

紫玉米芯花青素的射频冷等离子体辅助 提取及体内外抗氧化活性

徐小燕¹, 朱国兵², 张盟³, 龚磊⁴, 易霞⁴, 朱劼^{1,4*}

(1. 常州大学 药学院 生物与食品工程学院, 江苏 常州 213164; 2. 常州大学 环境科学与工程学院, 江苏 常州 213164; 3. 常州大学 石油化工学院, 江苏 常州 213164; 4. 生物质高效炼制及高质化利用国家地方联合工程研究中心, 江苏 常州 213164)

摘要: 采用射频冷等离子体辅助提取技术从紫玉米芯中提取花青素, 通过单因素和响应面优化实验, 考察了放电功率、处理时间和工作压力对紫玉米芯花青素提取量的影响。利用超高效液相色谱-串联质谱仪 (UPLC-MS) 对紫玉米芯花青素的成分进行了分析和鉴定, 使用秀丽隐杆线虫和 H₂O₂ 分别对紫玉米芯花青素进行了抗氧化性能评价。结果表明, 冷等离子体预处理的最佳条件为: 放电功率 127 W、处理时间 75 s、工作压力 150 Pa。在该条件下, 紫玉米芯花青素提取量为 (4.05±0.05) mg/g, 较溶剂提取法和超声辅助提取法的提取量分别提高 49.45% 和 28.98%。紫玉米芯花青素主要由天竺葵素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素和矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷组成。与溶剂提取法和超声辅助提取法相比, 冷等离子体辅助提取的花青素成分中矢车菊素-3-O-葡萄糖苷质量分数提高, 天竺葵素-3-O-葡萄糖苷质量分数降低。紫玉米芯花青素清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯酚 (DPPH) 自由基、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS⁺) 自由基的半抑制浓度 (IC₅₀) 分别为 0.2972、0.2770 g/L, 接近同样条件下抗坏血酸对 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基的清除能力。采用紫玉米芯花青素喂养的秀丽隐杆线虫, 平均寿命延长 29.26%; 较 H₂O₂ 处理组, 其抗氧化能力提高了 26.25%, 体内活性氧水平降低了 60.83%。

关键词: 射频冷等离子体; 紫玉米芯; 花青素; 秀丽隐杆线虫; 抗氧化活性; 食品化学品

中图分类号: TS201.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2025) 03-0620-10

Radiofrequency cold plasma-assisted extraction of anthocyanins from purple maize cobs and their antioxidant activities *in vitro* and *in vivo*

XU Xiaoyan¹, ZHU Guobing², ZHANG Meng³, GONG Lei⁴, YI Xia⁴, ZHU Jie^{1,4*}

(1. School of Pharmacy & School of Biological and Food Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, Jiangsu, China; 2. School of Environmental Science and Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, Jiangsu, China; 3. School of Petrochemical Engineering, Changzhou University, Changzhou 213164, Jiangsu, China; 4. National-Local Joint Engineering Research Center of Biomass Refining and High-Quality Utilization, Changzhou 213164, Jiangsu, China)

Abstract: Radiofrequency cold plasma-assisted extraction technique was used to extract anthocyanins from purple maize cobs, with the effects of discharge power, pretreatment time and working pressure on anthocyanins extraction assessed by single factor and response surface analysis experiments. The composition of anthocyanins extracted from purple maize cobs was analyzed and identified by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS). And the antioxidant properties of the extracted anthocyanins were evaluated using *Caenorhabditis elegans* and H₂O₂, respectively. The results showed that the optimal conditions for cold plasma

收稿日期: 2024-03-05; 定用日期: 2024-04-19; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240186

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (22278040)

作者简介: 徐小燕 (1998—), 女, 硕士生, E-mail: 2658644377@qq.com。联系人: 朱劼 (1977—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, E-mail: zhujie@cczu.edu.cn。

pretreatment were discharge power of 127 W, processing time of 75 s, and working pressure of 150 Pa. The yield of anthocyanins extracted reached (4.05 ± 0.05) mg/g, 49.45% and 28.98% higher than that of solvent extraction method and ultrasonic-assisted extraction method, respectively. Anthocyanins from purple maize cobs were mainly composed of pelargonidin-3-*O*-glucoside, cyanidin-3-*O*-glucoside, cyanidin and petunidin-3-*O*-glucoside. Compared with solvent extraction and ultrasonic-assisted extraction methods, cold plasma pretreatment led to increase in the mass fraction of cyanidin-3-*O*-glucoside, and reduction in pelargonidin-3-*O*-glucoside. The half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radicals and 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid ammonium salt) ($ABTS^+$) free radicals were 0.2972 and 0.2770 g/L, respectively, which were similar to those of ascorbic acid. The average life span of *Caenorhabditis elegans* fed with anthocyanins from purple maize cobs was extended by 29.26%, and the antioxidant capacity was increased by 26.25%. Compared with those H_2O_2 treatment group, the antioxidant capacity was increased by 26.25%, and the active oxygen level *in vivo* was decreased by 60.83%.

Key words: radiofrequency cold plasma; purple maize cobs; anthocyanins; *Caenorhabditis elegans*; antioxidation; food chemicals

充分利用可再生资源是发展循环经济的重要内容。生物质废弃物, 作为最有潜力的一类可再生资源, 成为近年来研究关注的焦点。玉米芯是玉米中不能被人类直接食用的一种生物质废弃物, 中国每年的玉米芯产生量超过 2000 万 t^[1]。如果能将玉米芯充分利用, 将对减少碳排放、保护环境, 实现社会可持续发展意义重大。玉米芯中含有大量的木质纤维素和天然活性组分, 通过提取、水解或转化, 可得到大量衍生产品, 如木糖^[2]、糠醛^[3]、生物炭^[4]、乙醇^[5]等, 它们在化工、能源、材料、医药、环保等领域应用广泛^[1,6-11]。因此, 可以根据衍生产品附加值高低对生物质废弃物分级利用, 即从精细化利用^[1,7,12-14]到材料化利用^[8,15], 再到能源化利用^[9-10,16-17]。研究发现, 玉米芯中含有多种药理活性物质, 如多糖、多酚、花青素等, 其中, 花青素是一类水溶性类黄酮色素^[18], 在紫玉米芯中含量尤为丰富, 它具有抗氧化、抗肿瘤、消炎、降血脂、预防糖尿病和心脑血管疾病等多种药理功能^[19-21], 因此, 具有较高附加值的花青素可以从玉米芯中优先提取利用。

目前, 从植物中提取花青素仍以传统溶剂(水、乙醇等)浸提法^[22-23]为主。但由于木质纤维素细胞壁的保护, 花青素不易从细胞中溶出, 导致该法耗时长、效率低。为了解决这个问题, 已有学者采用一些先进的花青素提取技术, 如酶法辅助提取^[24-25]、高压液体提取^[26-27]、微波辅助提取^[28-29]、超声辅助提取^[30-31]等。然而, 这些提取工艺成本高、处理量小、耗能耗时, 较难实现产业化。因此, 开发一种绿色、高效、简便、易于实现产业化的天然活性组分提取技术具有迫切的市场需求。

冷等离子体预处理结合溶剂浸提技术可能会满足上述需求。等离子体是物质的第四态, 它是由各种化学反应性物种组成, 包括电子、光子、原子和

自由基等^[32]。冷等离子体预处理是一种新型的材料非热处理技术, 它利用高能粒子轰击材料表面, 使后者产生一系列如刻蚀、破壁、化学基团接枝等的物理和化学变化, 该技术具有高效、环保、成本低、耗时短、处理批量大等特点^[33], 已广泛应用于医药^[34-35]、食品加工^[36]和材料表面修饰^[37-38]等领域。近年来, 学者针对冷等离子体提取植物生长及其活性成分^[39-43]开展了一些研究, 发现它可以促进豆芽生长及其生物活性^[42]、增加草莓的总酚含量^[43]等。目前, 冷等离子体预处理技术用于植物天然活性组分提取方面的研究还处于起步阶段。

本文拟以射频电源(13.56 MHz)放电产生的氦气等离子体预处理紫玉米芯粉末, 然后采用溶剂浸提法提取花青素, 考察等离子体预处理条件(放电功率、处理时间和工作压力)对紫玉米芯提取花青素的影响, 并使用秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*)和 H_2O_2 分别对提取的花青素进行抗氧化性能评价。以期对紫玉米芯高值化利用探索一条可行的产业化道路。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

紫玉米芯, 常州新米生物科技有限公司; AB-8 大孔树脂, 上海麦克林生化科技股份有限公司; 秀丽隐杆线虫、大肠杆菌(*Escherichia coli*) OP50 菌株, 保藏于常州大学生物物质高效炼制及高质化利用国家地方联合工程研究中心。

无水乙醇、盐酸(质量分数 36%~38%)、氯化钾、醋酸钠、甲酸、乙酸、NaCl、CaCl₂、MgSO₄、胆固醇、Na₂HPO₄·12H₂O、KH₂PO₄、胰蛋白胍、琼脂粉、H₂O₂(质量分数为 30%), 化学纯, 国药集

团化学试剂有限公司；酵母提取物，英国 Oxoid 公司；2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯 (DHCF-DA)，上海碧云天生物技术有限公司；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH)、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐 (ABTS)、抗坏血酸，分析纯，乙腈，色谱纯，上海麦克林生化科技股份有限公司；磷酸钾缓冲液 (1 mol/L, pH=6.0)，厦门安永博科技有限公司。

氯化钾-盐酸缓冲液 (pH=1.0) 的配制：将浓度为 0.2 mol/L 的氯化钾水溶液与浓度为 0.2 mol/L 的盐酸溶液以体积比 25 : 13 混合后，搅拌溶解，用浓度为 1 mol/L 盐酸溶液调节 pH 至 1.0，于 4 °C 冰箱保存。醋酸-醋酸钠缓冲液 (pH=4.5) 的配制：称取 18 g 醋酸钠，加入适量蒸馏水溶解，接着加入 9.8 mL 冰醋酸，再加入蒸馏水定容至 1 L，用浓度均为 1 mol/L 盐酸溶液或氢氧化钠溶液调 pH 至 4.5，于 4 °C 冰箱保存。ABTS⁺ 自由基溶液的配制：将 5 mL 浓度为 7 mmol/L 的 ABTS 水溶液和 88 μL 浓度为 140 mmol/L 的过硫酸钾水溶液混合后，振荡混匀，于室温下避光静置过夜。然后用无水乙醇稀释 50 倍，得到 ABTS⁺ 自由基溶液。

AK-35 型万能研磨机，中国温岭奥力中药机械有限公司；HD-2N 型真空紫外射频等离子体生物处理机，常州中科常泰等离子技术有限公司；UV1800 型紫外-可见分光光度计 (UV-Vis)，上海菁华科技仪器有限公司；LC-JY96-II N 型超声细胞破碎仪，上海力辰仪器科技有限公司；Spark 型多功能酶标仪，瑞士 Tecan 公司；AcquityTM 型超高效液相色谱仪，美国 Waters 公司；Orbitrap 型质谱仪 (MS)，美国 Thermo Fisher Scientific 公司；TGL-16C 型离心机，上海安亭科学仪器厂；SG-900 型体式显微镜，上海萨迦生物科技有限公司；AX R 型激光共聚焦电子显微镜，日本 Nikon 公司。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

将干燥的紫玉米芯置于研磨机中研磨，过 500 μm 筛，得到紫玉米芯粉末，置于黑暗阴凉处，备用。

1.2.2 溶剂提取法 (CSE) 提取花青素

称取 0.5 g 紫玉米芯粉末，加入 10 mL 酸化乙醇溶液 [V(无水乙醇) : V(盐酸) : V(超纯水)=60.0 : 0.1 : 39.9]，混合均匀，于 50 °C 下水浴锅中浸提 2 h，得到紫玉米芯花青素 (PCAs) 浸提液。将该浸提液在 8000 r/min 下离心 5 min，取上清液，即 PCAs 粗提液。

1.2.3 冷等离子体辅助提取法 (CPAE) 提取花青素

首先，将 10 g 紫玉米芯粉末置于等离子体生物处理机的真空腔体中，以氦气作为工作气源，当氦

气工作压力达到预定值 (90~170 Pa) 时，打开射频电源，调节放电功率 (80~160 W)，处理一定时间 (40~120 s) 后取出样品。然后，按照 1.2.2 节步骤对等离子体预处理后的紫玉米芯粉末进行溶剂提取法提取。

1.2.4 超声辅助提取法 (UAE) 提取花青素

超声辅助提取的工艺条件与 1.2.2 节溶剂提取法提取 PCAs 基本一致，只是在花青素提取过程中对料液同时进行超声处理。超声条件根据预实验的优化条件进行，超声功率 50 W，总提取时间 2 h (超声与提取过程同步进行，超声时间 25 min，每超声 4 s，间歇 8 s)。

1.2.5 PCAs 纯化

使用 AB-8 大孔树脂对 PCAs 进行纯化。具体操作如下：将 5 mL PCAs 粗提液以流速 1.0 mL/min 注入装有 AB-8 大孔树脂的色谱柱 (内径 16 mm×200 mm) 中；然后用体积分数 70% 的乙醇水溶液以 1.5 mL/min 的流速洗脱；最后通过冻干法 (-80 °C, 48 h) 得到紫色粉末状 PCAs。

1.3 表征和测试

1.3.1 紫玉米芯总花青素提取量测定

参考文献[44]方法，采用 pH 示差法测定提取液中总花青素提取量。取 0.2 mL 粗提液，加入 pH=1 的氯化钾-盐酸缓冲液定容至 5 mL，避光静置 50 min，使用 UV-Vis 测定其在 505 和 700 nm 处的吸光度 A_1 和 A_2 ；再取 0.2 mL 粗提液，加入 pH=4.5 的醋酸-醋酸钠缓冲液定容至 5 mL，避光静置 50 min，使用 UV-Vis 测定其在 505 和 700 nm 处的吸光度 A_1' 和 A_2' 。以蒸馏水为空白对照。用矢车菊素-3-O-葡萄糖苷含量 (C) 代表总花青素提取量，并根据公式 (1) 计算。

$$C = [(A_1 - A_2) - (A_1' - A_2')] M \times D \times V \times 10^3 / (\epsilon \times L \times m) \quad (1)$$

式中： C 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷含量，mg/g； M 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的摩尔质量，449.2 g/mol； D 为稀释倍数； V 为提取液体积，L； ϵ 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷的摩尔消光系数，26900 L/(mol·cm)； L 为光程，1 cm； m 为紫玉米芯质量，g。

1.3.2 PCAs 成分鉴定

利用 UPLC-MS 对花青素成分进行分析。

液相色谱条件：色谱柱为 Waters HSS T3 (2.1 mm×50 mm, 1.8 μm)。流动相 A 为超纯水 (含体积分数 0.1% 甲酸)，流动相 B 为乙腈 (含体积分数 0.1% 甲酸)，流速 0.3 mL/min。柱温 40 °C，检测波长 530 nm，进样量 2 μL。梯度洗脱，0~1 min，体积分数 5% 流动相 B；1~6 min，体积分数 5%~30% 流动相 B；6~8 min，体积分数 30%~95% 流动相 B；8~10 min，体积分数 95%~5% 流动相 B。

质谱条件:电喷雾离子源;离子喷雾电压 3 kV, 温度 350 °C, 正离子扫描方式, 质荷比 (m/Z) 扫描范围 200~700。

1.4 单因素实验

按照 1.2.3 节冷等离子体辅助提取方法, 在放电功率 120 W, 工作压力 135 Pa 条件下, 考察预处理时间 (0、40、60、80、100、120 s) 对花青素提取量的影响; 在工作压力 135 Pa, 处理时间 80 s 条件下, 考察放电功率 (0、80、100、120、140、160 W) 对花青素提取量的影响; 在放电功率 120 W, 处理时间 80 s 条件下, 考察工作压力 (0、90、100、130、150、170 Pa) 对花青素提取量的影响, 确定最佳提取条件。

1.5 响应面实验

根据单因素实验结果, 以放电功率 (A)、处理时间 (B) 和工作压力 (C) 作为自变量, 以花青素提取量为评价指标, 对 3 个因素分别设置 3 个水平, 用“-1、0、1”表示, 放电功率、处理时间和工作压力根据单因素实验结果中心点取值。

1.6 PCAs 体外抗氧化能力测试

1.6.1 DPPH 自由基清除能力测试

精密称取 4 mg 的 DPPH, 加入 50 mL 无水乙醇溶解, 得 DPPH 自由基溶液; 使用无水乙醇溶解 PCAs 分别配制质量浓度 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g/L 的花青素溶液。之后, 将 20 μ L 不同质量浓度的 PCAs 溶液与 180 μ L 的 DPPH 自由基溶液混合, 避光静置 30 min, 作为样品组; 用 20 μ L 无水乙醇替代 PCAs 溶液, 作为空白组; 用 180 μ L 无水乙醇代替 DPPH 自由基溶液, 作为阴性对照组。使用 UV-Vis 测定各组混合液在 517 nm 处吸光度。以抗坏血酸作为阳性对照。按照公式 (2) 计算 DPPH 自由基清除率 (%)。然后计算 DPPH 自由基清除率为 50% 时的 PCAs 质量浓度 (IC_{50} , g/L), 代表 PCAs 清除 DPPH 自由基的能力。

$$\text{自由基清除率}/\% = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: A_0 、 A_1 、 A_2 分别为空白组、样品组和阴性对照组的吸光度。

1.6.2 ABTS⁺自由基清除能力测试

准确取 190 μ L 的 ABTS⁺自由基溶液于试管中, 加入 10 μ L 不同质量浓度的 PCAs 溶液 (质量浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 g/L, 以无水乙醇为溶剂), 充分混匀, 静置 6 min, 作为样品组; 用 10 μ L 无水乙醇替代 PCAs 溶液, 作为空白组; 用 190 μ L 无水乙醇代替 ABTS⁺自由基溶液, 作为阴性对照组。使用 UV-Vis 测定各组混合液在 734 nm 处的吸光度。根据公式 (2) 计算 ABTS⁺自由基清除率 (%)。

1.7 PCAs 体内抗氧化能力测试

1.7.1 秀丽隐杆线虫培养

野生秀丽隐杆线虫生长于线虫生长培养基 (NGM) 上, 以大肠杆菌 OP50 为食, 于 20 °C 的培养箱中培养, 取处于 L4 期 (即线虫的幼虫期) 的线虫进行实验。线虫从虫卵发育至 L4 期, 约需 42 h, 而进入到 L4 期的线虫腹部可见白色月牙斑。

NGM 培养基: 称取 NaCl 1.50 g、胰蛋白胨 1.25 g、琼脂 8.50 g, 加入磷酸钾缓冲液 (1 mol/L) 12.50 mL、超纯水 487.50 mL, 在 121 °C 下灭菌 20 min, 待冷却至 55 °C 左右, 加入 0.50 mL 的 CaCl₂ 溶液 (1 mol/L)、0.50 mL 的 MgSO₄ 溶液 (1 mol/L)、0.50 mL 胆固醇溶液 (质量浓度 5 g/L), 混匀后倒入平板中。

M9 缓冲液: 称取 Na₂HPO₄·12H₂O 5.12 g、MgSO₄·7H₂O 0.25 g、KH₂PO₄ 3.00 g、NaCl 5.00 g, 加超纯水至 1 L, 121 °C 下灭菌 20 min。

LB 液体培养基: 称取 NaCl 1.00 g、酵母提取物 1.00 g、胰蛋白胨 2.00 g, 加超纯水至 200 mL, 121 °C 下灭菌 20 min。

1.7.2 寿命实验

根据文献[45]方法利用秀丽隐杆线虫进行寿命实验。挑取 30 条同步化至 L4 期的野生 N2 线虫, 根据预实验结果, 将其转移到给药组 (将 50 mg PCAs 用 1 mL 质量分数为 0.1% 二甲基亚砜乙醇溶液溶解后, 再用 1 L 含有大肠杆菌 OP50 的 LB 液体培养基将其稀释成最终质量浓度为 50 μ g/mL 的 PCAs 溶液, 后续实验均采用此质量浓度), 20 °C 下培养, 以质量分数 0.1% 的二甲基亚砜乙醇溶液代替 PCAs 溶液作为对照组。每天同一时间将线虫转移到新鲜的含 PCAs 的培养基上, 并观察线虫的存活情况, 直至线虫全部死亡。根据公式 (3) 计算线虫平均寿命 (单位, d)。根据公式 (4) 计算线虫的存活率 (单位, %)。

$$\text{平均寿命} = \frac{\sum L_n}{n} \quad (3)$$

式中: L_n 为一组中每条线虫的寿命, d; n 为一组中死亡线虫的总数量。

$$\text{存活率}/\% = s/n \times 100 \quad (4)$$

式中: s 为一组中线虫存活的数目; n 为一组中死亡线虫的总数量。

1.7.3 抗应激能力测试

挑取 30 条同步化至 L4 期的野生 N2 线虫于上述给药组和对照组, 在 20 °C 下培养 72 h。之后, 用 M9 缓冲液分别冲洗不同组别的线虫 3 次, 并将其转移到装有 100 μ L 浓度为 40 mmol/L 的 H₂O₂ 的 96 孔板中, 每隔 1 h 观察并记录线虫的存活情况, 直至线虫全部死亡。

1.7.4 活性氧水平测试

使用分子探针 H₂DCF-DA 来衡量秀丽隐杆线虫细胞内活性氧 (ROS) 的水平^[46]。首先, 挑取 30 条同步化至 L4 期的野生 N2 线虫分别转移到上述给药组和对照组, 在 20 °C 下培养 72 h。接着, 将线虫挑至含 8 mmol/L 的 H₂O₂ 的新培养基上暴露 1 h, 然后转移到含有 50 μmol/L 的 H₂DCF-DA 的 96 孔板中, 并置于 37 °C 下 2 h。最后, 使用左旋咪唑麻醉线虫, 再转移到质量分数 2% 琼脂载玻片上, 并通过激光共聚焦电子显微镜以 485 nm 的激发波长和 530 nm 的发射波长进行拍照。使用 Image J 软件分析荧光强度。

1.8 数据分析

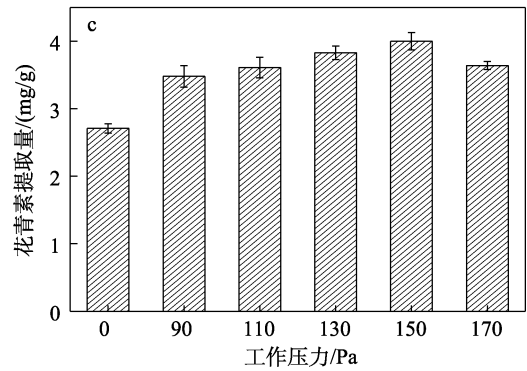
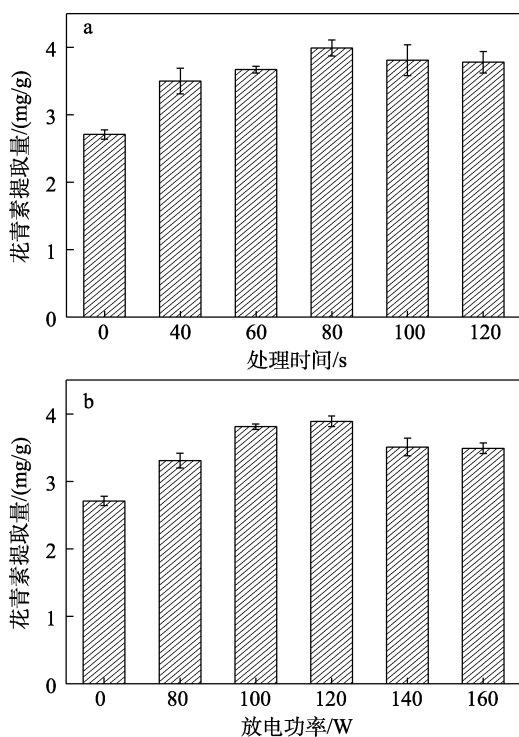
所有实验进行 3 次平行实验, 并计算算数平均值±标准差。使用 Graphpad Prism 8.0 统计软件进行分析, 并使用单因素方差分析比较多组之间的差异, 差异有统计学意义 (P<0.05)。

2 结果与讨论

2.1 冷等离子体辅助提取单因素实验

图 1 为冷等离子体预处理时间、放电功率和工作压力对花青素提取量的影响。

由图 1 可见, 经等离子体预处理后, 紫玉米芯中花青素提取量与直接采用溶剂提取法的花青素提取量 [(2.71±0.07) mg/g, 图 1a] 相比, 得到了较大的提升。这是因为, 射频放电产生的高能粒子不断轰击紫玉米芯表面, 其细胞壁的木质纤维素结构遭破坏而更有利于后续浸提过程中花青素的溶出^[47]。



a—处理时间; b—放电功率; c—工作压力

图 1 冷等离子体预处理对花青素提取量的影响

Fig. 1 Effects of cold plasma pretreatment on extraction yield of anthocyanin

但过长时间的等离子体处理下, 一些花青素会被破坏, 导致花青素提取量下降。

从图 1b 可以看出, 随着放电功率的增加, 花青素提取量呈现先增大后减小的趋势; 当放电功率达到 120 W 时, 花青素提取量可高达 (3.89±0.08) mg/g。这是因为, 随着放电功率的增大, 射频放电产生的等离子体能量增高, 对细胞壁结构的破坏增强, 有利于花青素的提取, 但能量水平过高的等离子体在破坏细胞壁结构的同时, 亦会破坏部分溶出的花青素结构, 导致花青素提取量下降。

从图 1c 可以看出, 随着工作压力的提高, 花青素提取量呈现先增大后减小的趋势; 当工作压力为 150 Pa 时, 花青素提取量达到最高, 为 (4.00±0.13) mg/g。这是因为, 工作压力在两个方面影响花青素的提取效果: 高能粒子的数量和能级。真空度越高, 粒子轰击材料受到的阻碍越小, 它们的能级越高。然而, 高真空中的粒子数少, 导致预处理效率偏低。另一方面, 在低真空的处理腔体内活性粒子数较多, 它们之间在一定程度上的相互碰撞会阻碍粒子轰击材料表面, 最终使到达材料表面的粒子能量水平相对较低。

根据以上单因素实验结果, 冷等离子体预处理的最佳条件为预处理时间 80 s、放电功率 120 W、工作压力 150 Pa, 在此条件下花青素提取量为 (4.00±0.13) mg/g。

2.2 冷等离子体辅助提取响应面优化实验

2.2.1 响应面实验结果

表 1 为响应面实验设计与结果。采用 Design Expert 8.05 软件对表 1 中的数据进行二项式拟合, 并对模型进行方差分析, 得到二项式拟合方程为:

$$Y=4.04+0.16A-0.11B+0.019C-0.11AB-0.15AC-0.11BC-0.28A^2-0.27B^2-0.29C^2 (P<0.01, R^2=0.9358)$$

表 1 响应面实验设计与结果

Table 1 Design and results of response surface experiment

序号	编码值			实际值			花青素提取量 (Y)/(mg/g)
	A	B	C	放电功率/W	处理时间/s	工作压力/Pa	
1	-1	0	1	100	80	170	3.45±0.18
2	0	0	0	120	80	150	4.01±0.06
3	0	-1	-1	120	60	130	3.38±0.11
4	-1	0	-1	100	80	130	3.27±0.09
5	0	0	0	120	80	150	4.11±0.12
6	0	0	0	120	80	150	3.93±0.16
7	-1	1	0	100	100	150	3.26±0.17
8	0	0	0	120	80	150	4.01±0.13
9	1	0	-1	140	80	130	3.78±0.21
10	0	-1	1	120	60	170	3.81±0.14
11	-1	-1	0	100	60	150	3.27±0.14
12	1	-1	0	140	60	150	3.93±0.20
13	0	1	1	120	100	170	3.35±0.16
14	0	0	0	120	80	150	4.14±0.05
15	0	1	-1	120	100	130	3.38±0.18
16	1	1	0	140	100	150	3.50±0.25
17	1	0	1	140	80	170	3.35±0.10

极显著; 失拟项 ($F=3.84, P>0.05$) 不显著, 说明该方程拟合度好。从表 2 可以看出, 各因素对花青素提取量的影响程度为 A (放电功率) $> B$ (处理时间) $> C$ (工作压力)。一次项 A 、 B , 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 以及交互项 AC 均显著, 而其余项均为不显著因素。

表 2 回归模型方差分析

Table 2 Analysis of variance of regression mode

数据来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.63	9	0.18	11.33	0.0021	**
A	0.21	1	0.21	13.45	0.0080	**
B	0.10	1	0.10	6.35	0.0399	*
C	0.0028	1	0.0028	0.18	0.6872	○
AB	0.044	1	0.044	2.76	0.1403	○
AC	0.093	1	0.093	5.83	0.0464	*
BC	0.053	1	0.053	3.32	0.1114	○
A^2	0.34	1	0.34	21.25	0.0025	**
B^2	0.30	1	0.30	18.71	0.0035	**
C^2	0.36	1	0.36	22.77	0.0020	**
残差	0.11	7	0.016			
失拟项	0.083	3	0.028	3.84	0.1134	
纯误差	0.029	4	0.0072			
总差	1.74	16				

注: “**” 表示差异极显著 ($P<0.01$); “*” 表示差异显著 ($P<0.05$); “○” 表示差异不显著 ($P>0.05$)。

2.2.2 回归模型方差分析

响应面实验结果的方差分析见表 2。相关系数 $R^2=0.9358$, 该模型的 $F=11.33, P<0.01$, 表明该模型

2.2.3 响应面分析

图 2 为响应曲面图及等高线分析图。

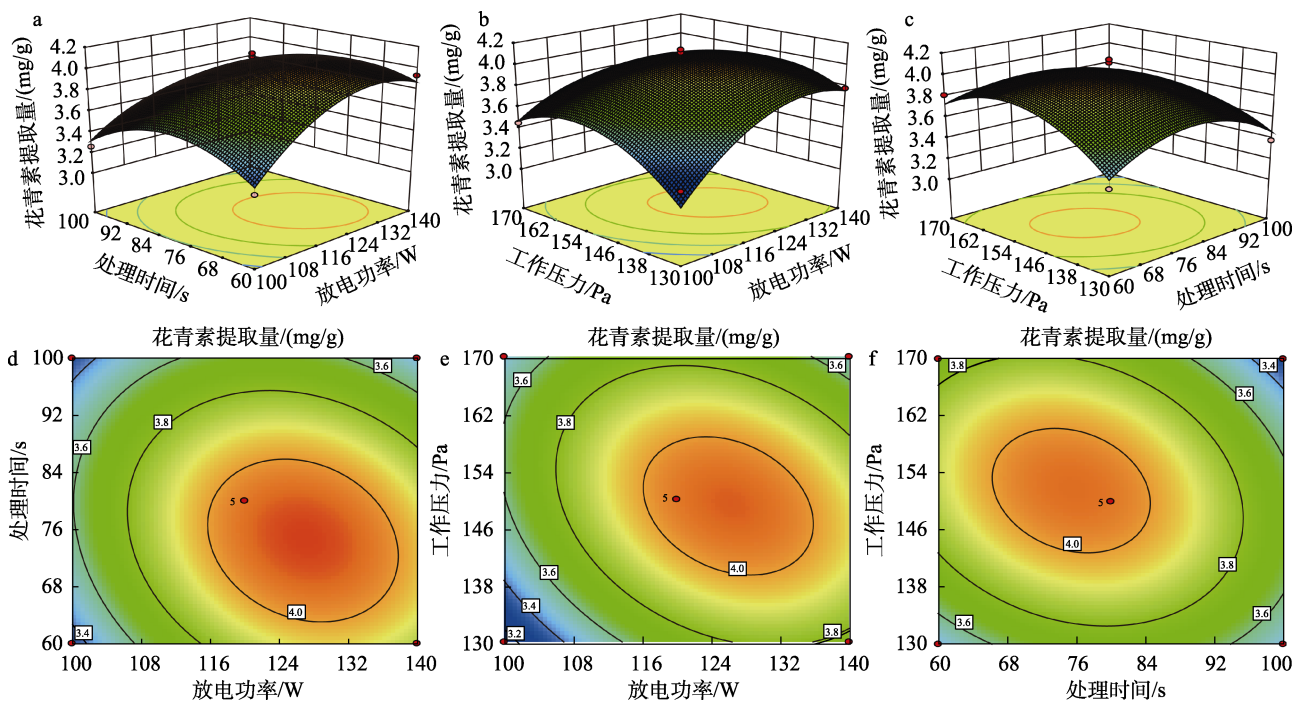


图 2 处理时间、放电功率和工作压力之间的交互作用对花青素提取量的响应面图 (a、b、c) 及等高线图 (d、e、f)
Fig. 2 Response surface plots (a, b, c) and contour plots (d, e, f) of interaction between processing time, discharge power and working pressure on extraction yield of anthocyanin

从图 2 可以看出, 放电功率和工作压力的等高线分布紧密, 为椭圆形, 且对应的曲面陡峭, 表明放电功率和工作压力之间的交互作用明显, 对花青素提取量的影响显著, 这与表 2 的结果一致。

2.2.4 验证实验

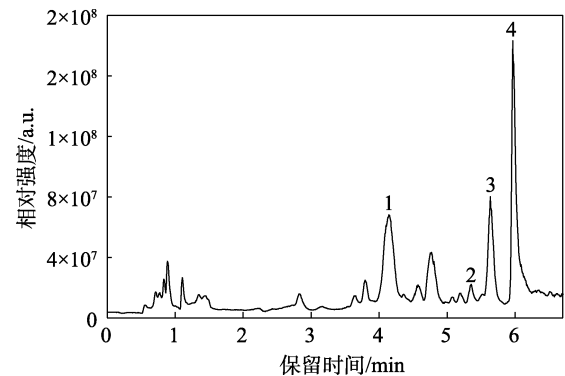
通过 Design Expert 8.05 软件分析, 最佳预处理条件为放电功率 126.81 W、处理时间 74.45 s、工作压力 149.97 Pa。考虑到实际情况, 将工艺参数调整为 127 W、处理时间 75 s、工作压力 150 Pa, 在此条件下进行 3 次平行实验, 花青素提取量为(4.05±0.05) mg/g, 与预测值(4.08 mg/g)接近, 说明构建的模型可靠。冷等离子体辅助提取法的花青素提取量比直接采用溶剂提取法[(2.71±0.07) mg/g, 图 1a]和超声辅助提取法[(3.14±0.05) mg/g]的花青素提取量分别提高了 49.45%和 28.98%。这是因为, 冷等离子体的高能粒子与超声波的空化作用均能破坏细胞壁, 有利于花青素从细胞内快速溶出。从花青素提取量结果看, 冷等离子体辅助提取法比超声辅助提取法更有效。

2.3 PCAs 成分及含量分析

图 3 和表 3 为 PCAs 的 UPLC-MS 分析结果。

经过与标准品比对, 图 3 中保留时间为 4.8 min 的峰不属于花青素组分之一。从图 3 和表 3 可以看出, PCAs 主要含有 4 种成分: 天竺葵素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素-3-O-葡萄糖苷、矢车菊素和矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷, 经冷等离子体预处理后, 矢车菊素-3-O-葡萄糖苷及天竺葵素-3-O-葡萄糖苷的含量有所变化。与传统溶剂提

取法和超声辅助提取法相比, 冷等离子体辅助提取法所得花青素成分中矢车菊素-3-O-葡萄糖苷质量分数为 34.23%, 分别提高了 67.55%、70.72%; 天竺葵素-3-O-葡萄糖苷质量分数为 38.62%, 分别降低了 25.70%和 26.47%。



1—矢车菊素-3-O-葡萄糖苷; 2—矢车菊素; 3—矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷; 4—天竺葵素-3-O-葡萄糖苷

图 3 提取的 PCAs 的 UPLC 色谱图

Fig. 3 UPLC chromatogram of PCAs obtained by extraction

2.4 PCAs 体外抗氧化能力测定

通过 DPPH、ABTS⁺自由基清除能力来综合评价 PCAs 的体外抗氧化能力^[48]。图 4 为 PCAs 清除自由基能力测定的结果。可以看出, PCAs 清除 DPPH 和 ABTS⁺自由基的 IC₅₀ 分别为 0.2972 和 0.2770 g/L, 均略高于抗坏血酸的 IC₅₀ (0.2648 和 0.2554 g/L)。

结果表明, 提取的 PCAs 具有与抗坏血酸接近的体外抗氧化能力。

表 3 不同提取方法的 PCAs 具体成分 UPLC-MS 分析结果

Table 3 Results of UPLC-MS analysis of specific components of PCAs by different extraction methods

编号	保留时间/min	分子离子(M ⁺)	质荷比(m/Z)	成分	质量分数/%		
					CSE	UAE	CPAE
1	4.140	449	287	矢车菊素-3-O-葡萄糖苷	20.43	20.05	34.23
2	5.360	477	287	矢车菊素	6.31	6.17	5.87
3	5.550	479	317	矮牵牛素-3-O-葡萄糖苷	0.01	0.01	0.01
4	5.970	433	271	天竺葵素-3-O-葡萄糖苷	51.98	52.52	38.62

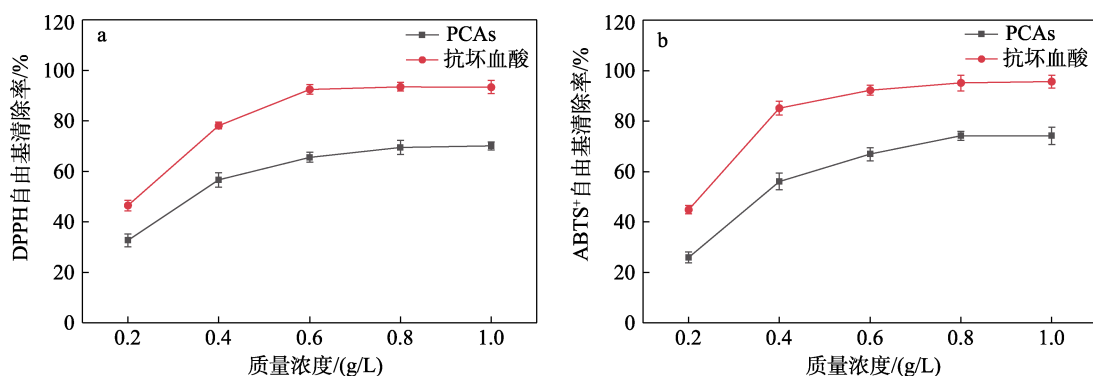


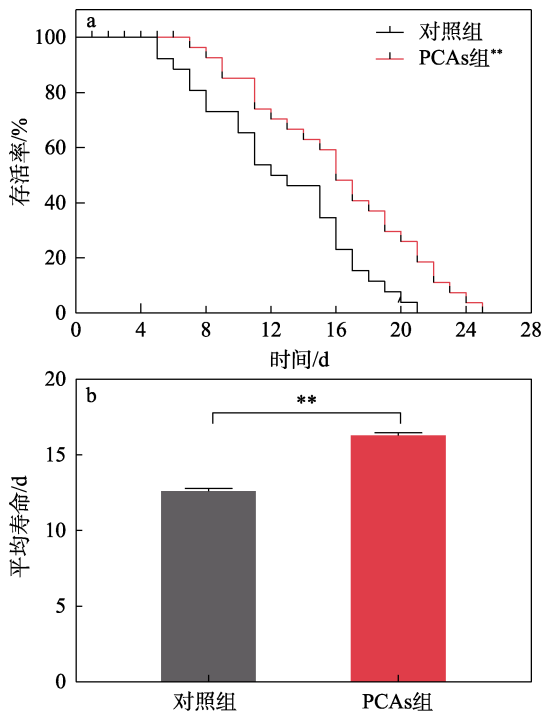
图 4 PCAs 清除 DPPH (a)、ABTS⁺ (b) 自由基的能力

Fig. 4 Ability of PCAs to scavenge DPPH (a) and ABTS⁺ (b) free radicals

2.5 PCAs 体内抗氧化能力评价

2.5.1 线虫寿命

图 5 为 PCAs 对 L4 期野生 N2 线虫寿命的影响。



a—生存曲线; b—平均寿命; “***”表示差异极显著 ($P < 0.01$); “*”表示差异显著 ($P < 0.05$), 下同

图 5 PCAs 对线虫寿命的影响

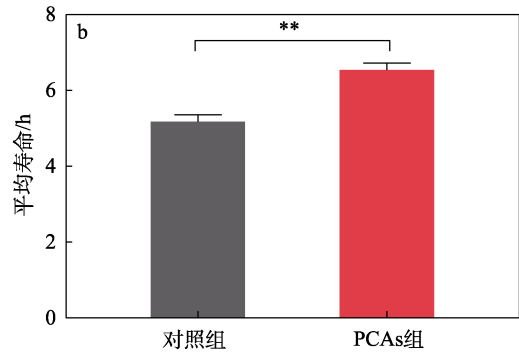
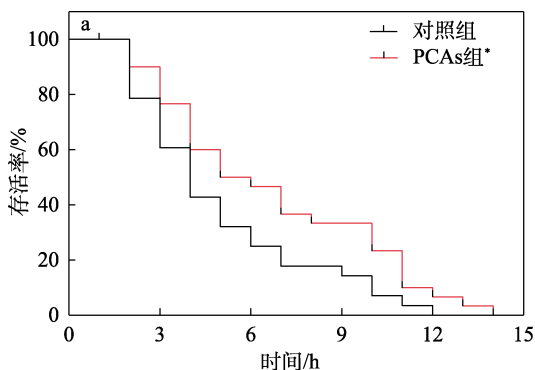
Fig. 5 Effect of PCAs on lifespan of *Caenorhabditis elegans*

从图 5 可以看出, 花青素给药组的线虫平均寿命为(16.30±0.16) d, 与对照组(12.61±0.17) d 相比, 提高了 29.26%。同时, 给药组的线虫最长寿命为 25 d, 亦高于对照组 (21 d)。可见, 花青素与线虫的生长密切相关, 有利于获得较高的生存质量。

2.5.2 抗应激能力

当线虫遇到高温或氧化剂等有害环境时, 体内会产生应激反应, 如热应激和氧化应激反应等, 这些反应会造成细胞损伤。

图 6 为氧化应激条件下, PCAs 对 L4 期野生 N2 线虫寿命的影响。



a—生存曲线; b—平均寿命

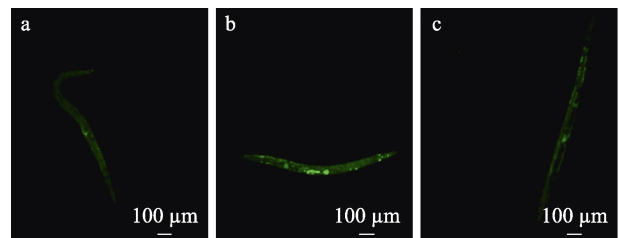
图 6 氧化应激条件下 PCAs 对线虫寿命的影响

Fig. 6 Effect of PCAs on lifespan of *Caenorhabditis elegans* under oxidative stress

从图 6 可以看出, 在 H_2O_2 诱导的氧化应激下, 花青素给药组的线虫存活率得到明显提高。与对照组 [(5.18±0.18) h] 相比, 给药组 [(6.54±0.18) h] 生存曲线明显右移, 平均寿命提高了 26.25%。

2.5.3 细胞内 ROS 水平

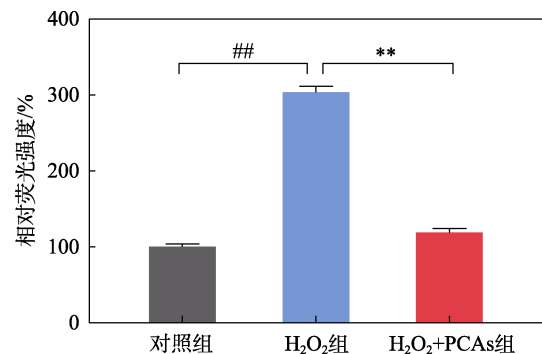
荧光探针 DCFH-DA 可以自由穿过细胞膜, 在细胞内会生成无荧光的 2',7'-二氯二氢荧光素 (DCFH), 活性氧 (ROS) 能将其氧化为有荧光的 2',7'-二氯荧光素 (DCF), 根据荧光强度来判断细胞内 ROS 水平。图 7 为线虫 DCF 荧光图像, 图 8 为 PCAs 对 L4 期野生 N2 线虫体内 ROS 水平的影响



a—对照组; b— H_2O_2 组; c— H_2O_2 +PCAs 组

图 7 线虫 DCF 荧光图像

Fig. 7 DCF fluorescence images of *Caenorhabditis elegans*



“**”表示与 H_2O_2 组比较差异极显著 ($P < 0.01$); “##”表示与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$)

图 8 PCAs 对线虫体内 ROS 水平的影响

Fig. 8 Effect of PCAs on ROS levels in *Caenorhabditis elegans*

从图 7 可以看出, 给药花青素后, 线虫的荧光强度明显减弱, 其细胞内 ROS 水平显著降低, 这表明 PCAs 能提高线虫应激抵抗能力。与对照组相比, H₂O₂ 组的 ROS 水平得到了显著提高; 与 H₂O₂ 组相比, 花青素给药组的 ROS 水平降低了 60.83% (图 8)。此结果说明花青素能显著提高线虫的抗氧化能力。

3 结论

本文使用射频冷等离子体辅助提取法来提取 PCAs。

(1) 与传统溶剂提取法和超声辅助提取法相比, 采用冷等离子体辅助提取法具有更高的花青素提取率, 提取量分别提高了 49.45% 和 28.98%。

(2) 冷等离子体处理对花青素不同成分的含量有影响, 与溶剂提取法和超声辅助法相比, 提高了矢车菊-3-*O*-葡萄糖苷含量, 降低了天竺葵素-3-*O*-葡萄糖苷含量。

(3) PCAs 清除 DPPH、ABTS⁺ 自由基的 IC₅₀ 分别为 0.2972、0.2770 g/L, 具有与抗坏血酸 (IC₅₀ 分别为 0.2648 和 0.2554 g/L) 接近的抗氧化能力。

(4) PCAs 可有效延长秀丽隐杆线虫的寿命, 花青素给药组的线虫平均寿命为 (16.30±0.16) d, 而对照组为 (12.61±0.17) d。PCAs 还提高了线虫抵抗氧化胁迫的能力。当利用 H₂O₂ 使线虫处于氧化应激状态时, 与对照组 [(5.18±0.18) h] 相比, 给药组 [(6.54±0.18) h] 的平均寿命明显增加。

射频冷等离子体处理工艺具有绿色、成本低、处理时间短和易于放大生产等优点, 可为实现 PCAs 提取的产业化提供参考。

参考文献:

- [1] HU H, LIANG W X, ZHANG Y Y, *et al.* Multipurpose use of a corncob biomass for the production of polysaccharides and the fabrication of a biosorbent[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2018, 6(3): 3830-3839.
- [2] WANG Y Q, DU J, LI Q, *et al.* Bioconversion of cellulose and hemicellulose in corn cob into L-lactic acid and xylo-oligosaccharides [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253: 126775.
- [3] CAO X M (曹晓梅), WANG W T (王伟涛), GUO H S (郭海顺), *et al.* Preparation of furfural from corncob catalyzed by solid acid[J]. *Applied Chemical Industry (应用化工)*, 2022, 51(5): 1314-1318, 1323.
- [4] MA Y F, CHEN S Y, QI Y, *et al.* An efficient, green and sustainable potassium hydroxide activated magnetic corn cob biochar for imidacloprid removal[J]. *Chemosphere*, 2022, 291: 132707.
- [5] CAI D, DONG Z S, WANG Y, *et al.* Biorefinery of corn cob for microbial lipid and bio-ethanol production: An environmental friendly process[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 677-684.
- [6] ADEDEJ A. Agri-food waste reduction and utilization: A sustainability perspective[J]. *Journal of the ASABE*, 2022, 65(2): 471-479.
- [7] QING Q, GUO Q, ZHOU L L, *et al.* Catalytic conversion of corncob and corncob pretreatment hydrolysate to furfural in a biphasic system with addition of sodium chloride[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 226: 247-254.
- [8] QASIM M, CLARKSON A N, HINKLEY S F R. Green synthesis of carbon nanoparticles (CNPs) from biomass for biomedical applications [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(2): 1023.
- [9] SELVAKUMAR P, ADANE A A, ZELALEM T, *et al.* Optimization of binary acids pretreatment of corncob biomass for enhanced recovery of cellulose to produce bioethanol[J]. *Fuel*, 2022, 321: 124060.
- [10] ZHENG A Q, ZHAO Z L, CHANG S, *et al.* Comparison of the effect of wet and dry torrefaction on chemical structure and pyrolysis behavior of corncobs[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 176: 15-22.
- [11] LIU Y R, NIE Y, LU X M, *et al.* Cascade utilization of lignocellulosic biomass to high-value products[J]. *Green Chemistry*, 2019, 21(13): 3499-3535.
- [12] DINANI S T, VAN DER GOOT A J. Challenges and solutions of extracting value-added ingredients from fruit and vegetable by products: A review[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(25): 7749-7771.
- [13] FAROOQ S, SHAH M A, SIDDIQUI M W, *et al.* Recent trends in extraction techniques of anthocyanins from plant materials[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2020, 14(6): 3508-3519.
- [14] WANG J, WANG J H, YU Y M. Effective and safer catalyst KHSO₄ for producing furfural: A platform compound[J]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2021, 11(4): 1293-1300.
- [15] XU L, WANG A L, LI S Q, *et al.* Biomass residue cellulose-based poly(ionic liquid)s: New materials with selective metal ion adsorption [J]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2022, 12(9): 3933-3942.
- [16] GANDAM P K, CHINTA M L, PABBATHI N P P, *et al.* Second-generation bioethanol production from corncob-A comprehensive review on pretreatment and bioconversion strategies, including techno-economic and lifecycle perspective[J]. *Industrial Crops & Products*, 2022, 186: 115245.
- [17] AL-KASSIR A, COELHO P, GARCÍA-SANZ-CALCEDO J, *et al.* An experimental technology of drying and clean combustion of biomass residues[J]. *Applied Sciences-Basel*, 2018, 8(6): 905.
- [18] ALAPPAT B, ALAPPAT J. Anthocyanin pigments: Beyond aesthetics [J]. *Molecules*, 2020, 25(23): 5500.
- [19] ZHANG P Y, ZHU H L. Anthocyanins in plant food: Current status, genetic modification, and future perspectives[J]. *Molecules, Multidisciplinary Digital Publishing Institute*, 2023, 28(2): 866.
- [20] LEE Y M, YOON Y, YOON H, *et al.* Dietary anthocyanins against obesity and inflammation[J]. *Nutrients*, 2017, 9(10): 1089.
- [21] LILA M A, BURTON-FREEMAN B, GRACE M, *et al.* Unraveling anthocyanin bioavailability for human health[J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2016, 7(1): 375-393.
- [22] FAROOQ S, SHAH M A, SIDDIQUI M W, *et al.* Recent trends in extraction techniques of anthocyanins from plant materials[J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2020, 14(6): 3508-3519.
- [23] COSTA D V, ALMEIDA D P, PINTADO M. Effect of postharvest application of ethylene on the profile of phenolic acids and anthocyanins in three blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum*) [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(13): 5052-5061.
- [24] LI X, ZHU F Y, ZENG Z W. Effects of different extraction methods on antioxidant properties of blueberry anthocyanins[J]. *Open Chemistry*, 2021, 19(1): 138-148.
- [25] YI J H, QIU M Y, ZHU Z B, *et al.* Robust and recyclable magnetic nanobiocatalysts for extraction of anthocyanin from black rice[J]. *Food Chemistry*, 2021, 364: 130447.
- [26] MACHADO A P D F, PEREIRA A L D, BARBERO G F, *et al.* Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination[J]. *Food Chemistry*, 2017, 231: 1-10.
- [27] KITRYTĖ V, KAVALIAUSKAITĖ A, TAMKUTĖ L, *et al.* Zero waste biorefining of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) pomace into functional ingredients by consecutive high pressure and enzyme assisted extractions with green solvents[J]. *Food Chemistry*, 2020, 322: 126767.
- [28] XUE H K (薛宏坤), LIU C H (刘成海), LIU C (刘钊), *et al.* A comparative study of the optimization of microwave extraction of anthocyanins from blueberry by response surface methodology and genetic algorithm-artificial neural network[J]. *Food Science (食品科学)*, 2018, 39(16): 280-288.

- [29] JAFARI S M, KHAZAEI K M, ASSADPOUR E. Production of a natural color through microwave-assisted extraction of saffron tepal's anthocyanins[J]. *Food Science & Nutrition*, 2019, 7(4): 1438-1445.
- [30] CHEN L Y, YANG M, MOU H J, *et al.* Ultrasound-assisted extraction and characterization of anthocyanins from purple corn bran[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2018, 42(1): e13377.
- [31] TIAN C P (田程飘), HUANG Q L (黄秋岚), WEI L Y (韦璐阳), *et al.* Ultrasonic-assisted extraction processing and antioxidant activity of anthocyanins from *Clitoria ternatea*[J]. *China Food Additives (中国食品添加剂)*, 2022, 33(11): 18-26.
- [32] KOPUK B, GUNES R, PALABIYIK I. Cold plasma modification of food macromolecules and effects on related products[J]. *Food Chemistry*, 2022, 382: 132356.
- [33] GURURANI P, BHATNAGAR P, BISHT B, *et al.* Cold plasma technology: Advanced and sustainable approach for wastewater treatment[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(46): 65062-65082.
- [34] SILVA N, MARQUES J, DA CRUZ M B, *et al.* The applications of cold atmospheric plasma in dentistry[J]. *Plasma Processes and Polymers*, 2023, 20(12): e2300067.
- [35] BERNHARDT T, SEMMLER M L, SCHÄFER M, *et al.* Plasma medicine: Applications of cold atmospheric pressure plasma in dermatology[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019, 25(1): 1-10.
- [36] COUTINHO N M, SILVEIRA M R, ROCHA R S, *et al.* Cold plasma processing of milk and dairy products[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 74: 56-68.
- [37] BULBUL V J, BHUSHETTE P R, ZAMBARE R S, *et al.* Effect of cold plasma treatment on xanthan gum properties[J]. *Polymer Testing*, 2019, 79: 106056.
- [38] LENG C (冷超), MA C Y (马春雨), WANG R T (王瑞腾), *et al.* Preparation and visible light catalytic activity of plasma-treated TiO₂/WO₃/Bi₂WO₆ nanocomposites[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(8): 1603-1611.
- [39] PAN Y W, CHENG J H, SUN D W. Inhibition of fruit softening by cold plasma treatments: Affecting factors and applications[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2021, 61(12): 1935-1946.
- [40] AMORIM D S, AMORIM I S, CHISTÉ R C, *et al.* Effects of cold plasma on chlorophylls, carotenoids, anthocyanins, and betalains[J]. *Food Research International*, 2023, 167: 112593.
- [41] KUMAR S, PIPLIYA S, SRIVASTAV P P. Effect of cold plasma on different polyphenol compounds: A review[J]. *Journal of Food Process Engineering*, 2023, 46(1): e14203.
- [42] ZAHORANOVÁ A, HOPPANOVÁ L, ŠIMONČICOVÁ J, *et al.* Effect of cold atmospheric pressure plasma on maize seeds: Enhancement of seedlings growth and surface microorganisms inactivation[J]. *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 2018, 38(5): 969-988.
- [43] LI M L, LI X A, HAN C, *et al.* Physiological and metabolomic analysis of cold plasma treated fresh-cut strawberries[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(14): 4043-4053.
- [44] XUE H R (薛海瑞), LI G X (李国秀), SUN Y R (孙意冉), *et al.* Research on optimization of the extraction process and antioxidant activity of anthocyanins from *Lycium ruthenicum* Murr[J]. *Journal of Sichuan University (Natural Science Edition) (四川大学学报: 自然科学版)*, 2023, 60(4): 177-188.
- [45] ELKHEDIR A, IQBAL A, ALBAHI A, *et al.* Capsaicinoid-glucosides of fresh hot pepper promotes stress resistance and longevity in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2022, 77(1): 30-36.
- [46] WANG H, ZHANG S, ZHAI L, *et al.* Ginsenoside extract from ginseng extends lifespan and health span in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Food & Function*, 2021, 12(15): 6793-6808.
- [47] KESHAVARZI M, NAJAFI G, GAVLIGHI H A, *et al.* Enhancement of polyphenolic content extraction rate with maximal antioxidant activity from green tea leaves by cold plasma[J]. *Journal of Food Science*, 2020, 85(10): 3415-3422.
- [48] HU Q, LIU Z G, GUO Y J, *et al.* Antioxidant capacity of flavonoids from *Folium Artemisiae argyi* and the molecular mechanism in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2021, 279: 114398.

(上接第 619 页)

- [16] ELZOGHBY A, SAMY W, ELGINDY N. Protein-based nanocarriers as promising drug and gene delivery systems[J]. *Journal of Controlled Release*, 2012, 161(1): 38-49.
- [17] YAN X J, LI M T, XU X F, *et al.* Zein-based nano-delivery systems for encapsulation and protection of hydrophobic bioactives: A review[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 999373.
- [18] LIU J W, YU H R, KONG J L, *et al.* Preparation, characterization, stability, and controlled release of chitosan-coated zein/shellac nanoparticles for the delivery of quercetin[J]. *Food Chemistry*, 2024, 444: 138634.
- [19] LIU Q G, JING Y Q, HAN C P, *et al.* Encapsulation of curcumin in zein/caseinate/sodium alginate nanoparticles with improved physicochemical and controlled release properties[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 93: 432-442.
- [20] LUO Y C, WANG T Y, TENG Z, *et al.* Encapsulation of indole-3-carbinol and 3,3'-diindolylmethane in zein/carboxymethyl chitosan nanoparticles with controlled release property and improved stability [J]. *Food Chemistry*, 2013, 139: 224-230.
- [21] BRIONES A, SATO T. Encapsulation of glucose oxidase (GOD) in polyelectrolyte complexes of chitosan-carrageenan[J]. *Reactive & Functional Polymers*, 2010, 70: 19-27.
- [22] PATEL A, BOUWENS E, VELIKOV K, *et al.* Sodium caseinate stabilized zein colloidal particles[J]. *Food Chemistry*, 2010, 58(23): 12497-12503.
- [23] PATEL A, HU Y C, TIWARI K, *et al.* Synthesis and characterisation of zein-curcumin colloidal particles[J]. *Soft Matter*, 2010, 6(24): 6192.
- [24] HU Y, HE C X, JIANG C J, *et al.* Complexation with whey protein fibrils and chitosan: A potential vehicle for curcumin with improved aqueous dispersion stability and enhanced antioxidant activity[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 104: 105729.
- [25] HARNASILAWAT T, PONGSAWATMANIT R, MCCLEMENTS D, *et al.* Characterization of β -lactoglobulin-sodium alginate interactions in aqueous solutions: A calorimetry, light scattering, electrophoretic mobility and solubility study[J]. *Food Hydrocolloids*, 2006, 20: 577-585.
- [26] FARRELL H, WICKHAM E, UNRUH J, *et al.* Secondary structural studies of bovine caseins: Temperature dependence of β -casein structure as analyzed by circular dichroism and FTIR spectroscopy and correlation with micellization[J]. *Food Hydrocolloids*, 2001, 15: 341-354.
- [27] YANG Z Y (杨忠煜). Fabrication of zein-carboxymethyl cellulose nanoparticles for co-encapsulation of polyphenols[D]. Wuxi: Jiangnan University (江南大学), 2023.
- [28] SUN C X, DAI L, GAO Y X, *et al.* Binary complex based on zein and propylene glycol alginate for delivery of quercetagenin[J]. *Biomacromolecules*, 2016, 17(12): 3973-3985.
- [29] FRANCISCO R, CARMEN L, FRANCISCO J, *et al.* Preparation and characterization of quercetin-loaded zein nanoparticles by electrospinning and study of *in vitro* bioavailability[J]. *Journal of Food Science*, 2019, 84(10): 2883-2897.
- [30] FARHAD A, ZAHRA E, MOHAMMOL/LAD S, *et al.* Cold gelation of curcumin loaded whey protein aggregates mixed with k-carrageenan: Impact of gel microstructure on the gastrointestinal fate of curcumin [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 85: 267-280.
- [31] AMJADI S, ALMASI H, GHORBANI M, *et al.* Preparation and characterization of TiO₂ NPs and betanin loaded zein/sodium alginate nanofibers[J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2020, 24: 100504.
- [32] SHUKLA R, CHERYAN M. Zein: The industrial protein from corn[J]. *Industrial Crops and Products*, 2001, 13: 171-192.
- [33] ZOU Y (邹艳). Fabrication of quercetin-loaded zein composite nanoparticles antioxidant activity[D]. Guangzhou: Guangdong Pharmaceutical University (广东药科大学), 2021.