

# 玉米醇溶蛋白/鱼腥草黄酮复合纳米颗粒的制备及胃肠道释放特性

蒋雨心<sup>1</sup>, 范方宇<sup>1,2,3\*</sup>, 陈成<sup>4</sup>, 孙雪<sup>1</sup>, 刘炯娜<sup>1</sup>

(1. 西南林业大学 生命科学学院, 云南 昆明 650224; 2. 西南地区生物多样性保育国家林业和草原局重点实验室, 云南 昆明 650224; 3. 云南省森林灾害预警与控制实验室, 云南 昆明 650224; 4. 西南林业大学 林学院, 云南 昆明 650224)

**摘要:** 为提高鱼腥草黄酮 (*Houttuynia cordata* flavonoids, HCF) 的稳定性, 以玉米醇溶蛋白 (Zein) 和 HCF 为原料, 采用反溶剂法制备了 Zein/HCF 复合纳米颗粒, 探究了 Zein、HCF 质量比对复合纳米颗粒的影响, 并对其进行了表征。结果表明, HCF 与 Zein 之间存在氢键、疏水及静电相互作用。当  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF}) = 20 : 3$  时, 制备的 Zein/HCF 复合纳米颗粒性能最好, 其熔融温度最高 (85.09 °C), 比 Zein 纳米颗粒 (72.25 °C) 增加了 12.84 °C; 其平均粒径、多分散性指数最小、粒径分布最窄、Zeta 电位绝对值及包封率最大, 微观结构呈均匀分散的圆球状; 其具有较高的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼、2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐自由基清除能力, 具有较好的热处理保护能力, 在模拟消化过程中, 经胃液消化 120 min 后 HCF 释放率仅为 22.31%, 再加入肠液消化 120 min 后, HCF 释放率达到 75.66%。HCF 在模拟胃肠液中的释放趋势均符合 Ritger-Peppas 模型, 但释放机制不同, 胃液中属非 Fick 扩散机制, 肠液中属 Fick 扩散机制。

**关键词:** 鱼腥草黄酮; 玉米醇溶蛋白; 纳米颗粒; 胃肠道释放特性; 食品用化学品

中图分类号: TB383.1; TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1003-5214 (2024) 06-1345-09

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



## Preparation and gastrointestinal release characteristics of zein/*Houttuynia cordata* flavonoids composite nanoparticles

JIANG Yuxin<sup>1</sup>, FAN Fangyu<sup>1,2,3\*</sup>, CHEN Cheng<sup>4</sup>, SUN Xue<sup>1</sup>, LIU Jiongnan<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Biodiversity Conservation in Southwest China, Kunming 650224, Yunnan, China; 3. Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, Kunming 650224, Yunnan, China; 4. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China)

**Abstract:** In order to improve the stability of *Houttuynia cordata* flavonoids (HCF), Zein/HCF composite nanoparticles were synthesized from zein (Zein) and HCF by anti-solvent method and characterized for structural analysis. The effects of zein and HCF mass ratio on the composite nanoparticles were further investigated. The results showed that there were intermolecular forces, including hydrogen bonding, hydrophobic and electrostatic interactions, between HCF and zein. When  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF}) = 20 : 3$ , Zein/HCF composite nanoparticles exhibited the best performance with the highest melting temperature reaching 85.09 °C, 12.84 °C higher than that of Zein nanoparticles (72.25 °C), its microstructure uniformly dispersed in a spherical shape with the smallest average particle size and polydispersity index (PDI), the narrowest particle size distribution, and the largest absolute Zeta potential value as well as HCF encapsulation rate. In addition, the composite nanoparticles exhibited higher 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl

收稿日期: 2023-06-18; 定用日期: 2023-07-31; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230492

基金项目: 云南省教育厅科学研究基金项目 (2022Y593); 2021 年西南林业大学科技创新基金项目 (KY21003); 云南省“万人计划”青年拔尖人才专项资助项目 (YNWR-QNBJ-2018-046); 生物学质量工程项目 (503190106)

作者简介: 蒋雨心 (1998—), 女, 硕士生, E-mail: jyx0807@outlook.com. 联系人: 范方宇 (1979—), 男, 教授, E-mail: ffy118@163.com.

and diammonium 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) radicals scavenging ability, and better heat treatment protection ability by improving the heating stability of HCF. In the simulated gastrointestinal digestion process, the HCF release rate was only 22.31% after 120 min of digestion by simulated gastric fluid (SGF) and reached 75.66% after 120 min of digestion by simulated intestinal fluid (SIF). The HCF release trends in the simulated gastrointestinal fluid were all consistent with the Ritger-Peppas model, but the release mechanisms were different, with a non-Fick diffusion mechanism in SGF while a Fick diffusion mechanism in SIF.

**Key words:** *Houttuynia cordata* flavonoids; zein; nanoparticles; gastrointestinal release characteristics; food chemicals

植物蛋白质和黄酮类化合物作为食品基质的重要组成部分,其相互作用及相关变化在食品加工中具有重要意义<sup>[1]</sup>。研究表明,黄酮类物质对植物蛋白质具有显著的结合亲和力,二者通过芳香基团的疏水堆积,或黄酮类物质的基团和蛋白质链的共价或非共价相互作用交联,导致蛋白质空间结构发生变化,对其功能特性造成影响,形成具有独特的物理和化学特性的植物蛋白-黄酮复合物<sup>[2]</sup>。黄酮与蛋白质的结合也会影响这两种成分的生物利用度,进而对食品的理化性质造成一定影响<sup>[3]</sup>。因此,关于植物蛋白质与黄酮相互作用的研究已经成为时下热门之一。鱼腥草(*Houttuynia cordata* Thunb.)为药食同源植物,具有清热解毒、去痈排脓、利尿通淋等功效<sup>[4]</sup>。鱼腥草含多种活性成分,其中黄酮类含量最为丰富,以槲皮苷、金丝桃苷、异槲皮苷、芦丁等类黄酮为主,具有较好的抗氧化、抗炎、抑菌等作用<sup>[5]</sup>。但槲皮素等黄酮类化合物不稳定,易受物理、化学和生理等因素影响而氧化、降解,进而影响其潜在治疗活性,在医药和食品加工方面的应用受到较大限制<sup>[6]</sup>。为克服这一缺点,可以通过纳米运载技术解决生物活性物质的水溶性和稳定性问题,如纳米乳液<sup>[7]</sup>、生物聚合物纳米颗粒<sup>[8]</sup>、微胶囊<sup>[9]</sup>和脂质体<sup>[10]</sup>等。

食品级纳米颗粒通常采用食品级高分子材料为载体,如蛋白质和多糖,这种载体具有良好的生物相容性、生物可降解性、安全性,已被广泛应用于疏水生物活性化合物的包封和递送<sup>[11]</sup>。玉米醇溶蛋白(Zein)是玉米中主要的储存蛋白,含大量疏水氨基酸残基,溶于乙醇水溶液而不溶于水,能够与活性物质通过自组装形成纳米复合物<sup>[12]</sup>,提高天然活性物功能性成分的稳定性、生物活性,同时改善 Zein 的功能特性<sup>[13]</sup>。许雪儿等<sup>[14]</sup>采用反溶剂法制备的负载生育酚的 Zein 复合纳米颗粒稳定性较好,在模拟胃液中具有较好的缓释性能;WANG 等<sup>[15]</sup>制备了负载大麻二酚(CBD)的 Zein 纳米颗粒,其提高了 CBD 的体外抗氧化性;YANG 等<sup>[16]</sup>制备的枸杞多糖/Zein 复合纳米颗粒提高了姜黄素的生物

可及性及生物活性。目前,关于制备 Zein、鱼腥草黄酮(*Houttuynia cordata* flavonoids, HCF)复合纳米颗粒的研究鲜有报道。

基于此,本文拟采用反溶剂法来制备 Zein/HCF 复合纳米颗粒,研究复合纳米颗粒的结构、性质,探讨不同 Zein 与 HCF 质量比对复合纳米颗粒形成的影响;考察复合纳米颗粒的抗氧化性、稳定性及胃肠道消化特性。以期解决 HCF 稳定性差的问题,为拓宽 HCF 在食品领域的应用提供理论依据。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

鱼腥草全根,云南省昆明市寻甸县金所乡; Zein,分析纯,上海麦克林生化科技股份有限公司;纤维素酶(比活 $\geq 35$  U/mg)、胃蛋白酶、胰蛋白酶(比活 $\geq 250$  U/mg),南京都莱生物技术有限公司;AB-8 大孔吸附树脂、芦丁标准品,(HPLC 纯度 $\geq 98\%$ ),上海源叶生物科技有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)二铵盐(ABTS),HPLC 纯度 $\geq 98\%$ ,合肥巴斯夫生物科技有限公司;其余化学试剂均为分析纯。

SB25-12DTDS 超声波清洗仪,宁波新艺超声设备有限公司;FD5-3 真空冷冻干燥机,北京华夏莱博仪器仪表有限公司;650 型傅里叶变换红外光谱仪,天津港东科技有限公司;UV-2600 紫外-可见分光光度计,日本 Shimadzu 公司;SmartLab SE 型 X 射线衍射仪,日本理学株式会社;DSC204 型差示扫描量热仪,德国 Netzsch 公司;Sigma 300 场发射扫描电子显微镜,德国 Carl Zeiss 公司;Zetasizer Nano ZS90 型纳米粒度及 Zeta 电位分析仪,英国 Malvern 仪器有限公司。

### 1.2 制备方法

#### 1.2.1 HCF 的提取纯化

HCF 的提取参照杨宗玲等<sup>[17]</sup>的方法略作修改:鱼腥草全根去除须根,蒸馏水洗净,50 °C 干燥 12 h,粉碎,过 60 目筛,取筛下物得鱼腥草粉。准确称取

5.00 g 鱼腥草粉, 以料液比 (g : mL, 下同) 1 : 30 加入质量分数 50% 的乙醇水溶液, 以 0.1 mol/L 冰乙酸调节 pH=5.0, 500 W 超声 50 min, 加入 0.25 g 纤维素酶, 45 °C 酶解 30 min, 90 °C 灭酶 5 min, 抽滤, 旋蒸浓缩后 -60 °C 冻干 24 h 得到黄酮粗提物。参照毕会敏等<sup>[9]</sup>的方法纯化 HCF。准确称取 1.00 g 黄酮粗提物溶解于 1 mL 无水乙醇中, 蒸馏水定容至 100 mL, 加入 2 g AB-8 大孔树脂, 37 °C 振荡吸附 24 h (120 r/min)。抽滤, 蒸馏水冲洗, 滤饼加入质量分数 75% 乙醇水溶液 100 mL, 37 °C 振荡解吸 7 h。抽滤, 滤液旋蒸浓缩后 -60 °C 冻干 24 h 得纯化 HCF。

### 1.2.2 Zein/HCF 纳米颗粒的制备

参照杨婷婷等<sup>[18]</sup>的方法, 略作修改。配制质量浓度为 20 g/L Zein-乙醇溶液 (溶剂中乙醇质量分数为 80%), 37 °C, 1000 r/min 磁力搅拌 50 min, 置于冰箱 4 °C 冷藏 12 h, 使其充分水合。取 50 mL Zein-乙醇溶液, 加入纯化后的 HCF, 使  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF}) = 20 : 0, 20 : 1, 20 : 2, 20 : 3, 20 : 4, 20 : 5$ , 超声至完全溶解。将 Zein-HCF 乙醇溶液缓慢滴入 50 mL 蒸馏水中, 1000 r/min 持续搅拌 30 min。旋蒸浓缩后, 8000 r/min 冷冻 (4 °C) 离心 5 min, 取上清液 -60 °C 冻干 24 h 得 Zein/HCF 复合纳米颗粒。

## 1.3 表征与性能测试

### 1.3.1 HCF 纯度的测定

参照孙艺炜<sup>[3]</sup>的方法, 略作修改。取 4 mg HCF 纯化物, 用质量分数 54% 乙醇水溶液定容至 25 mL, 取 1 mL 样品液分别加入 0.3 mL 质量分数为 5% 亚硝酸钠水溶液、质量分数为 10% 硝酸铝水溶液, 摇匀, 静置 6 min, 再加入 4 mL 质量分数为 4% 氢氧化钠水溶液, 用质量分数 50% 乙醇水溶液定容至 10 mL, 摇匀, 静置 15 min, 采用紫外-可见分光光度计在 510 nm 处测其吸光度。通过芦丁标准曲线方程 ( $y = 11.51x - 0.0029, R^2 = 0.9993$ ) 计算 HCF 纯度为 86.71% ± 0.02%。

### 1.3.2 FTIR 测试

用傅里叶变换红外光谱仪测定单一组分 HCF 及复合纳米颗粒的 FTIR 光谱。测定波数为 4000~400  $\text{cm}^{-1}$ , 分辨率为 4  $\text{cm}^{-1}$ , 扫描次数为 32 次。采用软件 PeakFit v4.12 对复合纳米颗粒蛋白质二级结构进行计算。

### 1.3.3 XRD 测试

采用 XRD 对单一组分 HCF 及复合纳米颗粒进行结晶结构测试。测试条件: 以  $\text{Cu K}\alpha$  靶射线为辐射源, 扫描速率为 2 (°)/min, 扫描范围为 5°~40°。

### 1.3.4 热稳定性测试

采用差示扫描量热仪测试样品的热稳定性。准确称取 5 mg 样品于坩锅中, 以空坩锅为空白对照, 扫描温度范围为 25~150 °C, 升温速率为 10 °C/min,

氮气流速为 20 mL/min。

### 1.3.5 粒径、多分散性指数 (PDI)、Zeta 电位测试

利用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测试复合纳米颗粒的粒径、PDI 以及纳米颗粒剪切面的 Zeta 电位。以水为分散剂, 折射率为 1.330。

### 1.3.6 包封率测试

参照 CHEN 等<sup>[19]</sup>的方法, 略作修改。取 20 mg 冻干后的复合纳米颗粒溶于质量分数 85% 乙醇水溶液, 8000 r/min 离心 5 min, 取上清液 1 mL 按 1.3.1 节方法测定 HCF 含量。复合纳米颗粒对 HCF 的包封率按式 (1) 进行计算:

$$\text{包封率}/\% = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (1)$$

式中:  $m_1$  为上清液中 HCF 的质量, g;  $m_2$  为复合纳米颗粒中 HCF 添加质量, g。

### 1.3.7 SEM 测试

利用 SEM 观察纳米颗粒的形态结构, 加速电压 3 kV, 放大倍数 2000 倍。

### 1.3.8 抗氧化性测试

参照 REN 等<sup>[20]</sup>的方法测定 HCF、复合纳米颗粒的 DPPH·、ABTS·清除率。

将复合纳米颗粒用质量分数 80% 乙醇水溶液溶解, 配制质量浓度为 5 g/L 的样品液。取 2 mL 样品液于比色管, 加入 2 mL 浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH-乙醇溶液, 37 °C 避光保存 30 min, 以无水乙醇为参比, 采用紫外-可见分光光度计在 517 nm 处测吸光度; 对照组是在 2 mL 无水乙醇中加入 2 mL 样品液, 采用紫外-可见分光光度计在 517 nm 处测溶液吸光度; 空白组是在 2 mL 无水乙醇中加入 2 mL 浓度为 0.1 mmol/L 的 DPPH-乙醇溶液, 采用紫外-可见分光光度计在 517 nm 处测溶液吸光度。V<sub>C</sub> 标准液为阳性对照。DPPH·清除率按式 (2) 计算:

$$\text{DPPH}\cdot\text{清除率}/\% = \left( 1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3} \right) \times 100 \quad (2)$$

式中:  $A_1$  为样品液吸光度;  $A_2$  为对照组吸光度;  $A_3$  为空白组吸光度。

测定前取 ABTS 水溶液 (7 mmol/L) 与过硫酸钾水溶液 (2.45 mmol/L) 等体积混匀, 室温下避光静置 12 h 得 ABTS 母液。测定时用无水乙醇稀释至吸光度为 0.70 ± 0.02 得到 ABTS 测定液。取 0.5 mL 样品液于比色管, 加入 5 mL ABTS 测定液, 混匀, 室温反应 20 min, 以蒸馏水为参比; 对照组取 0.5 mL 不同浓度的样品液, 加入 5 mL 蒸馏水; 空白组取 0.5 mL 蒸馏水, 加入 5 mL ABTS 测定液。以上溶液均采用紫外-可见分光光度计在 734 nm 处测定其吸光度。V<sub>C</sub>

标准液为阳性对照。ABTS<sup>+</sup>清除率按式 (3) 计算:

$$\text{ABTS}^+\text{清除率}/\% = \left(1 - \frac{A_4 - A_5}{A_6}\right) \times 100 \quad (3)$$

式中:  $A_4$  为样品液吸光度;  $A_5$  为对照组吸光度;  $A_6$  为空白组吸光度。

### 1.3.9 加热稳定性测试

复合纳米颗粒在不同加热温度的稳定性参照 YANG 等<sup>[16]</sup>的方法, 略作修改。将制备好的复合纳米颗粒悬浮液或 HCF 溶液在 40、60、80 °C 水浴中加热 30 min, 测量上清液中 HCF 含量。通过测定纳米颗粒中 HCF 保留率评价加热稳定性, HCF 保留率按式 (4) 进行计算:

$$\text{HCF保留率}/\% = \left(1 - \frac{\rho_1}{\rho_2}\right) \times 100 \quad (4)$$

式中:  $\rho_1$  为加热后上清液中 HCF 质量浓度, g/L;  $\rho_2$  为初始 HCF 质量浓度, g/L。

### 1.3.10 体外消化特性测试

参照许雪儿等<sup>[14]</sup>的方法略作修改, 模拟胃液 (SGF) 的制备: 将 0.32 g 胃蛋白酶溶解于 100 mL 蒸馏水中, 用浓度为 1 mol/L 盐酸调节胃蛋白酶水溶液 pH=2.0; 模拟肠液 (SIF) 的制备: 将 0.20 g 胰蛋白酶、1.20 g 胆盐、0.88 g 氯化钠溶于质量分数为 0.68% 的磷酸二氢钾水溶液, 用浓度 0.1 mol/L 的 NaOH 水溶液调节混合溶液 pH=7.2。将复合纳米颗粒悬浮液与等体积 SGF 混合, 于恒温振荡培养箱中 37 °C、120 r/min 消化 120 min。胃消化后, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH=7.2, 并与等体积 SIF 混合, 37 °C、120 r/min 消化 180 min。HCF 释放率按式 (5) 进行计算:

$$\text{HCF释放率}/\% = \frac{m_1}{m_2} \times 100 \quad (5)$$

式中:  $m_1$  为消化液中 HCF 质量, g;  $m_2$  为 HCF 封装量, g。

## 1.4 数据处理

所有实验均设 3 组平行, 采用软件 IBM SPSS Statistics 26 进行统计分析, 通过 Duncan 检验和方差分析 (ANOVA) 对数据进行差异显著性分析 ( $P < 0.05$ ), 用软件 Origin 2018 绘图。

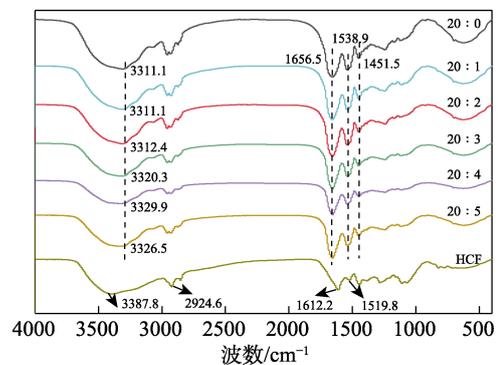
## 2 结果与讨论

### 2.1 FTIR 分析

图 1 为单一组分 HCF 和复合纳米颗粒的 FTIR 谱图。

从图 1 可见, HCF 在 3387.8、2924.6、1612.2 和 1519.8  $\text{cm}^{-1}$  处显示出特征吸收峰, 分别归属于 O—H、—CH<sub>2</sub>、芳环 C=C 键的伸缩振动<sup>[9]</sup>。Zein

位于 3311.1、1656.5、1538.9 和 1451.5  $\text{cm}^{-1}$  处的吸收峰, 分别与 O—H 键的伸缩振动、C=O 键的伸缩振动 (酰胺 I 带)、C—N 键的伸缩振动和 N—H 键的弯曲振动 (酰胺 II 带) 有关<sup>[21-22]</sup>。在复合纳米颗粒的 FTIR 谱图中, HCF 的特征吸收峰消失或与封装载体材料 Zein 的吸收峰重叠, 原因为纳米载体的包裹限制了 HCF 化学基团的伸展, 说明 HCF 被成功包埋在纳米颗粒疏水内部。刘钱媛<sup>[23]</sup>也发现类似现象: 负载紫檀芪的 Zein、褐藻糖胶复合物的 FTIR 谱图中没有出现紫檀芪的特征吸收峰。与纯 Zein 组分 [ $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF}) = 20 : 0$ ] 相比, 复合纳米颗粒 [ $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF}) = 20 : 2 \sim 20 : 5$ ] 的 O—H 吸收峰均向高波数偏移, 表明 Zein 与 HCF 间有氢键形成<sup>[24]</sup>。而酰胺 II 带吸收峰的轻微偏移则表明复合纳米颗粒形成过程中存在静电相互作用力<sup>[25]</sup>。



20 : 0、20 : 1、20 : 2、20 : 3、20 : 4、20 : 5 代表 Zein 与 HCF 的质量比, 下同

图 1 HCF 及复合纳米颗粒的 FTIR 谱图

Fig. 1 FTIR spectra of HCF and composite nanoparticles

图 2 为复合纳米颗粒的蛋白质二级结构含量。

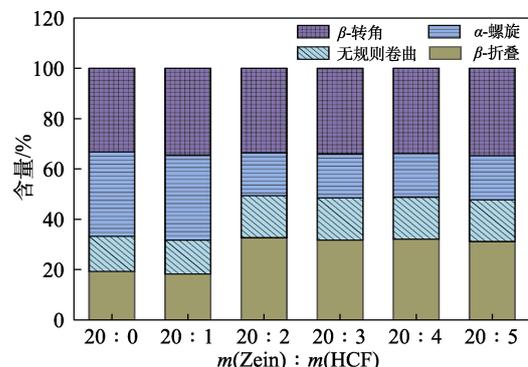


图 2 复合纳米颗粒的蛋白质二级结构含量

Fig. 2 Protein secondary structure content of composite nanoparticles

从图 2 可见, Zein 纳米颗粒二级结构  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角、无规则卷曲含量分别为 33.50%、19.24%、33.28%、13.98%。与纯 Zein 组分 [ $m(\text{Zein}) :$

$m(\text{HCF})=20:0$ ] 相比,  $m(\text{Zein}):m(\text{HCF})=20:1$  复合纳米颗粒的  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -转角含量分别增加 0.20%、1.30%,  $\beta$ -折叠、无规则卷曲含量分别减少 1.04%、0.47%, 说明加入 HCF, Zein 二级结构发生改变, 但此时蛋白质分子内氢键较少, 结构较为松散。与纯 Zein 组分相比,  $m(\text{Zein}):m(\text{HCF})=20:2\sim 20:3$  复合纳米颗粒的  $\alpha$ -螺旋含量减少 15.93%~16.39%,  $\beta$ -折叠含量增加 12.86%~13.43%、 $\beta$ -转角含量增加 0.28%~1.47%,  $\alpha$ -螺旋含量减少,  $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角含量增加说明蛋白质分子伸展, HCF、Zein 分子间形成氢键, 复合纳米颗粒的结构趋于有序化。综上所述, 氢键、静电力和疏水效应等相互作用是组装 Zein/HCF 复合纳米颗粒的主要驱动力。

## 2.2 XRD 分析

图 3 为 HCF 及复合纳米颗粒的 XRD 谱图。从图 3 可见, 复合纳米颗粒在  $2\theta=9.0^\circ$  和  $20.9^\circ$  出现两个宽峰, 是由 Zein 和 HCF 分子间的相互作用所导致的, 表明复合纳米颗粒为无定形结构。单一组分 HCF 表现出锐利的衍射峰, 主要分布在  $2\theta=9.6^\circ$ 、 $15.8^\circ$ 、 $20.2^\circ$ , 表明 HCF 呈高晶化形态<sup>[22]</sup>。将 HCF 包封到复合纳米颗粒中, 所有复合纳米颗粒中均未观察到纯 HCF 的尖锐特征晶峰, 说明 HCF 的状态由结晶态转变为无定形态, 也表明 HCF 被成功包埋在 Zein 纳米颗粒中。与张园园等<sup>[26]</sup>研究的将  $\alpha$ -硫辛酸装载到 Zein 纳米颗粒中特征峰消失的特征一致。此外, 在  $2\theta=9.0^\circ$  和  $20.9^\circ$ , 随着 HCF 用量的增加 [ $m(\text{Zein}):m(\text{HCF})=20:0\sim 20:3$ ], 峰值强度变大, 说明表明复合纳米颗粒分子间有序性增加。而过量 HCF [ $m(\text{Zein}):m(\text{HCF})=20:4\sim 20:5$ ] 添加到复合纳米颗粒后, 样品峰值强度减小, 说明过量的 HCF 会破坏分子间的有序性, 分子间氢键作用减弱, 无定形区增加, 结晶度降低<sup>[27]</sup>。

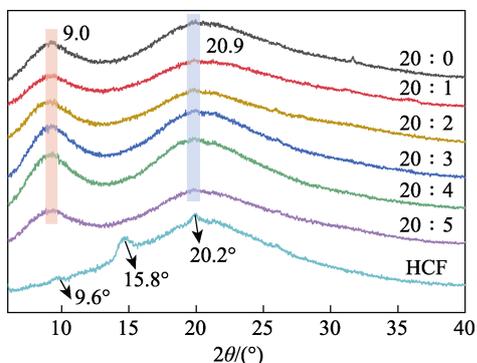


图 3 HCF 及复合纳米颗粒的 XRD 谱图

Fig. 3 XRD patterns of HCF and composite nanoparticles

## 2.3 热稳定性分析

不同 Zein、HCF 质量比复合纳米颗粒的 DSC

曲线如图 4 所示。由图 4 可知, 单一组分 HCF、Zein 纳米颗粒、复合纳米颗粒均在  $30\sim 150^\circ\text{C}$  内出现吸热峰, 且 DSC 曲线趋势相似。单一组分 HCF、Zein 纳米颗粒、复合纳米颗粒 [ $m(\text{Zein}):m(\text{HCF})=20:1\sim 20:5$ ] 的熔融温度分别为  $82.40^\circ\text{C}$ 、 $72.25^\circ\text{C}$ 、 $82.37^\circ\text{C}$ 、 $84.89^\circ\text{C}$ 、 $85.09^\circ\text{C}$ 、 $82.60^\circ\text{C}$ 、 $77.62^\circ\text{C}$ 。Zein 纳米颗粒热稳定性较差 ( $72.25^\circ\text{C}$ ) 是因为纳米颗粒的形成破坏了 Zein 原有的整体结构。LIU 等<sup>[28]</sup>的研究结果也有类似现象。加入 HCF 后, 复合纳米颗粒熔融温度增加, 说明热稳定性增强, 是因为 HCF 的加入改变了蛋白质二级结构, HCF 与 Zein 分子间形成强相互作用 (FTIR 结果可知), 延迟了分子链的运动, 增加体系交联密度。然而, 当  $m(\text{Zein}):m(\text{HCF})=20:4\sim 20:5$  时, 复合纳米颗粒熔融温度降低。原因是过量的 HCF 导致 Zein 桥接和絮凝, 进而导致热稳定性降低。 $m(\text{Zein}):m(\text{HCF})=20:3$  时熔融温度最高 ( $85.09^\circ\text{C}$ ), 与 Zein 纳米颗粒 ( $72.25^\circ\text{C}$ ) 相比增加了  $12.84^\circ\text{C}$ , 说明在此配比下, 各组分之间的相互作用最强, 热稳定性最好, 热稳定性的增加有利于保护 HCF 的稳定性和生物活性。XIA 等<sup>[21]</sup>研究结果表明, Zein 与山苍子油 (LCO) 间存在的氢键相互作用使复合纳米颗粒具有良好的热稳定性, 但过量的 LCO 会导致蛋白质发生絮凝, 破坏分子间稳定结构, 导致热稳定下降。

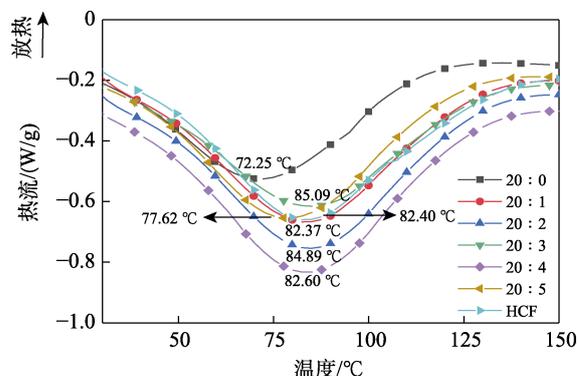


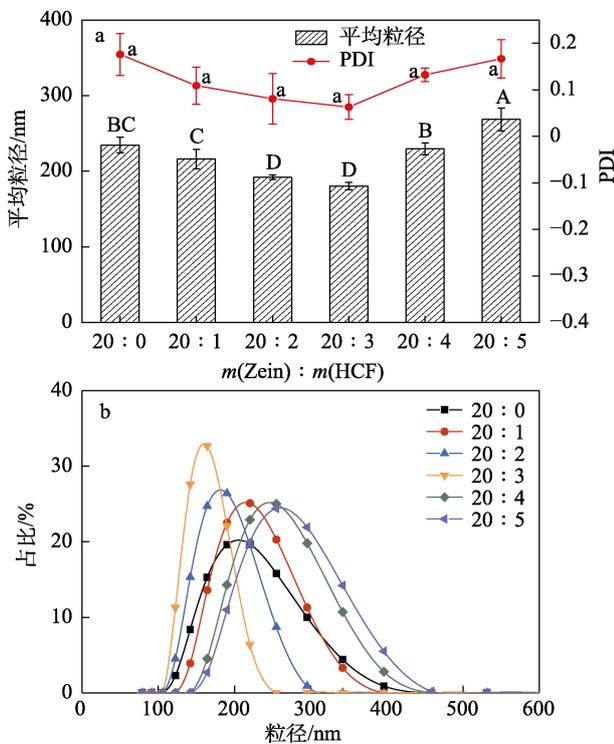
图 4 HCF 及复合纳米颗粒的 DSC 曲线

Fig. 4 DSC curves of HCF and composite nanoparticles

## 2.4 粒径、PDI、Zeta 电位分析

复合纳米颗粒的平均粒径、PDI、粒径分布如图 5a、b 所示。从图 5a、b 可以看出, 使用反溶剂法制备的复合纳米颗粒平均粒径主要在  $150\sim 300\text{ nm}$  之间, PDI 均在 0.2 以内, 粒径分布均呈单峰分布。Zein 纳米颗粒平均粒径、PDI 分别为  $(234.6\pm 10.3)\text{ nm}$ 、 $0.176\pm 0.045$ 。研究表明, 粒径大小受配方组成和制备方式影响, Zein 用量越低、乙醇含量越高、搅拌速度越快, 制得的纳米颗粒粒径越小, 对纳米颗粒制备条件进行优化, 可得到粒径较小的复合纳米颗

粒<sup>[18]</sup>。 $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 1 \sim 20 : 3$  时, 随 HCF 用量的增加, 复合纳米颗粒的粒径分布均呈单峰分布并逐渐集中, 平均粒径、PDI 逐渐减小,  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 3$  时粒径分布最集中, 平均粒径和 PDI 最小, 分别为  $(180.4 \pm 4.9) \text{ nm}$ 、 $0.063 \pm 0.027$ , 与 Zein 纳米颗粒相比, 分别降低 23.1%、64.2%。这是由于在抗溶剂过程中, 足够多的 HCF 分子快速到达 Zein 聚集体的表面, 并均匀分布在颗粒上, 纳米颗粒间强大的静电斥力和空间位阻能有效阻止颗粒间的聚集, 因此体系中桥状絮凝现象减弱。随着 HCF 用量的继续增加,  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 4 \sim 20 : 5$  复合纳米颗粒平均粒径、PDI 逐渐减小, 粒径分布逐渐变宽。原因为过量 HCF 分子的加入破坏了分子间稳定性, 并形成了絮凝结构。



不同大小写字母表示组间差异性显著  $P < 0.05$ , 下同  
图 5 复合纳米颗粒的平均粒径、PDI(a)及其粒径分布(b)  
Fig. 5 Average particle size and PDI (a) and particle size distribution (b) of composite nanoparticles

Zeta 电位通常表示纳米颗粒携带的表面电荷情况, 是表征胶体分散体系稳定性的重要指标。图 6 为复合纳米颗粒的 Zeta 电位。

胶体分散体系中纳米颗粒 Zeta 电位绝对值越大, 颗粒间存在的静电斥力越大, 能阻止纳米颗粒在胶体溶液中聚集, 从而胶体体系的稳定性越好<sup>[22]</sup>。由图 6 可知, 复合纳米颗粒的 Zeta 电位分布在  $-20 \sim -30 \text{ mV}$  之间, 电位均为负值。当 Zein 与 HCF 的质量比发生变化时, 它们所带的电荷量比值会随之改变, 直接影响到 Zein 和 HCF 之间的相互作用力大

小, 从而影响复合纳米颗粒的稳定状态。与 Zein 纳米颗粒相比, 加入 HCF 后纳米颗粒的 Zeta 电位绝对值均显著提高 ( $P < 0.05$ )。随着 HCF 用量的增加,  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 0 \sim 20 : 5$  复合纳米颗粒的 Zeta 电位绝对值先上升后下降,  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 3$  时, Zeta 电位绝对值达到最高, 说明 Zein 表面电荷增加, 颗粒之间的静电排斥力增强, 有利于阻止颗粒间聚集。

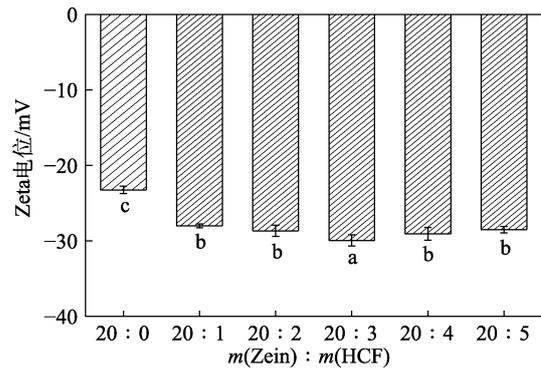


图 6 复合纳米颗粒的 Zeta 电位  
Fig. 6 Zeta potential of composite nanoparticles

### 2.5 包封率分析

复合纳米颗粒的包封率如图 7 所示。从图 7 可见, 随 HCF 用量的增加,  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 1 \sim 20 : 5$  复合纳米颗粒包封率呈先增大后减小的趋势, 包封率均在 80% 以上, 表明 HCF 能被较好地包埋在 Zein 纳米颗粒中。 $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 1 \sim 20 : 3$  时, 随着 HCF 用量的增加, 复合纳米颗粒包封率由 83.24% 显著提高至 92.19% ( $P < 0.05$ ),  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 4$  时, 包封率下降, 这可能与纳米颗粒中 HCF 的过饱和有关。此外, 由于过量的 HCF 导致部分 Zein 聚集成大颗粒并沉积, 制备过程中分离的沉积物增加, 导致包封率逐渐下降。在 Zein 对山苍子油的包封也出现类似现象<sup>[21]</sup>。

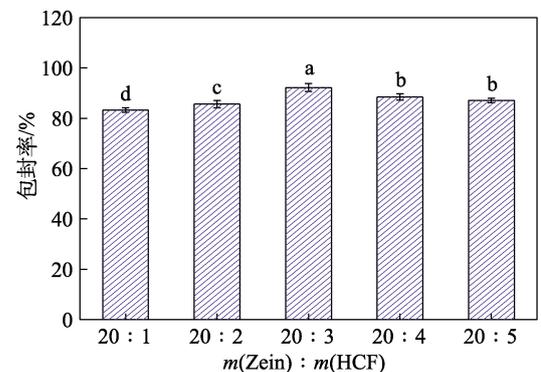
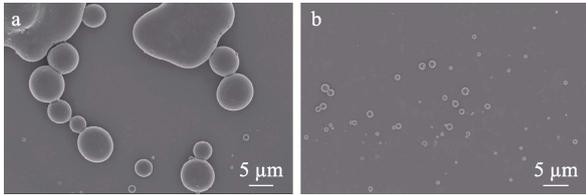


图 7 复合纳米颗粒对 HCF 的包封率  
Fig. 7 Encapsulation rate of HCF by composite nanoparticles

## 2.6 SEM 分析

采用 SEM 观察纳米颗粒的微观结构和表面形态, 结果见图 8。在反溶剂制备过程中, Zein 由松散状态自组装形成固体球形颗粒, 并通过氢键、范德华力、疏水相互作用、 $\pi$ - $\pi$  相互作用等驱动力将 HCF 包埋在 Zein 纳米颗粒内部。



a—Zein 纳米颗粒; b— $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF}) = 20 : 3$  的 Zein/HCF 复合纳米颗粒

图 8 复合纳米颗粒的 SEM 图

Fig. 8 SEM images of composite nanoparticles

如图 8a、b 所示, Zein 纳米颗粒粒径较大, 且出现团聚现象。 $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF}) = 20 : 3$  的复合纳米颗粒具有球形结构, 颗粒分布、大小相对均匀, 这与使用动态光散射法 (DLS) 测得的粒径结果一致。Zein 纳米颗粒由于极高的疏水性和不稳定性更容易聚集, 而 Zein/HCF 复合纳米颗粒由于 HCF 的加入使颗粒间静电斥力增强, 提供了更大的粒子间空间排斥。

## 2.7 体外抗氧化性分析

采用 DPPH、ABTS 实验评估复合纳米颗粒的抗氧化性能,  $V_c$  为对照, 自由基清除率越大说明样品的抗氧化活性越强。不同 HCF 质量浓度及复合纳米颗粒抗氧化活性结果如图 9 所示。

由图 9a 可知, 随着 HCF 质量浓度的增加, DPPH $\cdot$ 、ABTS $\cdot^+$ 清除率增加, 分别为 72.40%~88.22%、96.11%~99.51%。在氧化反应中, 黄酮类化合物如槲皮素等可以提供氢原子与自由基发生反应, 形成醌类游离中间体, 并在酚环共轭作用下趋于稳定, 阻断氧化链的传递, 防止过氧化反应<sup>[6]</sup>。由图 9b 可知, Zein 纳米颗粒对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $\cdot^+$ 清除率分别为 41.85%、38.57%。Zein 纳米颗粒具有一定的清除自由基能力, 这是因为, Zein 在反溶剂法制备纳米颗粒中蛋白质结构发生变化生成游离巯基, 与 WANG 等<sup>[15]</sup>的研究结果一致。复合纳米颗粒对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $\cdot^+$ 清除率随着体系中 HCF 用量的增加而增加, 分别为 70.99%~81.38%、89.16%~98.29%。复合纳米颗粒较高的抗氧化活性主要来源于 HCF 具有的强抗氧化能力。游离 HCF 自由基清除能力高于复合纳米颗粒, 原因为 HCF 部分酚羟基与蛋白发生相互作用, 降低了 HCF 与自由基碰撞的几率, 导致复合纳米颗粒的抗氧化性低于游离多酚<sup>[29]</sup>。但复合纳米颗粒的抗氧化性均低于  $V_c$ 。此外, 游离

HCF 及复合纳米颗粒对 ABTS $\cdot^+$ 清除效果均优于 DPPH $\cdot$ , 原因为不同自由基的氧化作用机制存在差异。

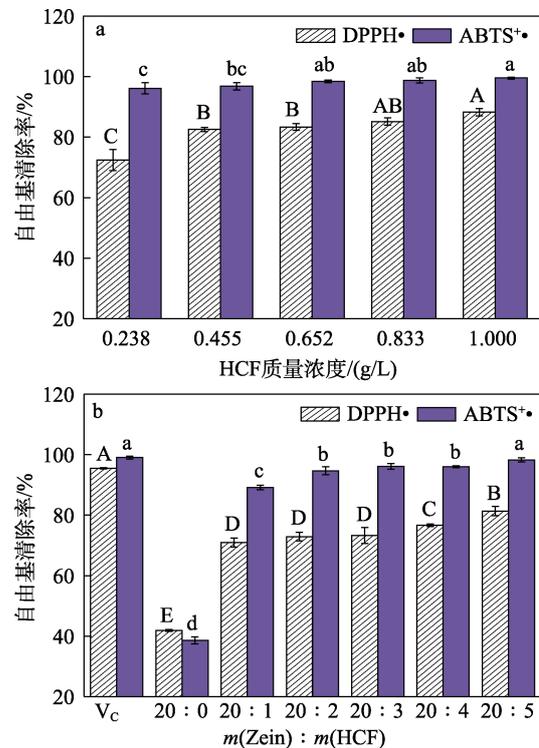


图 9 不同质量浓度 HCF 对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $\cdot^+$ 的清除率 (a); 复合纳米颗粒对 DPPH $\cdot$ 、ABTS $\cdot^+$ 的清除率 (b)

Fig. 9 Scavenging rate of different mass concentrations of HCF on DPPH $\cdot$  and ABTS $\cdot^+$  (a); Scavenging rate of composite nanoparticles on DPPH $\cdot$  and ABTS $\cdot^+$  (b)

## 2.8 加热稳定性分析

图 10 为温度对 HCF 保留率的影响。

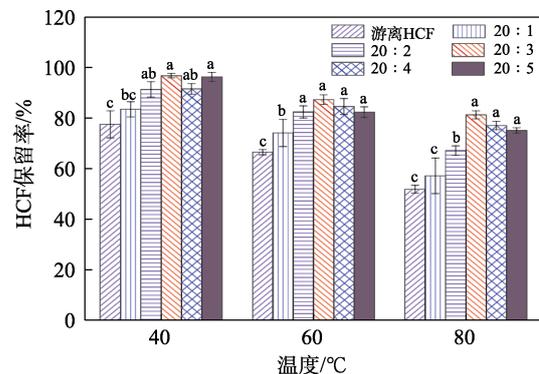


图 10 温度对 HCF 保留率的影响

Fig. 10 Effect of temperature on retention of HCF

HCF 被认为是一种稳定性差的黄酮类化合物, 研究表明, 加热等因素会导致黄酮类化合物降解并失去其生物活性, 测定复合纳米颗粒在不同加热温度下的 HCF 保留率, 可一定程度反映出复合纳米颗

粒的环境稳定性。如图 10 所示, 不同温度加热后, 复合纳米颗粒中 HCF 保留率均高于游离 HCF, 说明复合纳米颗粒具有较好的热处理保护能力。然而, 随着温度的升高, 嵌入在复合纳米颗粒中的 HCF 也会发生降解, 但降解速度明显低于游离 HCF, 其中  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 3$  时复合纳米颗粒的表现出较好的热保护能力, 加热温度为  $80\text{ }^\circ\text{C}$ , HCF 保留率为 81.29%, 游离 HCF 保留率仅为 51.84%。

### 2.9 模拟胃肠释放分析

人体胃肠道中 HCF 的控制释放非常重要, 影响其生物可及性和生物利用度。HCF 在 SGF 和 SIF 中的体外释放如图 11 所示。

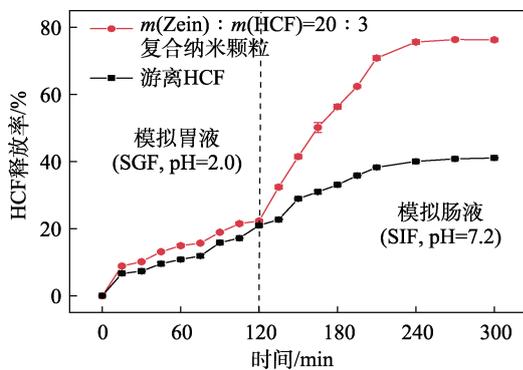


图 11 HCF 在模拟胃肠液中的释放

Fig. 11 HCF release in simulated gastrointestinal fluid

由图 11 可知, 游离 HCF 的生物可及性较低, SGF 消化后仅检出 20.98%。在 SGF 消化过程中, 复合纳米颗粒表现出较低的持续释放, SGF 消化 120 min 后 HCF 释放率仅为 22.31%, 说明复合纳米颗粒可以保护 HCF 不受胃蛋白酶的影响, 这是因为, Zein 在酸性环境中溶解度较低,  $\alpha$ -玉米蛋白二聚体不能在胃蛋白酶中被消化。WANG 等<sup>[15]</sup>研究表明, Zein 包埋的大麻二酚 (CBD) 复合纳米颗粒可有效抵抗胃蛋白酶的消化, 保持较低的 CBD 释放。纳米颗粒在 SIF 环境中 HCF 的释放率明显增大, 表明此时纳米颗粒运载体系破裂, HCF 快速游离出来, 释放率

增大。原因为肠部模拟环境的 pH 为 7.2, 在此条件下复合纳米颗粒易被胰蛋白酶消化而释放 HCF, 实现人体结肠部位的靶向释放<sup>[30]</sup>。模拟胃肠液 (SGF+SIF) 消化 240 min 时, 复合纳米颗粒的 HCF 释放率达到 75.66%, 游离 HCF 仅检出 40.09%。因为复合纳米颗粒基质可以抵挡酶对 HCF 的部分分解作用, 同时 Zein 因胰蛋白酶水解生成的多肽链可以与 HCF 发生结合, 有利于保护 HCF 在消化过程中的降解<sup>[26]</sup>。

采用零级释放方程 [ $M_t=kt+b$ , 其中,  $M_t$  为单位时间 ( $t$ ) 内 HCF 释放率, %, 下同;  $k$  为零级释放常数, %/min;  $t$  为释放时间, min, 下同;  $b$  为  $t=0$  时的  $M_t$ , %]、一级释放方程 [ $M_t=b(1-e^{-kt})$ , 其中,  $k$  为一级释放速率常数,  $\text{min}^{-1}$ ;  $b$  为  $t=0$  时的  $M_t$ , %]、Higuchi 平面扩散 ( $M_t=kt^{1/2}-b$ , 其中,  $k$  为释放速率常数,  $\text{min}^{-1/2}$ ;  $b$  为  $t=0$  时的  $M_t$ , %) 以及 Ritger-Peppas 方程 ( $M_t=kt^n$ , 其中,  $k$  为释放速率常数,  $\text{min}^{-n}$ ,  $n$  为释放指数) 分别对复合纳米颗粒在 SGF 和 SIF 120 min 内释放曲线进行拟合, 结果如表 1 所示。由表 1 可知, 复合纳米颗粒在 SGF+SIF 中的释放趋势均符合 Ritger-Peppas 模型,  $R^2$  分别为 0.983、0.997, 优于其他模型。HCF 释放机制与 Ritger-peppas 模型中的释放因子 ( $n$ ) 有关, 复合纳米颗粒 SGF 中的释放因子  $0.45 < n = 0.521 < 0.89$ , 属于非 Fick 扩散机制, 说明 HCF 在 SGF 中的释放是在扩散以及纳米颗粒溶蚀二者共同作用下进行的。复合纳米颗粒 SIF 中的释放因子  $n=0.429 < 0.45$ , 属于 Fick 扩散机制, 说明颗粒内外浓度差是影响 HCF 在 SIF 中释放的主因, 当纳米颗粒溶解时, HCF 的释放受控于基质溶蚀与扩散渗透机制。主要包括纳米颗粒表面的 HCF 的释放扩散、颗粒内外浓度差不同引起的以渗透压为驱动力的扩散; 此外, 消化液渗入纳米颗粒内部引起高分子材料膨胀, 分子链松弛, 骨架逐渐松散, 纳米颗粒发生溶胀破裂, HCF 受到扩散及溶胀的作用从内部向外转移; 纳米颗粒溶解后, 随着 Zein 保护层的溶解, 与 Zein 内部结构紧密结合的 HCF 逐渐被释放。

表 1 HCF 在模拟胃肠液中的释放机制

Table 1 Mechanism of HCF release in simulated gastrointestinal fluid

	模型	$k$	$b$	$R^2$	拟合方程
SGF	零级	0.164	4.131	0.913	$M_t=0.164t+4.131$
	一级	0.018	24.340	0.947	$M_t=24.340(1-e^{-0.018t})$
	Higuchi	1.995	-0.046	0.982	$M_t=1.995t^{1/2}+0.046$
	Ritger-Peppas	1.815	$n=0.521$	0.983	$M_t=1.815t^{0.521}$
SIF	零级	17.979	0.565	0.861	$M_t=17.979t+0.565$
	一级	75.977	0.026	0.976	$M_t=0.026(1-e^{-75.977t})$
	Higuchi	6.961	2.643	0.992	$M_t=6.961t^{1/2}-2.643$
	Ritger-Peppas	9.872	$n=0.429$	0.997	$M_t=9.872t^{0.429}$

注: 表中  $k$  和  $b$  只给出具体数值, 未给出单位。

### 3 结论

采用反溶剂法, 以 Zein 和 HCF 为原料, 成功制备了负载 HCF 的 Zein/HCF 复合纳米颗粒。考察了不同 Zein 和 HCF 质量比对 Zein/HCF 复合纳米颗粒形貌、结构、粒径、Zeta 电位、包封率的影响。FTIR、XRD 结果表明, Zein 与 HCF 间存在静电相互作用、氢键作用和疏水相互作用; DSC 曲线表明, 加入 HCF 后, Zein/HCF 复合纳米颗粒熔融温度增加, 热稳定性提高; Zein/HCF 复合纳米颗粒平均粒径在 150~300 nm 之间, PDI 均在 0.2 以内, 粒径分布均呈单峰分布, Zeta 电位均为负值。随着 HCF 用量的增加, Zein/HCF 复合纳米颗粒平均粒径、PDI 先减小后增大, Zeta 电位绝对值、包封率先增大后减小。 $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 3$  复合纳米颗粒平均粒径、PDI 最小、粒径分布最窄, Zeta 电位绝对值及包封率最大, 呈均匀性、分散性较好的圆球状。HCF 的加入使复合纳米颗粒具有较高的 DPPH·、ABTS<sup>+</sup>清除能力。与游离 HCF 相比,  $m(\text{Zein}) : m(\text{HCF})=20 : 3$  复合纳米颗粒具有较好的热处理保护能力, 提高了 HCF 的加热稳定性, 经 SGF 消化 120 min 后 HCF 释放率仅为 22.31%, 模拟胃肠液 (SGF+SIF) 消化 240 min 时, HCF 释放率达到 75.66%。缓释动力学模型拟合结果表明, HCF 在 SGF+SIF 中的释放趋势均符合 Ritger-Peppas 模型, 但释放机制不同, SGF 中属于非 Fick 扩散机制, 说明 HCF 释放是在扩散以及纳米颗粒溶蚀二者共同作用下进行的; 而在 SIF 中属于 Fick 扩散机制, 说明颗粒内外的浓度差是影响 HCF 释放的主因。本研究开发的复合纳米颗粒在功能性食品和制药行业中作为 HCF 或营养药品的输送载体具有很好的潜力, 同时为黄酮类化合物与植物源性蛋白质之间的相互作用提供了一定的理论依据。

### 参考文献:

- [1] FANG T (方甜). Preparation, characterization and application on covalent complexes of proteins and flavonoids from *Lycium barbarum* leaves[D]. Yinchuan: Ningxia University (宁夏大学), 2021.
- [2] GUAN H N (关桦楠), SUN Y M (孙艺铭), ZHANG Y (张悦), *et al.* Mechanism of plant protein-flavonoids interaction and its application in food functional properties improvement[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition) (河南工业大学学报: 自然科学版), 2022, 43(6): 129-137.
- [3] SUN Y W (孙艺伟). The study on the interaction characteristics and product development of ginkgo protein and flavonoids[D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University (武汉轻工大学), 2019.
- [4] WANG J, DEMPSEY E, CORR S C, *et al.* The traditional Chinese medicine *Houttuynia cordata* thymb decoction alters intestinal barrier function via an EGFR dependent MAPK (ERK1/2) signalling pathway[J]. Phytomedicine, 2022, 105: 154353.
- [5] LING L J, LU Y, ZHANG Y Y, *et al.* Flavonoids from *Houttuynia cordata* attenuate H1N1-induced acute lung injury in mice via inhibition of influenza virus and toll-like receptor signalling[J]. Phytomedicine, 2020, 67: 153150.
- [6] ZOU Y, QIAN Y, RONG X Y, *et al.* Encapsulation of quercetin in biopolymer-coated zein nanoparticles: Formation, stability, antioxidant capacity, and bioaccessibility[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 120: 106980.
- [7] LI W J, HUANG D J, SONG W X, *et al.* Pickering emulsions stabilized by zein-proanthocyanidins-pectin ternary composites (ZPAAPs): Construction and delivery studies[J]. Food Chemistry, 2023, 404: 134642.
- [8] LIU Q Y, CHEN J J, QIN Y, *et al.* Zein/fucoidan-based composite nanoparticles for the encapsulation of pterostilbene: Preparation, characterization, physicochemical stability, and formation mechanism [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 158: 461-470.
- [9] BI H M (毕会敏), YANG Z L (杨宗玲), FAN F Y (范方宇), *et al.* Preparation and properties of nano-SiO<sub>2</sub> modified *Rosa sterilis* flavonoids microcapsules[J]. Food and Fermentation Industries (食品与发酵工业), 2023, 49(2): 74-81.
- [10] CHANG Z G (常振刚), LIU Y J (刘彦君), PAN L (潘丽), *et al.* Optimization of preparation process of liposomes co-encapsulating phytosterol oleate and astaxanthin[J]. China Oils and Fats (中国油脂), 2023, 48(6): 108-113, 144.
- [11] LOU S R (娄尚荣), WEN M T (文梦婷), WANG Y (王岩), *et al.* Recent progress in the application of nanoparticle-stabilized pickering emulsion in food packaging[J]. Food Science (食品科学), 2023, 44(7): 344-352.
- [12] GALI L, BEDJOU F, FERRARI G, *et al.* Formulation and characterization of zein/gum arabic nanoparticles for the encapsulation of a rutin-rich extract from *Ruta chalepensis*[J]. Food Chemistry, 2022, 367: 129982.
- [13] XIE H J, LIU C Z, GAO J, *et al.* Fabrication of zein-lecithin-EGCG complex nanoparticles: Characterization, controlled release in simulated gastrointestinal digestion[J]. Food Chemistry, 2021, 365: 130542.
- [14] XU X E (许雪儿), LI J (李娟), CHEN Z X (陈正行). Construction and characterization of zein nanoparticles loaded with tocopherol[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology (中国食品学报), 2020, 20(12): 24-30.
- [15] WANG C, CUI B H, SUN Y H, *et al.* Preparation, stability, antioxidative property and *in vitro* release of cannabidiol (CBD) in zein-whey protein composite nanoparticles[J]. LWT, 2022, 162: 113466.
- [16] YANG J, LIN J Q, CHEN X X, *et al.* *Mesona chinensis* polysaccharide/zein nanoparticles to improve the bioaccessibility and *in vitro* bioactivities of curcumin[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 295: 119875.
- [17] YANG Z L (杨宗玲), LI H (李晗), FAN F Y (范方宇), *et al.* Ultrasound-assisted enzymatic extraction of flavonoids from *Rosa sterilis* pomace and its antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry (食品工业科技), 2021, 42(13): 184-192.
- [18] YANG T T (杨婷婷), REN L S (任李顺), CHEN G W (陈光未), *et al.* Preparation and properties of zein loaded phytosterol nanoparticles[J]. Food Science (食品科学), 2023, 44(18): 40-48.
- [19] CHEN Y Y, WANG J T, RAO Z N, *et al.* Study on the stability and oral bioavailability of curcumin loaded (-)-epigallocatechin-3-gallate/poly(*N*-vinylpyrrolidone) nanoparticles based on hydrogen bonding-driven self-assembly[J]. Food Chemistry, 2022, 378: 132091.
- [20] REN G R, SHI J Y, HUANG S J, *et al.* The fabrication of novel zein and resveratrol covalent conjugates: Enhanced thermal stability, emulsifying and antioxidant properties[J]. Food Chemistry, 2022, 374: 131612.
- [21] XIA Y T, WANG Y, LOU S R, *et al.* Fabrication and characterization of zein-encapsulated *Litsea cubeba* oil nanoparticles and its effect on the quality of fresh pork[J]. Food Bioscience, 2022, 49: 101834.
- [22] WEI Y, YU Z P, LIN K S, *et al.* Fabrication and characterization of resveratrol loaded zein-propylene glycol alginate-rhamnolipid composite nanoparticles: Physicochemical stability, formation mechanism and *in vitro* digestion[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 336-348.