

载槲皮素复合纳米颗粒制备及稳定性和缓释性能

刘志军, 秦薪博, 李志义, 刘凤霞, 许晓飞, 魏 炜*

(大连理工大学 流体与粉体工程研究设计所, 辽宁 大连 116024)

摘要: 以槲皮素 (Que) 和玉米醇溶蛋白 (Zein) 为核, 酪蛋白酸钠 (SC) 或 SC-海藻酸钠 (SA) 为壳, 采用抗溶剂沉淀法和静电吸附法制备了 SC 单壳层载槲皮素复合纳米颗粒 (Q-Z-SC) 和 SC-SA 双壳层载槲皮素复合纳米颗粒 (Q-Z-SC-SA)。在 $m(\text{Zein}) : m(\text{SC}) = 1 : 1$ 条件下, 分别考察了 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ 、 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ 对 Q-Z-SC、Q-Z-SC-SA 的粒径分布、Zeta 电位、Que 包埋率的影响。采用 FTIR 探究了 Q-Z-SC 和 Q-Z-SC-SA 的形成机制。通过稳定性和体外模拟释放实验, 分析了 pH 和离子强度 (NaCl 溶液浓度) 对 Q-Z-SC、Q-Z-SC-SA 稳定性的影响和模拟胃肠条件的 Que 释放情况。结果表明, 由 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein}) : m(\text{SC}) = 1 : 25 : 25$ 制备的 Q-Z-SC ($Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$) 的平均粒径为 158.2 nm, Que 包埋率为 79.53%; 由 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein}) : m(\text{SC}) = 1 : 25 : 25$ 、 $m(\text{SC}) : m(\text{SA}) = 25 : 7.50$ 制备的 Q-Z-SC-SA ($Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$) 的平均粒径为 251.6 nm, Que 包埋率高达 90.71%。静电、氢键和疏水相互作用是复合纳米颗粒形成的主要作用力。 $Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 和 $Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 均具有优异的 pH 和离子强度稳定性。 $Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 和 $Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 在模拟胃消化阶段的 Que 释放率分别为 87.23% 和 69.40%, 在模拟肠消化阶段的 Que 释放率分别为 11.04% 和 22.64%。

关键词: 槲皮素; 玉米醇溶蛋白; 酪蛋白酸钠; 海藻酸钠; 纳米颗粒; 食品化学品

中图分类号: TQ469 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2025) 03-0611-09

Preparation, stability and slow release performance of quercetin loaded composite nanoparticles

LIU Zhijun, QIN Xinbo, LI Zhiyi, LIU Fengxia, XU Xiaofei, WEI Wei*

(R & D Institute of Fluid and Powder Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116024, Liaoning, China)

Abstract: Sodium caseinate (SC) single shell quercetin nanoparticles (Q-Z-SC) and SC-sodium alginate (SA) double shell quercetin nanoparticles (Q-Z-SC-SA) were prepared by antisolvent precipitation and electrostatic adsorption method using quercetin (Que) and zein (Zein) as core, and SC or SC-SA as shell. The effects of $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ and $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ on particle size distribution, Zeta potential and Que embedding rate of Q-Z-SC and Q-Z-SC-SA with $m(\text{Zein}) : m(\text{SC}) = 1 : 1$ were analyzed, with the formation mechanism explored by FTIR. And the influence of pH and ionic strength (NaCl solution concentration) on the stability of Q-Z-SC, Q-Z-SC-SA and Que release under simulated gastrointestinal conditions were evaluated by stability and *in vitro* simulated release experiments. The results demonstrated that the mean particle size and Que embedding rate of Q-Z-SC ($Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$) prepared from $m(\text{Que}) : m(\text{Zein}) : m(\text{SC}) = 1 : 25 : 25$ was 158.2 nm and 79.53%, respectively, while those of Q-Z-SC-SA ($Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$) prepared from $m(\text{Que}) : m(\text{Zein}) : m(\text{SC}) = 1 : 25 : 25$ and $m(\text{SC}) : m(\text{SA}) = 25 : 7.50$ were 251.6 nm and 90.71%. The formation of composite nanoparticles was driven by electrostatic, hydrogen bonding and hydrophobic interactions. Both $Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ and $Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ exhibited excellent pH and ionic strength stabilities, as well as the capacity to regulate the release of Que under simulated gastrointestinal conditions. Que release rates of $Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ and $Q_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ in simulated gastric digestion stage were 87.23% and 69.40%, respectively, while 11.04% and 22.64%, respectively, in simulated intestinal

收稿日期: 2024-03-14; 定用日期: 2024-04-08; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240219

作者简介: 刘志军 (1969—), 男, 博士生导师, E-mail: liu_zhijun@aliyun.com。联系人: 魏 炜 (1980—), 女, 副教授, E-mail: hjweiwei@dlut.edu.cn。

digestion stage.

Key words: quercetin; zein; sodium caseinate; sodium alginate; nanoparticles; food chemicals

槲皮素 (Que) 是一种在自然界中广泛存在的多羟基黄酮类化合物^[1], 具有抗病毒^[2]、抗氧化^[3]、抗炎^[3]、抗癌^[4]、抗肿瘤^[5]等多种药理作用, 应用前景广阔。但因其水溶性和脂溶性差, 在自然条件下易被氧化降解等, 导致其生物利用度较低^[6], 限制了 Que 在实际生活中大规模地推广使用。研究发现, 将 Que 包埋在乳液^[7]、脂质体^[8]、共价交联微粒^[9]和聚合物纳米颗粒^[10]等载体中可以有效解决这些问题。其中, 纳米颗粒因其生物相容性、生物可降解性和温和的制备条件而受到广泛研究^[11]。

近年来, 大量研究利用不同种类的蛋白质, 如玉米醇溶蛋白 (Zein)^[12]、豌豆蛋白^[13]、酪蛋白^[14]等制备纳米颗粒, 用于包埋 Que 等疏水性生物活性化合物。PATEL 等^[15]利用酪蛋白酸钠 (SC) 稳定的 Zein 纳米颗粒包埋 Que, 提高了 Que 的 pH 稳定性和光化学稳定性。然而, 由于蛋白质对消化系统中的酶非常敏感^[16], 蛋白质基纳米颗粒在胃肠道环境下的稳定性较差。大量研究表明, 三元复合纳米颗粒在包封、保护和递送生物活性化合物方面具有广阔的应用前景^[17]。LIU 等^[18]利用 Zein、虫胶和壳聚糖制备三元复合纳米颗粒包埋 Que, 显著提高了 Que 的抗氧化能力, 实现了 Que 的体外可控释放。壳聚糖作为多糖涂层有效提高了 Zein 基纳米颗粒在模拟胃肠液中的溶解度和稳定性。

海藻酸钠 (SA) 是一种天然线性阴离子多糖, 因其来源广泛、价格低廉以及独特的生物活性等优势被广泛用于食品和制药领域, 是纳米颗粒的常用壁材之一。目前, 基于 Zein、SC 和 SA 的三元复合纳米颗粒包埋 Que 的研究鲜见报道, 其对 Que 的封装保护和释放作用尚不明确。

本文拟分别以 SC 单壳层和 SC-SA 双壳层稳定的 Zein 纳米颗粒包埋 Que, 考察各组分质量比对 Que 包埋率的影响, 分析各组分结合机理、复合纳米颗粒在不同 pH 和离子强度下的稳定性及其在模拟胃肠条件下的释放情况。以期为多元复合纳米颗粒包埋 Que 的研究提供参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

Que, 大连医诺生物技术有限公司; Zein、SC, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; SA、磷酸, 天津市科密欧化学试剂有限公司; 无水乙醇, 天津市

富宇精细化工有限公司; Na_2HPO_4 , 天津市大茂化学试剂厂; KH_2PO_4 , 上海麦克林生化科技股份有限公司; NaOH、NaCl, 天津市东丽区天大化学试剂厂; 人工胃液、人工肠液, 上海源叶生物科技有限公司。以上试剂均为分析纯。

UV-1800SPC 型紫外-可见分光光度计 (UV-Vis), 上海美析仪器有限公司; Nicolet 6700 型傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; LGJ-12 型冷冻干燥机, 北京松源华兴科技发展有限公司; SmartLab 型 X 射线衍射仪 (XRD), 日本 Rigaku 公司; RE2000A 型旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; DF101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器, 上海力辰邦西仪器科技有限公司; Zetasizer Nano ZS90 型纳米粒度及 Zeta 电位分析仪, 英国 Malvern 仪器有限公司; JSM-7900F Plus 型场发射扫描电子显微镜 (SEM), 日本 JEOL。

1.2 方法

1.2.1 单壳层载 Que 复合纳米颗粒的制备

采用抗溶剂沉淀法制备单壳层载槲皮素复合纳米颗粒。首先, 称取 1.50 g 的 Zein 粉末倒入 60 mL 体积分数 80% 乙醇水溶液中, 在 750 r/min 下持续搅拌 30 min, 再加入 0.06 g 的 Que 粉末继续搅拌 30 min (Que 与 Zein 的质量比为 1 : 25), 得到 Zein-Que 乙醇溶液。取 2 mL 的 Zein-Que 乙醇溶液注射入 10 mL 质量浓度为 5 g/L 的 SC 水溶液中 (保持 Zein 和 SC 的质量比为 1 : 1), 在 750 r/min 下持续搅拌 30 min 后, 升至 50 °C 旋蒸除去纳米分散液中残留的乙醇。将得到的复合纳米颗粒分散液分为两部分: 一部分经真空冷冻干燥至恒重并研磨, 得到 SC 单壳层载 Que 复合纳米颗粒粉末 (Q-Z-SC), 记为 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ (下标代表 Que、Zein、SC 的质量比为 1 : 25 : 25, 下同), 放置在 4 °C 冰箱中冷藏, 用于固态表征; 另一部分分散液放置在 4 °C 冰箱中冷藏, 用于粒径分布和 Zeta 电位的测定。

采用上述同样操作, 只调整 Que 粉末加入量分别为 0.300、0.150、0.075、0.050、0.0375 和 0.030 g, 即 Que 与 Zein 的质量比分别为 1 : 5、1 : 10、1 : 20、1 : 30、1 : 40 和 1 : 50, 制备的 Q-Z-SC 分别记为 $\text{Q}_1\text{-Z}_5\text{-SC}_5$ 、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{10}\text{-SC}_{10}$ 、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{20}\text{-SC}_{20}$ 、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{30}\text{-SC}_{30}$ 、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{40}\text{-SC}_{40}$ 、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{50}\text{-SC}_{50}$, 将不含 Que 的 Zein 乙醇溶液注入 SC 水溶液中制备 SC 修饰的 Zein 纳米颗粒 ($\text{Z}_{25}\text{-SC}_{25}$) 作为对照。同样地, 将 2 mL 的 Zein-Que

乙醇溶液或 Zein 乙醇溶液注射入 10 mL 去离子水中制备 Q₁-Z₂₅ 和 Zein 纳米颗粒作为对照。

1.2.2 双壳层载 Que 复合纳米颗粒制备

首先按照 1.2.1 节方法制备 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 分散液; 然后采用静电吸附法制备双壳层载 Que 复合纳米颗粒。将 10 mL 质量浓度为 1.50 g/L 的 SA 水溶液倒入 12 mL 的 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 分散液中 (SC 与 SA 的质量比为 10 : 3), 在 750 r/min 下持续搅拌 30 min; 最后升温至 50 °C 旋蒸除去纳米分散液中残留的乙醇。将得到的复合纳米颗粒分散液分为两部分: 一部分放入冰箱 -20 °C 预冻后进行真空冷冻干燥, 得到 SC、SA 双壳层载 Que 复合纳米颗粒粉末 (Q-Z-SC-SA), 记为 Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA_{7.5} (下标代表 Que、Zein、SC、SA 的质量比为 1 : 25 : 25 : 7.5, 下同); 另一部分分散液记为 Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA_{7.5} 分散液。将复合纳米颗粒粉末和分散液存放在 4 °C 冰箱中用于进一步分析。

采用上述同样操作, 只调整 SA 质量浓度分别为 0.50、0.75、1.00、1.25、2.00、2.50、3.00、5.00 g/L, 即 SC 与 SA 的质量比分别为 25 : 2.50、25 : 3.75、25 : 5.00、25 : 6.25、25 : 10.00、25 : 12.50、25 : 15.00、25 : 25.00, 制备的 Q-Z-SC-SA 分别记为 Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA_{2.5}、Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA_{3.75}、Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA₅、Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA_{6.25}、Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA₁₀、Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA_{12.5}、Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA₁₅、Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA₂₅。采用同样方法制备不含 Que 的 SC 和 SA 稳定的 Zein 纳米颗粒 (Z-SC-SA) 作为对照。

1.3 结构表征与性能测试

1.3.1 结构表征

粒径分布和 Zeta 电位测试: 将待测样品分散液用去离子水适当稀释, 利用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪测定其粒径分布和剪切面的 Zeta 电位值, 设置温度为 25 °C, 平衡时间为 120 s, 以水 (折射率为 1.33) 为分散剂, 每个样品重复测定 3 次取算数平均值。FTIR 测试: 采用溴化钾压片法测定待测样品粉末的 FTIR 谱图, 波数范围 4000~500 cm⁻¹, 分辨率 4 cm⁻¹, 扫描次数 32 次。XRD 测试: 采用 XRD 对待测样品粉末进行结晶结构测试, 条件为: 连续模式, 步长 0.02°, 扫描速率 2 (°)/min, 扫描范围 2θ=5°~80°。SEM 测试: 将复合纳米颗粒粉末样品均匀地涂抹在贴有双面导电胶的铜条上, 用氮气气枪吹去未粘牢的样品粉末, 使用镀膜仪喷金后, 装入 SEM 测量台观察其表面形貌。

1.3.2 性能测试

1.3.2.1 Que 包封率和载药量测定

取 3.0 mL 新鲜制备的 Q-Z-SC 复合纳米颗粒分散液或 5.5 mL 新鲜制备的 Q-Z-SC-SA 复合纳米颗粒分散液在 5000×g 下离心 10 min, 用无水乙醇适当

稀释上清液, 用紫外-可见分光光度计测定其在 373 nm 下的吸光度。采用吸光度 (y)-Que 质量浓度 (x) 标准曲线拟合方程 ($y=52.32424x+0.05673$, $R^2=0.9994$) 计算 Que 的质量。复合纳米颗粒中的 Que 包埋率 (EE, %) 和载药量 (LC, %) 分别由公式 (1) 和 (2) 计算。

$$EE/\% = m_1/m_2 \times 100 \quad (1)$$

$$LC/\% = m_1/m_3 \times 100 \quad (2)$$

式中: m_1 为复合纳米颗粒粉末中 Que 的质量, mg; m_2 为 Zein-Que 乙醇溶液中的 Que 总质量, mg; m_3 为复合物的总质量, mg。

1.3.2.2 pH 稳定性测试

将 3 mL 新鲜制备的 Q-Z-SC 或 Q-Z-SC-SA 分散液与 7 mL 磷酸盐缓冲液 (PBS, pH=2.0~8.0) 混合, 静置 2 h 后, 取出 1 mL 溶液以 2000×g 离心 10 min, 用紫外-可见分光光度计测定上清液在 373 nm 处的吸光度, 按 1.3.2.1 节所述标准曲线方程计算 Que 的质量。根据公式 (3) 计算 Que 保留率 (R_1 , %)。

$$R_1/\% = m_1/m_2 \times 100 \quad (3)$$

式中: m_1 为离心后上清液中测得 Que 的质量, mg; m_2 为 1 mL 经 pH 处理后的复合纳米颗粒中的 Que 总质量, mg。

剩余未离心处理但经 pH 处理后的复合纳米颗粒分散液放入 4 °C 冰箱中冷藏, 用于粒径分布和 Zeta 电位的测定。

1.3.2.3 盐离子强度稳定性测试

将 5 mL 新鲜制备的 Q-Z-SC 或 Q-Z-SC-SA 分散液与 5 mL 的 NaCl 溶液 (浓度 30~3000 mmol/L) 混合, 静置 2 h 后, 测量其粒径分布和 Zeta 电位。

1.4 体外消化模拟实验

参照文献[19]方法并稍作修改。使用透析袋法模拟胃肠道消化环境, 将 3 mL 复合纳米颗粒分散液样品和 3 mL 人工胃液混合, 放入透析袋 (截留相对分子质量 3500 Da) 中, 将透析袋放在 80 mL 模拟胃液释放介质中, 置于 37 °C 水浴中消化 2 h。模拟胃消化结束后, 将 6 mL 人工小肠液加入透析袋, 并将其移至 80 mL 人工小肠液释放介质中, 置于 37 °C 水浴中消化 4 h, 每 30 min 取出 3 mL 消化液, 并补充等体积相应释放介质。按 1.3.2.1 节所述方法测定 Que 释放量。根据公式 (4) 计算 Que 释放率 (R_2 , %)。

$$R_2/\% = m_1/m_2 \times 100 \quad (4)$$

式中: m_1 为释放介质中的 Que 质量, mg; m_2 为透析袋中加入的复合纳米颗粒中含有的 Que 总质量, mg。

2 结果与讨论

2.1 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ 对 Q-Z-SC 性能的影响

图 1 为 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ 对 Q-Z-SC 平均粒径和分散指数 (PDI) 的影响。可以看出, 在 $m(\text{Zein}) : m(\text{SC})=1 : 1$ 的条件下, 随着 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ 在 $1 : 5 \sim 1 : 50$ 之间逐渐变小, Q-Z-SC 的平均粒径从 143.3 nm 逐渐增加至 167.8 nm; PDI 在 0.20~0.35 之间, 表明 Q-Z-SC 的粒径分布均匀。当 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})=1 : 25$ 时, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的平均粒径为 158.2 nm。

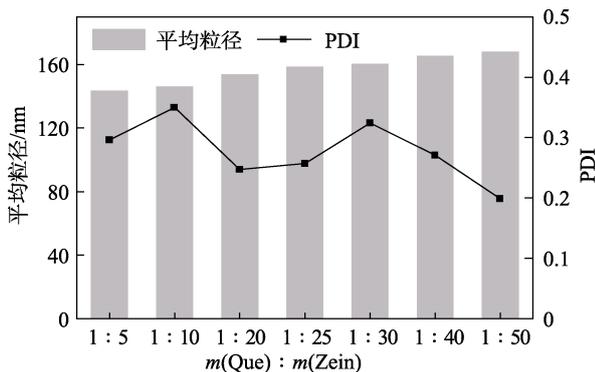


图 1 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ 对 Q-Z-SC 平均粒径和 PDI 的影响
Fig. 1 Effect of $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ on mean particle size and PDI of Q-Z-SC

图 2 为 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ 对 Q-Z-SC 中 Que 的包埋率和载药量的影响。可以看出, 随着 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ 在 $1 : 5 \sim 1 : 50$ 之间逐渐变小, Que 包埋率呈先升高后趋于稳定的趋势。当 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})=1 : 25$ 时, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 Que 包埋率最大, 为 79.53%, 载药量为 1.56%。

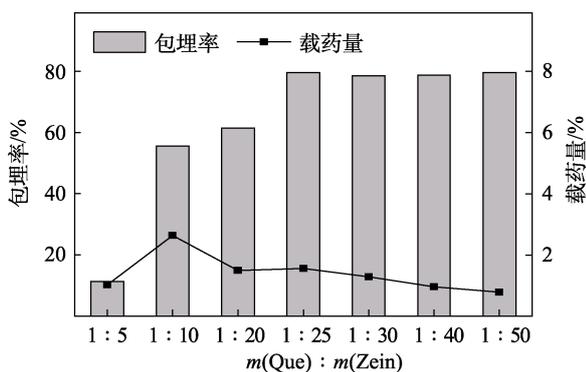


图 2 $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ 对 Q-Z-SC 的 Que 包埋率和载药量的影响
Fig. 2 Effect of $m(\text{Que}) : m(\text{Zein})$ on Que embedding rate and loading capacity of Q-Z-SC

2.2 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ 对 Q-Z-SC-SA 性能的影响

图 3 为 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ 对 Q-Z-SC-SA 平均粒径和 PDI 的影响。

由图 3 可以看出, 随着 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ 在 $25 :$

$2.50 \sim 25 : 25.00$ 之间逐渐变小, Q-Z-SC-SA 的平均粒径从 189.6 nm 增加到 616.7 nm, 当 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})=25 : 7.50$ 时, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 平均粒径为 251.6 nm。

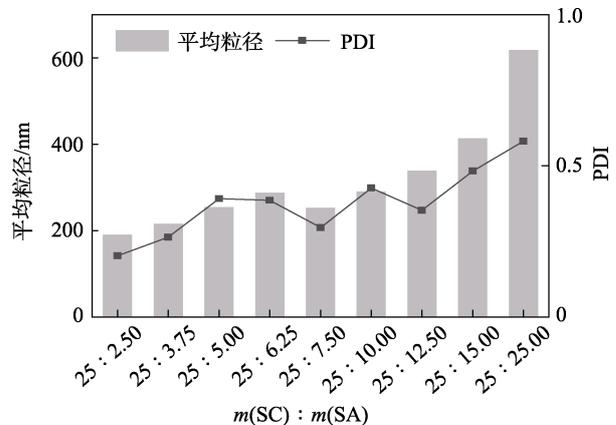


图 3 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ 对 Q-Z-SC-SA 的平均粒径和 PDI 的影响
Fig. 3 Effect of $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ on mean particle size and PDI of Q-Z-SC-SA

图 4 为 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ 对 Q-Z-SC-SA 的 Que 包埋率和载药量的影响。

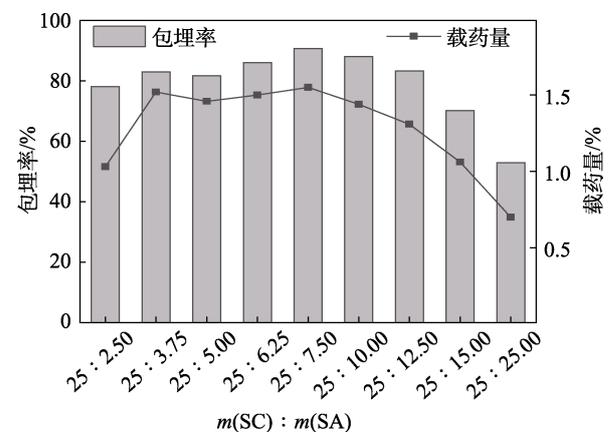


图 4 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ 对 Q-Z-SC-SA 的 Que 包埋率和载药量的影响
Fig. 4 Effect of $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ on Que embedding rate and loading capacity of Q-Z-SC-SA

从图 4 可以看出, 随着 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$ 在 $25 : 2.50 \sim 25 : 25.00$ 之间逐渐变小, Que 在 Q-Z-SC-SA 中的包埋率先升高后降低。当 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})=25 : 7.50$ 时, Que 在 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 中的包埋率最大, 为 90.71%, 表明 SA 的加入显著提高了 Que 在 Q-Z-SC-SA 中的包埋率。文献^[20-21]报道了类似的实验结果, 即多糖涂层的加入显著提高了包埋材料的包封效率。当 $m(\text{SC}) : m(\text{SA}) < 5 : 7.50$ 时, Que 包埋率降低, 表明 SA 的进一步增加会降低复合物对 Que 的负载能力, 这可能是由于 SA 发生了聚集。随着 $m(\text{SC}) : m(\text{SA})$

在 25 : 2.50~25 : 25.00 之间逐渐变小, SA 质量占比增加, Q-Z-SC-SA 的载药量先升高后降低, 当 $m(SC) : m(SA)=25 : 7.50$ 时, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 的载药量最大, 为 1.55%。

2.3 复合纳米颗粒形貌分析

图 5 为 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 和 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 的 SEM 图。可以看出, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 具有球形结构和光滑的表面, 颗粒分布均匀, 粒径约为 100 nm (图 5a)。加入 SA 后, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 的表面变得略微粗糙, 且平均粒径增至约 150 nm (图 5b)。

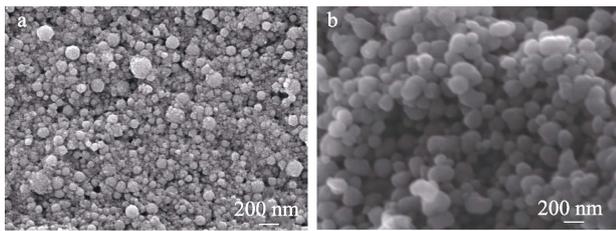


图 5 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ (a) 和 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ (b) 的 SEM 图
Fig. 5 SEM images of $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ (a) and $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ (b)

2.4 复合纳米颗粒形成机制分析

图 6 为复合纳米颗粒的 Zeta 电位。

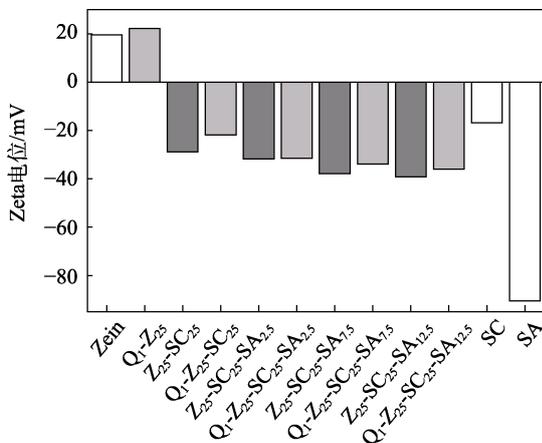


图 6 复合纳米颗粒的 Zeta 电位
Fig. 6 Zeta potential of composite nanoparticles

可以看出, Zein 纳米颗粒的 Zeta 电位为 +19.6 mV, 这是由于酸性 pH 环境下 Zein 结构中的氨基酸电离而表现出的正电性^[15,22-23]; 负载 Que 后, Q_1-Z_{25} 纳米颗粒的 Zeta 电位增加到 +22.2 mV, 这是由于在 Q_1-Z_{25} 纳米颗粒形成过程中, Que 分子主要与 Zein 表面的疏水基团相结合, 而亲水的带电基团几乎不受影响, 一部分颗粒通过结合的 Que 分子之间的吸引力相互作用形成更大尺寸的缔合颗粒, 增加了 Q_1-Z_{25} 纳米颗粒的净电荷^[24]; 加入 SC 后, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 Zeta 电位由 Q_1-Z_{25} 纳米颗粒的正电位

(+22.2 mV) 变为负电位 (-21.8 mV), 这是由于水溶液中的 SC 带负电, 与带正电的 Zein 发生静电相互作用, 吸附在 Zein 纳米颗粒表面^[15]; SA 的 Zeta 电位为 -90.5 mV, 这是由于 pH=7 环境下, SA 结构中羧基的氢离子解离而表现出电负性^[25], 因此, SA 的加入进一步提高了 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 的电负性。当 $m(SC) : m(SA)$ 从 25 : 2.50 变化至 25 : 7.50 和 25 : 12.50 时, Zeta 电位从 $Z_{25}-SC_{25}-SA_{2.5}$ 复合纳米颗粒的 -31.8 mV 变化至 $Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 复合纳米颗粒的 -37.8 mV 和 $Z_{25}-SC_{25}-SA_{12.5}$ 复合纳米颗粒的 -39.2 mV, 电负性逐渐增加, 这表明 SA 进一步吸附在 SC 稳定的 Zein 纳米颗粒表面, 原因可能是 SC 不足以完全覆盖 Zein 纳米颗粒的所有正电荷斑块, 这给予了 SA 通过静电相互作用以空插入的方式与 Zein 的正电荷斑块相结合的机会^[19]。在 Z-SC 和 Z-SC-SA 复合纳米颗粒中包封 Que 后, Q-Z-SC 和 Q-Z-SC-SA 复合纳米颗粒的 Zeta 电位绝对值略微减小。

FTIR 谱图可以提供生物分子中不同官能团的存在和相互作用的相关信息。图 7 为 Que、Zein、SC、 $Z_{25}-SC_{25}$ 复合纳米颗粒和 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 FTIR 谱图。

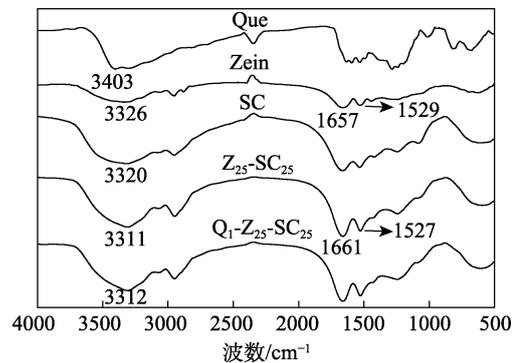


图 7 Que、Zein、SC、 $Z_{25}-SC_{25}$ 和 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 FTIR 谱图
Fig. 7 FTIR spectra of Que, Zein, SC, $Z_{25}-SC_{25}$ and $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$

从图 7 可以看出, 在 Zein 的 FTIR 谱图中观察到蛋白质的酰胺 I 带 (1657 cm^{-1}) 和酰胺 II 带 (1529 cm^{-1}) 特征峰, 并且在 3326 cm^{-1} 处有 O—H 键的伸缩振动峰; 在 SC 的 FTIR 谱图中观察到 1400~1650 cm^{-1} 区域内源自酰胺键的特征峰, 并且在 3320 cm^{-1} 附近有较宽的 O—H 键的伸缩振动特征峰^[26]; $Z_{25}-SC_{25}$ 复合纳米颗粒的 FTIR 谱图中, 与 Zein 相比, O—H 伸缩振动峰从 3326 cm^{-1} 移动到 3311 cm^{-1} , 说明 Zein 和 SC 之间存在氢键, 酰胺 I 带和酰胺 II 带分别移动到 1661 和 1527 cm^{-1} , 表明静电相互作用也参与了 $Z_{25}-SC_{25}$ 复合纳米颗粒的形成^[27], 这与以往的研究结果一致^[28]; Que 在 3403 cm^{-1} 处有较宽的特征吸收

峰, 这与 O—H 基团的伸缩振动有关, 在 1100~1600 cm^{-1} 区域内可以观察到源自 Que 结构中的芳香环弯曲和伸缩振动的特征吸收峰^[29]; 在 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 的 FTIR 谱图中, Que、Zein 和 SC 的 O—H 键伸缩振动峰蓝移至 3312 cm^{-1} , 说明 Que 和 Zein 之间产生了氢键^[30], 同时, Que 在 1100~1600 cm^{-1} 区域内的大部分特征峰都消失不见, 说明 Que 被成功包埋在复合纳米颗粒中, 其与 Zein 之间强烈的氢键限制了 Que 官能团的弯曲和伸缩振动。

图 8 为 SA、 $\text{Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 的 FTIR 谱图。

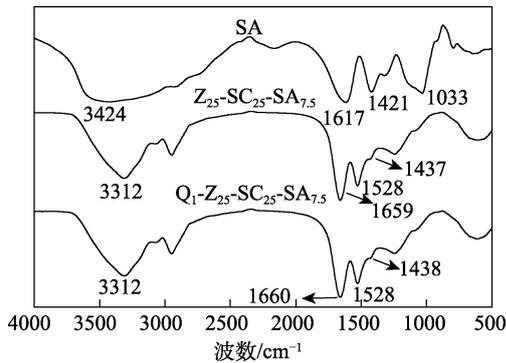


图 8 SA、 $\text{Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 的 FTIR 谱图
Fig. 8 FTIR spectra of SA, $\text{Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ and $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$

从图 8 可以看出, 在 SA 的 FTIR 谱图中可以观察到 3424 cm^{-1} 附近存在 O—H 键的伸缩振动峰, 1617 和 1421 cm^{-1} 处存在源自羧基的伸缩振动特征峰, 1033 cm^{-1} 处的特征吸收峰对应于 SA 多糖结构单元中 C—O—C 键的伸缩振动。在 $\text{Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 的 FTIR 谱图中, Zein 中 3326 和 1529 cm^{-1} 处的特征吸收峰蓝移, 1657 cm^{-1} 处的特征吸收峰红移; 此外, 在 1437 cm^{-1} 处观察到一个新的特征吸收峰, 这些光谱的变化可能是由于 Zein 中的氨基和 SA 中的羧基之间的相互作用^[31]。 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 和 $\text{Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 相比, FTIR 谱图未发生明显变化, Que 在 1100~1600 cm^{-1} 区域内的大部分特征峰也都消失不见, 说明 Que 被成功包埋在 $\text{Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 复合纳米颗粒中。

2.5 复合纳米颗粒晶体结构分析

图 9 为 Que、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 和 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 的 XRD 谱图。

可以看出, Que 在 $2\theta=10^\circ\sim 30^\circ$ 范围内显示出许多强峰, 表明其具有结晶性, 而经包埋后, $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 和 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 的上述特征衍射峰均消失, 说明 Que 在复合纳米颗粒中失去了晶型结构, 以无定形的非晶体状态存在。

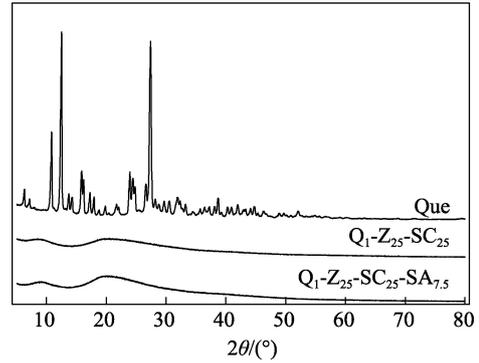


图 9 Que、 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 和 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 的 XRD 谱图
Fig. 9 XRD patterns of Que, $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ and $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$

2.6 pH 对复合纳米颗粒稳定性的影响

构建的复合纳米颗粒作为生物活性成分的递送载体, 在人体胃肠道内和食品加工过程中会遭遇剧烈的 pH 变化, 因此, 研究复合纳米颗粒的 pH 稳定性对其实际应用具有重要意义。图 10 为 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 和 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 外观随 pH 的变化实物图。

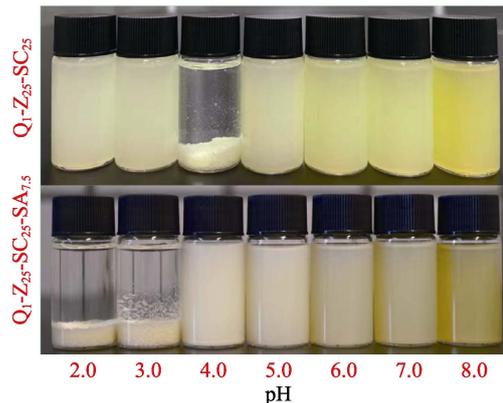


图 10 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 和 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 外观随 pH 的变化实物图

Fig. 10 Pictures of $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ and $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ treated with different pH

Zein 纳米颗粒在其等电点 ($\text{pH}=6.2$) 容易发生聚集、沉淀^[32]。从图 10 可以看出, 加入 SC 后, Zein 纳米颗粒在中性 $\text{pH}=7$ 附近被有效稳定, 但是在 SC 的等电点附近 ($\text{pH}=4.0\sim 5.0$), $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 会发生聚集、沉淀, 这与前人的研究结果相一致^[33]。加入 SA 后, $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 在 SC 的等电点附近 ($\text{pH}=4.0\sim 5.0$) 被有效稳定, 其在 $\text{pH}=4.0\sim 8.0$ 范围内比较稳定, 样品瓶底部无沉淀, 但是在 $\text{pH}=2.0\sim 3.0$ 范围内极度不稳定, 会迅速产生大量聚集、沉淀。这与图 11 的 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 和 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}\text{-SA}_{7.5}$ 经过不同 pH 处理并离心后上清液中的 Que 保留率数据相一致。

图 12 为 $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 平均粒径和 Zeta 电位随 pH 的变化。从图 12 可以看出, pH 为 2.0~3.0 和 6.0~8.0 的范围内, $\text{Q}_1\text{-Z}_{25}\text{-SC}_{25}$ 的平均粒径和 PDI 整体相对

稳定, 平均粒径较小。在 pH=4.0 下, 观察到明显的纳米颗粒聚集、沉淀 (图 10)。在 pH=5.0 下, 其平均粒径 (233.7 nm) 相对较大。 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 Zeta 电位和 pH 的关系可以解释这一现象: 当 pH=4.0 时, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 Zeta 电位 (-1.69 mV) 接近于零, 纳米颗粒之间的静电排斥力相对较小, 体系不稳定, 从而促进了纳米颗粒的聚集、沉淀; 当 pH=5.0 时, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 Zeta 电位 (-10.3 mV) 绝对值相对较小, 因此其间的静电排斥力也相对较小, 体系也不稳定, 平均粒径显著增加; 当 pH 在 2.0~3.0 和 6.0~8.0 的范围内, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 Zeta 电位绝对值相对较大, 纳米颗粒之间的静电排斥力相对较强, 增强了纳米颗粒的抗聚集性, 因此分散性更好, 体系更稳定。

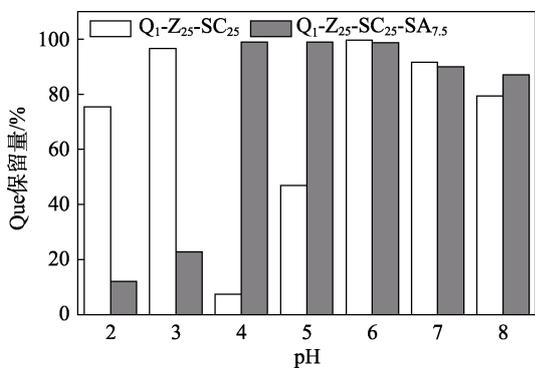


图 11 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 和 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 上清液中 Que 保留率随 pH 的变化
Fig. 11 Change of Que retention rate of $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ and $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ with pH

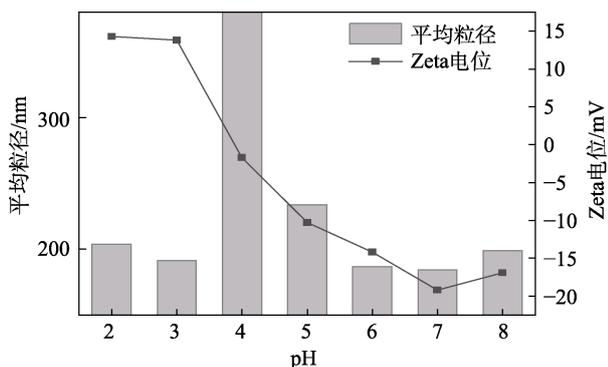


图 12 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 平均粒径和 Zeta 电位随 pH 的变化
Fig. 12 Variation of mean particle size and zeta potential of $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ with pH

图 13 为 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 平均粒径和 PDI 随 pH 的变化。

从图 13 可以看出, 随着 pH 的增加, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 的平均粒径呈现先大幅减小后小幅增大的趋势。当 pH=4.0 时, 平均粒径略大, 为 367.3 nm; 当 pH=6.0 时, 平均粒径最小, 为 188.3 nm。 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 在 pH=4.0~8.0 范围内的平均粒径均小于 400 nm。

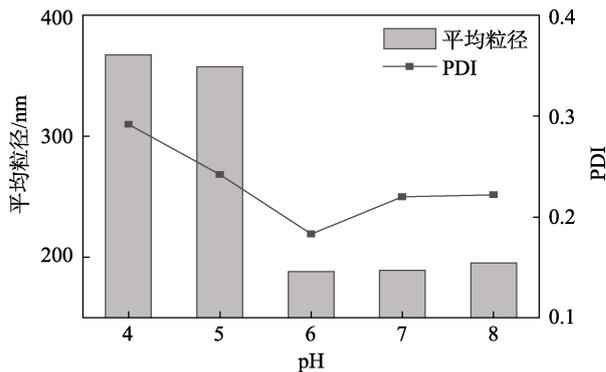


图 13 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 平均粒径和 PDI 随 pH 的变化
Fig. 13 Variation of particle size and PDI of $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ with pH

PDI 的变化趋势与平均粒径的变化趋势相似, 说明 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 在 pH=4.0~8.0 的范围内具有良好的稳定性。

图 14 为 3 种 Q-Z-SC-SA 在 pH=5.0、6.0、7.0 时的 Zeta 电位。

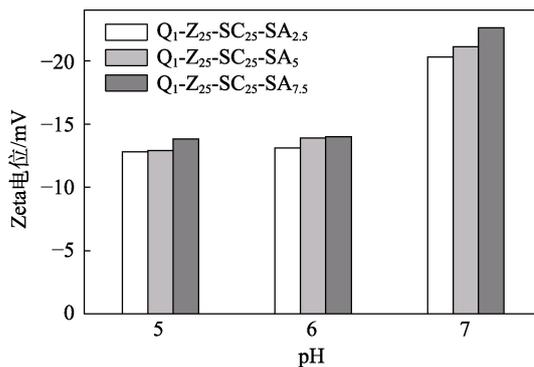


图 14 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA$ 的 Zeta 电位随 pH 的变化
Fig. 14 Variation of Zeta potential of $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA$ with pH

从图 14 可以看出, 在相同 pH 条件下, 随着 $m(SC) : m(SA)$ 在 25 : 2.50~25 : 7.50 变化, Q-Z-SC-SA 的 Zeta 电位的绝对值越来越大, 说明提高 SA 在 Q-Z-SC-SA 中的占比, 可以增加其表面 Zeta 电位和 pH 稳定性。此外, 在相同 $m(SC) : m(SA)$ 条件下, 随着 pH 的增加, Q-Z-SC-SA 的 Zeta 电位绝对值越来越大, 原因在于, 中性或近中性的 pH 条件促进了 SA 结构中羧基氢离子的解离, 导致纳米颗粒表面带有更多的负电荷, 因此 Zeta 电位绝对值增加。Zeta 电位的变化也解释了 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 在 pH=4 时具有更大平均粒径的原因 (图 13)。

2.7 盐离子强度对复合纳米颗粒稳定性的影响

纳米颗粒在人体胃肠道中不可避免地会经历不同离子强度的环境, 导致纳米颗粒的稳定性受到影响。图 15 为不同浓度 NaCl 溶液中 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 分散液的外观实物图。



图 15 不同浓度 NaCl 溶液中 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 分散液的外观实物图

Fig. 15 Pictures of Q₁-Z₂₅-SC₂₅ dispersions in NaCl solution with different sodium ion concentrations

从图 15 可以看出, Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 分散液在浓度 30~3000 mmol/L 的 NaCl 溶液中的外观变化不大, 表明在测定的离子强度范围内, Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 分散液比较稳定。

图 16 为不同浓度 NaCl 溶液中 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 的平均粒径和 PDI。

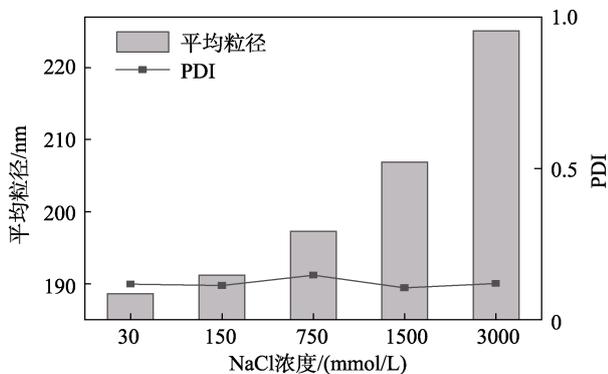


图 16 不同浓度 NaCl 溶液中 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 的平均粒径和 PDI

Fig. 16 Particle size and PDI of Q₁-Z₂₅-SC₂₅ in NaCl solutions with different concentrations

从图 16 可以看出, 随着盐离子强度的增加, Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 的平均粒径略有增加, 从 NaCl 浓度 30 mmol/L 时的 188.6 nm 增加到 NaCl 浓度 3000 mmol/L 时的 225.1 nm。PDI 较为稳定, 均<0.2, 表明 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 在浓度 30~3000 mmol/L 的 NaCl 中具有优异的稳定性。PATEL 等^[23]也报道了 SC 由于对 Zein 的有效覆盖和静电效应的作用, 在 1.5 mol/L 盐离子强度下仍能稳定 Zein。

图 17 为不同浓度 NaCl 溶液中 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 的 Zeta 电位。

从图 17 可以看出, 随着盐离子强度的增加, Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 的 Zeta 电位绝对值呈下降趋势, 这是因为, 盐的加入可能会产生静电屏蔽效应, 导致 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 表面电荷数量减少、纳米颗粒之间的静电斥力减弱。Zeta 电位的变化也解释了 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 的平均粒径随盐离子强度增大而略微增加的现象 (图 16)。

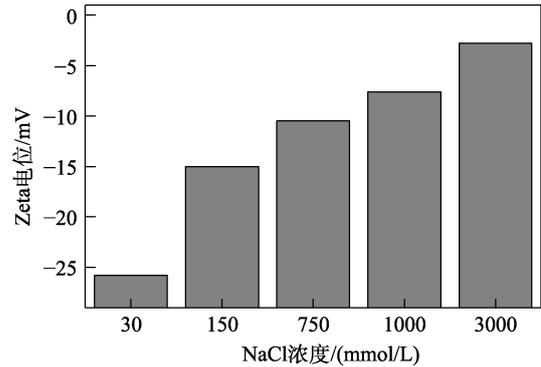


图 17 不同 NaCl 浓度下 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 的 Zeta 电位

Fig. 17 Zeta potential of Q₁-Z₂₅-SC₂₅ in NaCl solutions with different concentrations

图 18、19 为不同浓度 NaCl 溶液中 Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SC_{7.5} 分散液的外观实物图、平均粒径和 PDI。图 20 为 Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA 在去离子水和 NaCl 溶液中的 Zeta 电位。

从图 18、19 可以看出, 与 Q₁-Z₂₅-SC₂₅ 相似, Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA_{7.5} 在 30~3000 mmol/L 的离子强度下具有优异的稳定性。从图 20 可以看出, 在去离子水中, 3 种 Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SA 复合纳米颗粒的 Zeta 电位绝对值均在 30 mV 以上; 而经浓度 750 mmol/L 的 NaCl 溶液处理 2 h 后, 其 Zeta 电位绝对值均降至 10 mV 以下。



图 18 不同浓度 NaCl 溶液中 Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SC_{7.5} 分散液的外观实物图

Fig. 18 Pictures of Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SC_{7.5} dispersions using NaCl solutions with different concentrations as solvent

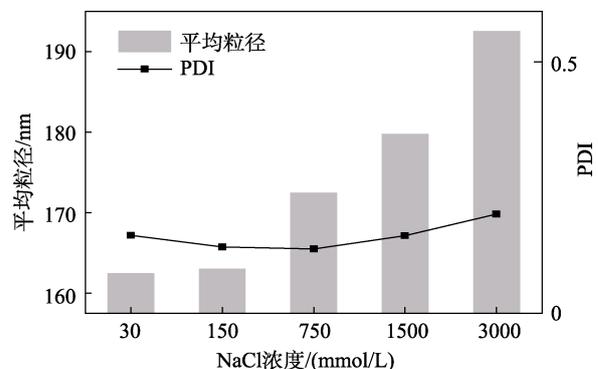


图 19 不同浓度 NaCl 溶液中 Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SC_{7.5} 的平均粒径和 PDI

Fig. 19 Mean particle size and PDI of Q₁-Z₂₅-SC₂₅-SC_{7.5} in NaCl solutions with different concentrations

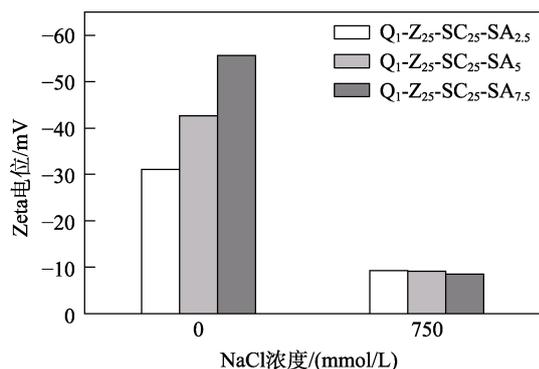


图 20 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 在去离子水和 NaCl 溶液 (750 mmol/L) 中的 Zeta 电位

Fig. 20 Zeta potential of $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ in deionised water and NaCl solution (750 mmol/L)

2.8 体外消化模拟实验结果

图 21 为 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 、 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 中的 Que 在模拟胃肠条件下的释放情况。

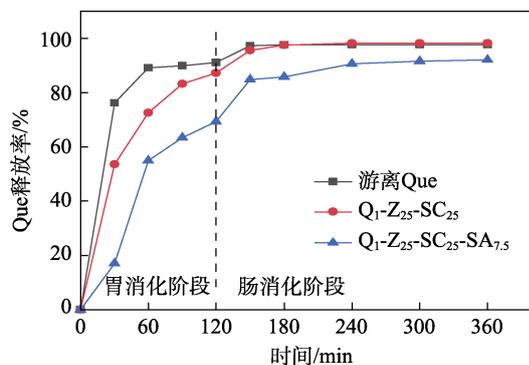


图 21 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 、 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 中 Que 在模拟胃肠条件下的释放率

Fig. 21 Release rate of Que in $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ and $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ under simulated gastrointestinal conditions

从图 21 可以看出, 体外消化模拟实验的胃消化阶段 (0~120 min), $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 、 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 中 Que 释放率分别为 87.23% 和 69.40%, 与游离 Que (91.18%) 相比, 分别减小 3.95% 和 21.78%; 在肠消化期间 (120~360 min), $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 、 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 中 Que 释放率分别为 11.04% 和 22.64%, 与游离 Que (6.52%) 相比, 分别增加 4.52% 和 16.12%。与游离 Que 相比, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 、 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 均实现了 Que 的缓释作用。表明将 Que 包埋在复合纳米颗粒中有助于实现其在小肠内的靶向缓释。与 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 相比, $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 表现出更好的缓释效果, 说明 SA 的存在增强了复合纳米颗粒对 Que 的封装保护作用和在模拟胃肠道条件下的稳定性。

3 结论

采用抗溶剂沉淀法和静电吸附法成功制备了单

壳层 Q-Z-SC 和双壳层 Q-Z-SC-SA。

(1) $m(\text{Que}) : m(\text{Zein}) : m(\text{SC}) = 1 : 25 : 25$ 制备的 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}$ 的 Que 包埋率为 79.53%; $m(\text{Que}) : m(\text{Zein}) : m(\text{SC}) : m(\text{SA}) = 1 : 25 : 25 : 7.50$ 制备的 $Q_1-Z_{25}-SC_{25}-SA_{7.5}$ 的 Que 包埋率为 90.71%。

(2) Que 以无定形态存在于复合纳米颗粒之中; 复合纳米颗粒各组分之间形成的氢键、静电和疏水相互作用使其具有优异的 pH 和离子强度稳定性; Q-Z-SC 和 Q-Z-SC-SA 具有递送 Que 和缓释能力。

本文为提高 Que 的稳定性和生物利用度提供了有效途径, 为疏水性生物活性化合物的递送提供了新思路。后续研究将对包埋 Que 复合纳米颗粒的体内释放和细胞吸收活性进行分析。

参考文献:

- LI Y, YAO J Y, HAN C Y, *et al.* Quercetin, inflammation and immunity[J]. *Nutrients*, 2016, 8(3): 167.
- AMALIA D, GERMANO O, ANTONELLA F, *et al.* Quercetin and its derivatives as antiviral potentials: A comprehensive review[J]. *Phytotherapy Research*, 2022, 36(1): 266-278.
- LESJAK M, BEARA I, SIMIN N, *et al.* Antioxidant and anti-inflammatory activities of quercetin and its derivatives[J]. *Journal of Functional Foods*, 2018, 40: 68-75.
- TANG S M, DENG X T, ZHOU J, *et al.* Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapie*, 2019, 121: 109604.
- GUO M X, ZENG J Q, SUN Z Z, *et al.* Research progress on quercetin's biological activity and structural modification based on its antitumor effects[J]. *ChemistrySelect*, 2023, 8(41): e202303167.
- LIU Z J (刘志军), FAN W H (范文华), DONG C (董超), *et al.* Production of microcapsules loaded with quercetin by supercritical fluid extraction of emulsions[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2018, 35(12): 1981-1986.
- MA Q M, DAVIDSON P, ZHONG Q X, *et al.* Nanoemulsions of thymol and eugenol co-emulsified by lauric arginate and lecithin[J]. *Food Chemistry*, 2016, 206: 167-173.
- WANG Y L, YU J, LI D, *et al.* Paclitaxel derivative-based liposomal nanoplatform for potentiated chemo-immunotherapy[J]. *Journal of Controlled Release*, 2022, 341: 812-827.
- WANG W Y, SUN C X, MAO L K, *et al.* The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 56: 21-38.
- ZHANG S L, HAN Y. Preparation, characterisation and antioxidant activities of rutin-loaded zein-sodium caseinate nanoparticles[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194951.
- CHANG C, WANG T R, HU Q B, *et al.* Caseinate-zein-polysaccharide complex nanoparticles as potential oral delivery vehicles for curcumin: Effect of polysaccharide type and chemical cross-linking[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 72: 254-262.
- RODRIGUEZ-FELIX F, DEL-TORO-SANCHEZ C L, CINCOMOROYOQUI F J, *et al.* Preparation and characterization of quercetin-loaded zein nanoparticles by electrospraying and study of *in vitro* bioavailability[J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(10): 2883-2897.
- CUEVAS-BERNARDINO J C, LEYVA-GUTIERREZ F M A, VERNON-CARTER E J, *et al.* Formation of biopolymer complexes composed of pea protein and mesquite gum-Impact of quercetin addition on their physical and chemical stability[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 77: 736-745.
- FAN Y K (樊永康), XIANG T (项婷), CUI X Y (崔心禹), *et al.* Construction of casein-pectin nanoparticles loaded with quercetin[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2019, 36(7): 1308-1315.
- PATEL A, HEUSSEN P, HAZEKAMP J, *et al.* Quercetin loaded biopolymeric colloidal particles prepared by simultaneous precipitation of quercetin with hydrophobic protein in aqueous medium[J]. *Food Chemistry*, 2012, 133: 423-429.