文章编号:1674-2869(2025)02-0187-07

玉米醇溶蛋白基芦丁颗粒的构建、表征及稳定性分析

周雨晨,党志雄,蔡佳乐,杨 芳*
武汉工程大学环境与生态工程学院,绿色化工过程教育部重点实验室(武汉工程大学),国家磷资源开发利用工程技术研究中心,新型反应器与绿色化学工艺湖北省重点实验室,湖北 武汉 430205

摘 要:为了提高芦丁的生物利用率,以玉米醇溶蛋白为载体采用反溶剂法制备包载芦丁的玉米醇溶蛋白纳米颗粒,并对其进行表征。研究结果表明:采用不同的玉米醇溶蛋白和芦丁质量比制备的纳米颗粒粒径都小于200 nm;当玉米醇溶蛋白与芦丁质量比为7∶1时,芦丁的包载率达到最高(50.50%);Docking分子对接和红外光谱分析表明,玉米醇溶蛋白与芦丁结合的主要驱动力是氢键、静电和疏水作用力。此外,玉米醇溶蛋白芦丁纳米颗粒在远离等电点和高盐时稳定性较好。

关键词:反溶剂法;芦丁;玉米醇溶蛋白;纳米颗粒;表征
中图分类号:TQ460 **文献标识码**:A **DOI**:10.19843/j.cnki.CN42-1779/TQ.202412001

Preparation, characterization, and stability analysis of zein-based rutin nanoparticles

ZHOU Yuchen, *DANG Zhixiong*, *CAI Jiale*, *YANG Fang**
School of Environmental Ecology and Biological Engineering, Wuhan Institute of Technology, Key Laboratory of Green Chemical Process of Ministry of Education (Wuhan Institute of technology), Engineering Research Center of Phosphorus Resources Development and Utilization of Ministry of Education, Hubei Key Laboratory of Novel Reactor and Green Chemical Technology, Wuhan 430205, China

Abstract: To improve the bioavailability of rutin, the antisolvent precipitation method was employed to prepare zein nanoparticles encapsulatin with rutin, and the properties of nanoparticles were characterized and analyzed. The results showed that the average particle sizes of all nanoparticles with different mass ratio of zein to rutin were under 200 nm in diameter. When the mass ratio of zein to rutin was 7∶1, the encapsulation efficiency of rutin reached the highest level (50.50%). Notably, both molecules docking analysis and Fourier transform infrared spectrometry confirmed that rutin and zein might interact through hydrogen bonding, electrostatic and hydrophobic interactions. Moreover, the stability of the nanoparticles was significantly enhanced when they were kept away from the isoelectric point and high-salt environments.

Keywords: antisolvent method; rutin; zein; nanoparticles; characterization

芦丁(rutin,Rut)是一种天然的黄酮衍生物,广泛存在于人们日常食用的各种蔬菜、水果和中草药中[1]。据报道,蓼科荞麦(*Fagopyrumesculentum* Moench)是天然Rut的主要来源[2]。许多研究已经证实,Rut具有广泛的生物学活性,如抗氧化、抗炎、抗癌、心脏保护和神经保护作用等[3]。但是,Rut的生物利用度因其水溶性低、稳定性差、膜透性有限等而受限[4]。研究表明,将Rut封装在适

收稿日期:2024-12-02
基金项目:国家自然科学基金(31701604);磷资源开发利用教育部工程研究中心开放/创新基金(GCP202103);绿色化工过程教育部重点实验室开放项目(GCP202103)
作者简介:周雨晨,硕士研究生。Email:a528051474@163.com
***通信作者**:杨 芳,博士,教授。Email:yangfang2001@126.com
引文格式:周雨晨,党志雄,蔡佳乐,等 . 玉米醇溶蛋白基芦丁颗粒的构建、表征及稳定性分析[J]. 武汉工程大学学报,2025,47(2):187-193.

当的纳米载体中，可以提高其环境稳定性，防止其降解，并促进其更有效地进入胃肠道内壁的上皮细胞，提高其生物利用度[5]。

在制备纳米载体的原料中，蛋白质具有安全性和生物相容性，适合应用于食品保鲜、包装及制药行业，并且蛋白结构中所包含的羟基、羧基以及氨基等多种官能团可与生物活性小分子相互作用[6]。玉米醇溶蛋白(Zein)为玉米蛋白粉中的主要贮藏蛋白，是一种独特而复杂的天然植物大分子。Zein具有独特的自组装功能特性和两亲特性，Zein中含有较高比例的疏水性氨基酸，分子结构中有明显的亲水部分区和疏水部分区，这使得它特别适合于递送功能性组分，从而广泛应用于生物活性物质、药物等的荷载、运输和控释[7]。

本文通过反溶剂法构建负载Rut的Zein纳米颗粒(Z/R)，研究了复合纳米颗粒的粒径、封装效率、微观形貌以及物理稳定性[8]。通过多光谱法研究Zein与Rut的相互作用。采用紫外可见吸收光谱和荧光光谱探究Zein和Rut复合物的形成过程，采用傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectrometry，FTIR)探讨Zein与Rut在形成纳米颗粒时的主要驱动力，使用分子对接预测Rut和蛋白Zein的亲和位点和相互作用。该研究为扩大Rut的应用范围和蛋白纳米输送系统的开发利用提供实验依据。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

Zein、Rut，阿拉丁试剂(上海)有限公司；无水乙醇、氢氧化钠、浓盐酸、氯化钠，国药集团化学试剂有限公司。

JJ124BC型电子天平，常熟市双杰测试仪器厂；UV-1800PC型紫外-可见分光光度计，翱艺仪器(上海)有限公司；XHF-DY型离心机，宁波新芝生物科技股份有限公司；RE-2000A型旋转蒸发仪，上海亚荣生化仪器厂；LGJ-60A型真空冷冻干燥器，上海豫明仪器有限公司；LA-920型马尔文粒度分析仪，英国马尔文仪器；JEM2100型透射电镜，日本电子株式会社；NICOLET6700型傅里叶红外光谱仪，美国Thermo Fisher公司。

1.2 Z/R的制备

对Li等[9]提出的方法稍作修改，采用反溶剂法制备纳米颗粒，将0.2 g Zein溶解在20 mL体积分数70%乙醇水溶液中，600 r/min磁力搅拌2 h。然后取不同质量的Rut与Zein溶液，使Zein与Rut的质量比分别为15∶1、12∶1、10∶1、7∶1和5∶1，将溶液在600 r/min下搅拌1 h。接着取20 mL Zein-Rut乙醇水溶液加入60 mL去离子水中，经磁力搅拌30 min形成分散体。通过蒸发分散体中残留的乙醇，制备了Zein-Rut复合物纳米颗粒。Zein和Rut的质量比分别为15∶1、12∶1、10∶1、7∶1和5∶1的样品分别表示为$Z/R_{15:1}$、$Z/R_{12:1}$、$Z/R_{10:1}$、$Z/R_{7:1}$和$Z/R_{5:1}$。最后，将分散体储存在4 ℃的冰箱中备用，并将部分分散体冷冻干燥48 h获得干燥粉末。

1.3 粒径、分散系数及zeta电位的测定

用动态光散射(dynamic light scattering，DLS)测定粒径、分散系数(polydispersity index，PDI)和zeta电位[10]。将胶体样品在室温下用超纯水稀释至适当体积，在25 ℃下进行(3个不同批次)测量。粒度分布以散射强度为基础。

1.4 包封率的测定

Rut在复合纳米颗粒中的包封率(encapsulated efficiency，EE)按照Gagliardi等[11]的方法测定并稍加修改。分别配制不同浓度的Rut乙醇溶液，测定其在359 nm处的吸光度值。以Rut的浓度为横坐标，吸光度值为纵坐标绘制标准曲线。自组装纳米粒子在4 ℃放置24 h后，放入超滤浓缩离心管中在4 ℃，4 000 g条件下离心20 min，取滤液，于359 nm处测定吸光度，并使用标准曲线计算Rut的含量。根据式(1)计算Rut的EE。

$$p(\mathrm{EE}) = (1-m_1/m_0)\times 100\% \quad (1)$$

其中m_1和m_0分别为制备的Z/R中未负载Rut和总Rut的质量。

1.5 紫外光谱

用紫外分光光度计记录了样品在200~450 nm的紫外-可见光谱[12]。取体积分数80%乙醇进行基线校正。

1.6 荧光光谱

通过荧光分光光度计对蛋白的内源荧光光谱进行扫描[13]，发射波长扫描范围为290~500 nm，激发波长为280 nm，扫描速度为240 nm/min，激发狭缝及发射狭缝为5 nm。

1.7 微观形貌

通过透射电子显微镜(transmission electron microscope，TEM)对样品的形态进行了表征[14]。取一滴分散液置于铜网格上5 min，然后用滤纸擦拭多余的溶液，在铜网格中形成薄液膜层。样品在空气中干燥，然后用TEM在工作电压为200 kV下观察，拍照。

1.8　FTIR

对Li等[15]提出的方法稍加修改，将新鲜制备的纳米颗粒冻干后与溴化钾按比例混合，置于研钵内充分研磨，压片。使用FTIR扫描，得到样品红外光谱图。检测条件：室温下干燥的环境。扫描范围：4 000~400 cm^{-1}，分辨率4 cm^{-1}，累加64次，以空气为背景，每次扫描前抠除背景。

1.9　Docking分子模拟对接

对接使用的Zein蛋白晶体结构从Alphafold数据库（https://alphafold.ebi.ac.uk/）中下载获得，检索ID为O48966，小分子Rut的3D结构从PUBCHEM数据库下载获得，并在MMFF94力场下进行能量最小化。本研究采用AutoDock Vina 1.1.2软件进行分子对接工作，在对接开始前，使用PyMol 2.5.2对受体蛋白进行处理，包括去除水分子、盐离子以及小分子。随后设置对接盒子，使之包裹整个蛋白结构。此外，使用ADFRsuite 1.0.3将所有处理后的小分子以及受体蛋白转换为AutoDock Vina 1.1.2对接标准PDBQT格式。对接时，全局搜索的详尽度设为32，其余参数保持默认设置。输出的打分最高的对接构象被认为是结合构象，最后使用PyMol 2.5.2进行对接结果可视化分析[16]。

1.10　环境稳定性

1.10.1　pH稳定性　用0.1 mmol/L盐酸和氢氧化钠将装载Rut的Z/R的pH值调节为3.0~7.0，间隔为1.0，并测定粒径。

1.10.2　氯化钠稳定性　将新鲜制备的装载Rut的Z/R用10、20、30、40和50 mmol/L的氯化钠溶液稀释10倍，连续混合30 min后采用DLS方法分析粒度分布。

1.11　数据的处理与分析

所有测量均重复进行3次，并使用SPSS软件对实验结果进行统计学检验（$P \leqslant 0.05$）和方差分析。所有数据均以平均值±标准差（standard deviation，SD）报告。

2　结果与讨论

2.1　PDI、zeta电位分析及EE

较大的颗粒倾向于聚集，适当的粒子大小与布朗运动引起的较高的重力稳定性有关[17]。释放度、生物利用度和感官特性也随纳米颗粒的大小而变化[18]。为了优化纳米颗粒的制备工艺，研究了Zein与Rut的质量比。由表1得到，Zein自组装后的平均粒径为154 nm。加入Rut的比例低于12∶1时，Z/R的平均粒径降低，当加入Rut的比例高于10∶1时，纳米颗粒的平均粒径显著增加（$P < 0.05$）。PDI值均未显著变化（$P > 0.05$），并且始终保持大于0.3。这些结果表明，少量加入Rut可以形成更小的纳米颗粒，让纳米更稳定，但因为Zein具有疏水区，颗粒间易发生疏水相互作用，从而导致部分纳米颗粒聚集，所以粒径分布广泛。

表1　Zein和Z/R体系的粒径、PDI、zeta电位和EE

Tab. 1　The particle size, PDI, zeta potential and EE of Zein and Z/R systems

样品	粒径 / nm	PDI	zeta电位 / mV	EE
Zein	154.47±2.89^{cd}	0.51±0.02	−28.47±0.23^{f}	#
$Z/R_{15:1}$	152.00±0.10^{d}	0.49±0.01	−16.83±0.21^{e}	40.00±1.74^{c}
$Z/R_{12:1}$	141.57±4.31^{e}	0.57±0.07	−5.54±0.34^{d}	38.89±0.70^{c}
$Z/R_{10:1}$	160.77±4.40^{bc}	0.55±0.03	−0.58±0.73^{c}	36.63±1.58^{c}
$Z/R_{7:1}$	163.80±1.22^{b}	0.53±0.01	5.39±0.73^{b}	50.50±2.06^{a}
$Z/R_{5:1}$	190.63±5.08^{a}	0.48±0.10	21.40±0.70^{a}	46.14±2.88^{b}

注：所有数据均以（平均值±SD）表示。同一列中不同字母的值有显著差异（$P < 0.05$）。

Zeta电位一直被认为是评估纳米颗粒系统稳定性的良好方法。根据纳米颗粒之间的电荷斥力，预计zeta电位值在高于+30 mV或低于−30 mV时，纳米颗粒具有较好的稳定性[19]。为了更好地了解Zein与Rut之间的相互作用，测量了不同质量比下的复合物的电位表现。不含Rut的Zein的zeta电位为−28.47 mV。随着Rut含量的增加，Z/R颗粒的平均zeta电位显著增加（$P < 0.05$）。据文献[20]报道，在蛋白质的自组装过程中，暴露在表面的氨基酸的改变会影响蛋白质的表面电荷。Rut少量加入时，依旧能保持较高的zeta电位，而Rut的大量加入会破坏Zein表面的电荷平衡，导致纳米颗粒聚集，这与粒径的分析结果相符合。

EE是评价纳米颗粒制备是否成功的重要指标。由表1得到，当Zein与Rut的质量比由15∶1变为7∶1时，EE显著增加（$P < 0.05$），从40.00%增加到50.50%。但随着Rut（$Z/R_{5:1}$）的增加，EE（$P < 0.05$）显著下降至46.14%。结果表明，当Zein与Rut的质量比为7∶1时，EE达到了最理想的效果。

2.2　紫外光谱分析

紫外-可见光谱可以用来判断Rut对Zein中酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸存在环境的影响，酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸的特征吸收分别为275、279和257 nm，这些疏水性氨基酸因其固有非极性特性，一般聚集于蛋白质疏水核心区域中[21]。

如图1所示，在230 nm附近的吸收峰属于Zein。

随着Rut含量的增加，Zein的另一吸收峰出现在275~280 nm附近，Z/R的紫外吸收强度高于Zein。吸收强度的增大表明，由于Rut和Zein的相互作用，导致Zein展开，Z/R复合物中Tyr残基暴露于溶剂的程度更高[12]。吸收强度与Rut添加量呈正相关，表明蛋白质展开程度随Rut添加量的增加而增加。这些结果表明Zein的结构随Rut的加入而发生变化，并形成新的纳米颗粒。

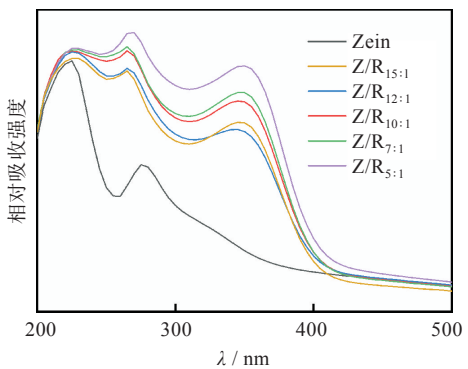


图1 不同Rut添加量的Z/R体系的紫外光谱

Fig. 1 UV spectra of Z/R systems with different additional amounts of Rut

2.3 荧光光谱分析

分子间或分子内相互作用可诱导蛋白的荧光特性发生变化，故荧光光谱可用于分析不同生物聚合物之间的相互作用，是研究蛋白质构象的有效工具[22]。色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸是蛋白质的生色团，在很大程度上决定了蛋白质是否具有荧光性。由于Zein中缺乏色氨酸，因此常用酪氨酸基团的变化来研究Zein与小分子的相互作用[23]。

如图2所示，Zein的发射峰在305 nm处，这一结果与之前所报道的结论一致[24]。随着Rut含量的增加，其强度逐渐降低并发生蓝移。这表明Zein的结构由于分子间的相互作用而变得更紧密。同时，氨基酸残基的微环境也发生了改变，说明酪氨酸所处微环境的非极性强度增强。荧光淬灭可以用Stern-Volmer方程式(2)来描述：

$$F_0/F = 1 + K_q\tau_0 Q = 1 + K_{SV}Q \quad (2)$$

式中：F_0为未加淬灭剂时蛋白质本身的荧光强度；F为加入淬灭剂后反应体系的荧光强度；K_q为反应体系的动态淬灭速率常数；τ_0为淬灭剂未加入时蛋白质内荧光分子本身固有的平均寿命，一般为10^{-8} s；K_{SV}为动态淬灭常数；Q为淬灭剂的浓度。

将K_{SV}的值与2×10^{10} mol/L^{-1} s^{-1}进行比较，通过式(2)确定淬灭类型是动态淬灭还是静态淬灭。由于Z/R的K_{SV}总是$> 2\times10^{10}$ mol/L^{-1} s^{-1}，表明Rut对Zein淬灭主要来自静态淬灭。

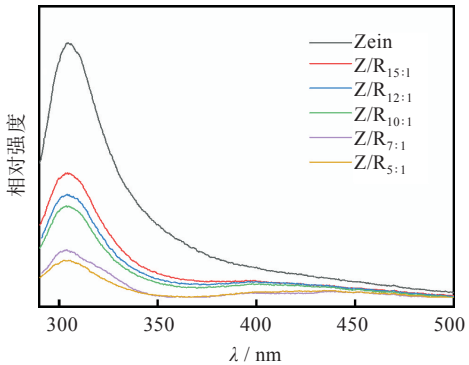


图2 不同Rut添加量的Z/R体系的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of Z/R systems with different additional amounts of Rut

2.4 微观形态分析

根据上述分析，选择荷载率最高的Z/R$_{7:1}$的纳米颗粒用于后续的分析。为了更形象地表征Z/R$_{7:1}$的纳米颗粒，采用TEM检测Zein(a)和Z/R$_{7:1}$(b)的显微结构。

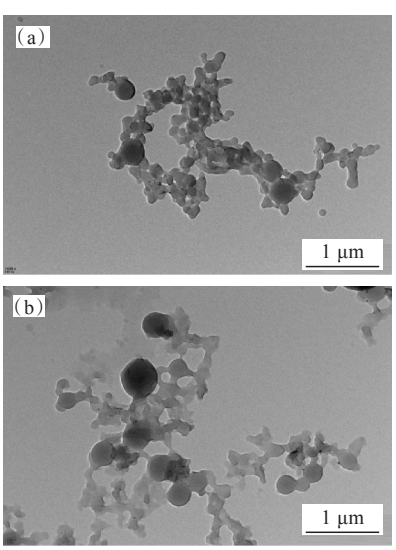


图3 Zein(a)和Z/R$_{7:1}$(b)TEM图像

Fig. 3 TEM images of Zein (a) and Z/R$_{7:1}$ (b)

由图3可得，这两种纳米颗粒的结构相似，在外观上呈球形结构，且出现了很多聚集和絮凝物。Zein和Z/R$_{7:1}$的粒度均约等于150 nm，与粒度测量结果一致。且由于Zein具有疏水区间和不稳定的特性，颗粒间存在交联和聚集状态，导致DLS测量的PDI值更高，这与文献[25]的结果一致。

2.5 理化稳定性分析

2.5.1 pH稳定性 将纳米颗粒纳入食品系统时，必须考虑加工和储存过程中将其暴露于不同pH条件下的情况。同时，纳米颗粒在胃肠中的pH值也会发生变化。Z/R$_{7:1}$纳米颗粒在不同pH环境中的粒径和PDI如图4所示。

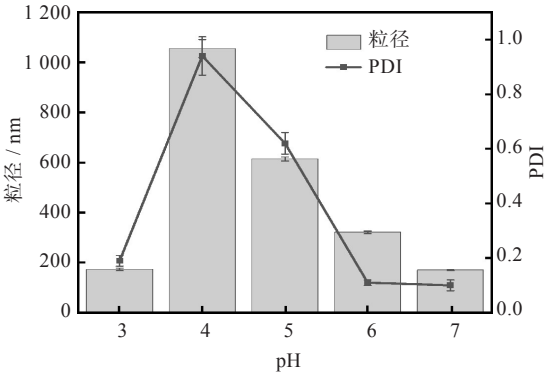


图4　pH对$Z/R_{7:1}$的影响

Fig. 4　Effect of pH on $Z/R_{7:1}$

不同的pH值会影响Zein的静电特性，从而影响纳米颗粒的表面电荷，纳米颗粒之间的静电相互作用发生了变化，从而影响了纳米颗粒的絮凝或聚集。图4中，Zein纳米颗粒在pH为3.0或者6.0以上时，粒径都比较小，在pH为4.0~6.0之间时发生了严重的聚集，表明Zein纳米颗粒在大部分pH环境下都比较稳定，只有当pH值接近等电点时，Zein纳米颗粒才会聚集。

2.5.2　离子强度稳定性　纳米颗粒在制备过程中常涉及盐类，较差的离子稳定性会限制它们的制备和应用，因此，有必要进行离子强度稳定性测试，以评估纳米颗粒[26]。$Z/R_{7:1}$纳米颗粒在不同盐离子浓度环境中的粒径和PDI如图5所示。

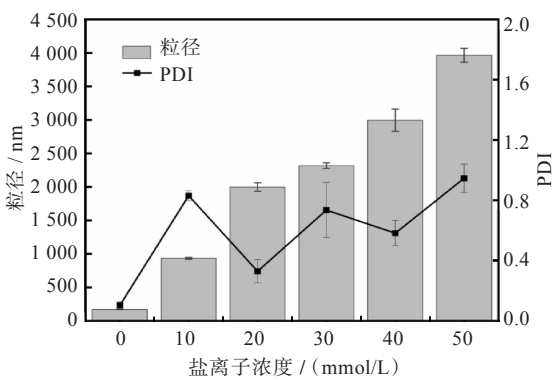


图5　盐离子对$Z/R_{7:1}$纳米颗粒的影响

Fig. 5　Effect of salt ions on $Z/R_{7:1}$ nanoparticles

氯化钠会通过改变纳米颗粒的表面电荷来影响颗粒间的絮凝程度[27]。在图5中，$Z/R_{7:1}$纳米颗粒的粒径随着NaCl浓度的增加而变大，这可能是因为高盐状态下，盐离子吸附在纳米颗粒表面，中和了纳米颗粒的表面电荷，减弱了纳米颗粒之间的静电作用，导致纳米颗粒聚集。

2.6　FTIR分析

FTIR通常用于研究纳米颗粒中分子之间的相互作用，可以有效地识别特征官能团。特征官能团与光谱中的特征峰有关。分子间的相互作用可以从光谱中峰的形状、位置和强度推断出来。

如图6所示，Zein的FTIR在3 300 cm^{-1}处有显著吸收峰，对应于N—H的伸缩振动[28]。Zein中酰胺I和酰胺II发生在1 654和1 532 cm^{-1}处，酰胺I带与C—O伸缩有关，酰胺II吸收峰归因于N—H和C—O面内弯曲和C—N拉伸[29]。Rut的特征峰为3 422 cm^{-1}（O—H拉伸振动）、1 656 cm^{-1}（C=O拉伸）、1 504 cm^{-1}（C=C，芳香）、1 361 cm^{-1}（C—O，酚类）和1 203 cm^{-1}（C—O—C），这与其他研究报道的结果类似[30]。与Zein相比，$Z/R_{7:1}$纳米颗粒的O—H拉伸振动峰从3 300 cm^{-1}红移到3 316 cm^{-1}。由于氢键会降低恢复力从而使拉伸振动的频率降低，所以酰胺I带的红移表明Zein的N—H键与Rut之间存在氢键相互作用[31]。同时，吸收强度随着振动键极性的增加而增加，$Z/R_{7:1}$纳米粒子的低吸收峰表明随着Rut的加入，Rut和Zein的相互作用导致Zein中酰胺键的极性发生了偏移。酰胺I带α-螺旋（1 646~1 664 cm^{-1}）、β-折叠（1 615~1 637 cm^{-1}和1 682~1 700 cm^{-1}）、β-转角（1 664~1 681 cm^{-1}）和无规卷曲（1 637~1 645 cm^{-1}）代表了蛋白质不同的二级结构[28]。$Z/R_{7:1}$纳米颗粒的光谱显示酰胺I和酰胺II组从1 654 cm^{-1}和1 532 cm^{-1}位移到1 663 cm^{-1}和1 525 cm^{-1}。这说明Rut的加入会改变Zein的α-螺旋结构。由于Rut是高度疏水的分子，疏水相互作用也参与了纳米颗粒的形成[32]。此外，1 100 cm^{-1}的峰主要由芳香结构的C—H弯曲振动所导致[33]，$Z/R_{7:1}$纳米粒子在1 100 cm^{-1}处的峰发生细微变化，证明Rut成功结合在Zein上。

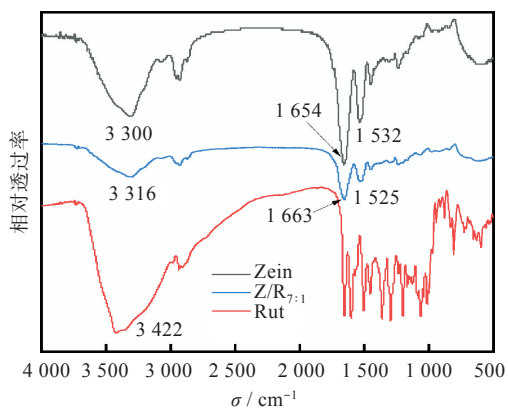


图6　Zein、Rut和$Z/R_{7:1}$的红外光谱图

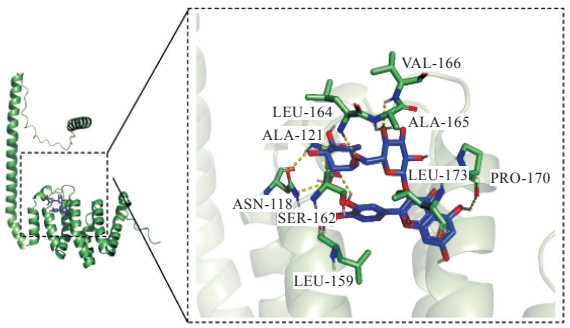
Fig. 6　FTIR spectra of Zein, Rut and $Z/R_{7:1}$

2.7　Docking分子对接结果分析

分子对接是将小分子对接到大分子结构中，并对其在结合位点的互补值进行打分的过程。本

文使用Docking分子对接来预测Rut和蛋白Zein的亲和位点和相互作用[34]。

小分子Rut与蛋白Zein的相互作用如图7所示，Rut结合在蛋白内部α螺旋形成的空腔当中。而由相互作用细节图可知小分子Rut与蛋白Zein上的ASN-118、SER-162、LEU-159、LEU-164、VAL-166、ALA-165、PRO-170发生氢键作用。因此，氢键作用是Rut与蛋白Zein结合的主要作用力。此外，Rut还和ALA-121、LEU-159、LEU-173之间存在着疏水相互作用，可进一步加强结合。



注：蓝色为小分子Rut，绿色为Zein，黄色虚线表示氢键。

图7 小分子Rut与Zein的结合模式图

Fig. 7 Binding patterns of small molecule Rut to Zein

3 结 论

本研究成功构建了基于Zein与Rutin的纳米颗粒，其创新性体现在：通过反溶剂法制备的Z/R具有均一粒径分布（150~200 nm），Zein与Rut质量比为7∶1时展现出最优荷载参数（EE＞50%，zeta电位绝对值＞30 mV）和均一的球形形貌（TEM验证）。结合多尺度表征手段（荧光光谱、FTIR与分子对接模拟）证实，氢键与疏水作用力是驱动蛋白-多酚复合物自组装的核心分子机制。该纳米体系在宽pH范围（非等电点区）与低离子强度环境下保持较好的稳定性，其结构-功能耦合特性为开发植物蛋白基递送载体提供了新的理论依据与技术路径。

参考文献

[1] 李珂，冯亚莉，曹瑞梅，等. 芦丁的结构修饰及生物活性研究进展[J]. 中草药，2021，52(20)：6413-6424.

[2] 何永艳，冯佰利，邓涛，等. 荞麦提取物抗氧化活性研究[J]. 西北农业学报，2007(6)：76-79，84.

[3] 褚旭芳，宋顺喆，王笑楠，等. 芦丁与消化系统炎症性疾病关系的研究进展[J]. 医学综述，2019，25(20)：4122-4127.

[4] GULLÓN B，LÚ-CHAU T A，MOREIRA M T，et al. Rutin：a review on extraction，identification and purification methods，biological activities and approaches to enhance its bioavailability[J]. Trends in Food Science & Technology，2017，67：220-235.

[5] 黄一可. 姜黄素和芦丁微波法提取、纳米载药体系构建及其抗氧化活性的研究[D]. 重庆：重庆医科大学，2017.

[6] WONG K H，LU A，CHEN X，et al. Natural ingredient-based polymeric nanoparticles for cancer treatment[J]. Molecules，2020，25(16)：3620.

[7] GITERU S G，ALI M A，OEY I. Recent progress in understanding fundamental interactions and applications of zein[J]. Food Hydrocolloids，2021，120：106948.

[8] KOLAHI P，SHEKARCHIZADEH H，NASIRPOUR A. Stabilization of pickering emulsion using tragacanth nanoparticles produced by a combination of ultrasonic and anti-solvent methods[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture，2022，102(4)：1353-1362.

[9] LI H，XU Y，SUN X，et al. Stability，bioactivity，and bioaccessibility of fucoxanthin in zein-caseinate composite nanoparticles fabricated at neutral pH by antisolvent precipitation[J]. Food Hydrocolloids，2018，84：379-388.

[10] LI J P，LI L. Effect of extrusion temperature on the structure and emulsifying properties of soy protein isolate-oat β-glucan conjugates formed during high moisture extrusion[J]. Food Chemistry，2023，429：136787.

[11] GAGLIARDI A，PAOLINO D，COSTA N，et al. Zein- vs PLGA-based nanoparticles containing rutin：a comparative investigation[J]. Materials Science and Engineering：C，2021，118：111538.

[12] ZHANG X Y，MA D H，YIN C P，et al. The biological activity，functionality，and emulsion stability of soybean meal hydrolysate-proanthocyanidin conjugates[J]. Food Chemistry，2024，432：137159.

[13] MENG R，WU Z Z，XIE Q T，et al. Preparation and characterization of zein/carboxymethyl dextrin nanoparticles to encapsulate curcumin：physicochemical stability，antioxidant activity and controlled release properties[J]. Food Chemistry，2021，340：127893.

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

[15] LI J P，YANG J J，LI J Z，et al. Structure and rheological properties of extruded whey protein

isolate：impact of inulin[J]. International Journal of Biological Macromolecules，2023，226：1570-1578.
[16] POLAT KÖSE L，KÖSE A. Identification of hCA I，hCA II，AChE and BChE inhibitory properties of some norcantharimide derivatives；molecular docking，SAR and in silico ADME studies[J]. Chemistry Select，2024，9(16)：e202400684.
[17] ASFOUR M H，MOHSEN A M. Formulation and evaluation of pH-sensitive rutin nanospheres against colon carcinoma using HCT-116 cell line[J]. Journal of Advanced Research，2018，9：17-26.
[18] BHATTACHARJEE S. DLS and zeta potential - what they are and what they are not?[J]. Journal of Controlled Release，2016，235：337-351.
[19] MURDOCK R C，BRAYDICH-STOLLE L，SCHRAND A M，et al. Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to in vitro exposure using dynamic light scattering technique[J]. Toxicological Sciences，2008，101(2)：239-253.
[20] CHEN H L，XU B G，ZHOU C S，et al. Multi-frequency ultrasound-assisted dialysis modulates the self-assembly of alcohol-free zein-sodium caseinate to encapsulate curcumin and fabricate composite nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids，2022，122：107110.
[21] REN X F，ZHANG X，LIANG Q F，et al. Effects of different working modes of ultrasound on structural characteristics of Zein and ACE inhibitory activity of hydrolysates[J]. Journal of Food Quality，2017：7896037.
[22] SKRT M，BENEDIK E，PODLIPNIK Č，et al. Interactions of different polyphenols with bovine serum albumin using fluorescence quenching and molecular docking[J]. Food Chemistry，2012，135(4)：2418-2424.
[23] SHUKLA R，CHERYAN M. Zein：the industrial protein from corn[J]. Industrial Crops and Products，2001，13(3)：171-192.
[24] LIU F，MA C，MCCLEMENTS D J，et al. A comparative study of covalent and non-covalent interactions between zein and polyphenols in ethanol-water solution[J]. Food Hydrocolloids，2017，63：625-634.
[25] CHUACHAROEN T，SABLIOV C M. Stability and controlled release of lutein loaded in zein nanoparticles with and without lecithin and pluronic F127 surfactants[J]. Colloids and Surfaces A：Physicochemical and Engineering Aspects，2016，503：11-18.
[26] LI H，YUAN Y K，ZHU J X，et al. Zein/soluble soybean polysaccharide composite nanoparticles for encapsulation and oral delivery of lutein[J]. Food Hydrocolloids，2020，103：105715.
[27] MWANGI W W，HO K W，TEY B T，et al. Effects of environmental factors on the physical stability of pickering-emulsions stabilized by chitosan particles[J]. Food Hydrocolloids，2016，60：543-550.
[28] ZHAO T T，HUANG L，LUO D H，et al. Fabrication and characterization of anchovy protein hydrolysates-polyphenol conjugates with stabilizing effects on fish oil emulsion[J]. Food Chemistry，2021，351：129324.
[29] COOPER E A，KNUTSON K. Fourier transform infrared spectroscopy investigations of protein structure[J]. Pharmaceutical Biotechnology，1995，7：101-143.
[30] REMANAN M K，ZHU F. Encapsulation of rutin using quinoa and maize starch nanoparticles[J]. Food Chemistry，2021，353：128534.
[31] BARTH A. Infrared spectroscopy of proteins[J]. Biochimica et Biophysica Acta（BBA）- Bioenergetics，2007，1767(9)：1073-1101.
[32] MENG R，WU Z，XIE Q T，et al. Preparation and characterization of zein/carboxymethyl dextrin nanoparticles to encapsulate curcumin：physicochemical stability，antioxidant activity and controlled release properties[J]. Food Chemistry，2021，340：127893.
[33] SCHMIDT V，GIACOMELLIC，SOLDI V. Thermal stability of films formed by soy protein isolate-sodium dodecyl sulfate[J]. Polymer Degradation and Stability，2005，87(1)：25-31.
[34] SAIKIA S，BORDOLOI M. Molecular docking：challenges，advances and its use in drug discovery perspective[J]. Current Drug Targets，2019，20(5)：501-521.

本文编辑：张　瑞