results indicated that the optimal preparation conditions were: Chitosan (CS) to sodium tripolyphosphate (TPP) mass ratio of 4.8:1, CS concentration of 2.4 mg/mL, CS to OP mass ratio of 1:2, and CS solution pH of 5.5. Under these conditions, the encapsulation efficiency reached 85.44%, with a particle size of 259.67 nm. The CONP formed amorphous nanoparticles primarily through electrostatic and hydrogen bonding interactions, exhibiting irregular elliptical shapes with geometric dimensions around 100 nm and uniform particle size distribution. The peak thermal decomposition temperature of encapsulated OP increased by 37 °C. After treatment with 200 mmol/L NaCl, a 90 °C water bath for 120 min, and pH2 PBS, the particle sizes of CONP were 709, 338, and 431 nm, respectively. After 360 min of continuous simulated gastrointestinal digestion, the cumulative release rate reached 70.80%. After 24 h of separate simulated gastric and intestinal digestion, the release rate in gastric fluid was significantly lower than in intestinal fluid. The formation mechanism and structural characteristics of CONP significantly enhanced its ionic strength stability, thermal stability, and pH responsiveness. It exhibited high stability in simulated gastric fluid following Fickian diffusion, while showing swelling behavior and following Super Case Ⅱ release in simulated intestinal fluid, with rapid release of OP. This study provides a theoretical foundation for the application of OP in functional food development.

Key words: chitosan; oyster peptide; nanoparticles; stability; release kinetics

牡蛎是一种健康且优质的蛋白质来源，牡蛎蛋白经酶解或发酵后得到的多肽具有抗氧化、抗菌、抗高血压、促进生殖、抗炎、抗癌等多种生物活性[1]，在健康食品和营养保健等产业方面极具发展潜力。但如果直接食用牡蛎肽（oyster peptide, OP），其生物活性可能会因胃肠道的转运与吸收过程而减弱或丧失[2]。这主要是因为在消化过程中，胃肠道剧烈变化的 pH[3]，以及蛋白质和肽类会被消化液中的蛋白酶酶解，肠道细胞刷状缘酶还会进一步酶解[4]。因此，食物来源的生物活性肽在被人体吸收过程中稳定性差、生物利用度低。对生物活性物质进行包埋可以有效提高其稳定性及生物利用度，并且不会对其物化性质和感官特性产生负面影响[5]。

目前，已报道的牡蛎肽递送体系主要包括乳液[6]、水凝胶[2]、微胶囊[7] 和无机纳米颗粒[8] 等。基于肽中氨基酸多结合位点的独特优势，多肽可以在适当的条件下与多糖形成纳米结构[9]。二者相互作用方式包括共价交联和非共价交联，非共价交联的静电相互作用是多糖-蛋白递送体系形成的主要推动力[10]。壳聚糖（chitosan, CS）是一种天然的阳离子多聚糖，具有生物降解性、生物相容性、抑菌、增强免疫等多种生理功能[7]，被广泛研究用于制药和生物领域，作为药物、蛋白质、疫苗、DNA、基因的递送和靶向载体[11]。CS 基纳米颗粒的制备方法主要包括离子凝胶法、聚电解质络合法、反向胶束法、纳米沉淀法等[12]。其中，聚电解质络合法、反向胶束法、纳米沉淀法通常采用有机溶剂且过程相对复杂，而离子凝胶法的制备过程简易且迅速、成本低、反应条件温和、生物相容性高，具有广泛的应用前景[13]。使用三聚磷酸钠（sodium tripolyphosphate, TPP）作为交联剂的离子凝胶法是近年来探索最多的壳聚糖纳米颗粒（chitosan nanoparticles, CNP）的设计方法之一[14]。带正电荷的 CS 氨基（NH_3^+）与带负电荷的 TPP 磷酸基团（PO_4^{3-}）之间通过静电相互作用形成纳米颗粒，促进活性物质的递送[15]。DU 等[16] 通过 CS-TPP 纳米颗粒包埋蛋清肽，结果表明当 CS 分子量为 100 kDa、CS 浓度为 0.5 mg/mL、pH 为 3、CS 与 TPP 质量比为 3∶1 时，所制得纳米颗粒粒径约 210 nm，多肽与体系通过氢键和静电相互作用形成纳米颗粒。郑昌亮等[17] 通过 CS 与 TPP 成功制备了壳聚糖-鳙鱼肽纳米颗粒，包埋率达 79.6%，粒径为 212 nm，被包封后的鳙鱼肽经胃肠消化后保留率高于 75%。由此可见，通过构建多肽-多糖递送体系促进生物活性肽本身的有效递送具有一定的研究可行性。

本研究以 CS 为壁材，采用离子凝胶法制备纳米颗粒包埋 OP。优化并探究壳聚糖-牡蛎肽纳米颗粒（chitosan-oyster peptide nanoparticles, CONP）的制备工艺和胶体特性，并对纳米颗粒进行表征、对其稳定性和体外模拟消化特性进行研究。以期为 OP 在开发高生物利用度的功能食品等领域的应用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

OP　肽含量：64.57%±0.39%，酸性氨基酸含量：27.21%，海南盛美诺生物技术有限公司；CS（分子量 50 kDa，脱乙酰度≥95%）、TPP（98%）、冰乙酸（99.5%）　上海麦克林生化科技有限公司；福林酚试剂（BR）、Folin-酚试剂甲-A 液、Folin-酚试剂甲-B 液　上海易恩化学技术有限公司；人工胃液、人工小肠液　上海源叶生物科技有限公司。

HJ-6AS 六联恒速恒温磁力加热搅拌器　常州金坛良友仪器有限公司；UV-19001 紫外可见分光光度计　岛津仪器（苏州）有限公司；TGL-20M 高速冷冻离心机　上海卢湘仪离心机仪器有限公司；

ZEN3700 纳米粒度电位仪　英国马尔文仪器有限公司; Nicolet iS10 傅里叶变换红外光谱仪　赛默飞世尔科技公司; DSC-300C 差式扫描量热仪　南京大展检测仪器有限公司; JSM-7610F 热场发射扫描电镜　日本电子株式会社; X`Pert PRO X 射线衍射仪　荷兰帕纳科公司。

1.2　实验方法

1.2.1　纳米颗粒的制备　参考 WU 等[18] 的方法并稍作修改。首先称取一定量 CS 加入 1%(v/v)乙酸溶液中, 900 r/min 磁力搅拌 30 min 得到不同浓度的 CS 溶液, 用 1 mol/L 的 NaOH 调节 CS 溶液的 pH, 经 0.45 μm 孔径的滤膜过滤后备用。配制不同浓度的 OP 水溶液, 取 5 mL OP 水溶液与 5 mL CS 溶液混匀, 得到不同质量比的 CS/OP 溶液。配制不同浓度的 TPP 水溶液, 在 500 r/min 磁力搅拌下将 5 mL 的 TPP 水溶液匀速缓慢滴入 CS/OP 溶液中, 反应结束后持续搅拌 30 min。将所获得的 CS-OP 纳米颗粒悬浮液离心(8000 r/min, 4 ℃, 15 min)并冻干, 得到 CONP。以不含 OP 的纳米颗粒为空白, 标记为 CNP。

1.2.2　包埋率的测定　参考 HASHAD 等[19] 的方法并稍作修改。将所制得的纳米颗粒在 8000 r/min、4 ℃ 下离心 15 min。吸取 1 mL 上清液通过福林酚法测定未包埋的 OP 的含量(以牛血清蛋白为标品测得标准曲线: $Y=0.5155X-0.0114$, $R^2=0.9934$), 以 CNP 的上清液为空白。将 1 mL 待测上清液与 1 mL Folin-酚试剂甲(Folin-酚试剂甲 A 液∶B 液=50∶1, 现配现用)迅速混匀并在室温下反应 10 min。随后加入 5 mL 福林酚试剂(乙液), 55 ℃ 水浴 5 min, 最后冰浴 10 min。通过紫外可见分光光度计于 650 nm 处测定吸光值。根据公式(1)计算包埋率 EE:

$$EE(\%)=\frac{M-m}{M}\times 100 \qquad 式（1）$$

式中: EE 代表包埋率, %; M 代表 OP 加入的总量, mg; m 代表上清液中 OP 的含量, mg。

1.2.3　单因素实验　根据前期预实验结果, 选择 CS 分子量(30、50、100、150、200 kDa)、CS 与 TPP 质量比(3∶1、4∶1、5∶1、6∶1、7∶1)、CS 浓度(1、2、3、4、5 mg/mL)、CS 与 OP 质量比(1∶3、1∶2、1∶1、2∶1、3∶1)、CS 溶液 pH(4、4.5、5、5.5、6)进行单因素实验。每一水平实验中固定其他四个因素的条件, 仅改变一个因素。其中相对固定 CS 分子量为 50 kDa、CS 与 TPP 质量比为 5∶1、CS 浓度为 3 mg/mL、CS 与 OP 质量比为 1∶2、CS 溶液 pH 为 5.5。

1.2.4　响应面试验设计　参考孙海涛[20] 的方法并稍作修改, 以包埋率和粒径双指标简化为单指标综合评分设计 Box-Behnken 试验。响应面试验因素水平见表 1。包埋率和粒径对于综合评分的权重各占 50%, 包埋率数值越大越好, 为正效应, 粒径数值越小越好, 为负效应, 根据公式(2)计算综合评分 Y:

$$Y=\left(\frac{E}{E_{max}}+\frac{S_{min}}{S}\right)\times 50 \qquad 式（2）$$

式中: Y 代表综合评分; E 代表测得的包埋率, %; E_{max} 代表响应面试验组中测得的最大包埋率, %; S 代表测得的粒径, nm; S_{min} 代表响应面试验组中测得的最小粒径, nm。

表 1　响应面试验因素水平

Table 1　Factors and levels of response surface methodology

因素	水平		
	−1	0	1
A: CS与TPP质量比	4∶1	5∶1	6∶1
B: CS浓度(mg/mL)	2	3	4
C: CS与OP质量比	1∶3	1∶2	1∶1
D: CS溶液pH	5	5.5	6

1.2.5　纳米颗粒的表征

1.2.5.1　粒径、多分散性指数(polydispersity index, PDI)和 Zeta 电位的测定　利用 ZEN3700 马尔文纳米粒度电位仪测定粒径、PDI 和 Zeta 电位。测定前, 将制备的 CONP 稀释 100 倍, 使得最终测定时的 attenuator 值在 7~10 之间。测定结果取三次平均值。

1.2.5.2　扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)分析　利用 SEM 对 CNP、CONP 的微观形貌进行分析。将样品固定在载物台的导电胶上, 并进行喷金处理, 在加速电压 15 kV 下观察其形貌。

1.2.5.3　傅里叶红外光谱(fourier-transform infrared spectroscopy, FTIR)测定　取适量 CS、OP 和冻干后的 CNP、CONP, 分别与溴化钾混合研磨并压片。FTIR 分辨率为 4 cm^{-1}, 扫描次数为 32 次, 测试波数范围为 4000~400 cm^{-1}。

1.2.5.4　差示扫描量热(differential scanning calorimetry, DSC)测定　取 2~5 mg CS、OP 和冻干后的 CNP、CONP 于铝坩埚中, 在氮气的保护下, 在 30~300 ℃ 范围内以 10 ℃/min 的加热速率记录 DSC 曲线, 以空坩埚为参考。

1.2.5.5　X 射线衍射(X-ray diffraction, XRD)测定　使用 XRD 对 CS、OP 和干燥的 CNP、CONP 粉末进行晶体结构分析。将待测的干燥样品研磨并过 100 目筛, 取少量样品放置于样品盖上并压紧。设置管压为 35 kV、管流为 30 mA, 扫描范围为 2θ=10°~80°。

1.2.6　稳定性研究

1.2.6.1　离子强度稳定性　参考韩倩云等[21] 的方法并稍作修改。将 1 mL 纳米分散体系(CNP、CONP)分别与 1 mL NaCl 溶液(0、50、100、150、200 mmol/L)混合均匀, 最终获得一系列含有各种 NaCl 浓度的纳米分散液。4 ℃ 过夜储存后, 按照

1.2.5.1 的方法测定粒径、电位、PDI。

1.2.6.2　pH 稳定性　参考徐冰欣等[22] 的方法并稍作修改。将 1 mL 纳米分散体系（CNP、CONP）分别与 1 mL pH 为 2、3、4、5、6、7、8 的磷酸盐缓冲液混合，4 ℃ 过夜储存后，按照 1.2.5.1 的方法测定粒径、电位、PDI。

1.2.6.3　热稳定性　参考劳颖仪等[23] 的方法并稍作修改。取 5 mL 纳米分散体系（CNP、CONP）于样品瓶，在 70、80、90 ℃ 的水浴孵育 0、30、60、90、120 min，按照 1.2.5.1 的方法测定粒径、电位、PDI。

1.2.7　体外模拟消化研究　参考 KUANG 等[24] 的方法并稍作修改。首先准确称取 5 mg 的 CONP 分别放入 5 mL 的模拟胃液（pH2）和模拟肠液（pH6.8）中，并于恒温振荡培养箱中放置 24 h（37 ℃，150 r/min），并于设定时间取样，同时补加等量的模拟液。样品取出后离心（10000 r/min，10 min），并经 0.45 μm 滤膜过滤后，用紫外分光光度法于 214 nm 测定 OP 浓度，计算累积释放率，以 CNP 为空白（以未包埋的 OP 测得标准曲线：Y=9.9882X+0.0205，R^2=0.9997）。此外，模拟胃肠道连续释放实验先将 5 mg 的 CONP 置于 5 mL 的模拟胃液中释放 2 h，然后补充等量的模拟肠液继续释放 4 h，并于设定时间取样，同时补加等量的模拟液。样品取出后于 214 nm 测定 OP 浓度，计算累积释放率，以 CNP 为空白。

为了阐明 CONP 在模拟胃肠消化过程中的释放机制，采用 4 种释放动力学模型分析了 CONP 在模拟胃液、模拟肠液中的释放数据，如表 2 所示。其中即使累积释放率大于 60%，Ritger-Peppas 模型也仅适用于对前 60% 的数据进行拟合[25]。

1.3　数据处理

每组实验重复 3 次，结果以“平均值±标准偏差”表示，通过 IBM SPSS Statistics 26 和 Origin 2021 软件进行统计分析及绘图，采用单因素 ANOVA 检验中的 Duncan 多重比较进行显著性分析，表示数据间的显著性差异，P<0.05 为显著。

2　结果与分析

2.1　单因素实验

2.1.1　CS 分子量对 CONP 的影响　如图 1A_1、A_2 所示，随着 CS 分子量的增大，CONP 的粒径和 PDI 逐渐增大，而包埋率和电位没有明显变化。粒径和 PDI 的变化归因于高分子量 CS 的分子链更长、黏度更大、交联位点更多，导致长分子链间相互缠绕及交联不均。分子量为 50 kDa 时制备的纳米颗粒的电位最高。当纳米颗粒具备较小的粒径和 PDI 以及较大的包埋率和电位时，更有利于生物活性物质的递送。因此，后续选用分子量为 50 kDa 的 CS 进行试验。

2.1.2　CS 与 TPP 质量比对 CONP 的影响　如图 1B_1、B_2 所示，随着 CS 与 TPP 质量比增大，CONP 的包埋率、粒径和 PDI 均逐渐减小。包埋率的减小归因于体系内氨基逐渐过量，而 TPP 磷酸基团不足，导致不足以完全交联形成纳米颗粒。邢承宇[26] 的研究也发现体系内氨基与磷酸基团含量变化显著影响包埋率，包埋率随体系 TPP 含量的减小而减小。粒径的减小是因为体系内未反应的氨基增多，颗粒间静电排斥增强，抑制交联形成纳米颗粒。电位的变化也证实了这一结论，过量的正电荷氨基未参与反应，从而提高体系的电荷量。当 CS 与 TPP 质量比为 5∶1 时，制得的 CONP 稳定性和均一性较好。

2.1.3　CS 浓度对 CONP 的影响　如图 1C_1、C_2 所示，CONP 的包埋率、粒径、PDI 和电位随 CS 浓度的增大而逐渐增大。包埋率的增大归因于 CS 与 OP 之间的静电相互作用逐渐增强，分子间缠绕加剧高效捕获 OP。此外，CS 浓度越高，体系氨基增多导致电位增加；溶液黏度增大、分子链增多导致分子扩散受阻、分子链间缠结加剧而增大粒径和 PDI。这一结论与 LUO 等[27] 的研究一致，表明包埋率、粒径、PDI、电位与 CS 浓度呈正相关。当 CS 溶液浓度为 3 mg/mL 时，所制得的 CONP 具备较高的包埋率和电位、较小的粒径和 PDI。

2.1.4　CS 与 OP 质量比对 CONP 的影响　如图 1D_1、D_2 所示，CONP 的包埋率随 OP 相对浓度的增加而增大。这主要归因于更多带负电荷的 OP 分子与 CS 分子相互作用。随着 CS 与 OP 质量比逐渐增大，电位和 PDI 呈现先上升后下降的趋势。电位和 PDI 的升高归因于氨基逐渐增多，导致电荷中和效应减弱及分子扩散受阻；后期电位和 PDI 的下降归因于氨基逐渐过量，与 TPP 竞争性结合中和了电荷，逐渐形成均一的 CS-TPP 空白纳米颗粒。AZEVEDO 等[28] 也观察到体系内 CS、TPP 和胰岛素之间竞争性结合导致电位和 PDI 的非线性变化。粒径的增大归因于体系内 CS 相对含量增加，分子链

表 2　CONP 体外释放模型

Table 2　Applied release models for CONP *in vitro*

模型	方程	释放机制
零级动力学模型	Q=kt	恒速扩散
一级动力学模型	Q=1−exp(kt)	浓度梯度驱动扩散
Higuchi	$Q=kt^{1/2}$	Fick扩散
Ritger-Peppas	$Q=kt^n$, Q<60%	n≤0.45, Fick扩散; 0.45<n<0.89, 非Fick扩散, 扩散与聚合物溶胀或侵蚀协同作用; n=0.89, Case Ⅱ运输, 接近零级释放; n>0.89, Super Case-Ⅱ运输, 复杂机制

注：Q是在时间t处OP的累积释放率，k是释放常数，n是释放指数。

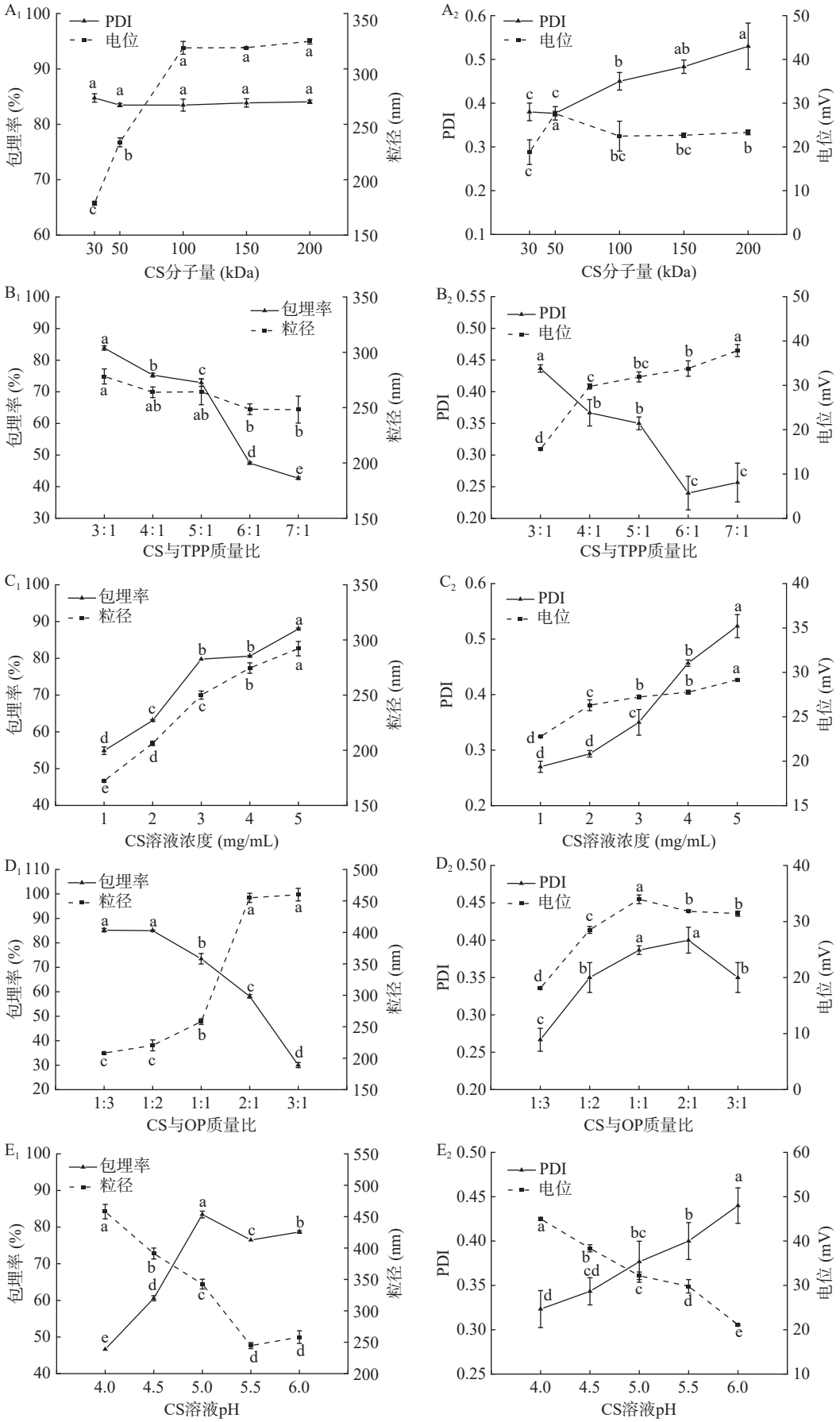


图 1 不同制备因素对 CONP 包埋率、粒径、PDI、Zeta 电位的影响

Fig.1 Effects of various preparation factors on the entrapment efficiency, particle size, PDI, and Zeta potential of CONP

注: A_1 和 A_2: CS 分子量, B_1 和 B_2: CS 与 TPP 质量比, C_1 和 C_2: CS 溶液浓度, D_1 和 D_2: CS 与 OP 质量比, E_1 和 E_2: CS 溶液 pH; 同一组中不同的小写字母表示组内差异显著(P<0.05), 图 7 同。

间缠结加剧。当 CS 与 OP 质量比为 1∶2 时，制得的 CONP具备较高的包埋率，且稳定性和均一性较好。

2.1.5　CS 溶液 pH 对 CONP 的影响　如图 1E$_1$、E$_2$ 所示，在 pH4.0~5.0 范围内，包埋率随 pH 的增大而增大，粒径和电位随 pH 的增大而减小。包埋率的增大归因于 OP 的-COOH 去质子化为-COO$^-$，与 CS 之间的静电作用增强。冯坤[29] 的研究也发现胰岛素纳米颗粒的包埋率与 pH 之间在一定范围内呈正相关。粒径和电位的减小也归因于 OP 逐渐去质子化而带负电荷，体系静电相互作用增强。当 CS 溶液 pH 为 5.5 时，所制得的 CONP 具备较低的粒径和 PDI、较高的包埋率和电位，综合性能最佳。

2.2　响应面试验

2.2.1　响应面试验设计及结果　包埋率和粒径是纳米颗粒设计与应用的重要指标[30]。小粒径需致密结构，可能限制包埋率；高包埋率需增大内核空间，导致粒径增加。因此协同优化包埋率和粒径尤为重要。根据单因素实验结果，设计四因素三水平的 Box-Behnken 试验，以包埋率和粒径综合评分筛选最优条件。试验设计及结果见表 3。

表 3　响应面试验设计及结果

Table 3　Design and results for response surface experimental

试验号	A CS与TPP质量比	B CS浓度（mg/mL）	C CS与OP质量比	D CS溶液pH	粒径（nm）	包埋率（%）	Y 综合评分
1	4∶1	2	1∶2	5.5	278.37	87.60	98.48
2	6∶1	2	1∶2	5.5	288.43	75.51	89.95
3	4∶1	4	1∶2	5.5	327.03	87.20	90.94
4	6∶1	4	1∶2	5.5	427.23	82.83	78.68
5	5∶1	3	1∶3	5	602.03	88.72	72.71
6	5∶1	3	1∶1	5	366.23	70.93	77.30
7	5∶1	3	1∶3	6	315.80	80.86	88.86
8	5∶1	3	1∶1	6	554.33	71.83	65.14
9	4∶1	3	1∶2	5	375.23	87.56	85.77
10	6∶1	3	1∶2	5	450.97	80.54	75.70
11	4∶1	3	1∶2	6	278.30	83.38	96.11
12	6∶1	3	1∶2	6	350.70	70.69	78.82
13	5∶1	2	1∶3	5.5	290.97	82.93	93.72
14	5∶1	4	1∶3	5.5	340.97	83.11	86.93
15	5∶1	2	1∶1	5.5	343.37	76.09	82.70
16	5∶1	4	1∶1	5.5	374.27	70.59	76.31
17	4∶1	3	1∶3	5.5	409.80	87.33	82.57
18	6∶1	3	1∶3	5.5	312.60	83.25	90.65
19	4∶1	3	1∶1	5.5	300.97	81.38	91.28
20	6∶1	3	1∶1	5.5	567.97	67.95	62.36
21	5∶1	2	1∶2	5	340.97	85.59	88.33
22	5∶1	4	1∶2	5	514.80	83.50	73.61
23	5∶1	2	1∶2	6	367.03	82.23	83.59
24	5∶1	4	1∶2	6	289.53	79.03	91.75
25	5∶1	3	1∶2	5.5	285.60	87.56	97.21
26	5∶1	3	1∶2	5.5	273.40	85.47	98.17
27	5∶1	3	1∶2	5.5	286.73	86.06	96.18

2.2.2　模型拟合与方差分析　利用 Design-Expert 13 对表 3 中的试验数据进行方差分析，得到二次多项式回归方程为：Y=97.18−5.75A−3.21B−5.03C+2.57D−0.9344AB−9.25AC−1.80AD+0.0996BC+5.72BD−7.08CD−4.35A^2−2.65B^2−10.70C^2−9.81D^2。响应面回归方程方差分析见表 4。

表 4　响应面回归方程方差分析

Table 4　Variance analysis of response surface regression equation

来源	方差平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	2477.64	14	176.97	36.64	<0.0001	**
A: CS与TPP质量比	396.69	1	396.69	82.14	<0.0001	**
B: CS浓度	123.72	1	123.72	25.62	0.0003	**
C: CS与OP质量比	303.41	1	303.41	62.83	<0.0001	**
D: CS溶液pH	79.25	1	79.25	16.41	0.0016	**
AB	3.49	1	3.49	0.7231	0.4118	
AC	342.14	1	342.14	70.84	<0.0001	**
AD	13.03	1	13.03	2.70	0.1265	
BC	0.0397	1	0.0397	0.0082	0.9293	
BD	130.83	1	130.83	27.09	0.0002	**
CD	200.40	1	200.40	41.50	<0.0001	**
A^2	101.12	1	101.12	20.94	0.0006	**
B^2	37.37	1	37.37	7.74	0.0166	*
C^2	611.10	1	611.10	126.54	<0.0001	**
D^2	513.05	1	513.05	106.23	<0.0001	**
残差	57.95	12	4.83			
失拟项	55.98	10	5.60	5.66	0.1594	不显著
纯误差	1.98	2	0.9891			
总和	2535.60	26				
R^2	0.9771					
Adj. R^2	0.9505					
CV(%)	2.59					

注：*为差异显著（*P*<0.05），**为差异极显著（*P*<0.01）。

由表 4 可知，该模型的 *P*<0.0001，失拟项的 *P*=0.1594>0.05，R^2=0.9771，CV=2.59%<15%，表明回归模型极显著，拟合程度较高，实际值与预测值相关性较高，试验具有良好的重复性和可行性。因此，该模型可以较好地反映各因素与综合评分的关系并预测最佳制备工艺。

通过分析表 4，各因素对综合评分影响的大小为：A>C>B>D。图 2 中，a、b、c 图的响应曲面十分陡峭，并且映射的等高线图呈椭圆形。结合表 4 可以得出，CS 与 TPP 质量比和 CS 与 OP 质量比、CS 浓度和 CS 溶液 pH、CS 与 OP 质量比和 CS 溶液 pH 对综合评分的交互作用极为显著（*P*<0.01）。二次项 A^2、C^2、D^2 与综合评分存在极显著的相关性（*P*<0.01）。综上所述，各实验因素与综合评分之间不仅仅是简单的线性关系，而是二次性和交互性关系[31]，四个因素对综合评分均产生显著的影响。

2.2.3　验证实验　通过响应面试验预测纳米颗粒的最佳制备工艺为：CS 与 TPP 质量比为 4.880∶1，CS 浓度为 2.419 mg/mL，CS 与 OP 质量比为 1∶2.070，CS 溶液 pH 为 5.465，Y 值为 98.983。考虑到实际

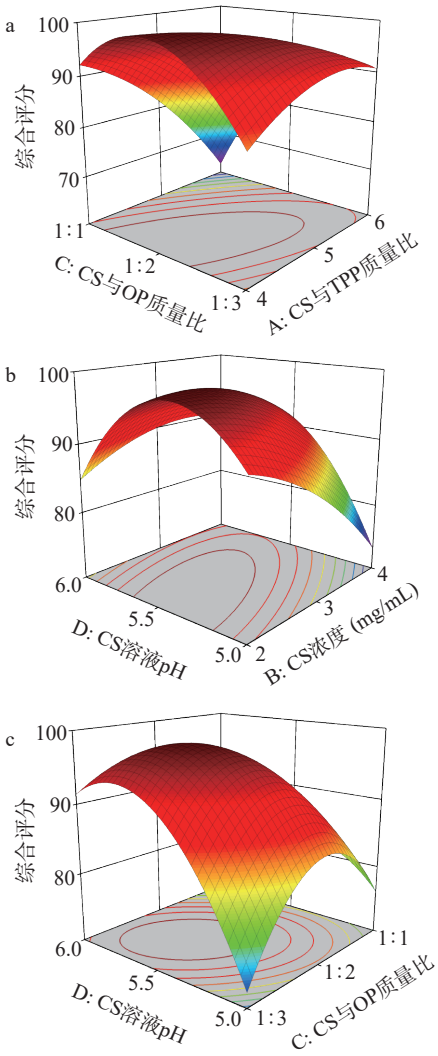


图 2　各因素交互作用对综合评分的影响

Fig.2　Effects of factor interactions on comprehensive score

注：a: CS 与 TPP 质量比和 CS 与 OP 质量比，b: CS 浓度和 CS 溶液 pH，c: CS 与 OP 质量比和 CS 溶液 pH。

操作，将最佳制备工艺调整为：CS 与 TPP 质量比为 4.8∶1，CS 浓度为 2.4 mg/mL，CS 与 OP 质量比为 1∶2，CS 溶液 pH 为 5.5。在此条件下进行验证实验，制备的纳米颗粒的包埋率为 85.44%±1.24%，粒径为 259.67±14.11 nm。根据公式（2）计算得综合评分 Y 为 100.896±3.20，与预测 Y 值之间仅存在 1.93% 误差，表明响应面优化的结果可信度较高。

2.3　纳米颗粒的表征

2.3.1　形貌特征分析　CNP 及 CONP 的形貌如图 3A 所示。CONP 呈现更加密集稳定的网络结构。这归因于带负电荷的 OP 分子参与反应，分子间相互作用增强，进而形成更加密集稳定的结构。单个 CNP 表面平整光滑，呈类似椭圆形，负载 OP 后呈不规则椭圆形。单个 CONP 的几何尺寸约 100 nm。CNP 及 CONP 的粒径分布如图 3B 所示，两者粒径分布均匀，CONP 的平均粒径显著小于 CNP 的平均粒径。SEM 观察到的颗粒尺寸小于粒度仪测得的尺寸，这是因为 SEM 的测量是在颗粒冻干后进行，而

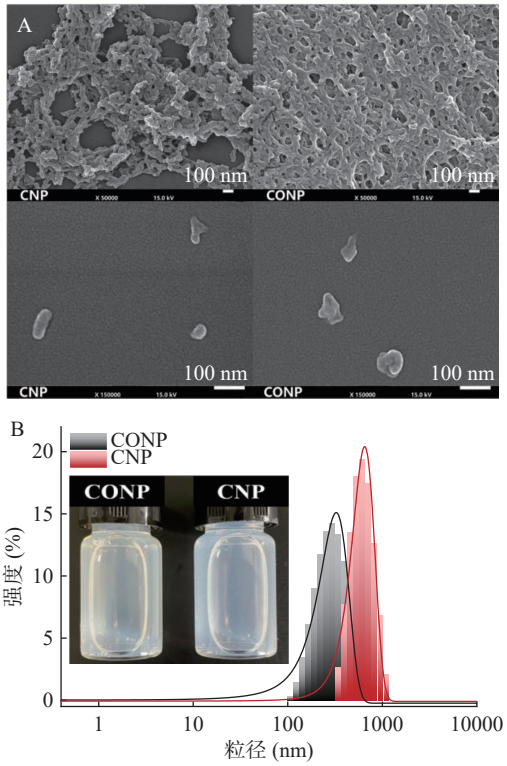


图 3　CNP 和 CONP 的 SEM 图和粒径分布图

Fig.3　SEM images and particle size distribution plots of CNP and CONP

注：A: CNP 和 CONP 的 SEM 图（放大倍数 50k 和 150k），B: CNP 和 CONP 的粒径分布图。

粒度仪的测量是在水介质中进行，会导致颗粒膨胀。这一结论与 dos SANTOS 等[11] 的研究结果一致。

2.3.2　FTIR 分析　CS、OP、CNP 及 CONP 的红外图谱如图 4 所示。CS 在 3600~3200 cm^{-1}（O-H 和 N-H 伸缩）、2875 cm^{-1}（C-H 不对称伸缩）、1633 和 1550 cm^{-1}（酰胺Ⅰ带和酰胺Ⅱ带）、1153 和 1076 cm^{-1}（C-O-C 和 C-O 伸缩）显示出特征峰[13]。OP 在 3600~3200 cm^{-1}（O-H 和 N-H 伸缩）、2930 cm^{-1}（C-H 伸缩振动）、1662 和 1568 cm^{-1}（酰胺Ⅰ带和酰胺Ⅱ带）、1400 cm^{-1}（COO^-对称伸缩）、1037 cm^{-1}（C-O 拉伸和弯曲）显示特征峰[2]。CS 在 3469 cm^{-1} 处的峰转移到了 CNP 中 3437 cm^{-1} 处，分子内、分子间氢键作用使得伸缩振动频率向低波数移动，峰形变

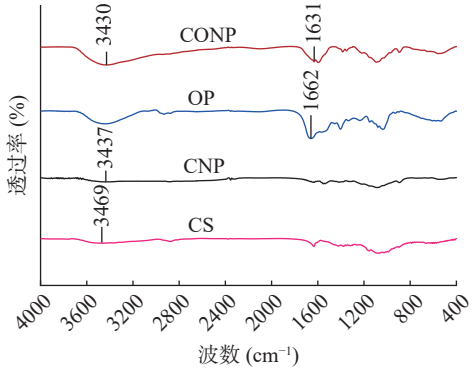


图 4　CS、OP、CNP、CONP 的 FTIR 图

Fig.4　FTIR spectra of CS, OP, CNP and CONP

宽，表明 CS 与 TPP 之间的静电和氢键相互作用加强，交联生成 CNP[31]。CNP 中 3437 cm^{-1} 处的 O-H 拉伸在 CONP 中移动到更低波数 3430 cm^{-1} 处，可归因于带负电荷的 OP 分子与带正电荷的 CS 之间的静电相互作用[32]。相比于 OP 在 1662 cm^{-1} 处的吸收峰，CONP 向更低的波数 1631 cm^{-1} 处移动，表明 OP 的-C=O 与 CS 的-NH_3^+发生氢键相互作用[33]。结果表明，CONP 的形成是静电和氢键相互作用的结果。CS 质子化的-NH_3^+与 OP 去质子化的-COO^-导致两者产生静电相互作用，CS 的-NH_3^+作为氢键的供体，OP 的-C=O 作为氢键的受体，导致两者产生氢键相互作用。随后 TPP 与 CS 又产生静电和氢键相互作用，这种分子间的相互作用使得体系交联形成紧密且稳定的网络结构。DU 等[16] 和 HOSSEINI 等[34] 的研究也发现纳米颗粒的合成过程中 CS 与肽类产生静电和氢键相互作用。

2.3.3　DSC 分析　CS、OP、CNP 及 CONP 的 DSC 曲线如图 5 所示。在 30~120 ℃ 范围内，CS、CNP、CONP 都显示出不同程度的吸热峰，这归因于水分蒸发[35]。CS、OP、CNP、CONP 量热曲线的主要热事件都是 200 ℃ 以后的放热峰，这归因于样品主链降解[36]。OP 和 CONP 的放热峰值温度分别为 228 和 265 ℃，OP 包埋后主链降解温度升高了 37 ℃。CS 放热峰值温度在 300 ℃ 以后，CNP 和 CONP 曲线中 CS 特征放热峰的消失证实了 CS 与 TPP、CS 与 OP 之间的静电和氢键相互作用[37]。DSC 曲线中均无尖锐的吸热峰代表样品的非晶态结构[38]，说明 OP 以无定形态存在。

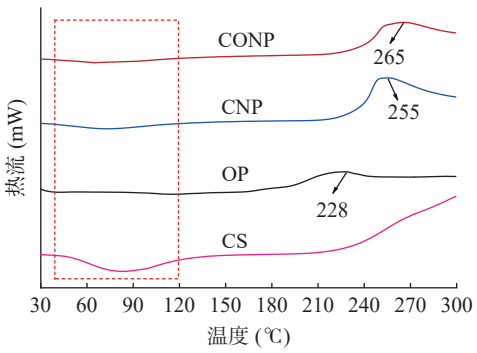


图 5　CS、OP、CNP、CONP 的 DSC 图

Fig.5　DSC curves of CS, OP, CNP and CONP

2.3.4　XRD 分析　CS、OP、CNP 及 CONP 的 XRD 分析如图 6 所示。在 XRD 图谱中，特征衍射峰的消失代表各组分存在较强的相互作用[39]。CS 和 OP 在 20°附近呈宽弱峰，为典型的弱结晶状态。相比于 CS 和 OP，CNP 和 CONP 的峰更宽、强度更低。这种变化归因于 CS 与 OP 产生相互作用，不仅阻碍 OP 分子长程有序排列，还消除彼此内部分子间静电作用和氢键网络，从而生成无定形的纳米颗粒[40]。无定形态递送体系可克服传统晶型材料固有的溶解

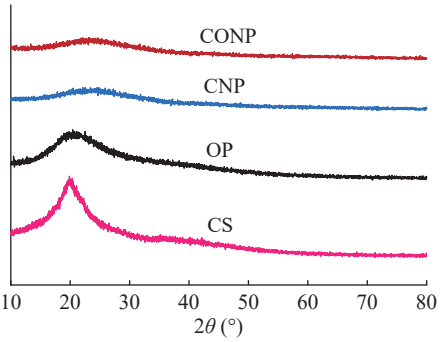


图 6　CS、OP、CNP、CONP 的 XRD 图

Fig.6　XRD spectra of CS, OP, CNP and CONP

差、吸收利用低的局限性，可通过设计响应性载体提高吸收性和生物利用度，实现精准释放[41]。

2.4　稳定性分析

2.4.1　离子强度稳定性　如图 7A_1、A_2 所示，随着盐离子浓度的增加，CNP 和 CONP 的粒径和 PDI 均逐渐增大，电位没有发生显著变化。当 NaCl 浓度达 100 mmol/L 时，CNP 的粒径剧烈增大至 1262 nm。在较高盐离子浓度下（≥100 mmol/L），CNP 表现出较差的稳定性。这主要归因于离子对聚电解质间静电相互作用的屏蔽效应[42]。盐离子在溶液中形成离子氛，屏蔽了 CS 和 TPP 之间的静电引力，导致颗粒稳定性下降。在盐离子的影响下，CONP 比 CNP 具备更小的粒径和 PDI。当 NaCl 浓度达 200 mmol/L 时，CONP 的粒径为 709 nm。OP 的载入提供了静电和氢键相互作用，部分缓冲盐离子对静电交联的破坏作用，从而增强纳米颗粒在高离子强度下的稳定性。

2.4.2　pH 稳定性　如图 7B_1、B_2 所示，随着体系 pH 由 2 升至 6，CNP 和 CONP 的粒径和 PDI 均逐渐增大，而电位逐渐减小。当 pH2 时，CONP 表现出极高的稳定性，粒径为 431 nm。CS 氨基在较低 pH 条件下高度质子化带强正电，与 TPP、OP 产生静电和氢键相互作用，甚至部分抵消了 PBS 溶液中离子屏蔽效应的影响。当 pH6 时，CONP 的粒径达到峰值 8172 nm，PDI 达到 1。此时 CS 氨基去质子化，OP 与 TPP 静电相斥，导致体系完全解聚[43]。这还可以用来解释对于 pH 的变化，CONP 比 CNP 表现出更大的粒径和 PDI。综上所述，CONP 表现出极强的 pH 响应性，即在酸性条件下表现出较强的稳定性，在弱酸性和中性条件下表现出强溶胀行为。

2.4.3　热稳定性　巴氏杀菌和煮沸灭菌等热处理在生产过程中必不可少的[24]，如图 7C_1、C_2 所示，显示了 CNP 和 CONP 在不同温度和处理时间下的稳定性。随着热处理时间和温度的增加，CNP 和 CONP 的粒径和 PDI 均逐渐增大。这主要归因于热能破坏作用，高温削弱了静电交联和氢键作用等稳定纳米颗粒的作用力，同时增强了布朗运动及颗粒碰撞能量和频率，导致粒径和 PDI 增大。CNP 经过 70 ℃、120 min 处理后粒径和 PDI 分别为 1132 nm 和 0.45，

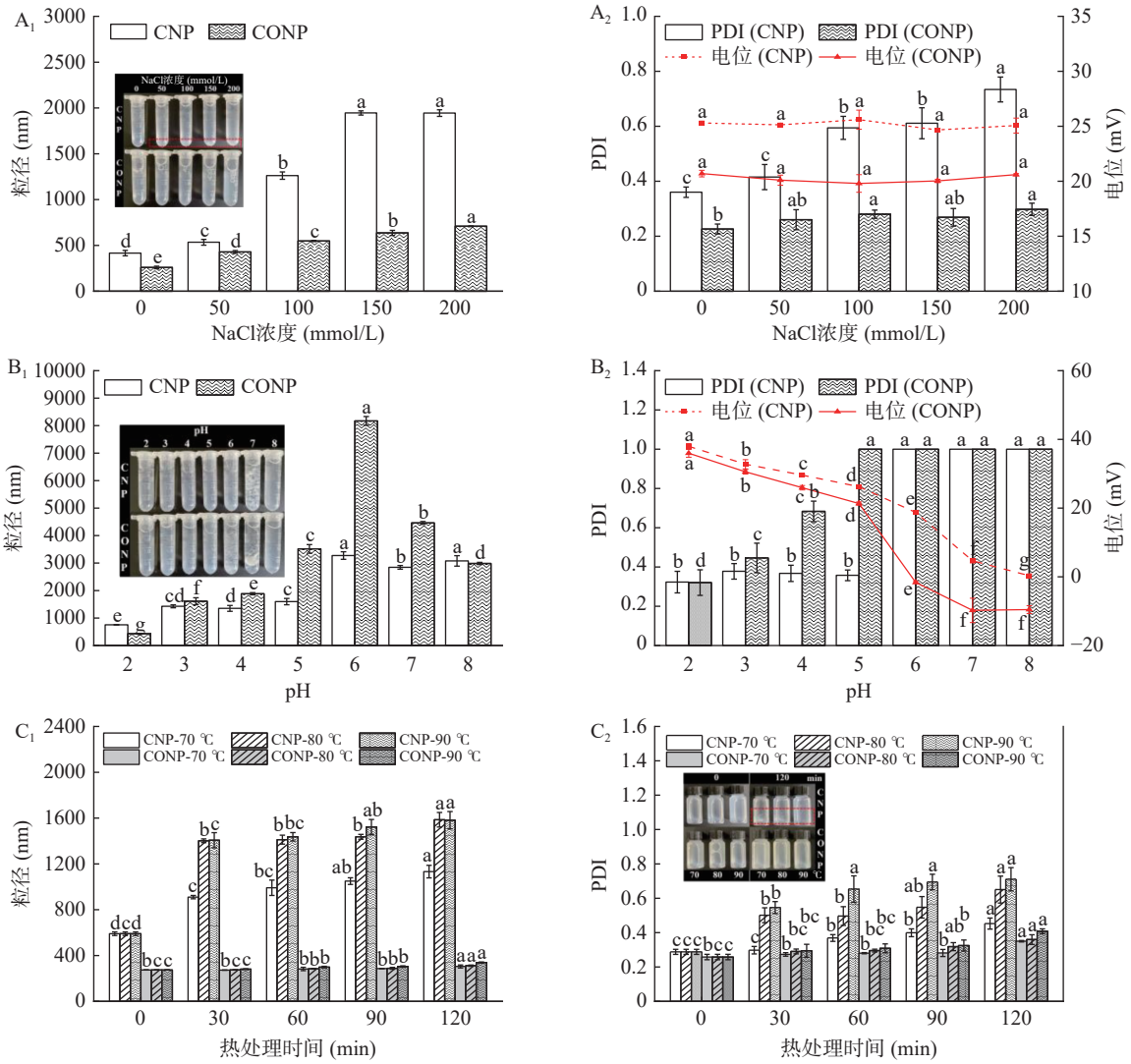


图 7 CONP 和 CNP 的离子强度稳定性、pH 稳定性和热稳定性

Fig.7 Ionic strength stability, pH stability and thermal stability of CONP and CNP

注: A_1 和 A_2: CNP 和 CONP 的离子强度稳定性分析, B_1 和 B_2: CNP 和 CONP 的 pH 稳定性分析, C_1 和 C_2: CNP 和 CONP 的热稳定性分析。

显著小于经过 80 和 90 ℃、120 min 处理后的($P<0.05$), 表明 CNP 在 70 ℃ 环境中具备较强的热稳定性。随着热处理时间和温度的增加, CONP 比 CNP 具备更小的粒径和 PDI, OP 的载入显著增强了体系的热稳定性。CONP 在经过 70、80、90 ℃, 120 min 处理后的粒径分别为 304、311、338 nm, PDI 分别为 0.35、0.36、0.41, 体系未发生聚集和解聚, 表明 CONP 在热环境下具备较强的稳定性, 这一点也验证了 DSC 的分析。OP 的载入提供了静电和氢键相互作用, 有效抵抗热解体、减缓聚集速率。

2.5 体外模拟消化研究

CONP 在连续模拟胃肠液中的释放曲线如图 8A 所示。结果显示, CONP 经模拟胃液消化 120 min 后, 仅释放 11.81% 的 OP, 继续经模拟肠液消化 30 min, 累积释放率陡增至 22.33%。最终经连续消化 360 min, 累积释放率达 70.80%。此外, 经过 24 h 的单独模拟胃肠消化, CONP 在模拟胃液中的释放率明显低于在模拟肠液中的。结合结构表征和稳定性分析可知, CONP 在酸性环境时(模拟胃液)内部分子间的相互作用更强烈, 表现出极高的稳定性, 而在中性环境时(模拟肠液)内部分子间的相互作用减弱, 表现出溶胀行为, 从而快速释放 OP。DU 等[16]也得出了类似的研究结果。

通过 4 种释放动力学模型拟合图 8, 结果如图 8C、D、E、F 所示。其中, Ritger-Peppas 模型仅适用于对前 60% 的数据进行拟合[25]。模拟胃消化阶段拟合结果最高的是 Ritger-Peppas 模型(R^2=0.95742, n=0.38)和 Higuchi 模型(R^2=0.92447), 模拟肠消化阶段拟合结果最高的是 Ritger-Peppas 模型(R^2=0.98637, n=0.96)和一级动力学模型(R^2=0.98147)。对于模拟胃消化而言, Ritger-Peppas 模型 n=0.38<0.45, 表明 CONP 在模拟胃液中释放 OP 的机制是以 Fick 扩散主导的。对于模拟肠消化而言, Ritger-Peppas 模型 n=0.96>0.89, 表明模拟肠消化的释放机制遵循 Super Case Ⅱ 运输, 是以强溶胀行为主导的、

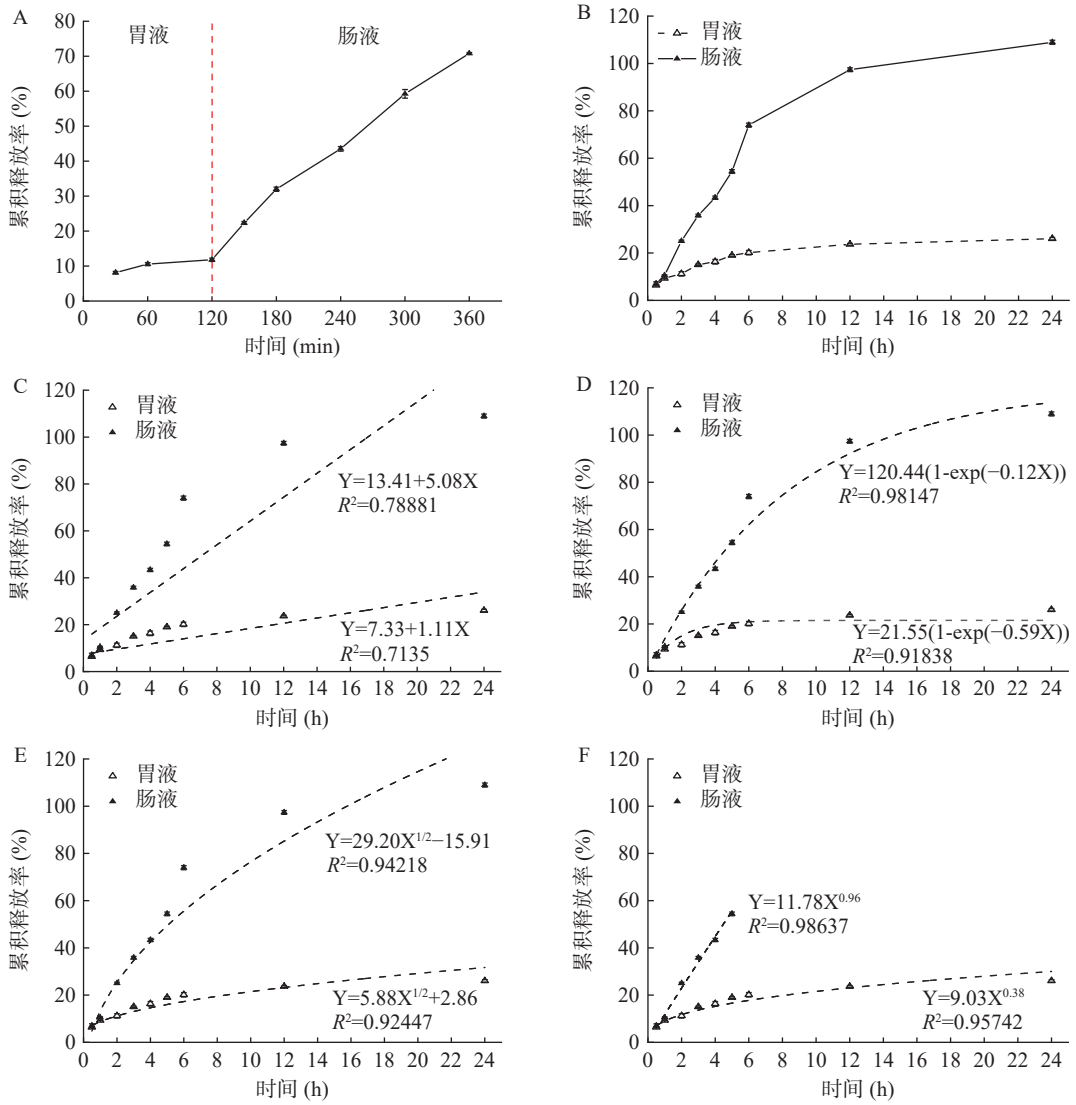


图 8　CONP 在模拟胃肠液中的累积释放曲线

Fig.8　Cumulative release profile of CONP in simulated gastrointestinal fluids

注：A：连续模拟胃肠释放曲线，B：单独模拟胃肠释放曲线，C：零级动力学拟合结果，D：一级动力学拟合结果，E：Higuchi 模型拟合结果，F：Ritger-Peppas 模型拟合结果。

扩散和侵蚀行为参与的复杂的过程[44]。具体而言，CONP 在强酸性环境中稳定性极强，OP 仅通过聚合物链间隙扩散释放；在中性环境中表现出溶胀行为，聚合物发生解聚，触发 Super Case Ⅱ释放。综上所述，CONP 因其分子间的静电和氢键相互作用及体系的无定形态，在强酸性条件下（模拟胃液）表现出极高的稳定性，在中性条件下（模拟肠液）表现出溶胀行为，OP 快速释放，CONP 具备较强的 pH 响应性。

3　结论

本研究以 OP 为芯材，CS 为壁材，制得 pH 响应型纳米颗粒，最佳制备条件为：CS 与 TPP 质量比为 4.8∶1，CS 浓度为 2.4 mg/mL，CS 与 OP 质量比为 1∶2，CS 溶液 pH 为 5.5。此条件下 CONP 的包埋率为 85.44%±1.24%，粒径为 259.67±14.11 nm。表征实验证实了 CONP 的形成机制和特性：OP 与 CS 通过静电和氢键结合，随后 CS 与 TPP 进一步交联生成无定型 CONP，包埋后的 OP 热稳定性显著提高。CONP 呈不规则的椭圆形，几何尺寸约 100 nm，粒径分布均匀。CONP 因其分子间静电和氢键相互作用及体系的无定形态，在稳定性实验中证实了较高的离子强度稳定性、热稳定性和 pH 响应性，在模拟消化实验中证实了在模拟胃液条件下表现出极高的稳定性并遵循 Fick 扩散，在模拟肠液条件下表现出溶胀行为并遵循 Super Case Ⅱ释放，OP 快速释放，CONP 具备较强的 pH 响应性。本研究结果可为多糖-肽类纳米颗粒的结构和性质提供理论基础，为多肽类生物活性物质的递送提供理论依据。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] HAO Lili, WANG Xincen, CAO Yunrui, et al. A comprehensive review of oyster peptides: Preparation, characterisation and

bioactivities[J]. Reviews in Aquaculture, 2022, 14(1): 120−138.
[2] ZHANG Pei, CHEN Zhongqin, ZHOU Longjian, et al. Carboxymethyl cellulose and carboxymethyl chitosan-based composite nanogel as a stable delivery vehicle for oyster peptides: Characterization, absorption and transport mechanism[J]. Food Chemistry, 2024, 442: 138464.
[3] MAESTRI E, PAVLICEVIC M, MONTORSI M, et al. Meta-analysis for correlating structure of bioactive peptides in foods of animal origin with regard to effect and stability[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2019, 18(1): 3−30.
[4] FERNANDO I P S, WU Jianping. Food-derived bioactive peptides: The gateway to reach the full potential of food proteins for human health[J]. Trends in Food Science & Technology, 2025, 157: 104896.
[5] NEJATIAN M, DARABZADEH N, BODBODAK S, et al. Practical application of nanoencapsulated nutraceuticals in real food products; a systematic review[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2022, 305: 102690.
[6] LI Jinzhen, WANG Shuo, WANG Hua, et al. Effect of ultrasonic power on the stability of low-molecular-weight oyster peptides functional-nutrition W1/O/W2 double emulsion[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 92: 106282.
[7] 许欣, 周展宏, 李昆太, 等. 牡蛎肽微胶囊的制备、结构表征及缓释性能[J]. 食品工业科技, 2025, 46(23): 108−117. [XU Xin, ZHOU Zhanhong, LI Kuntai, et al. Preparation, structural characterization, and slow-release performance of oyster peptide microcapsules[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(23): 108−117.]
[8] 王婧, 张萌萌, 张卓铅, 等. 基于纳米碳酸钙的牡蛎肽递送体系构建与结构表征及其消化特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(19): 238−247. [WANG Jing, ZHANG Mengmeng, ZHANG Zhuoqian, et al. Construction, structural characterization and digestion characteristics of oyster peptides delivery system based on nano-calcium carbonate[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(19): 238−247.]
[9] 石晓霞. 蛋清肽和姜黄素基于蛋白-多糖纳米颗粒的共组装效用评价[D]. 长春: 吉林大学, 2024. [SHI Xiaoxia. The evaluation of the co-assembly effect between egg white derived peptides and curcumin, based on protein-polysaccharide nanoparticles[D]. Changchun: Jilin University, 2024.]
[10] WANG Lu, CAO Yiping, ZHANG Ke, et al. Hydrogen bonding enhances the electrostatic complex coacervation between κ-carrageenan and gelatin[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2015, 482: 604−610.
[11] dos SANTOS A M, CARVALHO S G, FERREIRA L M B, et al. Understanding the role of electrostatic interactions on the association of 5-fluorouracil to chitosan-TPP nanoparticles[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2022, 640: 128417.
[12] FERREIRA L M B, dos SANTOS A M, BONI F I, et al. Design of chitosan-based particle systems: A review of the physicochemical foundations for tailored properties[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 250: 116968.
[13] 齐远征. 姜黄素-壳聚糖纳米颗粒的制备及其促进口腔软组织修复的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2024. [QI Yuanzheng. Preparation of curcumin-loaded chitosan nanoparticles and research of promoting oral soft tissues repair[D]. Changchun: Jilin University, 2024.]
[14] PAN Cunli, QIAN Junqing, ZHAO Changyan, et al. Study on the relationship between crosslinking degree and properties of TPP crosslinked chitosan nanoparticles[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 241: 116349.
[15] RÁZGA F, VNUKOVÁ D, NÉMETHOVÁ V, et al. Preparation of chitosan-TPP sub-micron particles: Critical evaluation and derived recommendations[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 151: 488−499.
[16] DU Zhiyang, LIU Jingbo, ZHANG Ting, et al. A study on the preparation of chitosan-tripolyphosphate nanoparticles and its entrapment mechanism for egg white derived peptides[J]. Food Chemistry, 2019, 286: 530−536.
[17] 郑昌亮, 孙洁, 陈梦婷, 等. 鳙鱼肽壳聚糖纳米颗粒的制备及体外性质研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(12): 17−22. [ZHENG Changliang, SUN Jie, CHEN Mengting, et al. Preparation and *in vitro* properties of bighead carp peptide chitosan nanoparticles[J]. Food and Fermentation Industries, 2023, 49(12): 17−22.]
[18] WU Jie, WANG Yaping, YANG Hao, et al. Preparation and biological activity studies of resveratrol loaded ionically cross-linked chitosan-TPP nanoparticles[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 175: 170−177.
[19] HASHAD R A, ISHAK R A H, GENEIDI A S, et al. Methotrexate loading in chitosan nanoparticles at a novel pH: Response surface modeling, optimization and characterization[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 91: 630−639.
[20] 孙海涛. 玉米秸秆纤维素及玉米磷酸酯淀粉基可食膜的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017. [SUN Haitao. Study on edible film based on corn stalk cellulose and corn phosphate starch[D]. Changchun: Jilin University, 2017.]
[21] 韩倩云, 帅屿, 甘芝霖, 等. 玉米醇溶蛋白-桃胶多糖纳米颗粒的制备及性质表征[J]. 食品工业科技, 2026, 47(3): 79−89. [HAN Qianyun, SHUAI Yu, GAN Zhilin, et al. Preparation and characterization of zein-peach gum polysaccharide nanoparticles and composite properties[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(3): 79−89.]
[22] 徐冰欣, 刘超然, 冯心怡, 等. 负载姜黄素的玉米醇溶蛋白-茶皂素复合纳米颗粒的抗氧化特性及其环境稳定性[J]. 食品工业科技, 2025, 46(5): 26−34. [XU Bingxin, LIU Chaoran, FENG Xinyi, et al. Antioxidant properties and environmental stability of curcumin-loaded zein-tea saponin nanoparticles[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(5): 26−34.]
[23] 劳颖仪, 余元善, 温靖, 等. 负载 EGCG 的柚皮果胶-玉米醇溶蛋白纳米颗粒的制备、表征及稳定性[J]. 食品科学, 2025, 46(17): 77−89. [LAO Yingyi, YU Yuanshan, WEN Jing, et al. Preparation, characterization and stability of EGCG-loaded pectin-zein nanoparticles[J]. Food Science, 2025, 46(17): 77−89.]
[24] KUANG Huiying, MA Liyuan, GUO Yuanjie, et al. Chitosan surface-modified bovine serum albumin-oleic acid self-assembled complexes: Improving the thermal stability, controlled release and bioaccessibility of fucoxanthin[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 151: 109796.
[25] GAO Jian, LIU Chengzhi, SHI Jieyu, et al. The regulation of sodium alginate on the stability of ovalbumin-pectin complexes for VD3 encapsulation and *in vitro* simulated gastrointestinal digestion study[J]. Food Research International, 2021, 140: 110011.
[26] 邢承宇. 精油纳米颗粒的制备及抑菌活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022. [XING Chengyu. Preparation and antibacterial activity of essential oil nanoparticles[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.]

［27］ LUO Y C, ZHANG B, CHENG W H, et al. Preparation, characterization and evaluation of selenite-loaded chitosan/TPP nanoparticles with or without zein coating[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(3): 942−951.
［28］ AZEVEDO J R, SIZILIO R H, BRITO M B, et al. Physical and chemical characterization insulin-loaded chitosan-TPP nanoparticles[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2011, 106(3): 685−689.
［29］ 冯坤. 基于静电流体技术的胰岛素肠道递送体系的构建及其血糖调控机制研究[D]. 广州：华南理工大学, 2021. ［FENG Kun. Development of intestinal delivery systems of insulin by electrohydrodynamics technique and their blood glucose regulation mechanism[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021.］
［30］ FINBLOOM J A, SOUSA F, STEVENS M M, et al. Engineering the drug carrier biointerface to overcome biological barriers to drug delivery[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2020, 167: 89−108.
［31］ 陈文彬, 严文静, 徐幸莲, 等. α-生育酚壳聚糖纳米粒的制备、表征及体外缓释抗氧化性能[J]. 食品科学, 2017, 38(22): 216−223. ［CHEN Wenbin, YAN Wenjing, XU Xinglian, et al. Preparation, characterization and *in vitro* sustained antioxidant activity of α-tocopherol-loaded chitosan nanoparticles[J]. Food Science, 2017, 38(22): 216−223.］
［32］ NASRI R, HAMDI M, TOUIR S, et al. Development of delivery system based on marine chitosan: Encapsulationand release kinetic study of antioxidant peptides from chitosan microparticle[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 167: 1445−1451.
［33］ 杜志阳. 壳聚糖自组装递送体系的构建及其对活性物质的缓控效用[D]. 长春：吉林大学, 2020. ［DU Zhiyang. Construction of chitosan self-assembly delivery system and its slow-control effect on active substances[D]. Changchun: Jilin University, 2020.］
［34］ HOSSEINI S F, SOLEIMANI M R, NIKKHAH M. Chitosan/sodium tripolyphosphate nanoparticles as efficient vehicles for antioxidant peptidic fraction from common kilka[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 111: 730−737.
［35］ KANDILE N G, MOHAMED H M. New chitosan derivatives inspired on heterocyclic anhydride of potential bioactive for medical applications[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 182: 1543−1553.
［36］ NETO C G T, GIACOMETTI J A, JOB A E, et al. Thermal analysis of chitosan based networks[J]. Carbohydrate Polymers, 2005, 62(2): 97−103.
［37］ HASHAD R A, ISHAK R A H, FAHMY S, et al. Chitosan-tripolyphosphate nanoparticles: Optimization of formulation parameters for improving process yield at a novel pH using artificial neural networks[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 86: 50−58.
［38］ BOOKWALA M, SHI J, BUCKNER I S, et al. Simultaneous XRD-DSC identifies correct drug-polymer solubility and miscibility for enantiotropic solid forms[J]. Journal of Pharmaceutical Sciences, 2025, 114(1): 416−423.
［39］ HAN LYN F, CHIN PENG T, RUZNIZA M Z, et al. Effect of oxidation degrees of graphene oxide (GO) on the structure and physical properties of chitosan/GO composite films[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2019, 21: 100373.
［40］ 李双健, 邸清茹, 龚敏慧, 等. 壳聚糖/玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒复合膜的制备及其性能[J]. 中国食品学报, 2024, 24(6): 213−222. ［LI Shuangjian, DI Qingru, GONG Minhui, et al. Preparation and characterization of chitosan/zein-anthocyanin nanoparticles composite film[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(6): 213−222.］
［41］ LIU Han, WEN Zhiyang, LIU Zihan, et al. Unlocking the potential of amorphous calcium carbonate: A star ascending in the realm of biomedical application[J]. Acta Pharmaceutica Sinica. B, 2024, 14(2): 602−622.
［42］ 雍凡星, 康钰钊, 陈泽恒, 等. 负载橙皮苷的玉米醇溶蛋白基纳米粒子的制备、表征及稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2025, 46(20): 135−142. ［YONG Fanxing, KANG Yuzhao, CHEN Zeheng, et al. Preparation, characterization and stability of zein based nanoparticles loaded with hesperidin[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(20): 135−142.］
［43］ 郑昌亮, 陈梦婷, 汪兰, 等. 负载鳙鱼肽的壳聚糖/三聚磷酸钠和壳聚糖/亚麻籽胶复合纳米颗粒的稳定性和生物相容性评价[J]. 食品科学, 2023, 44(24): 34−40. ［ZHENG Changliang, CHEN Mengting, WANG Lan, et al. Evaluation of stability and biocompatibility of chitosan/sodium tripolyphosphate and chitosan/flax seed gum composite nanoparticles loaded with bighead carp peptides[J]. Food Science, 2023, 44(24): 34−40.］
［44］ WEN Peng, FENG Kun, YANG Huan, et al. Electrospun core-shell structured nanofilm as a novel colon-specific delivery system for protein[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 169: 157−166.