

玉米醇溶蛋白-壳聚糖纳米营养递送粒子的制备及性质

李书红¹, 周军君¹, 陈桂芸¹, 秦邵爽¹, 李赫宇², 陈野^{1*}

(1. 天津科技大学食品科学与工程学院, 国家食品营养与安全重点实验室, 天津 300457; 2. 天津市益倍建生物技术有限公司, 天津 300457)

摘要: 利用蛋白质和多糖构建纳米营养递送载体, 是提高食品活性物质稳定性及利用率的重要手段。为了构建具有缓释特性的纳米营养递送体系, 该研究以玉米醇溶蛋白(zein)为基材, 构建玉米醇溶蛋白-壳聚糖纳米营养递送体系, 以姜黄素(Curcumin, Cur)为营养模型, 探究了壳聚糖分子量、zein 与壳聚糖质量比对纳米粒子及其负载 Cur 性能的影响, 通过扫描电子显微镜(Scanning Electron Microscope, SEM)、傅里叶红外光谱(Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR)等方法表征其结构, 阐明复合纳米粒子形成机制, 探讨其稳定性和缓释性能。结果表明: 不同分子量的壳聚糖对纳米粒子的粒径、多分散性指数和 zeta 电位有影响。高分子量壳聚糖的加入可使纳米粒子粒径减小, 且更加稳定。在 zein 与高分子量壳聚糖质量比为 8:1 时, 制备的纳米粒子粒径较小(80.13 nm), 其 zeta 电位为 46.18 mV; 在此条件下, 当姜黄素添加量为 1.0%时, 其封装率和负载量分别为 82.93%和 8.29%; 通过 SEM 观察, 纳米粒子呈球形, 分布均匀; 氢键及静电相互作用是组装该纳米粒子的作用力; 壳聚糖的引入提高了纳米粒子的 pH 值、离子及储藏稳定性, 扩展了其应用范围; 与游离的姜黄素相比, 纳米营养递送粒子呈现明显的缓释特性。研究结果为构建具有缓释特性的营养递送体系提供了理论基础。

关键词: 营养; 模型; 玉米醇溶蛋白; 壳聚糖; 纳米粒子; 缓释性能

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.16.034

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2021)-16-0279-08

李书红, 周军君, 陈桂芸, 等. 玉米醇溶蛋白-壳聚糖纳米营养递送粒子的制备及性质[J]. 农业工程学报, 2021, 37(16): 279-286. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.16.034 http://www.tcsae.org

Li Shuhong, Zhou Junjun, Chen Guiyun, et al. Preparation and properties of zein-chitosan nano-nutrient delivery particles[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2021, 37(16): 279-286. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2021.16.034 http://www.tcsae.org

0 引言

随着消费者健康意识的增强, 食品中的许多活性物质受到广泛关注。然而, 部分活性物质存在水溶性差、化学性质不稳定和代谢速率高等问题, 限制了食源性活性物质相关产业的高质量发展, 对食品工业和消费者都产生了巨大影响。利用蛋白质和多糖构建纳米营养递送载体, 是提高食品活性物质稳定性及利用率的重要手段。纳米营养递送载体是一种直径小于 1 000 nm、可以输送营养物质的纳米体系, 主要包含纳米粒子、纳米乳液、胶束、水凝胶、脂质体和纳米聚合物等类型^[1], 纳米营养递送体系与其他营养递送系统相比具有巨大的优势:

- 1) 具有尺寸效应和体内分布特异性。纳米载体体积更加微小, 能够直接作用于体内某些蛋白质和细胞, 控制营养物质的释放位置, 提高营养物质的生物利用率^[2]。
- 2) 具有缓释效果, 改善胃肠道吸收。通过设计纳米递

送体系的结构, 可控制营养成分的释放速度, 满足人体对营养物质的持续需求^[3]。3) 可以增强营养物质的透过性, 进而充分发挥营养成分的功能活性^[4]。目前, 研究报道的纳米营养递送体系存在封装率和负载量较低、突释现象显著等问题^[5], 这限制了纳米营养递送载体的实际应用。

玉米醇溶蛋白(zein)含有大量的疏水性氨基酸, 且缺少带电的氨基酸, 该组成导致其不溶于水、无水醇类, 而可溶于醇-水溶液、强碱、丙二醇以及多种有机溶剂混合液^[6]。Liu 等^[7]通过小角度 X-衍射研究 zein 的单元结构发现, 1 个 zein 含有 9 个同系物的重复单位, 以氢键形成反平行结构。zein 在自组装特性方面表现突出, 溶剂极性变化能够诱导 zein 分子构象发生改变, 最终形成纳米球形粒子。因为独特的分子结构及自组装特性, zein 成为制备纳米粒子的理想材料。由于 zein 的等电点在 6.2 左右, zein 纳米粒子在中性条件下不稳定并会发生聚集。此外, zein 纳米粒子在旋转蒸发过程中会出现大量沉淀, 干燥后无法复溶。解决这一问题的主要方法就是在制备 zein 纳米粒子的过程中加入多糖、脂类及其他蛋白作为稳定剂, 阻止其在外界条件变化时的进一步聚集^[8]。

壳聚糖(chitosan, CS)为天然高分子, 来源丰富, 价格低廉, 其分子结构独特, 具有无毒、抑菌性、生物相容性和可降解等优点, 并且具有良好的成膜性。有研

收稿日期: 2021-04-07 修订日期: 2021-08-14

基金项目: 国家青年科学基金项目(31701526); 天津市自然科学基金(18JCZDJC98100)

作者简介: 李书红, 博士, 副教授, 研究方向为食品营养递送体系、面制品加工技术。Email: lsh@tust.edu.cn

*通信作者: 陈野, 博士, 教授, 研究方向为植物蛋白凝聚机制、农产副产物的高值化利用技术。Email: chenye@tust.edu.cn

究表明, CS 是 zein 纳米粒子优良的稳定剂, 可提供空间位阻作用及静电稳定效应, 有效防止 zein 在中性条件及干燥后的聚集^[9]。Chen 等^[10-11]报道, CS 载体不仅能够吸附在特定组织表面, 而且可以延长载体在某一特定位置的停留时间, 通过包埋物和粘膜的紧密接触来增加物质在该位置的有效浓度。

近年来, 关于蛋白多糖营养递送体系的研究多集中在蛋白浓度、多糖种类、蛋白与多糖比例等对纳米粒子性质的影响。Hu 等^[12]发现添加果胶的玉米醇溶蛋白纳米粒子之间通过空间位阻作用和静电排斥作用来提高粒子稳定性。Chang 等^[13]研究了玉米醇溶蛋白和三种多糖(果胶、羧甲基纤维素和阿拉伯胶)制备的蛋白质多糖复合物纳米粒子的交联效率。研究发现, 果胶和羧甲基纤维素更有利于形成粒径更小, 包埋率更高的纳米粒子。Luo 等^[14]用玉米醇溶蛋白复合壳聚糖纳米粒子成功地负载了生育酚, 并考察了玉米醇溶蛋白与壳聚糖比例对生育酚的包埋率和释放动力学的影响。但少有文章深入探究关于多糖不同分子量对蛋白多糖纳米粒子的性质及负载机制的影响。

姜黄素(Curcumin, Cur)主要来源于姜科姜黄属植物姜黄的根茎, 具有抗炎、抗氧化、降血脂、抗动脉粥样硬化和抗肿瘤等多种功能。然而, Cur 是一种脂溶性的色素, 其水溶性差, 仅为 11 ng/mL, 大部分进入人体后从粪便排出, 在血液中浓度低。此外, Cur 易受光和热的影响, 在光照条件下易分解为阿魏酸和香草醛, 生物利用率低和不稳定性限制了它在食品中的应用。

因此, 本研究以姜黄素为模型营养成分, 围绕纳米营养递送体系中包封率和负载量较低、突释现象显著的问题, 通过反溶剂沉淀法构建 zein-CS 纳米粒子。考察 CS 分子量、zein 与 CS 质量比对纳米粒子及其负载 Cur 性能的影响, 表征纳米粒子结构、稳定性和缓释性能, 以期揭示其释放机理, 为构建纳米营养递送体系提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米醇溶蛋白(纯度 98.13%), 日本和光纯药工业株式会社; 壳聚糖(相对分子质量为 5×10^4 Da 与 1×10^5 Da), 天津索罗门生物技术有限公司; 壳聚糖(相对分子质量为 3.4×10^5 Da), 浙江金壳药业有限公司。

无水乙醇(分析纯), 天津市津东天正试剂公司; 冰乙酸(分析纯), 天津市津东天正化学试剂厂; 去离子水, 天津科技大学。

1.2 仪器与设备

电子分析天平: RS-232, 丹纳赫传感工业控制有限公司; 离心机: TDL-5-A, 上海安亭科学仪器厂; 磁力搅拌器: HJ-6A, 常州市凯航仪器有限公司; 真空冷冻干燥机: FD-1, 北京德天佑科技发展有限公司; 超纯水系统: Milli-Q, 美国 Millipore 公司; 纳米激光粒度仪: BT-90, 丹东市百特仪器有限公司; zeta 电位仪: Nano-ZS, 英国 Malvern 公司; 扫描电子显微镜: SU1510, 日本日立株式会社; 傅里叶红外光谱: TENSOR 27, 布鲁克仪器公司。

1.3 zein-CS 纳米粒子的制备

准确称量 1.0 g 的 zein 粉末, 溶于体积分数为 70%乙醇水溶液, 配制浓度为 10 mg/mL, 用作母液。准确称量不同分子量的 CS (相对分子质量为 5×10^4 、 1×10^5 和 3.4×10^5 Da, 分别命名为 LC、MC、HC) 粉末, 分散于体积分数为 1%醋酸水溶液中, 充分溶解, 配制成不同浓度 CS 溶液(0.1~0.5 mg/mL)。在磁力搅拌下, 使用 5 mL 规格的注射器将 1 mL 母液, 以 2 滴/s 的速度滴加到 10 mL 上述 CS 溶液中, 使得最终的 zein/CS 质量比分别为 2:1, 4:1, 6:1, 8:1, 10:1。搅拌 30 min, 形成 zein-CS 纳米粒子。根据粒子中 CS 分子量的差异, 命名为 zein-LC, zein-MC, zein-HC 纳米粒子。

1.4 负载 Cur 的 zein-CS 纳米粒子的制备

首先, 将 1.0 g zein 和 0.1 g Cur 分别加入到 50 mL 体积分数为 70%乙醇水溶液中, 搅拌至充分溶解。在磁力搅拌下, 将 Cur 的乙醇溶液迅速滴加 zein 溶液中(保证蛋白最终浓度为 10 mg/mL), 持续搅拌 1 h, 离心(3 000 r/min, 10 min)除去不溶性杂质, 配置成负载 Cur 的蛋白母液, 为橙黄色溶液, 4 °C 储存备用。使用 5 mL 规格的注射器将 1 mL 负载 Cur 的蛋白母液以 2 滴/s 的速度滴加到 10 mL 不同浓度 CS 溶液(0.1~0.5 mg/mL)中, 使得最终的 zein/CS 质量比分别为 2:1, 4:1, 6:1, 8:1, 10:1。搅拌 30 min, 形成 zein-CS 纳米粒子。负载 Cur 的 zein、zein-LC, zein-MC, zein-HC 纳米粒子, 分别命名为 Cur/zein, Cur/zein-LC, Cur/zein-MC, Cur/zein-HC。

1.5 zein-CS 纳米粒子的表征

1.5.1 粒径与 zeta 电位

使用纳米激光粒度仪测定纳米粒子的粒径分布和多分散指数(Polydispersity Index, PDI)。使用 zeta 电位仪测定 zeta 电位。试验条件为 (25 ± 0.1) °C, 每个样品平行测定 3 次, 取平均值。

1.5.2 包封性能

采用冻干复溶法^[15]对不同粒子的包封率(Encapsulation Efficiency, EE, %)及负载量>Loading Capacity, LC, (%)进行了测定。包封率表示 zein 包裹 Cur 的含量, 负载量以 zein 计, 表示相同量的 zein 所包封的 Cur 的含量。参照 Chen 等^[16]的研究方法, Cur 的加入量为 1.0% (以 zein 计), 准确量取 4 mL 新制备的纳米粒子悬浮液, 冻干后复溶于一定量的纯乙醇中, 涡旋震荡 1 min, 随后, 使用离心机 10 000 r/min 离心 20 min, 取上清液进行适当稀释, 用紫外-可见分光光度计于 428 nm 测定游离 Cur 的吸光度(Y), 通过姜黄素标准曲线公式 $Y = 0.3463x - 0.0102$ ($R^2 = 0.9998$) 计算得出游离的 Cur 含量, Cur 的 EE 和 LC 通过以下公式计算:

$$EE(\%) = \frac{m_{\text{总}} - m_{\text{游}}}{M_{\text{Cur}}} \times 100 \quad (1)$$

$$LC(\%) = \frac{m_{\text{总}} - m_{\text{游}}}{M_{\text{粒子}}} \times 100 \quad (2)$$

式中 $m_{\text{总}}$ 为被包埋的 Cur 总量, mg; $m_{\text{游}}$ 为游离 Cur 的含量 mg; M_{Cur} 为 Cur 的总量 mg; $M_{\text{粒子}}$ 为粒子中 zein 的总质量 mg。

1.5.3 扫描电子显微镜

使用扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscope, SEM) 进行纳米粒子形貌观察。操作方法: 将一定量纳米粒子悬浮液滴加到 1 cm^2 的小玻璃板上, 平铺在桌子上, 自然风干后将玻璃板贴到导电胶上, 真空喷金处理。处理后的纳米粒子于扫描电子显微镜上观察, 电压为 15 kV 。

1.5.4 傅立叶红外光谱

取 1.0 mg 纳米粒子冻干粉末与 150 mg 溴化钾混合, 置于研钵内充分研磨, 压片。使用傅里叶变换红外光谱 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) 仪扫描, 得到样品 FTIR 图。检测条件: 室温、干燥的环境。扫描范围: $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$, 分辨率: 4 cm^{-1} , 累加 16 次, 以空气为背景, 每次扫描前扣除背景。

1.6 zein-CS 纳米粒子的稳定性

1.6.1 pH 值对纳米粒子的影响

将新制备的纳米粒子和去离子水 1:1 等体积混合, 混合后, 调节胶体悬浮液 pH 值为 $3.0\sim 7.5$, 用 0.1 mol/L NaOH 或者 HCl 溶液对混合液 pH 值进行调整。用 BT-90 激光粒度仪和 zeta 电位仪检测溶液纳米粒子性质在不同 pH 值条件下的变化。

1.6.2 离子强度对纳米粒子的影响

将新制备的纳米粒子与不同浓度的 NaCl 溶液等体积混合, 使样品的氯化钠最终浓度分别为 0 、 100 、 200 和 300 mmol/L , 调节 pH 值为 7.0 。用粒度仪和 zeta 电位仪检测溶液纳米粒子性质在不同 pH 值 (离子强度) 条件下的变化。

1.6.3 纳米粒子的长期储存稳定性

将制备的纳米粒子分散液在 25°C 环境中放置 60 d 。用粒度仪和 zeta 电位仪检测放置前后纳米粒子性质的变化。

1.7 zein-CS 纳米粒子的缓释动力学分析

精确称取一定量的 Cur, 用乙醇溶解, 用磷酸盐缓冲盐溶液 (PBS, Phosphate Buffered Saline) 定容, 得到 $100\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的 Cur 溶液, 系列稀释成 $1\sim 10\text{ }\mu\text{g/mL}$ 溶液, 以用 PBS 缓冲液做空白对照, 在最大吸收波长 428 nm 处, 以浓度为横坐标, 吸光度 (Y) 为纵坐标, 建立标准曲线 $Y=0.1916x-0.0251$ ($R^2=0.998$)。

取 10 mL 新制备的载 Cur 纳米粒子悬浮液, 置于截留分子量为 $3\text{ }500\text{ Da}$ 的透析袋中, 随后将透析袋浸入 200 mL PBS 缓冲溶液 (pH 值 7.4) 中。将载有透析袋的锥形瓶放置于 37°C 恒温水浴摇床中, 控制摇床速率为 100 r/min 。在设定的时间点, 取出 3 mL 透析袋外的缓冲溶液, 同时添加相同体积的空白缓冲液。

$$\text{累计释放率}(\%) = \frac{C \times V}{M} \times 100 \quad (3)$$

式中 C 为某时刻缓释溶液释放 Cur 的浓度, mg/mL ; V 为某时刻下缓释溶液体积, mL ; M 为其中包含 Cur 的总质量, mg 。

2 结果与分析

2.1 zein-CS 纳米粒子特性分析

采用反溶剂沉淀法制备纳米颗粒, zein 从乙醇相转移

到了水相, 环境极性的改变引发了 zein 分子的自组装, 而逐渐加入可以减缓 zein 液滴之间的聚集而致局部浓度过高的情况, 从而可以得到粒径较小、分布均一的 zein 纳米粒子。为了优化纳米粒子的制备条件, 本试验考察了 CS 的种类和 zein-CS 的质量比对纳米粒子粒径、PDI 和 zeta 电位的影响, 如表 1 所示。

表 1 CS 分子量、zein 与 CS 质量比对 zein-CS 纳米粒子的影响
Table 1 Effects of molecular weight of chitosan, zein/chitosan mass ratio on zein-CS nanoparticles

种类 Types	质量比 Mass ratio (zein : CS)	平均粒径 Average particle size/nm	多分散指数 Polydispersity Index (PDI)	zeta 电位 Zeta potential/mV
zein		137.33 ± 11.55^a	0.038 ± 0.002^a	20.86 ± 3.30^c
zein-LC	2 : 1	139.00 ± 4.36^a	0.040 ± 0.001^a	31.53 ± 15.36^{cde}
	4 : 1	113.33 ± 2.08^b	0.036 ± 0.003^a	49.96 ± 9.81^{ab}
	6 : 1	106.00 ± 6.56^{bcd}	0.049 ± 0.006^a	64.41 ± 20.44^a
	8 : 1	93.07 ± 4.71^{bcde}	0.040 ± 0.002^a	49.33 ± 11.93^{ab}
	10 : 1	92.37 ± 0.97^{bcde}	0.039 ± 0.001^a	45.70 ± 5.34^{bc}
zein-MC	2 : 1	88.93 ± 3.61^{cde}	0.036 ± 0.011^a	44.98 ± 2.88^{bc}
	4 : 1	83.27 ± 5.76^{de}	0.037 ± 0.003^a	30.84 ± 2.74^{cde}
	6 : 1	82.23 ± 6.04^e	0.036 ± 0.003^a	21.34 ± 4.63^e
	8 : 1	83.47 ± 8.26^{de}	0.038 ± 0.004^a	24.19 ± 2.55^{de}
	10 : 1	75.77 ± 1.56^e	0.035 ± 0.009^a	20.84 ± 1.03^e
zein-HC	2 : 1	135.67 ± 8.50^a	0.040 ± 0.006^a	28.37 ± 11.98^{de}
	4 : 1	95.30 ± 5.80^{bcd}	0.038 ± 0.001^a	49.35 ± 0.49^{ab}
	6 : 1	92.67 ± 4.38^{bcde}	0.040 ± 0.002^a	62.94 ± 11.13^a
	8 : 1	80.13 ± 0.96^e	0.042 ± 0.013^a	46.18 ± 13.18^{bc}
	10 : 1	87.10 ± 1.85^{de}	0.038 ± 0.003^a	39.16 ± 6.21^{bcd}

注: 不同小写字母表示同一指标有显著差异 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences in the same index ($P < 0.05$).

平均粒径是通过对粒径分布加权平均得到的一个反映胶束平均粒子直径的参数。对于分子量较小的 LC 来说, 当 zein-LC 质量比为 2:1 时, 所制备的纳米粒子的平均粒径最大, 在此条件下, CS 浓度较高, 能够完全包裹住蛋白分子并与周围蛋白分子吸附聚集, 导致粒径有所增加; 随着 zein-LC 质量比的增加, 制备 zein-LC 纳米粒子的平均粒径从 139.00 减小到 92.37 nm , 这可能是由于 CS 量的减少从而更少的吸附在 zein 内核的表面, 减少蛋白分子吸附聚集。Liang 等^[17]的报道表明静电相互作用可能会引起 CS 与 zein 之间作用更加紧密而导致粒径减小。此外, Luo 等^[18]的报道表明, 由于 zein 的疏水相互作用, 所制备的 EGCG-CS/zein 纳米颗粒更致密, 粒径减小。而对于 MC、HC 来说, 随着 zein-CS 质量比的增加, 所制备纳米粒子的平均粒径也呈现降低的趋势。但 MC 和 HC 所制备的纳米粒子, 其平均粒径总体上低于 LC 所制备的纳米粒子。陈世兰等^[19]研究表明, CS 分子量对其分子缠绕能力存在影响, 即 CS 分子量越大, 分子之间的缠绕程度越大。Zein-MC 粒径相对较小可能与 MC 分子的长度和缠绕能力有关, 从而与 zein 分子之间相互结合更加紧密, 导致其结构致密。纳米粒子粒径越小, 在水溶液中有更好的分散性, 越不易聚集产生沉淀^[20]。为了继续筛选出性能更好的纳米粒子, 需通过在后续试验工作中进行验证。

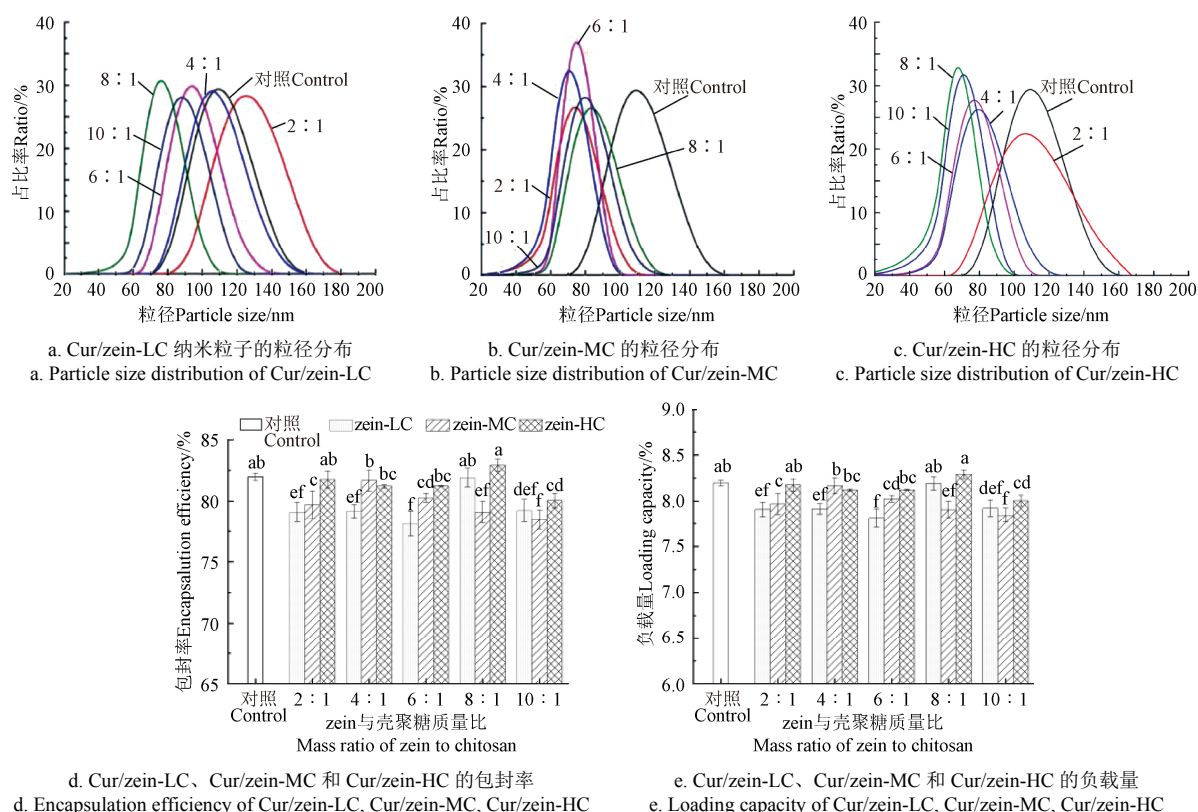
PDI 用来表明颗粒粒径的均一性, PDI 的值越小, 代表颗粒粒径的分散程度越小, 其均一性越好, 在 PDI 值低于 0.060 时, 可以认为颗粒的粒径是近似均一的。由表 1 可以看出, 所有样品的 PDI 都在 0.036~0.049 之间, 其互相之间的绝对值也相差较小, 可以初步认为以上质量比制备出的纳米粒子都是比较均一的。

zeta 电位可以用来表征纳米颗粒的表面电荷, 一般认为, 水相体系中分散体 zeta 电位大于 30 mV 或小于 -30 mV 是比较稳定的, 即绝对值越大, 颗粒的稳定性就越高。zein 粒子的 zeta 电位仅为 20.86 mV, 稳定性较低, 这是因为 zein 在水中不溶解, 体系稳定性差。在加入 CS 之后, LC 和 HC 所制备的纳米粒子的 zeta 电位均明显增加, 而 MC 所制备的纳米粒子并没有明显增加, 大多数仍保持在 20.84~44.98 mV 之间, 这表明 LC 和 HC 所制备的纳米粒子更加稳定。随着 zein-LC 与 zein-HC 中 zein : CS 质量比增加, zeta 电位均呈现先增加后降低趋势, 且在 zein-LC 和 zein-HC 质量比为 6 : 1 时达最大值, 分别为 64.41 与 62.94 mV。这可能是因为随着 zein 含量增加, CS 含量减少, zein 表面暴露电荷逐渐增多, zeta 电位随之增加。但随着 zein 浓度逐渐增加, 在 zein 与 CS 质量比为 8 :

1 时, 蛋白浓度过高会发生聚集, 掩盖内部电荷, 电位产生先增加后降低趋势^[21]。研究表明, zein-CS 质量比变化, 会引起蛋白质和多糖上所携带电荷密度的比值改变, 进一步会影响到二者之间的相互作用, 从而制备出的纳米颗粒的粒径、PDI 和 zeta 电位都会随之改变^[22]。随着 zein 与不同分子量 CS 质量比变化, zeta 电位变化趋势不同可能是因为 zein-CS 复合物是疏松的, 不同分子量 CS 形成的网络空隙不同, 为了进一步筛选出具有高包封率和负载量的纳米粒子, 后续对载 Cur 的纳米粒子进行测定分析。

2.2 载 Cur 的纳米粒子特性分析

先将 zein 和 Cur 分别溶于体积分数为 70% 乙醇水溶液, 并用磁力搅拌器搅拌均匀, 再将二者等体积混合搅拌约 2 h, 此时 zein 和 Cur 发生特异性相互作用, Cur 进入到 zein 的疏水空隙中^[23], 随着 zein 的自组装过程, 把 Cur 包裹在了 zein 内部。然后将 zein 和 Cur 的混合液滴加到不同质量比的 CS 醋酸水溶液中, 搅拌过程中 CS 扩散到水和乙醇的界面, 此时 CS 和 zein 发生静电、氢键、疏水等相互作用, 与 Cur、zein 形成复合纳米颗粒^[15-24]。为了制备出特性更好的载 Cur 纳米粒子, 首先对不同 CS 分子量、不同质量比的载 Cur 纳米粒子的粒径进行测定, 如图 1 所示。



注: 不同小写字母表示样品间有显著差异 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences between samples ($P < 0.05$).

图 1 载 Cur 的纳米粒子特性分析

Fig.1 Characteristic analysis of cur loaded nanoparticles

从图 1 中可以看出, 空白组平均粒径为 121 nm 且均一性较差。图 1a 中, zein 与 LC 质量比对纳米粒子的粒径分布影响较大, zein 与 LC 质量比为 2 : 1 的粒子的平均粒径最大, 为 131 nm, 但均一性差; 随着 zein 与 LC 质量比增加, 载 Cur 纳米粒子的平均粒径呈现先降低后增加的趋势, 在质量比为 8 : 1 时达到最小值 85.2 nm。

图 1b 中, zein 与 MC 质量比对纳米粒子的粒径分布影响不大, 其平均粒径分布在 70.5~82.2 nm 之间。图 1c 中, zein 与 HC 质量比对纳米粒子的粒径分布影响较大, 且与图 1a 有相同的变化趋势, 即随着质量比增加, 载 Cur 纳米粒子的平均粒径呈现先降低后增加, 在质量比为 8 : 1 时达到最小值 65.9 nm, 与其他质量比例的粒子相比, 粒

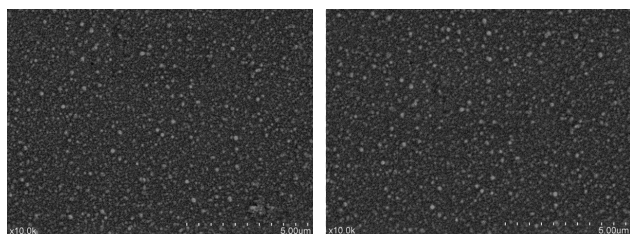
径最小, 均一性也最好。

为了进一步筛选出 CS 分子量、zein 与 CS 质量比较优的粒子, 计算包封率、负载量结果如图 1d、1e 所示。以 Cur/zein 为空白组, 空白样品的包封率为 82.5%, 由图可知, 随着 Cur/zein-CS 质量比的增加, Cur/zein-LC、Cur/zein-MC 与 Cur/zein-HC 纳米粒子对 Cur 的包封率和负载量总体均呈先增加后降低的趋势, 包封率、负载量最大可分别达到 81.92%、8.19%(此时, zein-LC 质量比为 8:1); Cur/zein-MC 为 80.26%、8.03%(此时, zein-LC 质量比为 4:1); Cur/zein-HC 为 82.93%、8.29%(此时, zein-HC 质量比为 8:1)。比较不同 CS 分子量、zein-CS 质量比的粒子包封性能可知, zein 与壳聚糖的比例为 8:1 时, 负载量最高为 8.29%, 对 Cur 的包埋效果较佳。因此, 选用 zein 与壳聚糖的比例为 8:1 的 Cur/zein-HC 纳米粒子进行后续表征试验。

2.3 Cur/zein-HC 纳米粒子的表征

2.3.1 SEM 分析

由图 2 可以看出, zein-HC 与 Cur/zein-HC 纳米颗粒均为规则的球形, 且分布较为均匀。Cur 的加入并没有引起粒子形态上的改变, 大多数颗粒的粒径范围为 80 nm~100 nm, 也存在着少数粒径更小的粒子。由于用纳米激光粒度仪测其粒径时粒子存在于溶液中, 而使用 SEM 时, 待测溶液已被自然风干, 粒子存在于干燥的状态下, 因此激光粒度仪测出的粒径要比 SEM 稍大。这种现象被称为粒径收缩现象, 当粒子存在于溶液中, 表面被一层水化层所覆盖, 在自然干燥的过程中, 表面水分挥发到空气中, 纳米粒子会出现明显的失水皱缩现象^[25-27]。



a. 玉米醇溶蛋白-壳聚糖纳米粒子
a. zein-HC
b. 载姜黄素的玉米醇溶蛋白-壳聚糖纳米粒子
b. Cur/zein-HC

注: zein 与壳聚糖质量比为 8:1, 下同。

Note: Mass ratio of zein to chitosan is 8:1, the same below.

图 2 纳米粒子的扫描电子显微镜图 (放大 10 000 倍)

Fig.2 SEM diagrams of nanoparticles ($\times 10\,000$ times)

2.3.2 FTIR 分析

如图 3 所示, $3\,423\text{ cm}^{-1}$ 处观察到了 zein 的特征峰, 这是由于羟基伸缩振动引起的^[28]。在 zein 中加入 HC 后, 特征峰偏移到 $3\,323\text{ cm}^{-1}$, 这表明 zein 和 HC 之间存在着氢键相互作用, 这一结果与 Sun 等^[29]的研究结果一致。向 zein 中加入 Cur 后, 特征峰偏移 $3\,316\text{ cm}^{-1}$, 说明 zein 和 Cur 之间也存在着氢键。在 $1\,639\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,540\text{ cm}^{-1}$ 处观察到 zein 的主要特征峰, 分别归属于酰胺 I 带和酰胺 II 带^[30]。C-O 基团和 C-N 基团的伸缩运动主要引起了酰胺 I 带^[31], N-H 基团弯曲运动、C-N 基团伸缩运动引起酰胺 II 带^[32]。加入 HC 后, zein-HC 特征峰偏移到

$1\,655\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,534\text{ cm}^{-1}$, 这是 zein 与 HC 间静电相互作用导致的, 相同的结果在李春亮等^[33]的研究中出现。向 zein 中加入 Cur 后, 特征峰均为 $1\,655\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\,515\text{ cm}^{-1}$ 。这些结果表明, 纳米粒子的形成过程中, zein 与 HC 之间不仅存在氢键, 还存在静电相互作用。

2.4 Cur/zein-CS 纳米粒子的形成推测

根据结构表征结果, 绘制了 Cur/zein-CS 纳米粒子生成机制示意图。如图 4 所示, 壳聚糖的添加使玉米醇溶蛋白的性质和结构发生改变, 粒径的大小和载样量取决于壳聚糖的分子量、玉米醇溶蛋白与壳聚糖之间的质量比。首先, 姜黄素穿插在玉米醇溶蛋白疏水区域。其次, 壳聚糖通过氢键、静电相互作用围绕在玉米醇溶蛋白的四周, 防止其进一步聚集。

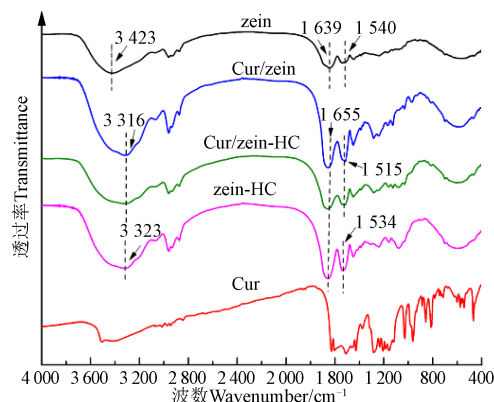


图 3 不同样品的红外光谱图

Fig.3 FTIR spectrogram of different samples

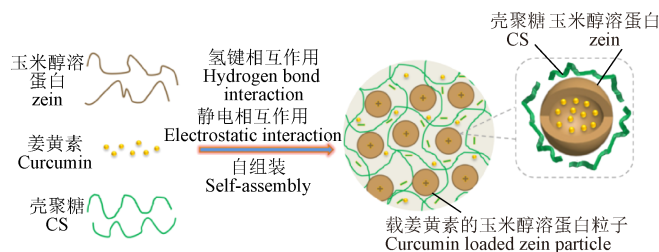


图 4 Cur/zein-CS 纳米粒子生成机制示意图

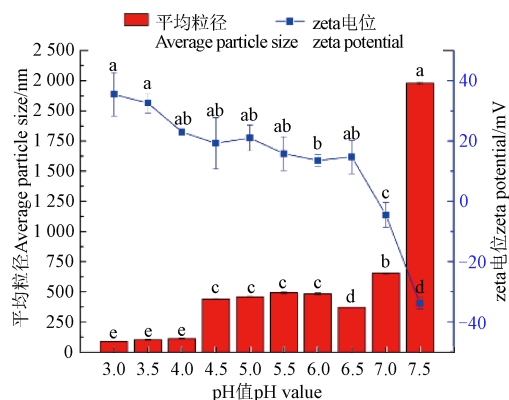
Fig.4 Formation mechanism diagram of Cur/zein-chitosan nanoparticles

2.5 zein-HC 纳米粒子的稳定性分析

图 5 为纳米递送粒子在不同 pH 值和离子强度下的稳定性结果。由图 5a 中可以看出, 在 pH 值为 3.0~4.0 时, 颗粒的粒径在 80~120 nm 内。zein 的等电点约为 6.2^[34], HC 是一种阳离子多糖, 等电点约为 8.2。由图 5a 中可以看出, 在 pH 值为 3.0~6.0 时, zein 带有大量的正电荷使得 zeta 电位为正值, zein 与 HC 之间存在着静电互斥的作用。pH 值为 4.5 时, 粒径为 440 nm, 此时溶液较为浑浊, 随着 pH 值的降低, 复合颗粒 zeta 电位升高, 粒径减小。pH 值为 3.0~4.0 时, 颗粒的粒径在 80~120 nm 内, 表现出良好的稳定性。当 pH 值大于 6.5 时, zein 表面携带负电荷, zein 与 HC 之间静电吸引作用使得纳米粒子聚集, 复合颗粒的 zeta 电位值急剧下降。pH 增加至 7.5 时, 粒子的 zeta 电位同样急剧降低, 这是由于 zein 带有较多的

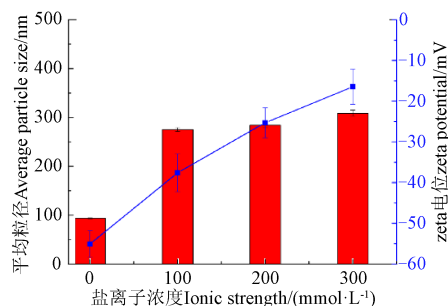
负电荷,与 HC 之间的静电互斥作用使溶液趋于稳定,纳米粒子最大粒径为 2 229 nm。综合粒径与 zeta 电位的数值得出,纳米粒子在酸性条件下更稳定。

由图 5b 看出,未添加 NaCl 时,颗粒粒径为 94 nm, zeta 电位为-55 mV,此时颗粒粒径较小,且溶液稳定。NaCl 浓度为 100 mmol/L 时,粒径为 275 nm, zeta 电位为-38 mV,此时溶液出现少量的絮沉,整体较为稳定。NaCl 浓度上升至 300 mmol/L 时,颗粒粒径增大至 309 nm,变化较小,说明此时 zein 与 HC 之间具有较强的静电相互作用,这种作用能抵抗在一定浓度范围内的 NaCl 所引起的电荷之间的中和作用。但 zeta 电位变化较大,为-16 mV,由此看出,随着 NaCl 浓度的不断升高,粒子的稳定性逐渐降低。当 NaCl 浓度继续增大至 400 mmol/L、500 mmol/L 时,此时溶液中几乎全部絮沉,超出仪器测量范围, zeta 电位数值也较小,溶液稳定性变差。



a. pH 值对 Cur/zein-HC 稳定性的影响

a. Effects of pH value on particle size and zeta potential of Cur/zein-HC



b. 盐离子浓度对 Cur/zein-HC 稳定性的影响

b. Effects of ionic strength on particle size and zeta potential of Cur/zein-HC

图 5 不同因素对 Cur/zein-HC 稳定性的影响

Fig.5 Effects of different factors on the stability of cur/zein HC

长期贮存对 Cur/zein-HC 纳米颗粒稳定性的影响如表 2 所示,新制备的粒子的粒径为 80.7 nm, PDI 为 0.042, 常温下存储 60 d 后,所测粒子粒径为 79.3 nm, PDI 为 0.025。在 60 d 常温存储的过程中,颗粒粒径仅降低了 1.73%,且粒径分布更加集中,粒子具有较好的均一性和贮存稳定性。从 zeta 电位数据进行分析,新制备的粒子电位为 46.2 mV,经过 60 d 的存储后, zeta 电位降低至 41.8 mV, zeta 电位降低了 9.52%,但其绝对值仍然大于 30 mV,说明利用 HC 与 zein 之间的相互作用制备出的纳米颗粒,可以满足商业应用对于粒子稳定性的要求。

表 2 长期贮存对 Cur/zein-HC 纳米颗粒稳定性的影响

Table 2 Effects of long-term storage on the stability of Cur/zein-HC nanoparticles

储存时间 Storage time/d	平均粒径 Average particle size/nm	多分散指数 Polydispersity Index	zeta 电位 Zeta potential/mV
0	80.7±3.1	0.042±0.013	46.2±13.2
60	79.3±4.6	0.025±0.008	41.8±16.5

2.6 Cur/zein-HC 纳米粒子的缓释性能分析

不同纳米粒子在 PBS 中的缓释曲线如图 6 所示,纯的 Cur 在 PBS 缓冲液中形成突释,2 h 后,药物释放量高达 79.65%;15 h 后,几乎达到完全释放。而包裹了 Cur 的纳米粒子,2 h 后仅有 34.27%的释放量;15 h 后,达到 75.32%的释放。经过 48 h,有 76.90%的 Cur 从 Cur/zein-HC 纳米粒子释放出来。从纯 Cur 和 Cur/zein-HC 纳米粒子的结果对比可以看出,载姜黄素的纳米粒子显示出了明显的缓慢释放特性。这种特性主要由 2 个原因引起:第一, Cur 和 zein 之间疏水的相互作用力较强,这种作用在一定程度上可以阻止 Cur 从粒子内部释放出来,从而延长了释放时间^[35]。第二, HC 作为稳定剂,包被在纳米粒子的表面,对粒子形成了第二层保护,进一步地延缓了 Cur 的释放^[36]。

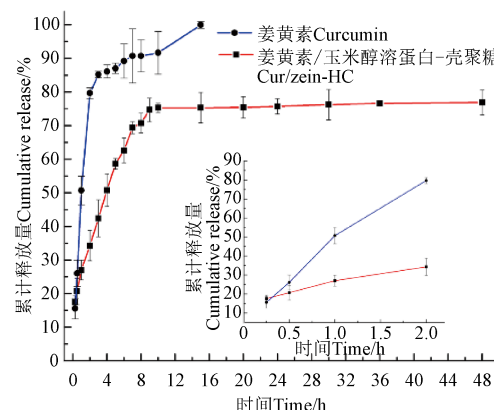


图 6 不同纳米粒子在磷酸盐缓冲盐溶液中的缓释曲线

Fig.6 Slow release curves of different nanoparticles in Phosphate Buffered Saline

3 结 论

在玉米醇溶蛋白与壳聚糖(相对分子质量为 3.4×10^5 Da)质量比为 8:1 时,制备的纳米粒子粒径较小(80.13 nm),其 zeta 电位为 46.18 mV。在此条件下,当姜黄素添加量为 1.0%时,其包封率和负载量分别为 82.93%和 8.29%。纳米粒子呈球形,且分布均匀。静电相互作用及氢键是组装该纳米粒子的作用力。壳聚糖的引入提高了纳米粒子的 pH 值、离子及储藏稳定性,扩展了其应用范围。与游离的姜黄素相比,营养递送纳米粒子呈现明显的缓释特性。

[参 考 文 献]

- [1] Delshadi R, Bahrami A, McClements D J, et al. Development of nanoparticle-delivery systems for antiviral agents: A review[J]. Journal of Controlled Release, 2021, 331: 30-44.

- [2] Zhao J, Duan Z G, Ma X X, et al. Recent advances in systemic and local delivery of ginsenosides using nanoparticles and nanofibers[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2020, 30(2): 291-300.
- [3] Wang S Y, Lu Y Q, Ouyang X K, et al. Fabrication of soy protein isolate/cellulose nanocrystal composite nano-particles for curcumin delivery[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 165: 1468-1474.
- [4] George A, Shah P A, Shrivastav P S, et al. Natural biodegradable polymers based nano-formulations for drug delivery: A review[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2019, 561: 244-264.
- [5] 黎晨晨, 马永强, 井弘书, 等. 新型纳米递送系统研究动态及在食品中的应用进展[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(5): 126-131.
- Li Chenchen, Ma Yongqiang, Jing Hongshu, et al. Research trends on application and development of new nano-delivery systems in food industry[J]. *China Food Additives*, 2021, 32(5): 126-131.
- [6] 徐慧, 陈野. 电场处理改善玉米醇溶蛋白膜理化性质[J]. *农业工程学报*, 2015, 31(8): 272-276.
- Xu Hui, Chen Ye. Electric field treatment improving physicochemical properties of zein film produced by casting[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE)*, 2015, 31(8): 272-276. (in Chinese with English abstract)
- [7] Liu Q G, Han C P, Tian Y M, et al. Fabrication of curcumin-loaded zein nanoparticles stabilized by sodium caseinate/sodium alginate: Curcumin solubility, thermal properties, rheology, and stability[J]. *Process Biochemistry*, 2020, 94: 30-38.
- [8] Liu Q Y, Chen J J, Qin Y, et al. Zein/fucoidan-based composite nanoparticles for the encapsulation of pterostilbene: Preparation, characterization, physico-chemical stability, and formation mechanism[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 158: 461-470.
- [9] Pauluk D, Padilha A K, Khalil N M, et al. Chitosan-coated zein nanoparticles for oral delivery of resveratrol: Formation, characterization, stability, mucoadhesive properties and antioxidant activity[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 94: 411-417.
- [10] 冯超. 基于壳聚糖的纳米凝胶口服药物输送载体的构建及其透粘膜机理的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
- Feng Chao. Nanogel System Based On chitosan For Oral Drug Delivery and The Study of Its Transport Mechanism Across Intestinal Epithelium[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014. (in Chinese with English abstract)
- [11] Chen S, Chen C, Yi T, et al. Prevention of peritendinous adhesions with electrospun chitosan-grafted polycaprolactone nanofibrous membranes[J]. *Acta Biomaterialia*, 2014, 10(12): 4971-4982.
- [12] Hu K, McClements D J. Fabrication of biopolymer nanoparticles by antisolvent precipitation and electrostatic deposition: Zein-alginate core/shell nanoparticles[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 44(44): 101-108.
- [13] Chang C, Wang T, Hu Q, 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.
- [14] Luo Y, Zhang B, Whent M, et al. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its in vitro controlled release study[J]. *Colloids and Surfaces B Biointerfaces*, 2011, 85(2): 145-152.
- [15] Khan M A, Yue C, Fang Z, et al. Alginate/chitosan-coated zein nanoparticles for the delivery of resveratrol[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 258(10): 45-53.
- [16] Chen G Y, Dong S, Chen Y, et al. Complex coacervation of zein-chitosan via atmospheric cold plasma treatment: Improvement of encapsulation efficiency and dispersion stability[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 107: 105943.
- [17] Liang J, Yan H, Wang X L, et al. Encapsulation of epigallocatechin gallate in zein/chitosan nanoparticles for controlled applications in food systems[J]. *Food Chemistry*, 2017, 231: 19-24.
- [18] Luo Y C, Zhang B, Monica W, et al. Preparation and characterization of zein/chitosan complex for encapsulation of α -tocopherol, and its in vitro controlled release study[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2011, 85(2): 145-152.
- [19] 陈世兰, 夏培源, 陈勇, 等. 不同分子量壳聚糖微凝胶的制备及溶胀性能研究[J]. *赤峰学院学报: 自然科学版*, 2013, 29(5): 3-4.
- Chen Shilan, Xia Peiyuan, Chen Yong, et al. Preparation and swelling properties of chitosan microgels with different molecular weights[J]. *Journal of Chifeng University: Natural Science Edition*, 2013, 29(5): 3-4. (in Chinese with English abstract)
- [20] 曾海燕. 壳聚糖纳米粒子的制备及其稳定皮克林乳液的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- Zeng Haiyan. Preparation and Stabilized Pickering Emulsions of chitosan nanoparticles[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015. (in Chinese with English abstract)
- [21] 叶进富. 蛋白质 zeta 电位与离子交换层析分离的相关性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- Ye Jinfu. Zeta Potential of Protein and Its Correlation to Separation Behavior of Ion Exchange Chromatography[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006. (in Chinese with English abstract)
- [22] Liang H S, Zhou B, He L, et al. Fabrication of zein/quaternized chitosan nanoparticles for the encapsulation and protection of curcumin[J]. *Rsc Advances*, 2015, 5(18): 13891-13900.
- [23] Xin S L, Xiao L, Dong X P, et al. Preparation of chitosan/curcumin nanoparticles based zein and potato starch composite films for Schizothorax prenati fillet preservation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 164: 211-221.
- [24] Dai L, Sun C X, Li R R, et al. Structural characterization, formation mechanism and stability of curcumin in zein-lecithin composite nanoparticles fabricated by antisolvent co-precipitation[J]. *Food Chemistry*, 2017, 237(12): 1163-1171.
- [25] 吉立静. 包覆有载药微球的丝素蛋白静电纺纤维的制备及表征[D]. 太原: 太原理工大学, 2015.
- Ji Lijing. Preparation and Characterization of Silk Electrospun Fibers Contain Drug-loaded Microspheres[D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2015. (in Chinese with English abstract)
- [26] Wang G Y, Yu B, Wu Y Q, et al. Controlled preparation and antitumor efficacy of vitamin E TPGS-functionalized PLGA nanoparticles for delivery of paclitaxel[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, 446(1/2): 24-33.
- [27] Zhu K K, Ye T, Liu J J, et al. Nanogels fabricated by lysozyme and sodium carboxymethyl cellulose for 5-fluorouracil controlled release[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, 441(1/2): 721-727.
- [28] 谢宜彤. 半纤维素-玉米醇溶蛋白基功能材料的设计、组装和性能研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2020.
- Xie Yitong. Design, Assembly, and Performance Study of Hemicellulose-Zein Based Functional Biomaterials[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [29] Sun C X, Dai L, Gao Y X. Formation and characterization of the binary complex between zein and propylene glycol

- alginate at neutral pH[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 64(3): 36-47.
- [30] 王燕. 玉米醇溶蛋白基复合凝胶的制备及其药物释放性能研究[D]. 兰州: 西北师范大学, 2014.
- Wang Yan. Synthesis and Release Behavior of Zein-based Composite Hydrogel[D]. Lanzhou: Northwest Normal University, 2014. (in Chinese with English abstract)
- [31] Thankappan D A, Raman H K, Jose J, et al. Plant-mediated biosynthesis of zein-pectin nanoparticle: Preparation, characterization and in vitro drug release study[J]. *Journal of King Saud University*, 2020, 32(2): 1785-1791.
- [32] Li M F, Chen L, Xu M Z, et al. The formation of zein-chitosan complex coacervated particles: Relationship to encapsulation and controlled release properties[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 116: 1232-1239.
- [33] 李春亮, 秦凤, 李林昌, 等. 米醇溶蛋白及壳聚糖共混合膜对骨髓间充质干细胞成骨分化的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2016, 20(21): 3071-3079.
- Li Chunliang, Qin Feng, Li Linchang, et al. Effect of zein/chitosan composite membrane on the osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells[J]. *Chinese Journal of Tissue Engineering Research*, 2016, 20(21): 3071-3079.
- [34] Hasankhan S, Tabibiazar M, Hosseini S M, et al. Fabrication of curcumin-zein-ethyl cellulose composite nanoparticles using antisolvent co-precipitation method[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 163: 1583-1545.
- [35] Zhang J F, Tang Q, Xu X Y, et al. Development and evaluation of a novel phytosome-loaded chitosan microsphere system for curcumin delivery[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, 448(1): 168-174.
- [36] Luo Y C, Wang Q. Zein-based micro- and nano-particles for drug and nutrient delivery: A review[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2014, 131(16): 1-12.

Preparation and properties of zein-chitosan nano-nutrient delivery particles

Li Shuhong¹, Zhou Junjun¹, Chen Guiyun¹, Qin Shaoshuang¹, Li Heyu², Chen Ye^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, State Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Tianjin 300457, China; 2. Tianjin Yibei Biological Technology Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

Abstract: Low oral bioavailability has posed a great challenge on some active substances such as curcumin (Cur) in functional food. Therefore, it is highly demanding for the high water solubility, chemical stabilities, absorption rate, but low metabolic rate in the active substances for the high-quality development of food industries. Currently, the protein and polysaccharide can be expected to construct nano-nutrient delivery, where the complex particles with the diameter of 100-1 000 nm can be considered as an important way to improve the stability and utilization of food-active substances. Zein can also be used to form nano-size spherical particles, thereby embedding into the active substances during antisolvent precipitation in the polar solvent. However, zein nanoparticle is prone to aggregation and precipitation in the dispersion solution. Alternatively, polysaccharides can serve as stabilizers in the preparation of zein nanoparticles. In this study, chitosan with different molecular weights was complexed with zein to fabricate zein-chitosan nanoparticles, in order to achieve the delayed-release capability by the anti-solvent precipitation. An investigation was also made on the effects of chitosan molecular weight (LC: 5×10^4 Da, MC: 1×10^5 Da, HC: 3.4×10^5 Da), while the mass ratio of zein and chitosan (2:1, 4:1, 6:1, 8:1, 10:1) on the particle distribution, zeta potential, the loading Cur performance of zein-chitosan nanoparticles. SEM and FT-IR were selected to characterize the microstructure, morphology, and phase composition, further to elucidate the formation mechanism of composite nanoparticles. Moreover, the slow-release performance and the stability of Cur-loaded composite nanoparticles were evaluated at different pH, ionic strengths, and storage time. The results showed that the Cur-loaded composite nanoparticles presented the smaller particle size of 80.13 nm with a high zeta potential of 46.18 mV, when the mass ratio of zein to chitosan (HC) was 8:1. The encapsulation rate and the loading capacity were 82.93% and 8.29% under the optimal condition, respectively. SEM observation showed that most nanoparticles were in a regularly spherical shape and even distributed in the dispersion solution. FTIR revealed that hydrogen bonding and electrostatic interaction were the main forces for assembling nanoparticles. The formation mechanism of nanoparticles was that the Cur was scattered in the hydrophobic region of zein, whereas, chitosan surrounded the zein via the hydrogen bond and electrostatic interaction to prevent further aggregation. The chitosan greatly contributed to improving the pH, ion, and storage stability of nanoparticles for the extending application, such as nutrition and drug delivery. Specifically, optimal zeta potentials (46.2 to 41.8 mV) were achieved, as the dispersity index (0.042 to 0.025) decreased significantly during 60 days of storage at room temperature. At the same time, there were no significant changes in the particle size. It indicated that the prepared nanoparticles behaved better homogeneity and storage stability, suitable for the requirements of commercial application in the particles. The release results showed that the Cur-loaded composite nanoparticles presented a low release rate of 34.27% at the first 2 hours, while the release rate increased to 75.32% after 15 hours, and finally, 76.90% of Cur was found to be released after 48 h. Sustained-release properties were found in the Cur-loaded nanoparticles for the phosphate-buffered saline (PBS), compared with the free Cur. Consequently, the prepared zein-chitosan nanoparticles with excellent properties can be expected to serve as broad application prospects for nano-nutrient delivery in functional food and medicine.

Keywords: nutrition; models; zein; chitosan; nanoparticles; sustained release performance