

# 酪蛋白水凝胶在生物医学中的应用

邵炫明<sup>1,2</sup>, 黄卫<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>三峡大学附属仁和医院骨科, 湖北 宜昌

<sup>2</sup>三峡大学健康医学院, 湖北 宜昌

收稿日期: 2024年3月12日; 录用日期: 2024年4月19日; 发布日期: 2024年4月29日

## 摘要

本综述总结了酪蛋白的基本信息, 包括分子结构、水解产物及作用等; 概括了酪蛋白水凝胶的合成和表征方法; 举证了酪蛋白水凝胶最新研究方向和目前的应用领域, 包括药物载体及控释、伤口敷料、骨再生及心脏组织工程。本综述指出了酪蛋白在水凝胶领域特性和潜力, 并讨论了进一步研究的挑战和未来方向。

## 关键词

酪蛋白, 水凝胶, 生物医学

# Application of Casein Hydrogel in Biomedicine

Xuanming Shao<sup>1,2</sup>, Wei Huang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Orthopedics Department of Renhe Hospital Affiliated to China Three Gorges University, Yichang Hubei

<sup>2</sup>College of Medical and Health Sciences, China Three Gorges University, Yichang Hubei

Received: Mar. 12<sup>th</sup>, 2024; accepted: Apr. 19<sup>th</sup>, 2024; published: Apr. 29<sup>th</sup>, 2024

## Abstract

This review summarizes the basic information of casein, including its molecular structure, hydrolysis products, and functions; outlines the synthesis and characterization methods of casein hydrogels; highlights the latest research directions and current applications of casein hydrogels, including drug delivery and release, wound dressings, bone regeneration, and cardiac tissue engineering. This review points out the characteristics and potential of casein in the field of hydrogels, and discusses the challenges and future directions for further research.

\*通讯作者。

文章引用: 邵炫明, 黄卫. 酪蛋白水凝胶在生物医学中的应用[J]. 生物医学, 2024, 14(2): 306-312.

DOI: 10.12677/hjbm.2024.142034

## Keywords

### Casein, Hydrogel, Biomedical

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

酪蛋白是牛奶中的主要蛋白质成分,近年来,人们对其在生物医学领域的潜在应用进行了广泛研究。酪蛋白不以单独的纯蛋白形式存在于牛奶中,而是与磷酸钙结合形成直径约为 200 nm 的近似球状复合物,即酪蛋白胶束[1] [2]。这种胶束是牛奶中的主要营养性蛋白质,占总蛋白含量的 80% [1] [2],也是牛奶中丰富的钙磷来源,具有独特的性质和生物材料应用潜能,近年来受到了广泛关注。

酪蛋白的分子量在 19~24 kDa 之间,其分子结构主要含有 4 个亚型,包括  $\alpha_{s1}$  酪蛋白、 $\alpha_{s2}$  酪蛋白、 $\beta$  酪蛋白和  $\kappa$  酪蛋白,分别占总酪蛋白含量的 36%、14%、40%、10%,在牛奶中以胶束结构稳定存在[1]。酪蛋白中不含有二硫键,不能形成蛋白质的三级结构[2],因此,即使是消化能力较弱的哺乳仔猪都能很好地降解酪蛋白,并将其消化吸收。仔猪的消化模型试验结果显示, $\beta$ -酪蛋白在 2 h 内完全被消化[2]。酪蛋白被认为是幼龄动物的理想氨基酸来源,不仅仅是因为其消化率接近 100%,更重要的是其氨基酸组成非常理想,不像大豆蛋白缺乏蛋氨酸和赖氨酸这两种必需氨基酸,所以酪蛋白的生物学利用率更高[3]。酪蛋白在进入人体后的主要作用是矿物质结合及运输,其本身含有大量磷酸丝氨酸残基,可以结合同等数量的矿物元素,主要是无机磷、钙和镁[4]。

除此之外,酪蛋白水解后可以产生多种生物活性功能肽,这些生物活性功能肽已显示出许多对人类健康有益的作用[5] [7] [8],可以参与机体内的抗氧化作用[5] [6]、免疫调节[7]、抗高血压[8]、抗血栓作用[9]、神经功能调节[10]等。酪蛋白水解产物之一—— $\beta$ -casomorphines,具有类似阿片类药物的作用,类似于影响中枢神经系统的镇痛剂[11]。一些水解产生的阿片样多肽,可能参与神经调节,改善婴儿睡眠[10]。 $\beta$ 酪蛋白经消化产生的磷酸化多肽即酪蛋白磷酸肽(Casein Phosphopeptide, CPP),在肠道中可通过磷酸丝氨酸与钙离子结合,由小肠粘膜细胞吸收后再释放进入血液,从而促进钙吸收[12],另外有研究表明酪蛋白磷酸肽还有助于铁吸收[13]。同时有研究表明酪蛋白磷酸肽具有酸性基序,是一个带负电荷的区域,可用于结合机体内正价金属离子,并在成骨细胞中表现出出色的诱导成骨活性[14] [15]。

酪蛋白具有完全的生物降解性、生物相容性、无毒性、高热稳定性、低成本、优异的凝胶化和乳化性能,使酪蛋白成为生物医学领域中备受青睐的候选材料。在本综述中,我们将探讨关于酪蛋白基材料在生物医学领域中的最新研究与应用。

## 2. 酪蛋白水凝胶的合成

水凝胶是一种具有多孔和吸水特性的材料形式,广泛应用于食品工业、生物医学和环境保护等领域。酪蛋白本身具有良好的成凝胶性能。常见的凝胶方式主要包括物理交联和化学交联,不同的交联方式会影响水凝胶的性质和应用。

物理交联的酪蛋白基水凝胶具有良好的生物相容性和可降解性,适用于组织工程和药物传递等领域。酪蛋白与磷酸钙互相结合形成平均直径约为 200 nm 左右的球状复合物[16],即为酪蛋白胶束,胶束中含有少量的钙、磷酸根、柠檬酸根以及微量的镁、钠、钾等,在水中的临界浓度很低,形成空间稳定的缔

合胶体。酪蛋白之间的聚集是静电斥力同疏水吸引力相互间平衡的结果[17]。酪蛋白的胶束结构是一种超分子聚集体, 它是通过氢键、疏水相互作用和静电相互作用在 pH 约为 4.5 时自组装形成的[18] [19]。酪蛋白在磷酸钙过饱和的水溶液中可以自组装形成稳定的酪蛋白胶束结构[20]。

化学交联的酪蛋白水凝胶则具有更强的稳定性和机械性能, 适用于载体材料和生物传感器等领域。酪蛋白的化学交联凝胶化更常见, 可以通过酸化或酶水解诱导。葡萄糖酸- $\delta$ -内酯(glucono-delta-lactone, GDL)的产物可以降低溶液体系的 pH 值, 常被诱导酸化酪蛋白凝胶形成。随着溶液体系中 pH 值降低到 5.0 以下, 酪蛋白的表面负电荷降低,  $\kappa$ -酪蛋白层的坍塌, 导致系统结构从液体变为凝胶状[21]。然而酸化凝胶中大多数酪蛋白可能不再处于胶束状态, 从而影响凝胶强度。酸化酪蛋白凝胶在较低的 pH 值下具有较低的磨损深度和磨损率, 表明它们更耐磨[22]。谷氨酰胺转移酶可以稳定胶束结构, 诱导谷氨酰胺和赖氨酸残基之间产生新的共价键, 增加凝胶的硬度和血清结合能力, 被广泛用于如酸奶、奶酪或冰淇淋的加工等领域[23]。

纯酪蛋白水凝胶具有出色的吸水溶胀能力, 但同时易受到 pH 值、温度、溶液离子强度等因素的影响[24]。因此通过加入不同的物质体系可以做出多样的复合凝胶, 实现多种功能。

蛋白质和多糖的复合水凝胶可以产生协同效应, 以获得更好、更新颖的功能特性。西北师范大学科尔生命科学院魏艳霞等人制备了由酪蛋白酸钠(SC)和 N, O-羧甲基壳聚糖(NOCC)组成的 pH 敏感智能水凝胶, 并提出了表征凝胶化过程的新方法, 这种 pH 敏感水凝胶在药物递送领域表现出出色的应用潜力[25]。

在一些实际应用中, 非常需要具有多种粘附性能和坚韧的力学性能的新一代软材料, 例如机器人关节、伤口敷料和手术绷带。长春理工大学的徐建宇等人将酪蛋白加入聚丙烯酰胺(PAAm)水凝胶中, 制备出了一种具有足够的粘附性和机械强度的新型水凝胶[26]。酪蛋白-PAAm 水凝胶在铝制品表面最大剥离力为  $378 \text{ N}\cdot\text{m}^{-1}$ , 在 2000% 的断裂应变下断裂应力为 180 kPa [26]。长春工业大学的王广宇等人将酪蛋白酸钠(SC)和羧甲基壳聚糖(CC)引入聚丙烯酰胺(PAAM)水凝胶体系中[27]。这种新的 PAAM-SC-CC 水凝胶成功使该体系能够兼具高机械强度、稳定粘附性及灵敏的离子传输能力。其中, SC 溶于水所形成的胶束结构可充当能量耗散中心, 为体系提供良好的机械性能。同时可以保持稳定且灵敏的离子传输能力, 能够应用于涉及复杂信号的人体运动监测, 包括喉咙颤动和关节伸展的传感, 有望拓宽水凝胶在生物电极、人机界面、个性化医疗健康等领域的应用[27]。陕西科技大学的杨羽西等人为解决纯酪蛋白水凝胶易发霉易脆裂的问题, 通过将纳米 ZnO 引入酪蛋白基体中, 实现了交联剂和抗菌剂的协同作用, 创新性地提出了同时采用酪蛋白胶束交联和纳米粒子交联的双重交联机制; 并基于此以海藻酸钠作为第二网络高分子, 通过“半溶解溶胶-凝胶酸化法”成功构建双网络结构, 获得了兼具强机械性、抗菌性及粘附性的功能型酪蛋白基水凝胶[28]。南京大学刘成杰博士团队利用酪蛋白为原料合成了酪蛋白-聚丙烯酸复合纳米球以及空心球, 通过交联酪蛋白改善了复合微球的 pH 稳定性, 实现了抗肿瘤药物顺铂的运载及持续释放。同时, 研究发现该酪蛋白纳米球进入细胞的能力不受细胞类型、温度、能量的影响, 并且进入细胞后主要分布在细胞质中[29]。

总的来说, 酪蛋白基水凝胶的形成方式决定了其在生物医学领域的应用前景, 不同形式的酪蛋白基水凝胶都有其独特的优势和局限性。因此, 在选择酪蛋白基水凝胶时, 需要根据具体的应用需求和使用的环境, 通过调节酪蛋白的浓度、交联方法或者加入其他成分, 来进行合理的选择。

### 3. 酪蛋白水凝胶的应用领域

#### 3.1. 药物载体及控释

酪蛋白在加热、冷冻和干燥过程中具有很强的稳定性, 在加热至 110 摄氏度并冷却至室温后, 其蛋白结构没有产生明显变性。然而, pH 值的改变, 会扰乱酪蛋白胶束结构的稳定性, 这恰恰为药物释放的

有效调控提供可行性条件。酪蛋白的这些独特的载体特性以及它在各种环境条件(如热、pH 值和高压)下的物理化学变化, 在传递食品或药物有效成分、生物活性物质方面具有重要价值[30]。巴西的 Fragal, Vanessa H 教授通过化学交联硫酸软骨素(CS)、酪蛋白(CAS)和二氧化硅纳米颗粒( $\text{SiO}_2$ ), 形成了高度交联的水凝胶微球。通过改变聚合物的比例, 可以控制硫酸软骨素的释放效率。在 70% CAS、30% CS 和 5% 二氧化硅的基础上, 硫酸软骨素的释放持续了 87 小时[31]。

酪蛋白的交联方式不同在一定程度上决定了其药物释放的效率。河南科技大学 Hui, Ming 等人根据聚谷氨酸( $\gamma$ -PGA)与酪蛋白的比例制备了酪蛋白/ $\gamma$ -PGA 混合水凝胶。相较于常规酸化交联的酪蛋白水凝胶, 通过微生物转谷氨酰胺酶(MTG)交联的水凝胶表现出更高的膨胀率和较低的降解速率。为了研究体外释放行为, 该团队选择了亲水性维生素 B12 和疏水性阿司匹林作为模型药物, 并将其纳入酪蛋白/ $\gamma$ -PGA 水凝胶中。1/5 酪蛋白/ $\gamma$ -PGA 水凝胶表现出良好的药物释放行为[32]。Hadizadeh, Farzin 等人同样制备了一种酶交联的酪蛋白水凝胶, 同时研究了其对于胰岛素的缓释影响, 并对其进行了体内外评估。通过 CD 方法对胰岛素的二级结构进行了分析, 最后在糖尿病大鼠中测试了降血糖作用。体外释放研究证实, 胰岛素在酸性条件下缓慢释放, 然而在中性和碱性环境中胰岛素迅速释放。胰岛素的结构在释放后得以保持。口服含有胰岛素的水凝胶可观察到降血糖效果[33]。中山大学 Zhang, Li-Ming 团队为了开发用于原位封装和控制释放亲水性药物的聚合物水凝胶, 通过透明质酸和碘酸钠之间的反应制备了含有醛基的氧化透明质酸, 并首次用于在水系统中交联酪蛋白。通过增加其醛基含量会导致凝胶化时间缩短、凝胶强度增强、膨胀率降低和药物释放延长[34]。

### 3.2. 伤口敷料

创伤愈合及伤口管理是水凝胶在临床领域的重要应用, 而酪蛋白本身的营养价值使得其具有作为伤口敷料的潜力。但要求酪蛋白水凝胶具有优异的机械和组织粘附性能、长效的抗菌性、可靠的生物相容性、一定的促进组织增殖愈合的能力。而在面对创伤性大出血时, 更需要具有原位快速交联、灵活适应伤口的特点。

Wang, JH 等人设计了一种复合有机水凝胶, 通过酪蛋白自组装胶束结构, 将酪蛋白胶束(CEs)和聚乙烯醇(PVA)融入 GW (甘油 - 水)的二元溶剂中。受益于独特的油 - 水二元溶剂体系, 该有机水凝胶表现出长效的锁水能力和极限温度耐受性( $-20^\circ\text{C}$  至  $60^\circ\text{C}$ )。酪蛋白胶束丰富的氢键使水凝胶同时具有优异粘附能力和增强的机械性能。特别是, 在 CEs 内加载模型抗菌药物(大蒜素)后, 所研发的 CEs/PVA GW 凝胶展现出显著的长效( $>100$  小时)抗菌性能( $>90\%$ )。此外, 该有机水凝胶被证实具有显著的生物相容性, 可支持成纤维细胞增殖和迁移。在预防细菌感染、加速组织增殖和促进伤口愈合方面具有巨大潜力。这种创新的凝胶系统在预防细菌感染、加速组织增殖和促进伤口愈合方面具有巨大潜力[35]。Zhu, QC 等人研究出了一种可在白光下交联的天然乳制酪蛋白水凝胶生物粘合剂。这种酪蛋白水凝胶的快速凝胶化可通过户外手电筒、手机手电筒或内窥镜灯启动, 从而便于在急救和微创手术中使用。即使在因切割伤害导致的肝出血情况下也能实现出色的止血效果。酪蛋白与组织之间的共价结合使得其具有能够承受超过 180 mmHg 血压的坚固粘附能力[36]。Garcia, LV 等人使用了两种类型的酪蛋白(酪蛋白钠盐和酸性酪蛋白)制备负载有抗菌药物的水凝胶, 并验证了它们材料性能表征、血液相容性、非细胞毒性。两种配方的水凝胶均能维持至少 48 小时的药物释放, 并且对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌具有良好的抗菌性能。蒸汽热灭菌并未影响材料的性能[37]。

### 3.3. 骨再生

韩国釜山大学的 Yang, Hee Seok 团队通过合理设计的生物活性牛奶衍生蛋白支架对新骨形成的增强



作用。他们通过简单的冻融循环制备出了一种酪蛋白-聚乙烯醇支架, 并使用一种贻贝粘附蛋白 3,4-二羟基-L-苯丙氨酸(DOPA)进行表面修饰, 研究了酪蛋白分解产物——酪蛋白磷酸肽的组成, 探究了这些肽结合钙离子并诱导巨噬细胞趋化, 以改善骨再生的作用[38]。

Stancu, Izabela-Cristina 等人考虑到酪蛋白对钙的天然亲和力以及通过磷酸钙纳米团簇连接亚胶束的能力, 认为这种蛋白质具有刺激促进仿生矿化现象并与硬组织的矿物相直接结合的潜力。他们制备了包埋酪蛋白的聚 2-甲基丙烯酸羟乙酯-聚乙二醇二丙烯酸酯(PHEMA-PEGDA)水凝胶, 并发现纳米羟基磷灰石在蛋白质含量最丰富的区域局部形成, 证明了酪蛋白含量的增加导致水凝胶体外矿化能力得到改善[39] [40]。Gong 等人(2019)则研究了  $\text{CaCO}_3$  基复合水凝胶微球的开发, 用于促进生长因子和钙的双重释放以增强骨再生[41]。

这些研究表明牛奶衍生蛋白支架在骨再生领域具有潜在的应用前景, 可以通过促进矿化过程、提供生长因子和钙的释放等方式来增强新骨形成。这些研究为开发新型生物活性材料以促进骨组织再生提供了重要的理论和实践基础。

### 3.4. 心脏组织工程

酪蛋白是一种天然来源的富含氨基的蛋白质, 可进行表面功能化改性, 增强亲水性, 从而促进更好的细胞粘附。在一项比较研究中, Sali, Sonali Sudhir 团队以酪蛋白为原料, 采用甲基丙烯酸酐(MA)化学改性, 结合酪蛋白(Casein)、聚乙烯醇(PVA)和聚乙烯吡咯烷酮(PVP)共混物合成了一种新型生物降解生物材料。将两种聚合物得到的甲基丙烯酸酯酪蛋白(CasMA)加工成低 MA 浓度和高 MA 浓度的多孔支架, 以证明 CasMA 易于改性和可重复性。这项研究不仅揭示了酪蛋白甲基丙烯酸改性的可能机制, 还展示了酪蛋白作为组织工程应用增值产品的潜在用途[42]。

### 3.5. 总结与展望

从最初的营养保健品到现在的药物传递系统、伤口敷料, 再到最近比较新颖的骨组织及心脏组织工程, 酪蛋白水凝胶通过其本身优异的生物降解性、生物相容性、高热稳定性、低成本性, 其潜力不断发展完善, 在诸多领域实现了应用。当然, 酪蛋白基材料仍然存在一些需要解决的挑战, 如优化制备方法、改善力学性能和提高材料稳定性。进一步的研究应该探索更明确的酪蛋白结构及人体内反应, 探索酪蛋白对健康和疾病的具体影响。未来酪蛋白水凝胶的发展应该尝试着与纳米技术相结合。纳米技术的应用可以生产出微型颗粒结晶, 有可能解决水凝胶机械性能不足的情况。

综上所述, 酪蛋白基水凝胶在生物医学领域展现了巨大的潜力, 具有广泛的应用前景。随着相关研究的不断深入和发展, 相信酪蛋白基水凝胶将在更多领域展现出其独特的优势和潜力。相信随着酪蛋白的不断发展, 其在不断适应生物医学需求的同时临床应用也会越来越广泛。期待未来酪蛋白基水凝胶的研究能够为相关领域的发展和创新的提供更多的启发和支持。

### 参考文献

- [1] Glab, T.K. and Boratynski, J. (2017) Potential of Casein as a Carrier for Biologically Active Agents. *Topics in Current Chemistry*, **375**, Article No. 71. <https://doi.org/10.1007/s41061-017-0158-z>
- [2] Rafiee Tari, N., Arranz, E. and Corredig, M. (2019) Effect of Protein Composition of a Model Dairy Matrix Containing Various Levels of Beta-Casein on the Structure and Anti-Inflammatory Activity of *in Vitro* Digestates. *Food & Function*, **10**, 1870-1879. <https://doi.org/10.1039/C8FO01860J>
- [3] Yvette, C.L., Nicolaas, E.P.D., Martin, J. and Peter, B.S. (2005) Casein and Soy Protein Meals Differently Affect Whole-Body and Splanchnic Protein Metabolism in Healthy Humans. *The Journal of Nutrition*, **135**, 1080-1087. <https://doi.org/10.1093/jn/135.5.1080>

- [4] Pereira, P.C. (2014) Milk Nutritional Composition and Its Role in Human Health. *Nutrition*, **30**, 619-627. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.10.011>
- [5] Politis, I. and Chronopoulou, R. (2008) Milk Peptides and Immune Response in the Neonate. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **606**, 253-269. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4\\_10](https://doi.org/10.1007/978-0-387-74087-4_10)
- [6] Fiat, A.M., Migliore-Samour, D., Jollès, P., Drouet, L., Sollier, C.B.D. and Caen, J. (1993) Biologically Active Peptides from Milk Proteins with Emphasis on Two Examples Concerning Antithrombotic and Immunomodulating Activities. *Journal of Dairy Science*, **76**, 301-310. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(93\)77351-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(93)77351-8)
- [7] Hejel, P., Kocsis, R., Helyes, K., *et al.* (2021) Bioactive Peptides in Milk Literature Review. *Magyar Allatorvosok Lapja*, **143**, 47-55.
- [8] Jauhainen, T. and Korpela, R. (2007) Milk Peptides and Blood Pressure. *The Journal of Nutrition*, **137**, 825S-829S. <https://doi.org/10.1093/jn/137.3.825S>
- [9] Phelan, M., Aherne, A., FitzGerald, R.J. and O'Brien, N.M. (2009) Casein-Derived Bioactive Peptides: Biological Effects, Industrial Uses, Safety Aspects and Regulatory Status. *International Dairy Journal*, **19**, 643-654. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.06.001>
- [10] Wada, Y. and Lönnerdal, B. (2014) Bioactive Peptides Derived from Human Milk Proteins-Mechanisms of Action. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **25**, 503-514. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.10.012>
- [11] Daniloski, D., McCarthy, N.A., Vasiljevic, T., *et al.* (2021) Bovine  $\beta$ -Casomorphins: Friends or Foes? A Comprehensive Assessment of Evidence from *in Vitro* and *ex Vivo* Studies. *Trends in Food Science and Technology*, **116**, 681-700. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.003>
- [12] Cruz-Huerta, E., Garcia-Nebot, M.J., Miralles, B., Recio, I. and Amigo, L. (2015) Casein O-phosphopeptides Released After Trypsin Hydrolysis versus Simulated Gastrointestinal Digestion of a Casein-Derived By-Product. *Food Chemistry*, **168**, 648-655. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.090>
- [13] 刘微, 王振元, 张婉舒, 等. 人乳  $\beta$ -酪蛋白单体二级结构及胶束微观结构的研究[J]. 中国乳品工业, 2014(42): 4-7.
- [14] Kibangou, I.B., Bouhallab, S., Henry, G., *et al.* (2005) Milk Proteins and Iron Absorption: Contrasting Effects of Different Caseinophosphopeptides. *Pediatric Research*, **58**, 731-734. <https://doi.org/10.1203/01.PDR.0000180555.27710.46>
- [15] Du, X., Li, L.X., Behboodi-Sadabad, F., Welle, A., Li, J.S., Heissler, S., *et al.* (2017) Bio-Inspired Strategy for Controlled Dopamine Polymerization in Basic Solutions. *Polymer Chemistry*, **8**, 2145-2151. <https://doi.org/10.1039/C7PY00051K>
- [16] Huppertz, T., Gazi, I., Luyten, H., *et al.* (2017) Hydration of Casein Micelles and Caseinates: Implications for Casein Micelle Structure. *International Dairy Journal*, **74**, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.03.006>
- [17] Horne, D.S. (2008) Casein Micelle Structure and Stability. In: Thompson, A., Boland, M. and Singh, H., Eds., *Milk Proteins*, Academic Press, Cambridge, 133-162. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374039-7.00005-2>
- [18] Qin, L., Dong, H., Mu, Z., Zhang, Y. and Dong, G. (2015) Preparation and Bioactive Properties of Chitosan and Casein Phosphopeptides Composite Coatings for Orthopedic Implants. *Carbohydrate Polymers*, **133**, 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.06.099>
- [19] 许健宇. 粘韧蛋白质水凝胶的制备及性能研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 长春工业大学, 2019.
- [20] 薛高飞, 王伟国, 白天, 叶美丹. 蛋白质基水凝胶的制备及应用研究进展[J]. 功能材料与器件学报, 2021, 27(5): 396-407.
- [21] Reiter, M., Reitmaier, M., Haslbeck, A., Kulozik, U., *et al.* (2023) Acid Gelation Functionality of Casein Micelles in Concentrated State: Influence of Calcium Supplementation or Chelation Combined with Enzymatic Stabilization. *Food Hydrocolloids*, **143**, Article ID: 108927. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108927>
- [22] Tan, J. and Joyner, H.S. (2019) Characterizing and Modeling Wear-Recovery Behaviors of Acid-Induced Casein Hydrogels. *Wear*, **424**, 33-39. <https://doi.org/10.1016/j.wear.2019.02.003>
- [23] Raak, N. and Corredig, M. (2022) Kinetic Aspects of Casein Micelle Cross-Linking by Transglutaminase at Different Volume Fractions. *Food Hydrocolloids*, **128**, Article ID: 107603. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107603>
- [24] De Kruif, C.G., *et al.* (2015) Water Holding Capacity and Swelling of Casein Hydrogels. *Food Hydrocolloids*, **44**, 372-379. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.007>
- [25] Wei, Y., *et al.* (2016) Structure Formation in PH-Sensitive Hydrogels Composed of Sodium Caseinate and *N*, *O*-Carboxymethyl Chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, **89**, 353-359. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.04.081>
- [26] Xu, J., Fan, Z.W., Duanb, L.J. and Gao, G.H. (2018) A Tough, Stretchable, and Extensively Sticky Hydrogel Driven by Milk Protein. *Polymer Chemistry*, **9**, 2617-2624. <https://doi.org/10.1039/C8PY00319J>

- [27] 王广宇. 酪蛋白/壳聚糖复合水凝胶的制备及性能研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 长春工业大学, 2022.
- [28] 杨羽西. 酪蛋白基双网络纳米复合水凝胶的制备及其性能研究[D]: [硕士学位论文]. 西安: 陕西科技大学, 2022.
- [29] 刘成杰. 酪蛋白纳米球的制备及其细胞摄取研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京大学, 2010.
- [30] Ranadheera, C.S., *et al.* (2016) Utilizing Unique Properties of Caseins and the Casein Micelle for Delivery of Sensitive Food Ingredients and Bioactives. *Trends in Food Science & Technology*, **57**, 178-187. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.10.005>
- [31] Simao, A.R., *et al.* (2020) PH-Responsive Hybrid Hydrogels: Chondroitin Sulfate/Casein Trapped Silica Nanospheres for Controlled Drug Release. *International Journal of Biological Macromolecules*, **148**, 302-315. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.01.093>
- [32] Wang, X., *et al.* (2021) Synthesis of Casein- $\gamma$ -Polyglutamic Acid Hydrogels by Microbial Transglutaminase-Mediated Gelation for Controlled Release of Drugs. *Journal of Biomaterials Applications*, **36**, 237-245. <https://doi.org/10.1177/08853282211011724>
- [33] Hadizadeh, F., *et al.* (2019) Casein-Based Hydrogel Carrying Insulin: Preparation, *in Vitro* Evaluation and *in Vivo* Assessment. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, **49**, 635-641. <https://doi.org/10.1007/s40005-018-00422-y>
- [34] Li, N.N., Fu, C.P. and Zhang, L.M. (2014) Using Casein and Oxidized Hyaluronic Acid to Form Biocompatible Composite Hydrogels for Controlled Drug Release. *Materials Science & Engineering: C*, **36**, 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.12.025>
- [35] Wang, J., *et al.* (2022) Casein Micelles Embedded Composite Organohydrogel as Potential Wound Dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, **211**, 678-688. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.05.081>
- [36] Zhu, Q., *et al.* (2023) White-Light Crosslinkable Milk Protein Bioadhesive with Ultrafast Gelation for First-Aid Wound Treatment. *Biomaterials Research*, **27**, Article ID: s40824-023-00346-1. <https://doi.org/10.1186/s40824-023-00346-1>
- [37] Garcia, L.V., *et al.* (2023) Antiseptic-Loaded Casein Hydrogels for Wound Dressings. *Pharmaceutics*, **15**, Article 334. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15020334>
- [38] Lee, M.S., *et al.* (2023) Rationally Designed Bioactive Milk-Derived Protein Scaffolds Enhanced New Bone Formation. *Bioactive Materials*, **20**, 368-380. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2022.05.028>
- [39] Dragusin, D.M., *et al.* (2011) Casein—Nanosized Nucleator for *in Vitro* Mineralization. *Optoelectronics and Advanced Materials: Rapid Communications*, **5**, 1320-1324.
- [40] Dumitrescu, G.D., *et al.* (2022) Development of New Hybrid Casein-Loaded PHEMA-PEGDA Hydrogels with Enhanced Mineralisation Potential. *Materials*, **15**, Article 840. <https://doi.org/10.3390/ma15030840>
- [41] Gong, Y., *et al.* (2019) Development of CaCO<sub>3</sub> Microsphere-Based Composite Hydrogel for Dual Delivery of Growth Factor and Ca to Enhance Bone Regeneration. *Biomaterials Science*, **7**, 3614-3626. <https://doi.org/10.1039/C9BM00463G>
- [42] Sali, S.S., *et al.* (2021) Biodegradable Methacrylated Casein for Cardiac Tissue Engineering Applications. *Journal of Materials Chemistry B*, **9**, 1557-1567. <https://doi.org/10.1039/D0TB02496A>