

小麦蛋白酶解物-槲皮素复合纳米颗粒的构建及表征

韦翠兰, 欧阳颖, 王梦萍, 杨晓泉, 王金梅

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 槲皮素(Quercetin, Que)这一具有广泛生物活性的黄酮类物质, 在水中溶解度极低, 化学稳定性差, 限制了其在食品领域的应用。本文利用小麦蛋白酶解物(Wheat Protein Hydrolysate, WPH)成功构建了蛋白酶解物-槲皮素复合纳米颗粒, 并对其胶体性质、形貌及二者之间相互作用进行表征。主要结论如下: WPH 具有良好的胶束形成能力和界面活性, 在对 Que 进行反溶剂时, 蛋白酶解物中的两亲性多肽通过自组装作用包载 Que 构建了复合纳米颗粒, Que 在水中的溶解度显著提高。当蛋白酶解物浓度为 5 mg/mL 时, 槲皮素溶解度高达 126 $\mu\text{g/mL}$ 。该复合纳米颗粒为球形胶体颗粒, 其平均粒径在 100 nm 以下, 且分布均匀, 表现出良好的单分散性及胶体稳定性。荧光及 X 射线衍射分析表明, 酶解物与 Que 之间主要发生疏水相互作用为主的非共价相互作用。

关键词: 槲皮素; 小麦蛋白酶解物; 两亲性; 自组装; 纳米颗粒

文章编号: 1673-9078(2018)03-95-100

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.03.014

Fabrication and Characterization of Wheat Protein Hydrolysate-Quercetin Nanoparticles

WEI Cui-lan, OUYANG Ying, WANG Meng-ping, YANG Xiao-quan, WANG Jin-mei

(College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Quercetin (Que), as a bioactive component, has very poor water solubility and chemical stability, which limits its application in the field of functional foods as an antioxidant. Wheat protein hydrolysate (WPH) was used to fabricate hydrolysate-quercetin nanoparticles in this paper. The colloidal properties, morphology, and the interaction between hydrolysate and quercetin were characterized. WPH exhibited good micelle formation and interfacial activities. Complex nanoparticles could be fabricated due to the self-assembly of amphiphilic polypeptides in WPH during a anti-solvent process. The water solubility of Que was significantly increased and reached 126 $\mu\text{g/mL}$ when the protein hydrolysate concentration was 5mg/mL. The complex nanoparticles were spherical particles with a hydrodynamic diameter of less than 100 nm, which showed a good monodispersity and colloidal stability. Fluorescence and X - ray diffraction analysis indicated that the formation of complex nanoparticles might be attributed to the occurrence of hydrophobic interactions between protein hydrolysate and Que.

Key words: quercetin; wheat protein hydrolysate; amphiphilicity; self-assembly; nanoparticles

槲皮素(Quercetin, Que)是一类来源于豆科植物的黄酮类化合物, 显示出广泛的健康促进作用, 如抗癌、肝脏保护、抗糖尿病和抗菌活性等^[1]。然而, 槲皮素为疏水性物质, 其较低的水溶性和不稳定性严重限制了其在药物和食品领域中的应用^[2,3]。研究表明, 纳米技术可以成为提高疏水性物质的水溶性及其生物利用度的重要工具^[4,5]。因此, 找寻合适的载体使槲皮素有效的发挥其生物活性是关键问题。

目前, 已有多种物质成功用于水溶性槲皮素纳米颗粒的制备。利用聚 D,L-丙交酯(PLA)^[6]和壳聚糖-藻酸

收稿日期: 2017-09-21

基金项目: 中央高校基本科研业务费项目 (SCUT, 2015ZZ115)

作者简介: 韦翠兰 (1993-), 女, 研究生, 研究方向: 蛋白质加工与利用

通讯作者: 王金梅 (1982-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 蛋白质加工与利用

盐^[7]包封 Que, 可以改善 Que 的溶解性, 但形成的颗粒均有较大粒径(分别为 130±30 nm 和 900 nm 左右)。蛋白质活性基团与疏水多肽能发生非共价相互作用(如疏水相互作用、氢键、静电相互作用以及 π 水相堆积等), 形成胶体输送体系, 从而达到对疏水活性营养成分输送的目的^[8,9]。鉴于此, 蛋白质亦可以用做槲皮素的荷载载体, 以期提高其水溶性和生物利用率。Antçnio 等^[10]人报道, 牛血清蛋白-槲皮素纳米颗粒荷载率不高, 约为 85%; Patel 等^[11]也指出, 玉米醇溶蛋白-槲皮素纳米颗粒由于静电斥力作用易发生聚集。小麦蛋白含有大量的疏水性氨基酸, 具有天然的两亲特性及自组装能力, 是制备功能性胶体颗粒的优良材料^[12]。通过反溶剂沉淀^[13]法, 能够与疏水性物质(如, 白藜芦醇^[14]、槲皮素^[11]、 α -生育酚^[15]和姜黄素^[16])形成稳定的复合胶体颗粒。但是, 归因于 40%的极性不

带电谷氨酰胺的存在以及麦醇溶蛋白的抗原性,小麦蛋白稳定性易受影响^[17]。

与蛋白质相比,肽具有溶解性好,低抗原性和易吸收等特点。近年来,研究发现一些具有两亲特性的蛋白水解产物同样具有自组装特性,可制备出胶束、纳米管以及纳米纤维等各种纳米结构体^[18,19],在作为输送载体用于营养输送方面极具潜在价值,例如 α 例乳白蛋白的水解物^[20]。小麦蛋白作为一种富含脯氨酸的两亲性蛋白,经过酶解后获得小麦蛋白水解物(Wheat Protein Hydrolysate, WPH),由于WPH中同样富含大量的疏水性氨基酸和同其他疏水性小分子结合的能力,因此具有作为载体构建胶体输送体系的潜力。由此,本文试拟采用小麦蛋白为原料,通过酶解获得两亲性多肽,构建稳定的槲皮素输送体系,并且对该复合物的性质及相互作用进行表征。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

小麦谷朊粉,购于美国Bob's Red Mill公司;胰蛋白酶(Trypsin),购于Sigma公司;分析测定所用各种化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

DELTA冷冻干燥机,德国Christ公司;Version2.3 light自动滴定仪,瑞士万通中国有限公司;OCA20视频光学接触角测量仪,德国Dataphysics公司;Nano-ZS纳米粒度分析仪和Mastersizer 3000+EV微米粒度仪,英国Malvern公司;Sonic Ruptor 400超声细胞破碎仪,美国OMNI公司;F-7000荧光分光光度计,日本Hitachi公司。

1.3 方法

1.3.1 小麦蛋白酶解物的制备

将小麦谷朊粉(5%, m/V)分散于水中,搅拌30 min,预热到37 °C,用2 mol/L NaOH标准溶液调节pH到8.0,加入Trypsin,酶:底物=1:100(m/V),于37 °C水浴中加热,用自动滴定仪滴定,保持溶液pH在8.0,酶解3 h后于95 °C灭酶10 min后离心(10000 r/min, 15 min),上清液经冷冻干燥后获得酶解物样品。

1.3.2 小麦蛋白酶解物的界面吸附能力

参考王金梅等^[21]方法。采用OCA20视频光学接触角测量仪测定其汽水界面张力随吸附时间 t 的变化以评估WPH的两亲特性。配置小麦蛋白酶解产物溶液(1、2、3、5 mg/mL),进样针取样并组装好进样

装置,用电动注射装置进样15 μ L,视频系统采集连续的液滴外形图象,检测界面张力随吸附时间 t 的变化,测定时间为3 h,温度为25 °C。

1.3.3 小麦蛋白酶解物/槲皮素复合纳米颗粒的制备

配制不同浓度WPH溶液(0、0.5、1、2、3、5 mg/mL, pH 7.0),用无水乙醇配制Que溶液,Que溶液经过反溶剂加入到WPH溶液中,使Que的终浓度为133 μ g/mL,轻轻摇动即形成蛋白酶解物-Que复合物体系,静置30 min后将少量沉淀进行离心(10000 r/min, 15 min),上清液即为获得的复合纳米颗粒。通过测定槲皮素含量来确定其增溶效果。

1.3.4 Que荷载率的测定

用无水乙醇配制成不同浓度(0, 2, 4, 6, 8, 10 μ g/mL) Que溶液,用紫外分光光度计于波长374 nm比色,得到线性回归方程($Y=0.047X-0.0026$, $R^2=0.9995$)。将复合纳米颗粒溶液样品稀释后于同样条件下进行比色,依据方程计算出溶解度。荷载率为Que溶解度同初始浓度(133 μ g/mL)的比值。

1.3.5 复合纳米颗粒的粒度测定

粒度测试于25 °C室温下进行,采用背散射技术(光散射角度为173 °)降低大颗粒的影响。利用光散射强度随时间变化计算颗粒平均粒径(Z-average)、多分散指数(PDI)及体积分布。平行测定三次。

1.3.6 颗粒形貌观察

通过透射电子显微镜对Que纳米颗粒的形貌进行观察。单纯Que溶液为对照。将新鲜制备WPH-Que溶液稀释至WPH浓度为5 μ g/mL并置于400目的铜网上,待铜网自然干燥后再滴加磷钨酸(0.5%, m/V)进行染色5 min^[22],同样除去液体后待自然干燥后进行观察。

1.3.7 荧光光谱

参考Chen等^[23]方法并稍作修改。记录小麦蛋白水解物(5 mg/mL)与一系列浓度的Que(0~20 μ g/mL)在10 mM磷酸缓冲液(pH 7.0)中的荧光发射光谱,以相应浓度Que作为参比,激发波长为280 nm,发射波长为310~500 nm,激发和发射狭缝宽均为5 nm,测定温度为25 °C。使用Stern-Volmer^[24]方程进行分析,计算Que纳米颗粒的荧光淬灭速率常数。

1.3.8 X射线衍射(X-Ray Diffraction, XRD)

常温条件下,将蛋白酶解液,水溶Que溶液以及复合纳米颗粒溶液冻干,进行XRD测定。测试指标如下:采用D8 ADVANCE衍射器(德国Bruker公司),铜靶 $K\alpha$ 辐射($\lambda=0.15418$ nm),LynXExe阵列探测器,狭缝DS=1 mm; RS=8 mm。采用Ni滤波片,管压40

kV, 管流 40 mA, 扫描波长 0.02 度, 扫描速度 19.2 秒/步。

1.3.9 数据分析

实验数据为三次测定平均值, 采用 SPSS 16.0 方差分析 (ANOVA, Duncan) 比较样品平均值间的显著差异 ($p < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 小麦蛋白酶解物的制备及自组装能力

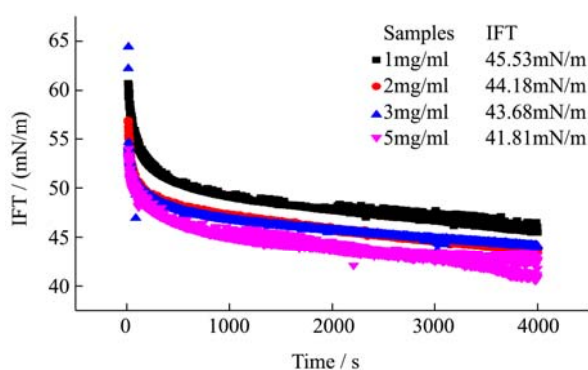


图1 小麦蛋白酶解物在气-水界面的表面张力随吸附时间的变化

Fig.1 Surface tension of WPH with a function of time at different concentrations

随着时间的变化, 小麦蛋白在胰蛋白酶作用下发生了限制性酶解, 水解 3 h 后水解度仅有 4.21%。这可能是由于小麦蛋白中麦谷蛋白和麦醇溶蛋白本身具有的水不溶性导致其不易被蛋白酶酶解。小麦蛋白的限制性酶解有利于获得两亲性的多肽, 过度的酶解可能导致酶解物表面活性的损失^[25]。Joye 和 McClements 研究发现^[25], 相对于 Alcalase 酶解物而言, 胰蛋白酶具有更低的水解度, 但其乳化性较好, 能够较好的稳定乳液液滴。本研究发现 3 h 蛋白酶解物能较好地稳定槲皮素颗粒 (结果未列出), 后续研究采用其作为主要原料构建复合纳米颗粒。为了验证小麦蛋白酶解物是否具有较好的两亲性, 研究了其在气-水界面的表面张力随吸附时间的变化, 见图 1。

整体看, 不同浓度蛋白酶解物的表面张力值均随着吸附时间的增加而迅速减少, 60 min 吸附后, 表面张力值下降趋势趋于平缓。随着酶解物浓度增加, 表面张力下降速度加快。5 mg/mL 酶解物经过 60 min 吸附后, 表面张力下降至 41.81 mN/m。以上结果说明小麦蛋白酶解物具有较好的表面吸附能力, 两亲性多肽分子可以迅速地吸附到气-水界面上。这可能与具有的特殊重复疏水氨基酸结构与序列有关。多肽的分子量不仅仅是决定其表面活性的唯一因素, 其两亲性也

具有重要作用^[26]。Turgeon 等^[26]认为, 多肽至少要有 3~5 个疏水氨基酸不连续的分布于 2~3 个极性氨基酸中间; 并且指出 2000 的最小分子量对于良好的界面性质是至关重要的, 胰蛋白酶水解 β -乳球蛋白 (β -lgG) 获得的多肽都符合这一点。鉴于小麦蛋白酶解物具有一定的两亲性, 利用多肽的自组装特性荷载疏水活性物质制备水溶性纳米颗粒具有一定的可能性。

2.2 复合纳米颗粒中槲皮素的增溶效果

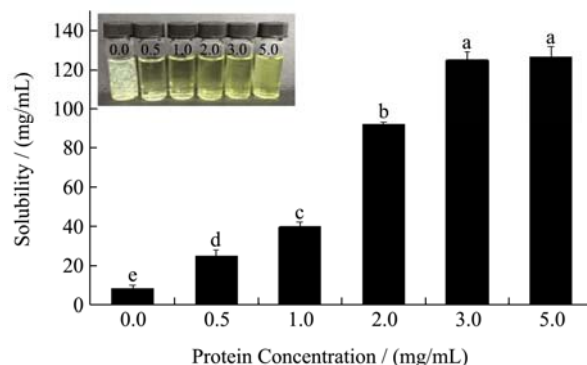


图2 不同浓度的小麦蛋白酶解物对 Que 溶解度的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of WPH on the water solubility of Que

小麦蛋白酶解物具有有效的增溶 Que 这一水溶性极差的疏水活性物质的潜力。图 2 为复合纳米颗粒中 Que 的溶解度。未添加酶解物的槲皮素溶液出现大量的絮状物, 溶液较为浑浊, 此时 Que 的溶解度仅为 8 $\mu\text{g/mL}$ 。据文献报道^[27], Que 在水中溶解度低于 1 $\mu\text{g/mL}$, 说明反溶剂过程可提高 Que 溶解度。王永辉等^[28]也报道了此现象。随着蛋白酶解物浓度的提高, 溶液逐渐澄清透明, 未见明显的絮状物。当蛋白酶解物浓度为 5 mg/mL 时, 槲皮素含量高达 126 $\mu\text{g/mL}$, 说明有 94.74% 的槲皮素荷载于复合纳米颗粒中。蛋白酶解物的存在使得 Que 溶解度显著 ($p < 0.05$) 提高了将近 16 倍。这可能与 WPH 具有一定的两亲性有关。Que 与酶解物中的两亲性多肽可能发生了非共价相互作用, 自组装形成了复合纳米颗粒, 进而对 Que 表现出良好的增溶效果。

2.3 复合纳米颗粒的胶体性质及稳定性

WPH-Que 复合纳米颗粒的粒度分布如图 4 所示。一般情况下, 颗粒粒径越小, 则该颗粒的物理稳定性越好。由图 3a 可以看出, 水溶液中的 Que 表现出了较宽的粒径分布, 粒径从十几微米到数百上千微米, 平均粒径达 1800 nm, 达到肉眼可见程度, 这说明游离的 Que 颗粒在水溶液中是极其不稳定的。WPH-Que 复合纳米颗粒粒径均在 100 nm 以下, 当酶解物浓度

为 5 mg/mL 时, 复合纳米颗粒的平均粒径只有 75.71 nm, 且粒度分布较均匀, 只在 10~100 nm 范围内有单一峰, PDI 值为 0.419, 具有良好的单分散性。此结果与溶解度结果一致 (图 2)。

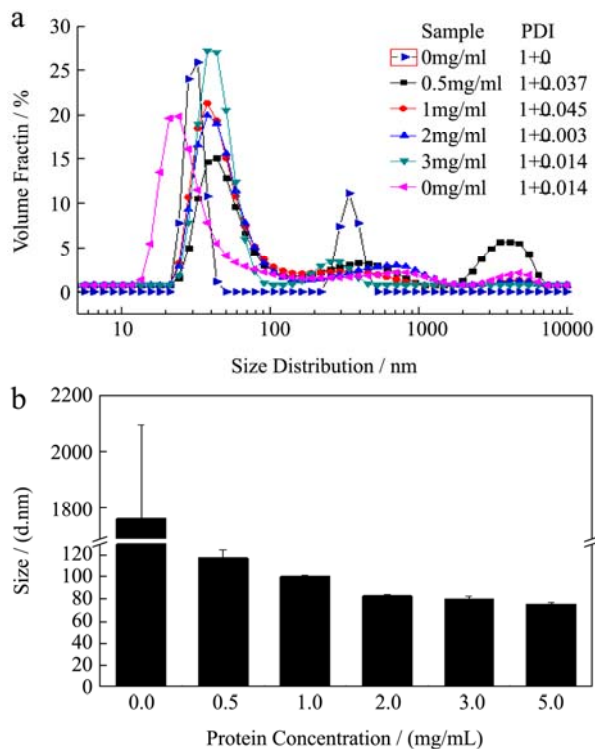


图 3 Que 及 WPH-Que 复合物的粒度分布 (a) 和平均粒径 (b)
Fig.3 Typical size distribution (a) and average size (b) of Que and WPH-Que nanoparticles

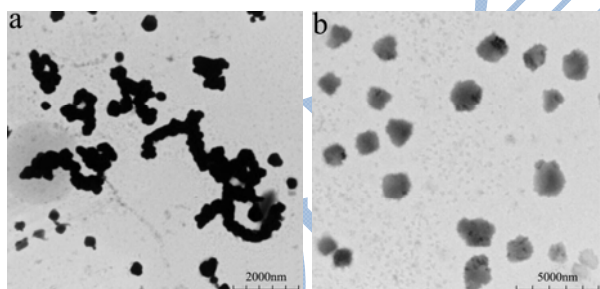


图 4 Que (a)、WPH-Que 复合纳米颗粒 (b) 的 TEM 图 (放大倍数分别为 2.0k \times , 10.0k \times)
Fig.4 Typical TEM images of free Que (a) and WPH-Que nanoparticle (b) with 2.0 k \times and 10.0 k \times magnification, respectively

利用透射电子显微镜对游离 Que 和 WPH-Que 纳米颗粒形貌进行了观察 (图 5)。游离 Que 在水中形成了形状不均匀的较大聚集体, 呈紧实的团聚状态。而 WPH-Que 纳米颗粒则呈现出均匀球形颗粒结构, 粒度均小于 100 nm, 与纳米粒度分析结果一致 (图 3)。另外, 该纳米颗粒具有较低电子密度, 说明其结构较为松散, 可能是由 WPH 和 Que 共组装而成的具有疏水空穴的复合胶束结构。另外, 纳米颗粒周围存在

着许多黑色小颗粒, 这可能是由于粒径较小的 Que 聚集吸附在 WPH-Que 颗粒表面造成的。

2.4 小麦蛋白酶解物/槲皮素的相互作用分析

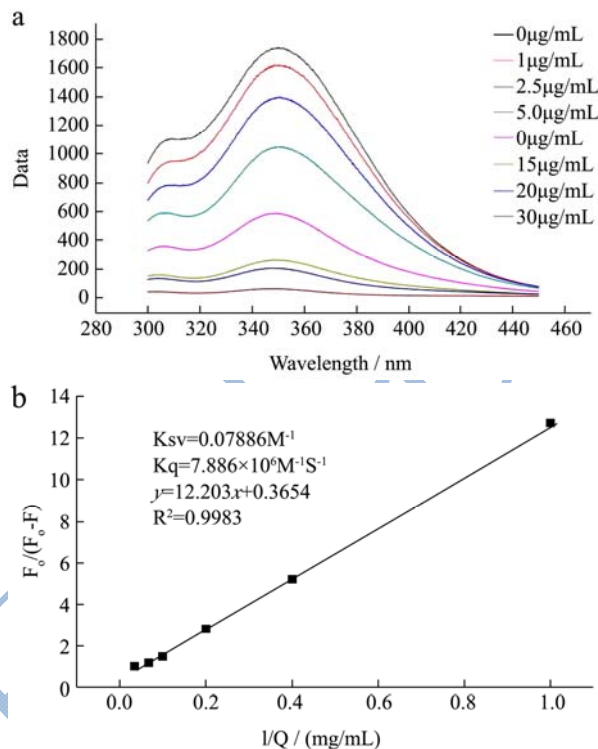


图 5 不同 Que 浓度下的小麦蛋白酶解物的内源荧光光谱 (a) 及其淬灭方程 (b)
Fig.5 Intrinsic fluorescence of WPH in the presence of different concentrations of Que (a) and its quenching equation (b)

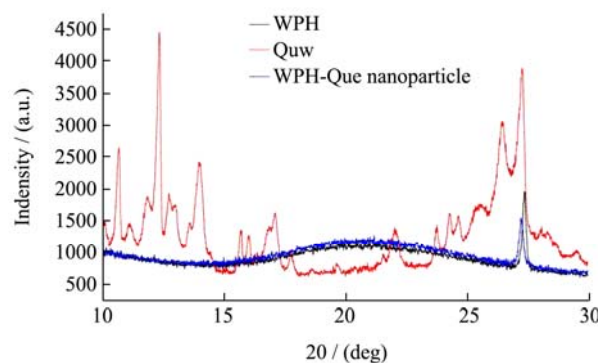


图 6 小麦蛋白酶解物、槲皮素以及复合纳米颗粒的 X 射线衍射
Fig.6 The XRD of WPH, Que and WPH-Que nanoparticles

WPH 在不同 Que 浓度下的荧光发射光谱如图 5a 所示。随着 Que 浓度的提高, WPH 荧光强度逐渐降低, 最大发射波长未见明显的变化。结果表明在不同浓度 Que 下, WPH 中酪氨酸残基周围的介质发生改变, 可以判断 Que 是通过疏水作用结合到酪氨酸残基上的。

利用 Stern-Volmer 方程 (图 5b) 对所得数据分析 WPH-Que 相互作用诱导的荧光淬灭类型。根据结果显

示, K_q 与最大动态淬灭常数 $2.0 \times 10^{10} \text{ M}^{-1} \text{ S}^{-1}$ 比较, 复合纳米颗粒的淬灭常数小于最大淬灭常数, 因此 Que 诱导的荧光淬灭可能存在动态淬灭, 两者之间形成的复合物存在不稳定的情况, 具体的原因还需做进一步的研究探讨。

图 6 是 WPH、Que 以及 WPH-Que 复合纳米颗粒的 X 射线衍射。由图可知, Que 存在大量的晶体峰, 而 WPH 和复合纳米颗粒则无明显的晶体峰出现, 这表明游离的 Que 是以高度结晶状态存在于水中的, 经过 WPH 形成复合纳米颗粒后, 转化为无定型状态, 说明 Que 和 WPH 形成了稳定的具有无定型结构的非共价复合物。

3 结论

本文采用胰蛋白酶对小麦蛋白水解可制备出高效酶解物, 并利用 WPH 构建了以 Que 为模型的复合纳米颗粒胶体输送体系, 发现获得的小麦蛋白肽表现出良好的界面活性以及在水中的胶束形成能力, 二者能通过较强的非共价相互作用形成稳定复合物。在 WPH 溶液中, Que 的溶解度显著提高, WPH 对 Que 的荷载率高达 94.7%。WPH-Que 复合纳米颗粒在水溶液中是以球形胶体颗粒的形式存在, 并且颗粒分布比较均匀, 较小的粒径 ($<100 \text{ nm}$) 为 WPH-Que 复合纳米颗粒良好的物理稳定性提供了保证。WPH 在以 Que 为代表的输水活性物质的胶体输送中表现出巨大的潜力与价值。

参考文献

- [1] Seyed Fazel Nabavi, Gian Luigi Russo, Maria Daglia, et al. Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: You are what you eat! [J]. Food Chemistry, 2015, 179: 305-310
- [2] Tayade Pralhad, Kale Rajendrakumar. Study of freeze-dried quercetin-cyclodextrin binary systems by DSC, FT-IR, X-ray diffraction and SEM analysis [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2004, 34(2): 333-339
- [3] Israeli-Lev G, Livney Y D. Self-assembly of hydrophobin and its co-assembly with hydrophobic nutraceuticals in aqueous solutions: Towards application as delivery systems [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 35(3): 28-35
- [4] Anand P, Kunnumakkara A B, Newman R A, et al. Bioavailability of curcumin: problems and promises [J]. Molecular Pharmaceutics, 2007, 4(6): 807-818
- [5] Gian L R, Maria R, Carmela S, et al. Quercetin: a pleiotropic kinase inhibitor against cancer [J]. Advances in Nutrition and Cancer, 2014: 185-205
- [6] Avnesh Kumari, Sudesh Kumar Yadav, Yogesh B Pakade, et al. Development of biodegradable nanoparticles for delivery of quercetin [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010, 80(2): 184-192
- [7] Denitsa Aluani, Virginia Tzankova, Magdalena Kondeva-Burdina, et al. Evaluation of biocompatibility and antioxidant efficiency of chitosan-alginate nanoparticles loaded with quercetin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 103: 771-782
- [8] Patatel A, Hu Y, Tiwari J K, et al. Synthesis and characterisation of zein-curcumin colloidal particles [J]. Soft Matter, 2010, 6(24): 6192-6199
- [9] Baladrán-Quintana R R, Valdéz-Covarrubias M A, Mendoza-Wilson A M, et al. α -Lactalbumin hydrolysate spontaneously produces disk-shaped nanoparticles [J]. International Dairy Journal, 2013, 32(2): 133-135
- [10] Antônio, Emilli, Khalil, et al. Bovine serum albumin nanoparticles containing quercetin: characterization and antioxidant activity [J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2016, 16: 1346-1353
- [11] Patel A R, Heussen P C, 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(2): 423-429
- [12] Hedieh Malekzad, Hamed Mirshekari, Parham Sahandi Zangabad, et al. Plant protein-based hydrophobic fine and ultrafine carrier particles in drug delivery systems [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2017: 1-21
- [13] Iris J Joye, Veronique A Nelis, D Julian McClements. Gliadin-based nanoparticles: Fabrication and stability of food-grade colloidal delivery systems [J]. Food Hydrocolloids, 2015, 44(44): 86-93
- [14] Iris J Joye, Gabriel Davidov-Pardo, Richard D Ludescher, et al. Fluorescence quenching study of resveratrol binding to zein and gliadin: Towards a more rational approach to resveratrol encapsulation using water-insoluble protein [J]. Food Chemistry, 2015, 185: 261-267
- [15] C Duclairon, A M Orecchioni, P Depraetere, et al. α -Tocopherol encapsulation and in vitro release from wheat gliadin nanoparticles [J]. Journal of Microencapsulation, 2002, 19(1): 53-60
- [16] Sonekar Shipra, Mishra Manoj Kumar, Patel Anil Kumar, et al. Formulation and evaluation of folic acid conjugated gliadin nanoparticles of curcumin for targeting colon cancer

- cells [J]. *Journal of Pharmaceutical Science*, 2016, 6(10): 68-74
- [17] XU Helan, YANG Yiqi. Nanoparticles derived from plant proteins for controlled release and targeted delivery of therapeutics [J]. *Future Medicine*, 2015, 10(13): 2001-2004
- [18] Rajagopal K, Schneider J P. Self-assembling peptides and proteins for nanotechnological applications [J]. *Current Opinion in Structural Biology*, 2004, 14(4): 480-486
- [19] Balandran-Quintanan R R, Valdez-Covarrubias M A, Mendoza-Wilson A M, et al. α -Lactalbumin hydrolysate spontaneously produces disk-shaped nanoparticle [J]. *International Dairy Journal*, 2013, 32(2): 133-135
- [20] Esmailzadeh P, Hause G, Heyroth F, et al. α -Lac protein nanoparticles-based hybrid nanobiocomposites with polyacrylate unites [J]. *Journal of Chemical Engineering and Chemistry Research*, 2014, 1(1): 24-32
- [21] WANG J M, XIA N, Yang X Q, et al. Adsorption and dilatational rheology of heat-treated soy protein at the oil-water interface: relationship to structural properties [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2012, 60(12): 3302-3310
- [22] Tzu-Hui Wu, Feng-Lin Yen, Liang-Tzung Lin, et al. Preparation, physicochemical characterization, and antioxidant effects of quercetin nanoparticles [J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2008, 346(1-2,4): 160-168
- [23] Xiao-Wei Chen, Jin-Mei Wang, Xiao-Quan Yang, et al. Subcritical water induced complexation of soy protein and rutin: improved interfacial properties and emulsion stability [J]. *Journal of Food Science*, 2016, 81: 2149-2157
- [24] Lakowicz J R, Masters B R. Principles of fluorescence spectroscopy [J]. *Journal of Biomedical Optics*, 2008, 13(2): 029901
- [25] Iris J Joye, David J Mc Clements. Emulsifying and emulsion-stabilizing properties of gluten hydrolysates [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2014, 62(12): 2623-2630
- [26] Turgeon S L, Gauthier S F, Molle D, et al. Interfacial properties of tryptic peptides of β -lactoglobulin [J]. *Agric. Food Chem.*, 1992, 40(4): 669-675
- [27] Anand P, Kunnumakkara A B, Aggarwal B B. Curcumin as "Curcumin": from kitchen to clinic [J]. *Biochemical Pharmacology*, 2008, 75(4): 787-809
- [28] Wang Y H, Wang J M, Yang X Q, et al. Amphiphilic zein hydrolysate as a novel nano-delivery vehicle for curcumin [J]. *Food Funct.*, 2015, 6(8): 2636