

美拉德反应修饰对负载姜黄素的玉米醇溶蛋白纳米颗粒制备及性质的影响

黄国清, 董 潇, 李晓丹, 王凤舞, 郭丽萍, 肖军霞*

(青岛农业大学食品科学与工程学院, 青岛 266109)

摘要: **目的** 研究玉米醇溶蛋白与 *D*-木糖在 65%(V:V)乙醇溶液中的美拉德反应及所得美拉德反应产物在反溶剂沉淀法制备姜黄素纳米颗粒中的应用。**方法** 将玉米醇溶蛋白与 *D*-木糖在乙醇溶液中加热, 利用所得产物通过反溶剂沉淀法制备姜黄素纳米颗粒, 并对纳米颗粒进行表征。**结果** 当 *D*-木糖与玉米醇溶蛋白混合质量比为 2:1、反应体系 pH 值为 13.0、反应温度为 90 °C、反应时间为 90 min 时, 反应体系的 A_{290} 和 A_{420} 值最大。利用在该条件下得到的美拉德反应产物通过反溶剂法制备姜黄素纳米颗粒, 与未经修饰的玉米醇溶蛋白按照相同方法制备的姜黄素纳米颗粒相比, 前者在水中的分散性明显提高, 包埋效率和载药量分别显著增加 113%和 56%, 且具有更好的缓释性能和贮藏稳定性。**结论** 美拉德反应修饰的玉米醇溶蛋白在反溶剂沉淀法纳米颗粒的制备中具有广阔的应用前景。

关键词: 姜黄素; 玉米醇溶蛋白; 木糖; 美拉德反应; 纳米颗粒

Effect of Maillard reaction modification on the preparation and properties of curcumin-loaded zein nanoparticles

HUANG Guo-Qing, DONG Xiao, LI Xiao-Dan, WANG Feng-Wu,
GUO Li-Ping, XIAO Jun-Xia*

(College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the Maillard reaction between zein and *D*-xylose in 65% ethanol solution (V:V) as well as the application of the resultant product in the preparation of curcumin-loaded nanoparticles through antisolvent precipitation. **Methods** Zein and *D*-xylose were co-heated in ethanol solution and the resultant product was subjected to curcumin-loaded nanoparticle preparation by antisolvent precipitation, and then the nanoparticles were characterized. **Results** The highest A_{290} and A_{420} values were recorded at *D*-xylose to zein mass ratio 2:1, solution pH 13, reaction temperature 90 °C, and reaction time 90 min. Compared with the curcumin-loaded nanoparticles prepared with unmodified zein under the same conditions, the curcumin nanoparticles prepared by using the Maillard reaction products which obtained under these conditions exhibited enhanced dispersion in water, possessed increased entrapment efficiency and drug load by 113% and 56%, respectively, and displayed enhanced

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31571890)、山东省自然科学基金重大基础研究项目(ZR2018ZC0945)、山东省重点研发计划(医用食品)项目(2018YYSP013)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (31571890), Major Fundamental Research Program of Shandong Provincial Natural Science Foundation (ZR2018ZC0945), Key Research & Development Program of Shandong Province (Medical Food) (2018YYSP013)

***通讯作者:** 肖军霞, 教授, 主要研究方向为食品组分稳态化技术。E-mail: xjxfood@qau.edu.cn

***Corresponding author:** XIAO Jun-Xia, Professor, College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China. E-mail: xjxfood@qau.edu.cn

sustainable release and storage stability. **Conclusions** The Maillard reaction-modified zein has great potential in the preparation of nanoparticles through antisolvent precipitation.

KEY WORDS: curcumin; zein; xylose; Maillard reaction; nanoparticles

1 引言

姜黄素是从中药姜黄(*Curcuma longa*)、莪术(*Rhizoma zedoariae*)、郁金(*Radix curcumae*)等植物块茎中提取的一种天然活性物质, 具有很强的着色能力以及抗肿瘤、抗氧化、抗炎症、抗纤维化、抑菌、促进伤口愈合等多种生理功效, 在食品及医药领域具有广阔的应用前景^[1]。但是游离姜黄素不溶于水、光照稳定性和热稳定性较差、体内生物利用度低, 在很大程度上限制了其应用^[2]。构建纳米尺度的传输体系是解决这一问题的有效手段, 临床研究发现, 这些传输体系可以显著提高姜黄素的稳定性和生物利用度, 因此对于拓展姜黄素的应用范围具有重要意义^[3,4]。

目前制备纳米颗粒的方法有 2 种, 一种是自上而下的方法(top-down approaches), 即通过剪切、撞击和压缩的方法将大的固体或液体颗粒破碎成小的纳米颗粒; 另一种是自下而上的方法(bottom-up approaches), 即将分子或小的颗粒通过组装得到纳米颗粒^[5]。自下而上的纳米颗粒制备方法主要包括自乳化和反溶剂沉淀, 其中后者由于无需专门的设备和复杂的操作条件以及成本低廉和易于放大等优点而得到了广泛应用^[6]。

玉米醇溶蛋白是湿法生产玉米淀粉产生的副产物, 在胚乳中占总蛋白质量的 50%~60%。玉米醇溶蛋白不溶于水, 但可溶于 60%~95% 的乙醇溶液^[7], 因此非常适合通过反溶剂沉淀法制备纳米颗粒^[8]。有研究表明, 利用玉米醇溶蛋白通过反溶剂沉淀法形成纳米颗粒后, 姜黄素的光照稳定性和在模拟胃肠道环境中的稳定性得到了显著提高^[9], 且在该纳米颗粒外层再覆盖一层酪蛋白酸钠-麦芽糊精美拉德反应级合物可进一步提高纳米颗粒对 pH 值变化和热处理的稳定性^[10], 因此玉米醇溶蛋白在姜黄素纳米颗粒的制备中具有很好的应用前景。

美拉德反应是提高蛋白质功能性质的重要手段, 蛋白质与糖类的美拉德反应产物已被广泛用于活性物质的包埋及新型乳化剂的开发^[11,12]。但是玉米醇溶蛋白不溶于水, 在水溶液中不易与多糖充分接触, 这影响了美拉德反应在玉米醇溶蛋白改性中的应用, 目前仅有少量美拉德反应在玉米醇溶蛋白改性中应用的报导^[13-15]。

针对上述问题, 本研究拟首先让玉米醇溶蛋白在 65% 乙醇溶液中与在该体系中具有一定溶解性的木糖共热, 研究两者发生美拉德反应的最适条件; 然后以该美拉德反应产物为载体通过反溶剂沉淀法制备姜黄素纳米颗粒并对其

进行表征, 以验证美拉德反应能否提高玉米醇溶蛋白对姜黄素的装载性能。本文对于拓展玉米醇溶蛋白在姜黄素纳米颗粒制备中的应用具有一定的参考价值。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

玉米醇溶蛋白(食品级, 高邮市日星药用辅料有限公司); 姜黄素(分析纯, 上海生工生物工程股份有限公司); *D*-木糖(分析纯, 天津市广成化学试剂有限公司); 牛血清白蛋白(生化试剂, 天津市巴斯夫化工有限公司); 考马斯亮蓝 G250、氢氧化钠、盐酸、无水乙醇、95%乙醇、磷酸(分析纯, 莱阳市东方化工有限公司)。

2.2 仪器

UV-2000 紫外可见分光光度计(上海尤尼科仪器有限公司); 90-3 恒温磁力搅拌器(上海亚荣生化仪器厂); DL-5-B 低速大容量离心机(上海安亭仪器设备厂); NANO ZS90 激光粒度分析仪(英国马尔文仪器公司); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市于华仪器有限责任公司); Scientz-10N 真空冷冻干燥机(宁波新之生物科技股份有限公司); NicoletIR200 傅里叶变换红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技公司); TGA 2-SF 热重分析仪(瑞士梅特勒-托利多仪器公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 美拉德反应条件的优化

(1) 加热时间的影响

取 10 mL 3%(*m*:*V*)的玉米醇溶蛋白乙醇溶液(65%, *V*:*V*), 按 *D*-木糖和玉米醇溶蛋白质量比 2:1 加入 0.6 g *D*-木糖, 混合均匀后用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 13.0, 置于 90 °C 水浴中分别反应 30、60、90、120、150 min, 反应结束后冷却至室温, 测定美拉德反应发生的程度。空白对照按相同的流程制备, 只是不添加 *D*-木糖。

(2) 加热温度的影响

取 10 mL 3%(*m*:*V*)的玉米醇溶蛋白乙醇溶液(65%, *V*:*V*), 按 *D*-木糖和玉米醇溶蛋白质量比 2:1 加入 0.6 g *D*-木糖, 混合均匀后用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 13.0, 分别置于 50、60、70、80、90 °C 水浴中反应 90 min, 反应结束后冷却至室温, 测定美拉德反应发生的程度。空白对照按相同的流程制备, 只是不添加 *D*-木糖。

(3) pH 值的影响

取 10 mL 3%(*m*:*V*)的玉米醇溶蛋白乙醇溶液(65%,

V:V), 按 *D*-木糖和玉米醇溶蛋白质量比 2:1 加入 0.6 g *D*-木糖, 混合均匀后用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 10.0、11.0、12.0、13.0、14.0, 分别置于 90 °C 水浴中反应 90 min 后冷却至室温, 测定美拉德反应发生的程度。空白对照按相同的流程制备, 只是不添加 *D*-木糖。

(4) 混合比例的影响

取 10 mL 3%(*m*:*V*)的玉米醇溶蛋白乙醇溶液(65%, *V*:*V*), 按 *D*-木糖和玉米醇溶蛋白质量比 3:1、2:1、1:1、1:2、1:3 分别加入相应重量的 *D*-木糖, 混合均匀后用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 13.0, 分别置于 90 °C 水浴中反应 90 min 后冷却至室温, 测定美拉德反应发生的程度。空白对照按相同的流程制备, 只是不添加 *D*-木糖。

2.3.2 美拉德反应程度的检测

取一定体积的反应液用 65%乙醇适当稀释后以 65%乙醇为对照, 分别在 290 nm 和 420 nm 下比色^[16]。

2.3.3 反应体系 pH 值的变化

直接用 pH 计测定反应体系的 pH 值。

2.3.4 姜黄素纳米颗粒的制备

取 100 mL 3%(*m*:*V*)的玉米醇溶蛋白乙醇溶液(65%, *V*:*V*)于带塞三角瓶中, 按 *D*-木糖和玉米醇溶蛋白质量比 2:1 加入 6.0 g *D*-木糖, 混合均匀后用 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 值至 13.0, 置于 90 °C 水浴中反应 90 min 后冷却至室温。用磁力搅拌器于 500 r/min 搅拌 60 min 再加入 0.24 g 姜黄素, 继续搅拌 60 min 后以 3000 r/min 的速度离心 10 min, 收集上清。用注射器将上清液缓慢分散至 4 倍体积的 pH 4.0 去离子水中, 分散的同时以 1000 r/min 的速度磁力搅拌即得到美拉德反应修饰的姜黄素纳米颗粒悬浮液。对照姜黄素纳米颗粒按相同流程制备, 只是未添加 *D*-木糖或水浴加热。用旋转蒸发器除去悬浮液中的乙醇, 用 pH 4.0 的蒸馏水补充至相同体积, 冻干后研磨成粉置于干燥箱内备用。

2.3.5 姜黄素纳米颗粒的表征

(1) 包埋效率及载药量

姜黄素纳米颗粒的包埋效率及载药量按如下公式计算:

$$\text{包埋效率}(\%) = \left(1 - \frac{\text{纳米颗粒表面姜黄素的含量}}{\text{纳米颗粒中姜黄素总含量}} \right) \times 100$$

$$\text{载药量}(\%) = \frac{\text{纳米颗粒中姜黄素的总含量}}{\text{纳米颗粒的重量}} \times 100$$

纳米颗粒表面姜黄素含量的测定: 准确称取姜黄素纳米颗粒 0.1 g 于试管中, 加入 10 mL 无水乙醇轻轻摇晃 1 min 后静置 30 min, 取上清液 1 mL 用无水乙醇适当稀释后在姜黄素最大吸收波长 425 nm 处比色, 根据标准曲线计算姜黄素含量。

纳米颗粒中姜黄素总含量测定: 准确称取姜黄素纳米颗粒 0.1 g 于试管中, 加入 10 mL 无水乙醇, 在室温下用 500 W 的超声波处理 15 min 以充分提取姜黄素。将提取液

于 3000 r/min 下离心 5 min, 取上清液 1 mL 用无水乙醇适当稀释后在姜黄素最大吸收波长 425 nm 处比色, 根据标准曲线计算姜黄素含量^[9]。

(2) 热重分析(thermogravimetric analysis, TGA)

称取 3.00 mg 姜黄素纳米颗粒于热重分析仪样品盒内, 以空白坩埚作为对照, 在氮气保护下, 按 10 °C/min 的速度从 30 °C 加热到 500 °C, 记录样品重量的变化, 记录 TGA 曲线。

(3) 释放行为

准确称取 25 mg 姜黄素纳米颗粒放入 80 目尼龙网布袋中, 置于含 250 mL 无水乙醇的烧杯中并用薄膜封口, 缓慢磁力搅拌使姜黄素逐渐释放, 分别在 0.5 h 和 1~12 h(间隔为 1 h)时取 1 mL 释放介质, 同时加入 1 mL 无水乙醇以保持体积恒定。测定释放介质中姜黄素的浓度, 按下式计算姜黄素释放率:

$$\text{姜黄素释放效率}(\%) = \frac{\text{溶液中姜黄素的含量}}{\text{纳米颗粒中姜黄素总含量}} \times 100$$

(4) 贮藏稳定性

将在最适条件下制备的姜黄素纳米颗粒悬浮液于室温下放置一段时间, 分别在第 0 h、1 周、2 周、3 周、4 周和 5 周时取样, 通过粒度分析仪测定粒径和电势变化。

2.4 数据处理

本研究所有数据均测定 3 次, 结果以平均值±标准偏差表示。组间差异显著性分析采用方差分析(analysis of variance, ANOVA)中的 Tukey HSD 测试, 当 $P < 0.05$ 时认为差异显著。

3 结果与分析

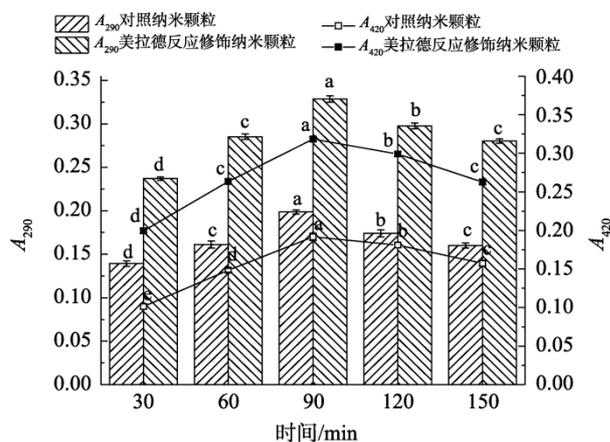
3.1 美拉德反应条件的优化

3.1.1 加热时间的影响

美拉德反应中间阶段产物在 290 nm 处有吸收, 高级阶段产物在 420 nm 处有吸收^[17], 因此本研究根据这 2 个波长下吸光度的变化来反应玉米醇溶蛋白-木糖之间是否发生了美拉德反应以及反应的进程。加热时间对反应体系吸光值的影响见图 1。可以看出, 随着加热时间的延长, 空白对照的 A_{290} 和 A_{420} 均呈现出先增加后减少的趋势, 且均在 90 min 时达到最大值, 这可能与玉米醇溶蛋白的脱氨反应及自身的美拉德反应有关^[18]。向玉米醇溶蛋白乙醇溶液中添加 *D*-木糖后, 体系的 A_{290} 和 A_{420} 同样也随着加热时间的延长而上升, 且在第 90 min 达到最大值, 然后随之下降, 但在整个时间范围内均显著高于空白对照, 表明两者之间发生了美拉德反应。因此, 图 1 表明在乙醇溶液中玉米醇溶蛋白与木糖也可以发生美拉德反应, 且在本研究选择的条件下反应在第 90 min 时开始进入高级阶段。

目前关于美拉德反应在蛋白质改性中的应用已经有大量报道, 这些反应绝大多数在水溶液中进行或者在水溶

液中将反应物混合均匀, 只有少数人对离子液体^[19]和乙醇溶液(80%和 90%)^[13,14]中的美拉德反应进行了研究。本研究表明, 在 65%乙醇溶液中玉米醇溶蛋白与还原糖也可以发生美拉德反应。



注: 同一系列数据不同字母表示差异显著($P < 0.05$), 下同。

图 1 加热时间对玉米醇溶蛋白-木糖美拉德反应的影响($n=3$)
Fig.1 Effect of heating duration on the Maillard reaction between zein and xylose ($n=3$)

由于进入到高级阶段后会形成大量不溶性的大分子聚合物, 因此本研究选择 90 min 为最适反应时间进行后续研究。

3.1.2 温度的影响

温度对玉米醇溶蛋白和 *D*-木糖之间美拉德反应的影响如图 2 所示。可以看出, 随着反应温度由 50 °C 升高至 90 °C, 对照和玉米醇溶蛋白-木糖混合体系的 A_{290} 和 A_{420} 均随之显著增加, 且后者的数值均显著高于空白对照, 进一步证实了玉米醇溶蛋白和木糖之间发生了美拉德反应。造成上述结果的原因可能是木糖易溶于热乙醇溶液, 随着温度上升, 木糖的溶解度逐渐增加, 美拉德反应的程度随之增加; 另外通过肉眼观察发现当反应温度高于 80 °C 时, 反应体系的颜色明显加深, 美拉德反应的现象变得非常明显。因此, 最终选取 90 °C 为最佳反应温度作为后续研究。

3.1.3 pH 值的影响

由于玉米醇溶蛋白在碱性溶液中有较好的溶解性^[20], 因此本研究还就反应体系 pH 值对其与木糖美拉德反应的影响进行了研究。由图 3 可以看出, 玉米醇溶蛋白与木糖的美拉德反应与体系的 pH 值密切相关。当体系 pH 值由 10.0 增至 13.0 时, 玉米醇溶蛋白-木糖混合体系的 A_{290} 和 A_{420} 均随之显著增加; 当体系 pH 值进一步增加到 14.0 时, 两者的吸光值均显著下降, 表明极碱条件不利于玉米醇溶蛋白与木糖之间美拉德反应的发生; 另外, 在整个 pH 值范围内, 玉米醇溶蛋白-木糖混合体系的吸光值均显著高于空白对照。由于在 pH 值为 13.0 时 A_{290} 和 A_{420} 均最大, 因此选择该 pH 值进行后续研究。

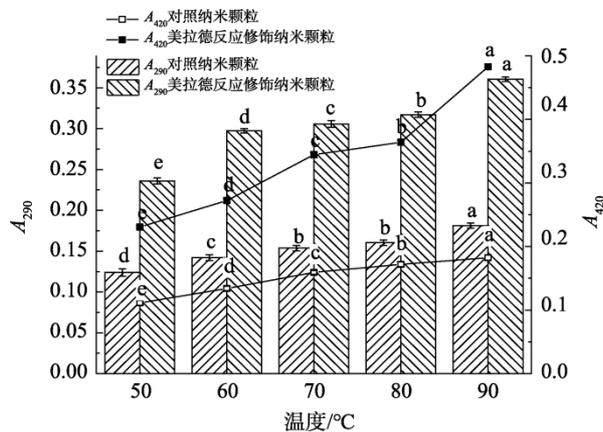


图 2 加热温度对玉米醇溶蛋白-木糖美拉德反应的影响($n=3$)
Fig.2 Effect of heating temperature on the Maillard reaction between zein and xylose ($n=3$)

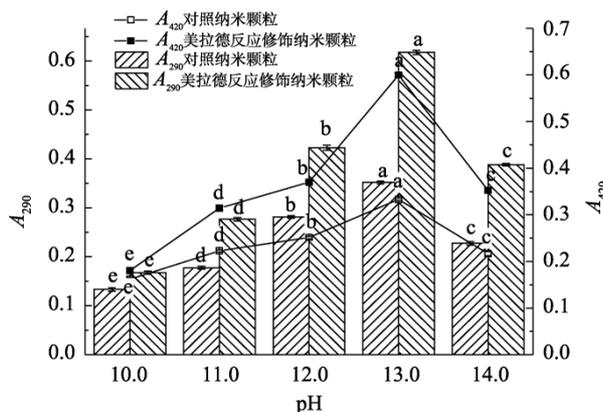


图 3 pH 对玉米醇溶蛋白-木糖美拉德反应的影响($n=3$)
Fig.3 Effect of heating temperature on the Maillard reaction between zein and xylose ($n=3$)

3.1.4 混合比例的影响

反应体系中木糖与玉米醇溶蛋白重量比对 2 者美拉德反应的影响如图 4 所示。可以看出, 当两者的重量比由 3:1 降至 2:1 时, 2 者混合体系的 A_{290} 和 A_{420} 显著增加; 但当该比例进一步降至 1:1 时, 2 个吸光值均随之显著降低。这表明, 当反应体系中木糖或玉米醇溶蛋白含量过高时均会导致美拉德反应处于初级阶段, 且当两者比例为 2:1 时美拉德反应程度最高, 因此选择该值作为 2 者的最佳混合比例。

综合图 1-4 可知, 65%(V:V)乙醇溶液中玉米醇溶蛋白与 *D*-木糖可发生美拉德反应, 且最适条件为反应时间 90 min、反应温度 90 °C、反应体系 pH 值 13.0 及木糖/玉米醇溶蛋白混合质量比 2:1, 本研究以该条件下制备的美拉德反应产物进行后续研究。

3.2 反应体系 pH 值变化

大量文献表明发生美拉德反应后体系的 pH 值会降低,

例如将酪蛋白与葡萄糖的混合溶液于 102 °C 下加热 130 min 后体系的 pH 值由 12.0 急剧下降至 6.1, 归因于反应过程中生成的小分子有机酸^[21]。加热对玉米醇溶蛋白-木糖混合液 pH 值的影响如图 5 所示。可以看出, 加热后对照玉米醇溶蛋白溶液的 pH 值仅发生了轻微变化, 由 13 降至 11.51; 而加入木糖且在最适条件下反应后体系的 pH 值由 13 急剧下降至 7.85。这一变化进一步证实了玉米醇溶蛋白与木糖之间发生了美拉德反应。

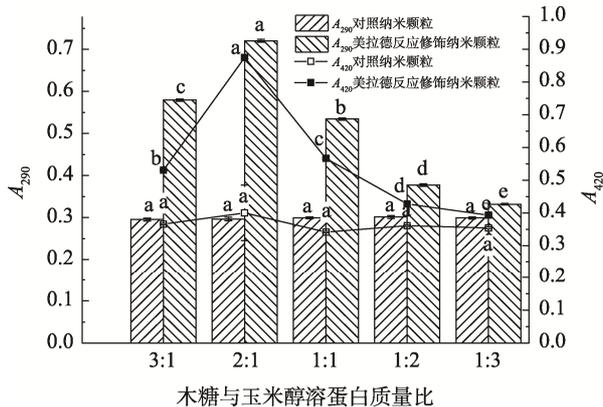


图4 木糖与玉米醇溶蛋白质量比对二者美拉德反应的影响($n=3$)
Fig.4 Effect of xylose to zein mass ratio on their Maillard reaction ($n=3$)

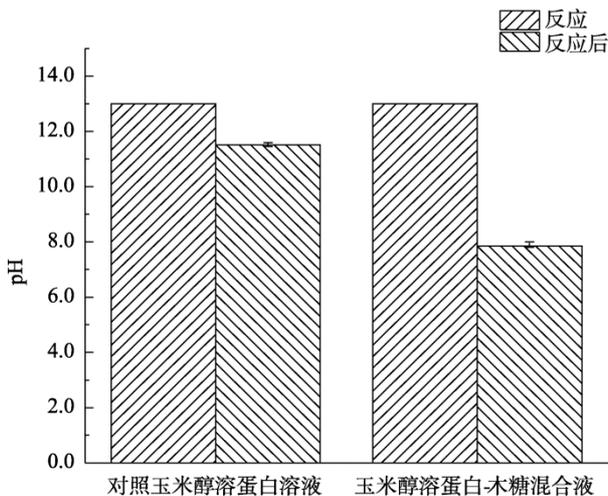


图5 玉米醇溶蛋白-木糖美拉德反应对体系 pH 值的影响($n=3$)
Fig.5 Variation of solution pH after the occurrence of Maillard reaction between zein and xylose ($n=3$)

3.3 纳米颗粒外观形态

2 种姜黄素纳米颗粒水悬浮液的外观如图 6 所示。可以看出, 在相同浓度下对照姜黄素纳米颗粒(图 6a)悬浮液较为澄清且试管有大量黄色沉淀, 而美拉德反应修饰的姜黄素纳米颗粒均匀分散在水中(图 6b)。因此, 美拉德反应修饰可以显著改善姜黄素纳米颗粒的水分散性, 这对于其在实际生产中的应用具有重要意义。

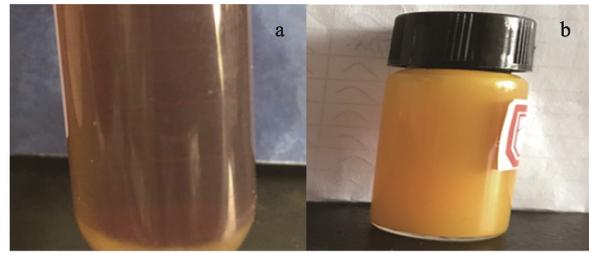


图6 对照姜黄素颗粒(a)和美拉德反应修饰姜黄素纳米颗粒(b)水溶液的外观
Fig.6 Appearance of the aqueous suspension of the control (a) and Maillard reaction-modified curcumin nanoparticles (b)

3.4 包埋效率及载药量

美拉德反应对玉米醇溶蛋白包埋效率及载药量的影响见图 7。对照组姜黄素纳米颗粒的载药量为 2.04%, 包埋效率为 32.56%, 这与文献中报导的范围一致^[9,22]; 对玉米醇溶蛋白进行美拉德反应修饰后, 相应纳米颗粒的载药量和包埋效率则显著增加到 4.35%和 50.67%, 增幅分别高达 113%和 56%。这表明, 经过美拉德反应修饰后玉米醇溶蛋白可以更加有效地将芯材包裹于纳米颗粒内部。这可能是由于美拉德反应后, 玉米醇溶蛋白纳米颗粒的结构变得更加致密且内部基质的疏水性增强, 从而使得被吸附和束缚到颗粒内部的姜黄素的量显著增加, 进而使得纳米颗粒的载药量和包埋效率均有了显著提高, 这一变化对于改善玉米醇溶蛋白的包埋性能具有重要的意义。

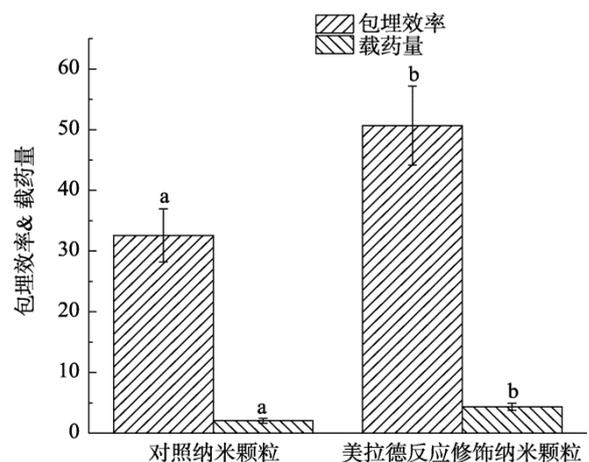


图7 美拉德反应对姜黄素纳米颗粒包埋效率和载药量的影响
Fig.7 Effect of Maillard reaction on the entrapment efficiency and curcumin load of the nanoparticles

3.5 释放行为

研究表明, 通过反溶剂沉淀制备的装载了芦丁^[23]和阿霉素^[24]的玉米醇溶蛋白纳米颗粒在各种释放介质中均表现出了“突释”行为(burst release), 即在浸泡的初始阶段释放出大量芯材, 然后释放速率随之减缓。本研究就所得姜黄素纳米颗粒在乙醇溶液中的释放规律进行了研究, 结

果如图 8 所示。对照纳米颗粒的姜黄素释放率随着浸泡时间的延长迅速增加且在 5 h 时基本趋于稳定, 此时的释放率为 75%; 随着浸泡时间进一步延长至 12 h, 姜黄素的累积释放率缓慢增加至 80%, 这与前面提到的芦丁和阿霉素的释放规律一致。在最适条件下制备的美拉德反应修饰纳米颗粒则表现出了很好的缓释特性(sustainable release), 即随着浸泡时间的延长姜黄素的累积释放率随之增加; 当浸泡时间在 1~8 h 时, 美拉德反应修饰纳米颗粒的姜黄素释放率均小于对照; 当浸泡时间为 9 h 时, 两者的释放率基本相同, 当浸泡时间进一步延长时, 后者的释放率开始高于空白对照, 且在第 12 h 时达到 84%。这表明, 发生美拉德反应有助于提高装载了活性物质的玉米醇溶蛋白纳米颗粒的稳定性和释放行为。这可能与 2 方面的因素有关。一方面, 由图 7 可知, 与木糖的美拉德反应显著提高了纳米颗粒的包埋效率, 纳米颗粒表面吸附的姜黄素含量大量降低, 从而使得浸泡初期释放出的姜黄素大大减少, 其原因可能与纳米颗粒内部基质疏水性变强有关; 另一方面, 与还原糖的美拉德反应可以引发蛋白质的交联反应^[25], 这一反应有助于增加纳米颗粒微观结构的致密程度, 进而减缓了姜黄素的释放速率。

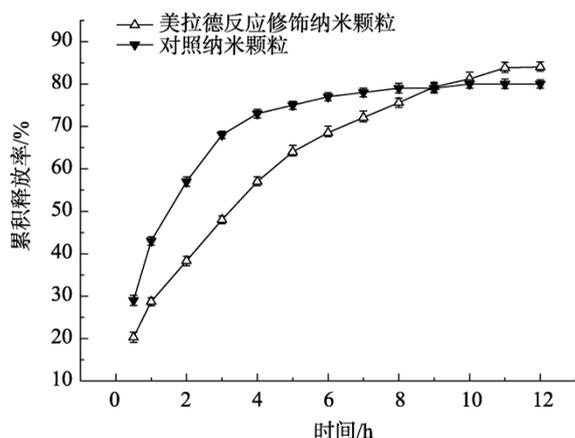


图 8 美拉德反应对纳米颗粒中姜黄素在乙醇溶液中释放率的影响($n=3$)

Fig.8 Effect of Maillard reaction on the curcumin release of the nanoparticles in ethanol ($n=3$)

3.6 TGA 分析

2 种纳米颗粒和姜黄素及玉米醇溶蛋白的热降解性能如图 9 所示。可以看出, 美拉德反应修饰对于纳米颗粒的热降解性能有重要影响。姜黄素热分解起始温度为 205 °C, 而装载了姜黄素的玉米醇溶蛋白纳米颗粒与玉米醇溶蛋白的热分解温度非常接近, 分别为 250 °C 和 247 °C, 这与文献报导的数据范围一致^[26], 表明形成纳米颗粒有助于提高姜黄素的热稳定性; 而经美拉德反应修饰后, 其热分解温度降为了 171 °C, 这可能是由于美拉德反应导致形成了易挥发的小分子物质所致, 这与图 5 中 pH 值降低的趋势部分一致, 即此时有部分小分子有机酸可能发生了分解。因此, 图 9 进

一步证实了玉米醇溶蛋白与木糖之间发生了美拉德反应, 且形成纳米颗粒有可能提高姜黄素的热稳定性。

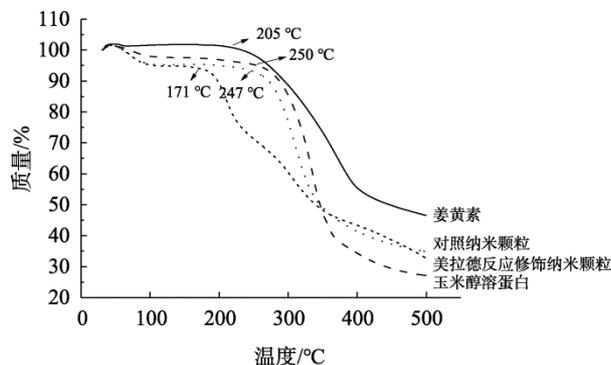


图 9 美拉德反应对姜黄素纳米颗粒热降解行为的影响

Fig.9 Effect of Maillard reaction on the thermal degradation behavior of the curcumin-loaded nanoparticles

3.7 贮藏稳定性

本研究通过贮藏过程中粒径和电势的变化来反映姜黄素纳米颗粒稳定性。由图 10 可知, 经美拉德反应修饰后, 纳米颗粒的粒径(图 10a)无显著变化, 但是其电势(图 10b)显著降低, 这有利于增加纳米颗粒之间的静电斥力进而提高其稳定性。随着贮藏时间的延长, 2 种纳米颗粒的粒径均随之变大, 且自第 3 周起对照纳米颗粒的粒径开始显著高于美拉德反应修饰的纳米颗粒; 由图 10b 可知, 随着贮藏时间的延长, 2 种纳米颗粒的电势均随之降低, 且在整个贮藏时间范围内, 美拉德反应修饰纳米颗粒的电势均高于对照纳米颗粒。因此, 图 10 表明, 随着贮藏时间的延长纳米颗粒之间发生了聚集, 且美拉德反应修饰可在一定程度提高其贮藏稳定性。

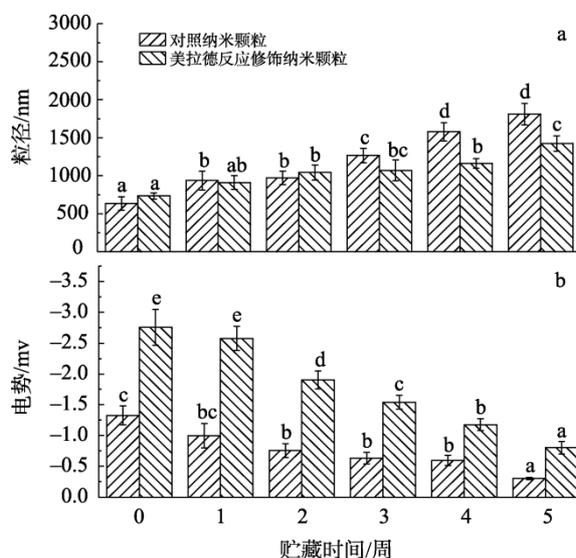


图 10 贮存时间对纳米颗粒粒径 (a) 和电势 (b) 的影响($n=3$)

Fig.10 Effect of storage time on the particle size (a) and potential (b) of the curcumin-loaded nanoparticles

4 结 论

在 65%(V:V)乙醇溶液中玉米醇溶蛋白可以与 D-木糖发生美拉德反应,该反应可显著提高通过反溶剂法制备的负载了姜黄素的玉米醇溶蛋白纳米颗粒的分散性、包埋效率、载药量、缓释性能和贮藏稳定性,因此在拓展玉米醇溶蛋白在反溶剂沉淀法制备纳米颗粒中的应用具有重要意义。

参考文献

- [1] Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, *et al.* Multiple biological activities of curcumin: A short review [J]. *Life Sci*, 2006, 78(18): 2081–2087.
- [2] Stanić Z. Curcumin, a compound from natural sources, a true scientific challenge-A review [J]. *Plant Food Hum Nutr*, 2017, 72(1): 1–12.
- [3] Naksuriya O, Okonogi S, Schiffelers RM, *et al.* Curcumin nanoformulations: A review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment [J]. *Biomaterials*, 2014, 35(10): 3365–3383.
- [4] Hussain Z, Thu HE, Ng SF, *et al.* Nanoencapsulation, an efficient and promising approach to maximize wound healing efficacy of curcumin: A review of new trends and state-of-the-art [J]. *Colloid Surface B*, 2017, 150: 223–241.
- [5] Joye IJ, McClements DJ. Production of nanoparticles by anti-solvent precipitation for use in food systems [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2013, 34(2): 109–123.
- [6] Thorat AA, Dalvi SV. Liquid antisolvent precipitation and stabilization of nanoparticles of poorly water soluble drugs in aqueous suspensions: Recent developments and future perspective [J]. *Chem Eng J*, 2012, (181-182): 1–34.
- [7] Lawton JW. Zein: A history of processing and use [J]. *Cereal Chem*, 2002, 79(1): 1–18.
- [8] Luo Y, Wang Q. Zein-based micro- and nano-particles for drug and nutrient delivery: A review [J]. *J Appl Polym Sci*, 2014, 131(16): n/a–n/a.
- [9] Patel A, Hu Y, Tiwari JK, *et al.* Synthesis and characterisation of zein-curcumin colloidal particles [J]. *Soft Matter*, 2010, 6(24): 6192–6199.
- [10] Davidov-Pardo G, Joye IJ, Espinal-Ruiz M, *et al.* Effect of Maillard conjugates on the physical stability of zein nanoparticles prepared by liquid antisolvent coprecipitation [J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(38): 8510–8518.
- [11] Oliveira FCd, Coimbra JSdR, de Oliveira EB, *et al.* Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the Maillard reaction: A review [J]. *Crit Rev Food Sci*, 2014: 1108–1125.
- [12] Kato A. Industrial applications of Maillard-type protein-polysaccharide conjugates [J]. *Food Sci Technol Res*, 2002, 8(3): 193–199.
- [13] 孔繁惠, 刘景圣, 修琳, 等. 玉米醇溶蛋白湿热法糖基化初步研究[J]. *中国食物与营养*, 2012, 18(4): 55–58.
Kong FH, Liu JS, Xiu L, *et al.* Preliminary research on glycosylation of zein by water-heating [J]. *Food Nutr Chin*, 2015, 18(4): 55–58.
- [14] 康雪帆, 李海明, 陈丹洁, 等. 糖接枝玉米醇溶蛋白包埋虾青素[J]. *食品科学*, 2018, 39(7): 168–173.
Kang XF, Li HM, Chen DJ, *et al.* Encapsulation of astaxanthin in zein-saccharide graft reaction products [J]. *Food Sci*, 2018, 39(7): 168–173.
- [15] 李海明. 玉米醇溶蛋白糖接枝改性及应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.

Li HM. Grafting modification of zein and its application [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016.

- [16] Wu S, Hu J, Wei L, *et al.* Antioxidant and antimicrobial activity of Maillard reaction products from xylan with chitosan/chitooligomer/glucosamine hydrochloride/taurine model systems [J]. *Food Chem*, 2014, 148: 196–203.
- [17] Liu Q, Niu H, Zhao J, *et al.* Effect of the reactant ratio on the characteristics and antioxidant activities of Maillard reaction products in a porcine plasma protein hydrolysate-galactose model system [J]. *Int J Food Prop*, 2015, 19(1): 99–110.
- [18] Anderson TJ, Lamsal BP. Review: Zein extraction from corn, corn products, and coproducts and modifications for various applications: A review [J]. *Cereal Chem*, 2011, 88(2): 159–173.
- [19] Luo Y, Ling Y, Wang X, *et al.* Maillard reaction products from chitosan-xylan ionic liquid solution [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 98(1): 835–841.
- [20] Shukla R, Cheryan M. Zein: The industrial protein from corn [J]. *Ind Crop Prod*, 2001, 13(3): 171–192.
- [21] Gu F, Kim JM, Hayat K, *et al.* Characteristics and antioxidant activity of ultrafiltrated Maillard reaction products from a casein-glucose model system [J]. *Food Chem*, 2009, 117(1): 48–54.
- [22] Lai LF, Guo HX. Preparation of new 5-fluorouracil-loaded zein nanoparticles for liver targeting [J]. *Int J Pharmaceut*, 2011, 404(1): 317–323.
- [23] Hu D, Lin C, Liu L, *et al.* Preparation, characterization, and *in vitro* release investigation of lutein/zein nanoparticles via solution enhanced dispersion by supercritical fluids [J]. *J Food Eng*, 2012, 109(3): 545–552.
- [24] Dong F, Dong X, Zhou L, *et al.* Doxorubicin-loaded biodegradable self-assembly zein nanoparticle and its anti-cancer effect: Preparation, *in vitro* evaluation, and cellular uptake [J]. *Colloid Surface B*, 2016, 140: 324–331.
- [25] Su JF, Yuan XY, Huang Z, *et al.* Physicochemical properties of soy protein isolate/carboxymethyl cellulose blend films crosslinked by Maillard reactions: Color, transparency and heat-sealing ability [J]. *Mat Sci Eng C Mater*, 2012, 32(1): 40–46.
- [26] Neo YP, Ray S, Jin J, *et al.* Encapsulation of food grade antioxidant in natural biopolymer by electrospinning technique: A physicochemical study based on zein-gallic acid system [J]. *Food Chem*, 2013, 136(2): 1013–1021.

(责任编辑: 苏笑芳)

作者简介



黄国清, 副教授, 主要研究方向为食品胶体。

E-mail: hgqfooD@qau.edu.cn



肖军霞, 教授, 主要研究方向为食品组分稳态化技术。

E-mail: xjxfooD@qau.edu.cn