

GA-zein 复合纳米粒子运载姜黄色素体系的制备与特性

傅玉颖^{1,2} 李可馨¹ 王 美¹ 沈亚丽¹ 陈国文¹ 李 欣¹

(1. 浙江工商大学食品与生物工程学院, 杭州 310018; 2. 浙江工商大学杭州商学院, 杭州 310015)

摘要: 利用玉米醇溶蛋白(zein)纳米粒子的运载功能,以阿拉伯胶(GA)为稳定剂,通过测定纳米粒子的平均粒径、zeta 电位、吸光度等参数,研究 GA-zein 核壳结构对姜黄色素(Curcumin, cur)包埋率影响并探讨姜黄色素包埋后存在的形态。研究表明:zein 在低质量浓度下形成均匀、分散的球状纳米粒子,随着 zein 质量浓度的增加,纳米粒子发生聚集、粘连、熔融等变形效果;当阿拉伯胶作为稳定剂,且添加量为 0.3 g 时,GA-zein-cur 分散体系最稳定;姜黄色素与 zein 质量比为 1:10 时,GA-zein-cur 纳米粒子最稳定,包埋率高达 95.90%,形成了均一、稳定、透明度高的姜黄色素水溶液。

关键词: 玉米醇溶蛋白; 姜黄素; 阿拉伯胶; 纳米粒子; 包埋

中图分类号: TS202 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2017)01-0267-08

Preparation and Characteristics of Curcumin-loaded GA-Zein Composite Nanoparticles

FU Yuying^{1,2} LI Kexin¹ WANG Mei¹ SHEN Yali¹ CHEN Guowen¹ LI Xin¹

(1. School of Food and Bio-technology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310018, China

2. Hangzhou College of Commerce, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310015, China)

Abstract: Influence of GA-zein core-shell structure on the curcumin embedding efficiency and status of curcumin after embedding treatment was investigated by taking advantage of the zein delivery functionality and stabilizing with Arabic gum, parameters such as mean particle diameters, zeta potential and absorbance were measured. The result showed that evenly dispersed globular nanoparticles were formulated under low zein concentration condition, as the increase of zein concentration, adhesion, aggregating and meltdown etc. transformation effects were occurred among the nanoparticles. It is necessary to add stabilizer to enhance the stability of zein delivery system. Stabilizing efficiency of different types of stabilizer were compared, and the result showed that stability of GA-zein-cur dispersed system reached peak when the system was stabilized with 0.3 g Arabic gum; GA-zein-cur nanoparticles were the most stable when the quality ratio of curcumin and zein reached 1:10, and the embedding efficiency was 95.90%, an even, stable and highly transparent curcumin aqueous solution was formulated.

Key words: zein; curcumin; GA; nanoparticles; embedding

引言

封装技术是将活性成分包埋在某种材料^[1-6]中,以提高活性成分的水溶性及生物利用率、阻止活性成分因不稳定因素而降解的方法。封装技术被广泛应用于食品、化妆品和制药等行业,具有良好的应用前景。在诸多的包埋运载系统中,纳米粒子是重要的形式之一。对于食品工业而言,发展一种食品

级的纳米粒子是非常必要的。

玉米醇溶蛋白(zein)是从玉米中提取的一类醇溶性蛋白质,可以不同程度地溶解于 40%~90%乙醇与水的混合体系^[7]。zein 表面疏水性氨基酸残基超过 50%,具有两亲性^[8],在外界环境的诱导下,可以发生自组装,形成具有包埋运载功能的纳米粒子^[9-10]。

玉米醇溶蛋白(zein)可以自组装形成纳米粒

子,但在其等电点附近(6.2)^[11]粒子的疏水性强、静电作用力弱,易发生聚集、沉淀,对其应用造成了极大限制。关于解决 zein 粒子在等电点附近稳定性问题方面的研究已有一些报道^[12-19]。阿拉伯胶(GA)是具有蛋白质骨架的高分子多糖,溶解度高、粘度低,在很大的 pH 值范围内均可以很好地稳定酪蛋白酸钠和牛乳蛋白。

姜黄色素(Curcumin, cur)是从姜黄根茎中提出的一种天然性多酚类物质,可作为着色剂广泛用于饮料、糕点、冰淇淋等食品中,是最有开发价值的天然食用黄色素之一;此外,与合成的添加剂相比,姜黄色素还具有更广泛的生物活性。但姜黄色素在水中的溶解度很低,仅为 11 ng/mL,生物利用率低,影响其生物功效,不利于其在水溶性食品中的应用;而且在中性、碱性条件以及光照下会快速降解,丧失其鲜亮的色泽,因此可以利用封装技术对姜黄色素包埋以提高其活性成分的水溶性及生物利用率,阻止活性成分因各种外在因素造成的化学或生物降解,屏蔽异味并改善物质的风味,还可以控制活性成分特定环境下的释放速度。

本文利用 zein 纳米粒子的运载功能,以阿拉伯胶作为稳定剂,采用反溶剂沉淀技术,通过测定分散体系的平均粒径、zeta 电位、吸光度、包埋率等指标,考察 zein 纳米粒子对姜黄素色的包埋效率,并探讨姜黄色素包埋后存在的形态;探讨不同浓度玉米醇溶蛋白对 zein 微球、zein-cur 粒径、粒子表面电荷的影响;通过扫描电镜观察粒子的表面形态;以阿拉伯胶、桃胶、果胶、酪蛋白酸钠、吐温 80 为稳定剂,研究稳定剂的类型和添加量对 zein-cur 粒子的稳定性影响;研究 GA-zein 核壳结构对姜黄色素的包埋率,通过 X 射线衍射法和差示量热扫描法(DSC)分析检验姜黄色素被包埋后的存在形式。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

姜黄色素(98%),河南省中大生物有限公司;玉米醇溶蛋白,梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;阿拉伯胶(食品级),阿拉丁试剂(上海)有限公司;无水乙醇、溴化钾(分析纯)、氢氧化钠,天津市永大化学试剂有限公司;盐酸,杭州市化学试剂有限公司;去离子水,实验室自制。

1.2 实验方法

1.2.1 zein 质量浓度对 zein-cur 粒子的影响

称取适量玉米醇溶蛋白(100~800 mg/mL)或与其与姜黄色素合适比例的混合物溶解于 100 mL 乙醇水溶液(乙醇与去离子水质量比 80:20),室温下

1 000 r/min 密封搅拌 1 h,搅拌同时快速加入 250 mL 去离子水。分散液用真空旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)于 35℃ 除去有机溶剂后用真空冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司)于 -50℃ 真空条件下冷干 24 h 获得固体粉末,备用。

1.2.2 稳定剂的筛选

zein-cur 粒子在中性环境中表面电荷低,范德华引力弱,易发生聚集、沉淀的现象,因此考虑通过调节胶体粒子间的相互作用来提高 zein-cur 粒子的稳定性。主要有 3 种途径:将两亲性蛋白质吸附在胶体粒子的表面,如酪蛋白酸钠;添加小分子的表面活性剂,通过小分子表面活性剂与纳米粒子作用可以减小纳米粒子的疏水性和增强空间位阻效应,如吐温 20、吐温 80^[12-13];胶体粒子与水溶性多糖结合,如果胶、桃胶等。因此,改变 zein-cur 粒子表面电荷可以增强粒子间静电作用和空间位阻效应。

将不同种类适量稳定剂(阿拉伯胶、果胶、桃胶、酪蛋白酸钠、吐温 80)溶解在 250 mL 的去离子水中,作为反溶剂快速加入到溶有 200 mg 玉米醇溶蛋白、10 mg 姜黄色素的 80% 乙醇水溶液中,具体制备方法见 1.2.1 节。

1.2.3 阿拉伯胶(GA)对 zein-cur 复合离子稳定性的影响

以不同质量的阿拉伯胶作稳定剂,制备 GA-zein-cur 分散体系,具体方法见 1.2.2 节。

1.2.4 不同 cur 与 zein 比例对包埋率的影响

将不同比例的 zein 和姜黄色素溶解于 100 mL 的 80% 乙醇水溶液,以 0.3 g 阿拉伯胶为稳定剂,制备 GA-zein-cur 分散体系,具体方法见 1.2.2 节。

1.2.5 粒径、zeta 电位的测定

利用 Malvern Zetasizer Nano ZS 型激光粒度仪(英国马尔文公司)测定上述分散体的平均粒径和 zeta 电位,激光粒度仪通过动态光散射颗粒得到粒径分布,再采用表面积加权平均值 $D[3,2]$ 和体积加权平均值 $D[4,3]$ 估算出平均粒径。为避免多重光散射造成的误差,需将溶液稀释 10 倍后测定。

$$D[3,2] = \frac{\sum d_i^3}{\sum d_i^2} = \frac{d_1^3 + d_2^3 + d_3^3 + \cdots}{d_1^2 + d_2^2 + d_3^2 + \cdots} \quad (1)$$

$$D[4,3] = \frac{\sum d_i^4}{\sum d_i^3} = \frac{d_1^4 + d_2^4 + d_3^4 + \cdots}{d_1^3 + d_2^3 + d_3^3 + \cdots} \quad (2)$$

式中 $d_i (i=1,2,\cdots)$ ——颗粒直径

仪器参数设定:材料折射率为 1.590;分散介质,水,25℃,折射率 1.330;平衡 2 min,平行测定 3 次。

1.2.6 吸光度的测定

在室温(20℃)条件下,将制备的分散体系稀释 10 倍,用 UV1800 型紫外/可见分光光度计(上海美谱达仪器有限公司)测定分散体系 425 nm 时的吸光度,平行测定 3 次。

1.2.7 包埋率的测定

取 2 份 10 mg zein - cur 粉末样品分别溶于 100 mL 体积分数为 80% 的乙醇水溶液和乙酸乙酯,于 10 000 r/min 离心 10 min。紫外分光光度计测量上清液在 425 nm 的吸光度。分别根据姜黄色素的乙醇水溶液、乙酸乙酯标准曲线计算出样品中姜黄色素的总质量(m_1)和游离的姜黄色素质量(m_2)。包埋率计算公式为

$$E = \frac{m_1 - m_2}{M} \times 100\% \tag{3}$$

式中 M ——样品中姜黄色素的总加入质量
标准曲线的制备方法如下:

(1)取 20 mg 姜黄色素以 80% 乙醇水溶液溶解并定容至 100 mL(避光),取 10 mL 以相同溶剂稀释至 100 mL;分别取 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50 mL 该溶液稀释至 10 mL。测定并记录 425 nm 下的吸光度,以吸光度为横坐标,姜黄色素浓度为纵坐标,得出姜黄色素溶解在 80% 乙醇中的标准曲线: $Y_1 = 6.535X_1 + 0.0829, R_1^2 = 0.9997$ 。

(2)称取 18 mg 姜黄色素溶于乙酸乙酯中,方法同上。测定并记录 416 nm 下吸光度。姜黄色素在乙酸乙酯中标准曲线为: $Y_2 = 7.1274X_2 + 0.0931, R_2^2 = 0.9999$,其中 X_2 为吸光度, Y_2 为对应的姜黄色素浓度。

1.2.8 微观结构

ZEISS SUPRATM55 型扫描电镜(卡尔·蔡司股份公司)仪器参数设置:分辨率为 0.8 ~ 1.6 nm,放大倍数 12 ~ 1 000 000,加速电压 0.02 ~ 30 kV。

1.2.9 X 射线衍射分析

Bruker D2 - phaser 型 X 射线衍射仪(德国布鲁

克公司)扫描记录样品的衍射线。仪器设置参数:采用铜靶 Cu $k\alpha$ 线,功率为 3 000 W,扫描范围 $6^\circ \sim 40^\circ$,速度为 $6(^\circ)/\text{min}$ 。

1.2.10 差示扫描量热仪(DSC)分析

精确称取 2 ~ 4 mg 原材料(阿拉伯胶、玉米醇溶蛋白、姜黄色素)、玉米醇溶蛋白与姜黄色素的混合物以及 zein - cur 固体粉末样品。仪器参数设置:加热速率 $10^\circ\text{C}/\text{min}$,加热温度范围 $40 \sim 200^\circ\text{C}$,保护气为氮气。

1.2.11 数据处理

所有实验重复 3 次,结果取平均值。采用 Origin 8.0 软件制图,Excel 处理数据。

2 结果与讨论

2.1 zein 质量浓度对 zein - cur 粒子的影响

利用反溶剂沉淀技术研究不同质量浓度 zein 对 zein 纳米粒子、载荷了姜黄色素的 zein - cur 纳米粒子的平均粒径和表面电荷的影响。如图 1 所示,随着 zein 浓度的增加,zein 纳米粒子、zein - cur 粒子的粒径均逐渐增大。在低质量浓度下 zein 形成微球^[20],随着质量浓度增加,纳米粒子将发生变粘连、融化变形,甚至形成粗糙的蛋白膜。图 2 验证了此现象,图 2a、图 2d 中的 zein 纳米粒子、zein - cur 粒子呈现均匀分散、圆润的球状。当 zein 质量浓度增加,图 2c、图 2f 中的 zein 纳米粒子、zein - cur 粒子表面变得粗糙,粒子间发生了聚集、粘连、熔融等变形现象。由于姜黄色素与 zein 中丰富的脯氨酸残基以氢键或共价键作用形成 zein - cur 粒子,故相同质量浓度下 zein - cur 复合粒子的粒径均小于 zein 纳米粒子。

zein 纳米粒子、zein - cur 粒子的 zeta 电位的绝对值均小于 30 mV,粒子之间相互排斥力弱,分散体系易发生聚集、沉淀等不稳定现象。且因 zein 的等电点为 6.23,zein - cur 粒子在中性环境下不稳定,易引起粒子大量聚集、沉淀。为了阻止聚集现象发

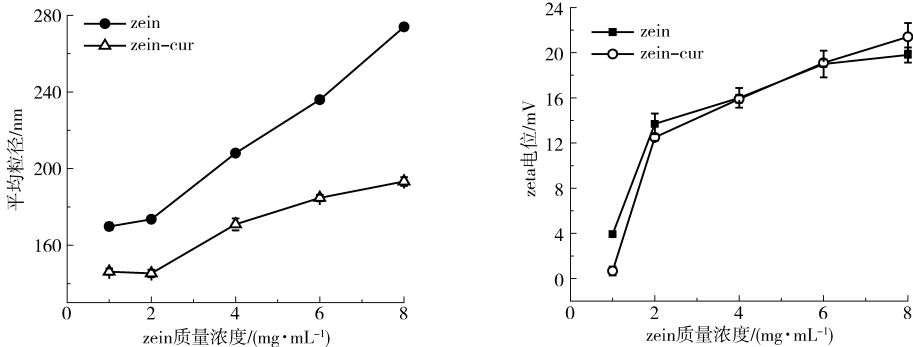


图 1 zein 纳米粒子、zein - cur 粒子的平均粒径和 zeta 电位

Fig. 1 Zein nanoparticles, zein - cur average particle size and zeta potential of particles

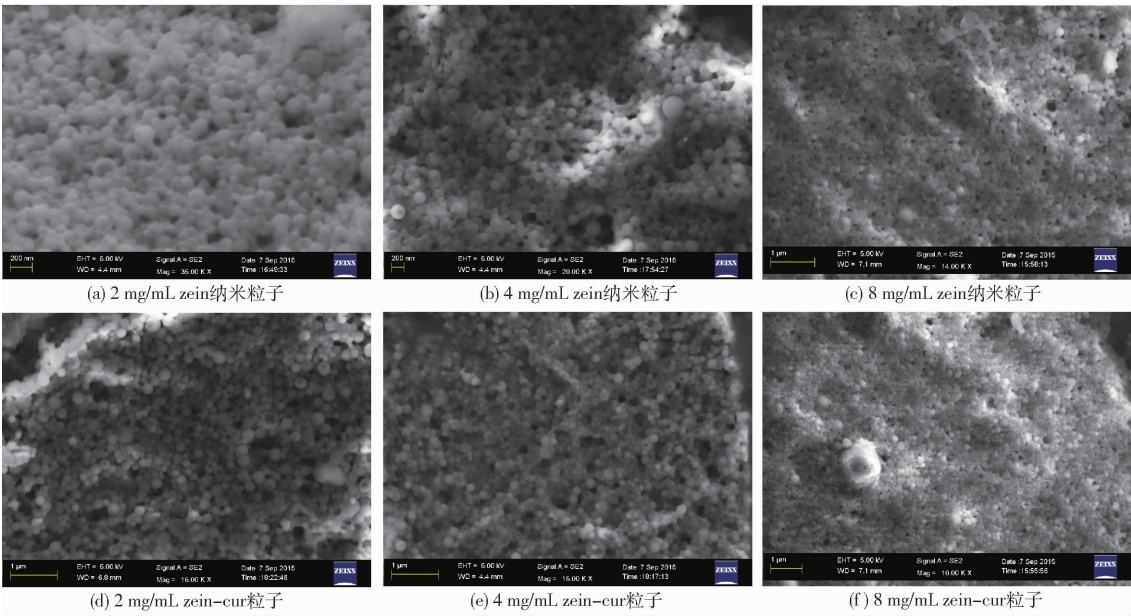


图 2 纳米粒子的微观结构

Fig.2 Microstructures of nanoparticles

生,需选择合适的稳定剂吸附在 zein - cur 粒子的表面,使其稳定不受外部环境的影响。

2.2 稳定剂种类对 zein - cur 粒子稳定性的影响

以阿拉伯胶 (GA)、酪蛋白酸钠 (Nacas)、吐温 80 (T80)、果胶 (Pectin) 和桃胶 (PP) 作为稳定剂制备 zein - cur 分散液,调 pH 值至 6,静置 24 h,测定 zein - cur 分散体系粒径、zeta 电位等,考察不

同稳定剂对 zein - cur 纳米粒子的稳定效率。从表 1 可以看出,zein - cur 纳米粒子由于没有稳定剂保护而分散在水溶液中,测定时粒子已大量聚集沉淀。而不同种类稳定剂的添加均能增强粒子间的静电作用力,为不断做布朗运动的粒子增加空间位阻效应,增加 zein - cur 纳米粒子的 zeta 电位。

表 1 不同种类稳定剂对 zein - cur 粒子的稳定效率

Tab.1 Stabilizing efficiency of zein - cur particle with different types of stabilizers

稳定剂种类	平均粒径/nm	分散系数	zeta 电位/mV	吸光度
无	2 344 ± 96. 16	0. 482 ± 0. 267	0. 81 ± 0. 107	
GA	87. 06 ± 0. 395 1	0. 210 ± 0. 010	- 34. 2 ± 3. 57	0. 769 ± 0. 14
Nacas	103. 2 ± 1. 097	0. 112 ± 0. 005	- 32. 4 ± 0. 656	0. 932 ± 0. 07
T80	269. 8 ± 22. 91	0. 207 ± 0. 018	- 10. 2 ± 0. 219	1. 338 ± 0. 42
Pectin	353. 4 ± 9. 922	0. 422 ± 0. 081	- 48. 8 ± 1. 42	1. 133 ± 0. 24
PP	497. 2 ± 6. 071	0. 582 ± 0. 085	- 48. 1 ± 2. 58	1. 915 ± 0. 37

T80 将 zein - cur 纳米粒子加载于自身形成的胶束内,产生了较强的静电作用力,克服 zein 表面暴露的非极性基团产生的强疏水吸引力。但此刻 zein - cur 纳米粒子 zeta 电位的绝对值小于 30 mV,粒子发生缓慢的聚集、沉降。酪蛋白酸钠作为两亲性蛋白质,通过疏水作用吸附在 zein - cur 粒子上,亲水部分为 zein - cur 纳米粒子提供了静电和空间排斥力,使粒子稳定。zein - cur 粒子与阴离子多糖都带有一定的电荷,两分子上的不同片段或侧链相互作用产生了共价作用力和空间排阻的效应。阿拉伯胶、酪蛋白酸钠、桃胶、果胶稳定 zein - cur 纳米粒子的 zeta 电位带负电荷,均小于 - 30 mV,分散液具有良好的稳定性,如图 3 所示。桃胶、果胶作为稳定

剂时,粒径过大,分散体系的透明度过差,不能形成均一、透明的水溶性姜黄色素。阿拉伯胶具有良好水溶性,粘度小于其他多糖,不会造成 zein - cur 分散体系的粘度增加,形成的水溶性姜黄色素溶液吸光度小、颜色均匀透明。



图 3 不同种类稳定剂制备的新鲜 zein - cur 分散体系
Fig.3 Fresh zein - cur dispersion with different types of stabilizers

2.3 阿拉伯胶添加量对 zein - cur 粒子稳定性的影响

阿拉伯胶添加量对 zein - cur 分散体系的稳定性有显著影响。将适量阿拉伯胶 (0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4 g) 溶解在反溶剂中,制备阿拉伯胶稳定的 GA - zein - cur 复合纳米粒子体系并测定各项指标。

阿拉伯胶是由 88% 的阿拉伯半乳聚糖 (AG)、2% 糖蛋白 (GP) 和 20% 阿拉伯半乳聚糖蛋白混合物 (AGP) 构成的一种带阴离子的多糖蛋白结合物。虽然所含糖蛋白的比重不大,但它对阿拉伯胶的乳化性起着决定作用^[2]。阿拉伯胶可以通过其丰富的蛋白骨架与油相的疏水性作用吸附在油相的表面,形成共轭的高分子聚合物,增溶分散到连续水相中,通过静电斥力和空间相互作用阻止了油滴聚集。阿拉伯胶利用上述机制,吸附在 zein - cur 纳米粒子的疏水性表面,形成了一个保护壳,降低了 zein - cur 纳米粒子的疏水性,增强了粒子表面电荷;同时由于高分子的亲水基团伸入到水中增加了空间位阻作用,保护了粒子因弱静电作用而造成的聚集、沉

淀。如图 4 所示,随着阿拉伯胶添加量的增加,粒子的表面负电荷逐渐增加,当添加量达到 0.25 g 时,zein - cur 的电荷量接近 -30 mV,分散体系趋于稳定。当添加量为 0.3 g 时,分散体系的表面负电荷继续增加至 -32 mV,且分散液的吸光度、平均粒径逐渐减小,GA - zein - cur 分散体系已完全稳定,即已形成均一稳定、透明好的姜黄色素水溶液。在此期间,随着阿拉伯胶的加入,GA 与 zein - cur 纳米粒子表面的疏水位点结合,通过静电稳定作用和空间位阻作用,阻止分散体系在制备和旋蒸过程中纳米粒子的发生聚集、沉淀,减小 zein - cur 粒子粒径的增长。当阿拉伯胶添加量为 0.3 g 时,恰好可以与分散体系中全部 zein - cur 粒子的疏水性位点结合。若其添加量继续增加时,阿拉伯胶的添加量大于 zein - cur 粒子能结合的最大量,分散液体系负电荷不再增加,多余的阿拉伯胶分散在水溶液中,溶液的吸光度、粒子的平均粒径开始逐渐增大,GA - zein - cur 分散体系的浊度增加,姜黄色素水溶液开始变得浑浊。

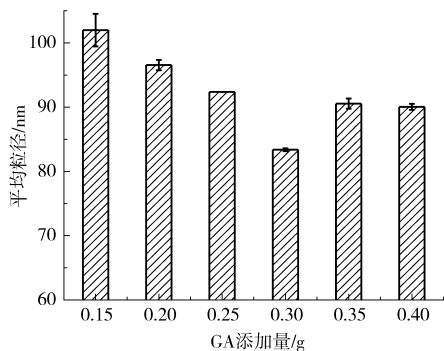
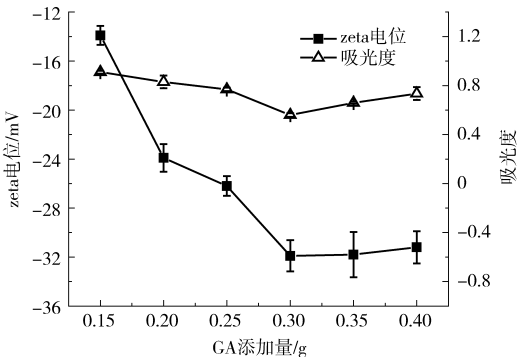


图 4 GA 添加量对 zein - cur 粒子的影响

Fig. 4 Influence of amount of GA on zein - cur colloidal particles



为了验证阿拉伯胶已成功地吸附在 zein - cur 粒子表面上,探讨阿拉伯胶稳定的 zein - cur 粒子 (GA - zein - cur 复合纳米粒子)、zein - cur 粒子和 GA 在 pH 值为 3.0 ~ 8.0 时表面所带的电荷量。

称取 0.3 g 阿拉伯胶溶解在 250 mL 去离子水中作为反溶剂,制备 GA - zein - cur 分散体系,稀释适合的倍数后,调节分散体系 pH 值为 3.0 ~ 8.0 并测定相应 zeta 电位。如图 5 所示:随着 pH 值的增加,zein - cur 纳米粒子的 zeta 电位由正值变为负值,且 zeta 电位的零点在 zein 等电点 6.23 的附近,与之前研究报道吻合^[4, 6]。pH 值在 3.0 ~ 8.0 范围内时,阿拉伯胶始终带有负电荷;随着 pH 值降低,阿拉伯胶所带的负电荷减少。这是由于阿拉伯胶所带的羧基发生解离^[5],产生 -COO⁻ 基团,并且羧基的解离常数约为 2.2^[1, 5],使得阿拉伯胶在 pH 值为 3.0 ~ 8.0 范围内,均表现为带负电荷。GA - zein - cur 复

合纳米粒子的 zeta 电位与阿拉伯胶呈现相似的趋势,这表明阿拉伯胶成功吸附在了 zein - cur 粒子表面,有效地稳定了分散体系。但在较低的 pH 值下,GA - zein - cur 粒子所带负电荷降低,粒子间的静电斥力减弱,分散体系在后期的静置过程中会发生聚集、沉淀。GA - zein - cur 分散体系在 pH 值 4.8 以上的很大范围内是稳定的,为水溶性姜黄色素在不同 pH 值环境下 (如果汁饮料、矿泉水、果酱等) 的应用提供了有利的帮助。

GA - zein - cur 复合纳米粒子分散体系的构建实现了 zein 对姜黄色素的包埋,更确切地说是 GA - zein 核壳结构对姜黄色素的包埋。上述实验证明了阿拉伯胶成功吸附在 zein 的表面,与 zein 形成了共轭的高分子聚合物——GA - zein 核壳结构,吸附在 zein 表面的阿拉伯胶形成了 zein - cur 纳米粒子的保护层,构成了 GA - zein 核壳结构的外壳。处在共

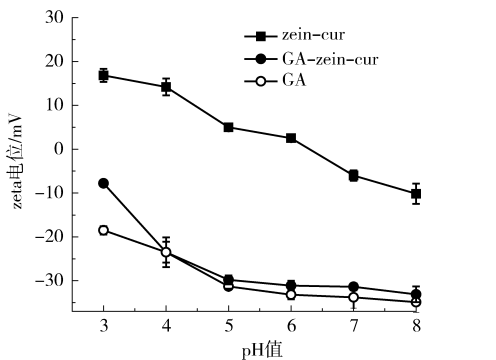


图5 在 pH 值为 3 ~ 8 时 zein - cur 粒子、GA - zein - cur 粒子和阿拉伯胶的 zeta 电位

Fig. 5 Zeta potential of zein - cur nanoparticles, GA - zein - cur nanoparticles, and Arabic gum at pH values of 3 ~ 8

辄高分子聚合物内层的 zein 纳米粒子构成了 GA - zein 核壳结构的核心,很好地诠释了 GA - zein 核壳结构对姜黄色素的包埋。

2.4 cur 与 zein 的比例对包埋率的影响

GA - zein - cur 复合纳米粒子体系作为脂溶性姜黄色素的运载体系,姜黄色素的包埋率也是衡量该体系的重要标准之一。zein 与阿拉伯胶质量比为 2:3,设定姜黄色素与 zein 的质量比为 1:100、1:50、1:20、1:15、1:10、1:5、1:1,制备 zein 与 cur 不同比例的分散体系,旋转蒸发去除有机溶剂,在 - 50℃ 冷

冻干燥得到固体粉末,测定姜黄色素的包埋率、GA - zein 纳米粒子的载荷量。

表 2 显示了 GA - zein - cur 分散体系包埋姜黄色素的能力,随着 zein 与姜黄色素比例逐渐增大,姜黄色素的载荷量也相应地增大。当 cur 与 zein 质量比为 1:10 时,包埋率增加到 95.90%,且分散体系的平均粒径约 80 nm,分散系数小于 0.2,粒径分布均匀。在 cur 与 zein 的质量比为 1:5 时,GA - zein - cur 复合纳米粒子的粒径突然增大,由于姜黄色素的添加量超过其最大载荷量,大量姜黄色素附着在 GA - zein - cur 粒子的表面,造成了复合粒子聚集沉淀,姜黄色素的包埋率由 95.90% 减小到 42.3%。姜黄色素的添加量太少时,与 zein 上丰富的脯氨酸不能完全结合,使粒子的疏水性增强、所带的负电荷减少,粒子间的静电作用力减弱,最终导致体系不稳定,发生聚集、沉淀等现象。当姜黄色素与 zein 的质量比为 1:10,即 zein 的质量为 0.2 g,姜黄色的添加量为 0.02 g 时,姜黄色素包埋率高达 95.90%,大大提高了脂溶性姜黄色素的溶解度,且分散体系平均粒径为 83.36 nm (小于透射光入射波长 100 nm),使得姜黄色素水溶液体系均一、透明,效果远好于 GOMEZ-ESTACA^[21] 利用喷雾干燥法制备的载荷姜黄色 80% ~ 90% 的玉米醇溶蛋白微粒包埋率。

表 2 不同 zein 与 cur 的质量比姜黄色素包埋率的影响

Tab. 2 Influence of mass ratio of zein to cur on encapsulation efficiency

cur 与 zein 的质量比	包埋率/%	载荷量/mg	zeta 电位/mV	平均粒径/nm	分散系数
1:100	95.40	1.90	-28.7 ± 1.300	79.82 ± 0.622	0.203 ± 0.004
1:50	93.00	3.90	-26.9 ± 0.208	79.28 ± 0.216	0.203 ± 0.009
1:20	94.10	9.40	-31.3 ± 0.557	82.10 ± 0.550	0.185 ± 0.160
1:15	93.20	12.43	-30.8 ± 5.920	79.48 ± 0.730	0.197 ± 0.003
1:10	95.90	19.18	-30.4 ± 0.460	83.36 ± 0.900	0.196 ± 0.009
1:5	65.40		-12.7 ± 2.070	327.40 ± 2.388	0.315 ± 0.121
1:1	42.30		-8.23 ± 0.420	703.50 ± 10.560	0.532 ± 0.115

2.5 GA - zein - cur 的溶解度

从图 6a 中可看出(图 6a 为姜黄色素,图 6b ~ 6f 为不同浓度的 GA - zein - cur 分散体系),姜黄色素的

水溶性非常差,文献报道姜黄色素在水中的溶解度仅有 11 ng/mL^[22];经过 GA - zein 核壳结构的包埋,姜黄色素的溶解度大大提高,据测定 GA - zein - cur

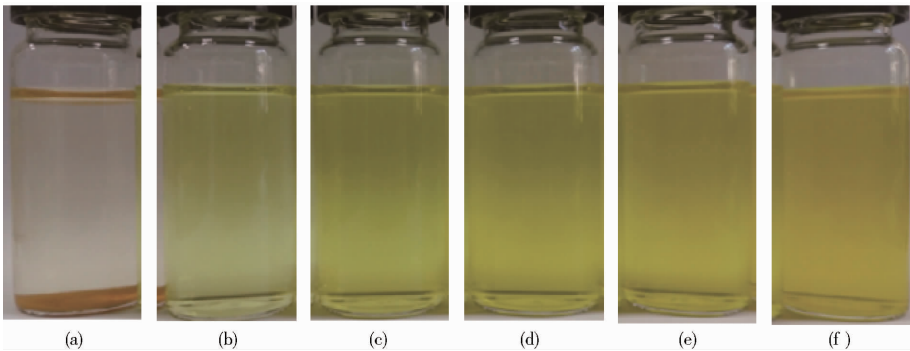


图 6 姜黄色素与不同浓度的 GA - zein - cur 分散体系

Fig. 6 Curcumin and GA - zein - cur dispersion systems with different concentrations

体系姜黄色素的质量浓度为 80 $\mu\text{g/mL}$,比姜黄色素的溶解度提高了 7 200 多倍,极大地促进了其在水溶环境下的应用。

2.6 X 射线衍射分析

X 射线衍射扫描可以用来分析物质的结晶状态。以 X 射线衍射扫描 zein - cur 纳米粒子、GA - zein - cur 复合纳米粒子和纯物质。当晶体物质被包埋时,其晶体状态变成了无定型结构^[23]。如图 7 所示,在姜黄色素纯物质的 X 射线衍射图中,尖锐的峰值出现在衍射角 (2θ) 7.8°、8.9°、12.11°、14.50°、17.35°、18.10°、21.11°、23.34°、24.49°、25.51°和 27.31°,说明姜黄色素单物质在自然状态下是高度结晶的。观察 zein - cur 和 GA - zein - cur 的衍射图谱发现,被包埋后姜黄色素的特征峰完全消失,表明姜黄色素在被包埋在胶体粒子内后,其存在形式可能由高度结晶状态转变成了无定型结构(可根据高晶体化的物质特征峰消失来判断该物质的封装成功与否)。PATEL 等^[24]将姜黄色素和靛蓝色素同时包埋在 zein 中,利用这 2 种色素高晶体态下的衍射图谱,实现了 zein 对姜黄色素、靛蓝色素包埋的判断。PATEL 等^[17]利用 zein 自组装原理对脂溶性的懈皮素完成了包埋,通过 X 射线衍射实

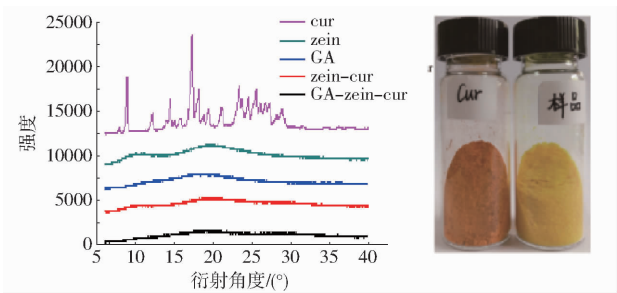


图 7 X 射线衍射分析图谱

Fig. 7 XRD patterns

验的观察,证实了 zein 包埋后的懈皮素由高晶体状态转变成无定型状态。

2.7 差示扫描量热仪(DSC)分析

DSC 可以测定物质的结晶或者融化时的特征吸收峰。如图 8 所示,172.8℃尖锐的峰是姜黄色素的特征吸热峰,在 zein 和姜黄色素物理混合物(zein + cur)中也出现了此峰。载荷了姜黄色素的 zein、GA - zein 图谱中未出现此峰,说明被包埋的姜黄色素不是以高结晶的状态,而是以无定型的形式存在,恰好与上述 X 射线衍射法分析一致。这是由于姜黄色素与 zein 上丰富的脯氨酸通过氢键和共价键的形式结合,分散在 GA - zein - cur 复合纳米粒子中而处于非结晶状态。

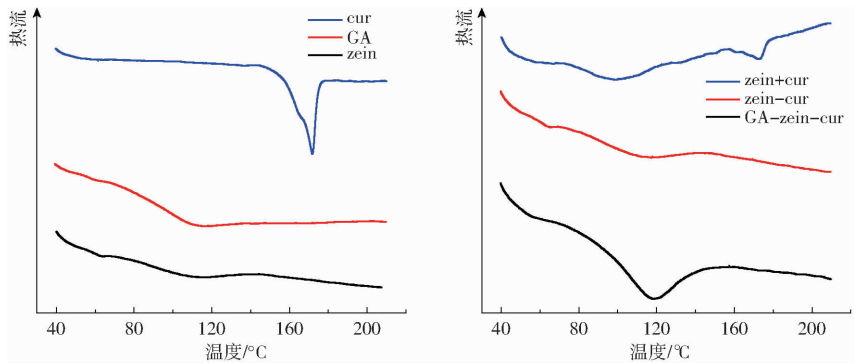


图 8 DSC 曲线

Fig. 8 DSC curves

3 结论

(1)利用反溶剂技术制备研究不同 zein 质量浓度下形成的 zein 纳米粒子和 zein - cur 纳米粒子特征,发现低质量浓度下 zein 纳米粒子和 zein - cur 粒子的平均粒径小、形状完整,分散性好。由于姜黄色素与 zein 中丰富脯氨酸通过氢键和共价键作用,使得相同质量浓度下 zein - cur 纳米粒子的平均粒径比 zein 纳米粒子的小。

(2)zein - cur 纳米粒子表面电位取决于吸附在粒子表面的稳定剂种类和浓度。研究发现,相同浓

度下,阿拉伯胶对 zein - cur 粒子起到较好的稳定作用,而且当添加量为 0.3 g 时形成的 GA - zein - cur 分散体系,均一性好、透明度高。

(3)以 0.2 g zein 为基础,cur 与 zein 的质量比为 1:10 时,GA - zein - cur 复合纳米粒子体系对姜黄色素的包埋率高达 95.90%,该分散体系姜黄色素的质量浓度为 80 $\mu\text{g/mL}$,是未包埋姜黄色素溶解度的 7 200 多倍。运用 X 射线衍射法和差示扫描量热法分析包埋后的姜黄色素的存在状态,确认其由晶体型转变为无定形状态存在。

参 考 文 献

- 1 WANG H J, LIN Z X, LIU X M. Heparin-loaded zein microsphere film and hemocompatibility[J]. *Journal of Controlled Release*, 2005, 105(1-2): 120-131.
- 2 YANG Y, MCCLEMENTS D J. Vitamin E and vitamin E acetate solubilization in mixed micelles: physicochemical basis of bioaccessibility[J]. *Journal of Colloid & Interface Science*, 2013, 405: 312-321.
- 3 查刘生,高海峰,杨武利,等. 聚合物纳米粒子用于给药载体[J]. *高分子通报*, 2002(3): 24-32.
ZHA Liusheng, GAO Haifeng, YANG Wuli, et al. Polymer nanoparticles for drug delivery system[J]. *Polymer Bulletin*, 2002(3): 24-32. (in Chinese)
- 4 郝红,梁国正. 微胶囊技术及其应用[J]. *现代化工*, 2002(3): 60-62,67.
- 5 孙立苹,杜予民,陈凌云,等. 羧甲基壳聚糖水凝胶制备及其在药物控释中的应用[J]. *高分子学报*, 2004(2): 191-195.
SUN Liping, DU Yumin, CHEN Lingyun, et al. The synthesis of carboxymethylchitosan hydrogel and the application in drug controlled release systems[J]. *Acta Polymerica Sinica*, 2004(2): 191-195. (in Chinese)
- 6 张忠慧,曹慧,黄健. 甜橙油微乳的制备研究[C]//2011 中国上海全国香料香精化妆品洗涤用品食品添加剂专题学术论坛, 2011: 14-16.
- 7 WANG Y, PADUA G W. Nanoscale characterization of zein self-assembly[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*, 2012, 28(5): 2429-2435.
- 8 PALIWAL R, PALAKURTHI S. Zein in controlled drug delivery and tissue engineering[J]. *Journal of Controlled Release*, 2014, 189(2): 108-122.
- 9 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.
- 10 WANG Y, SU L P, MCHULMERICH M, et al. Characterization of core-shell structures formed by zein[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 30(2): 487-494.
- 11 SHUKLA R, CHERYAN M. Zein: the industrial protein from corn[J]. *Industrial Crops & Products*, 2001, 13(3): 171-192.
- 12 HU K, MCCLEMENTS D J. Fabrication of surfactant-stabilized zein nanoparticles: a pH modulated antisolvent precipitation method[J]. *Food Research International*, 2014, 64: 329-335.
- 13 HURTADO-LOPEZ P, MURDAN S. Zein microspheres as drug/antigen carriers: a study of their degradation and erosion, in the presence and absence of enzymes[J]. *Journal of Microencapsulation*, 2006, 23(3): 303-314.
- 14 LI K K, YIN S W, YIN Y C, et al. Preparation of water-soluble antimicrobial zein nanoparticles by a modified antisolvent approach and their characterization[J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 119(2): 343-352.
- 15 LUO Y, TENG Z, WANG Q. Development of zein nanoparticles coated with carboxymethyl chitosan for encapsulation and controlled release of vitamin D3[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2012, 60(3): 836-843.
- 16 LUO Y, ZHANG B, WHEN T M, et al. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its in vitro controlled release study[J]. *Colloids & Surfaces B: Biointerfaces*, 2011, 85(2): 145-152.
- 17 PATEL A, HU Y, TIWARI J K, et al. Synthesis and characterisation of zein-curcumin colloidal particles[J]. *Soft Matter*, 2010, 6(24): 6192-6199.
- 18 PATEL A R, BOUWENS E C M, VELIKOV K P. Sodium caseinate stabilized zein colloidal particles[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2010, 58(23): 12497-12503.
- 19 ZHANG Y, NIU Y, LUO Y, et al. Fabrication, characterization and antimicrobial activities of thymol-loaded zein nanoparticles stabilized by sodium caseinate-chitosan hydrochloride double layers[J]. *Food Chemistry*, 2014, 142: 269-275.
- 20 WANG Y, PADUA G W. Formation of zein microphases in ethanol-water[J]. *Langmuir the Acs Journal of Surfaces & Colloids*, 2010, 26(15): 12897-12901.
- 21 GOMEZ-ESTACA J, BALAGUER M P, GAVARA R, et al. Formation of zein nanoparticles by electrohydrodynamic atomization: effect of the main processing variables and suitability for encapsulating the food coloring and active ingredient curcumin[J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 28(1): 82-91.
- 22 YU H, HUANG Q. Investigation of the absorption mechanism of solubilized curcumin using Caco-2 cell monolayers[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2011, 59(17): 9120-9126.
- 23 PATEL A R, DRUST E, AOEL DEN R, et al. Temperature responsive colloidal particles from non-covalently interacting small molecular weight natural bioactive molecules[J]. *Soft Matter*, 2012, 8(13): 3515-3517.
- 24 PATEL A, HEUSSEN P, HAZEKAMP J, et al. Stabilisation and controlled release of silibinin from pH responsive shellac colloidal particles[J]. *Soft Matter*, 2011, 7(18): 8549-8555.