

http://pmse.scu.edu.cn

pH驱动法负载香芹酚纳米颗粒的制备及性能

郑华明, 王江丽, 田宇航, 周明钰, 游峰, 蔡子青

(武汉工程大学材料科学与工程学院, 湖北武汉 430205)

摘要:为了安全有效地延长食品保质期,利用玉米醇溶蛋白和酪蛋白酸钠的特性,通过pH驱动法来制备负载香芹酚的复合纳米粒子。玉米醇溶蛋白/酪蛋白酸钠复合纳米颗粒对香芹酚有良好的包封率(77.96%~82.19%)。傅里叶变换红外光谱和差示扫描量热分析表明,香芹酚被成功负载;扫描电子显微镜结果显示,复合纳米粒子分布规律,呈球形,粒径范围为50~200 nm,并且具有较强的抗氧化活性和抗菌性能。将该复合纳米颗粒应用于食品包装中时,可有效地抑制食品腐败变质,从而延长食品的保质期,在食品工业领域具有潜在的应用前景。

关键词:玉米醇溶蛋白;香芹酚;纳米颗粒;酪蛋白酸钠;pH驱动

中图分类号: **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7555(2022)08-000

精油 (EOs) 是从食用和药用植物的不同部位提取的挥发性油成分,包括芽、树皮、花、叶、果实和种子^[1]。多项研究结果表明,香芹酚 (Car) 精油具有优异的抗氧化性能和抗菌性能,是公认的安全食品添加剂^[2],受到众多的研究者们关注。由于香芹酚是亲脂性物质,并且存在刺激性气味,导致其无法直接应用于食品保鲜领域^[3]。为了克服这些缺陷,研究者们通过制备不同类型的负载体系^[4]或将香芹酚通过一定的方式直接添加到薄膜中^[5]等方法来提高香芹酚的稳定性和利用率。玉米醇溶蛋白 (Zein) 是玉米的主要贮藏蛋白,来源广,成本低,可以应用于各种领域。玉米醇溶蛋白的结构组成中,有超过50%的疏水性氨基酸残基,导致其无法溶于水溶液中,但可溶于60%~90%的乙醇水溶液和pH值11.3~12.7的碱性溶液^[6]。研究发现,玉米醇溶蛋白具有自组装特性,可用于微胶囊或纳米颗粒的制备^[7],因此,可以作为生物活性成分的装载系统。然而,在实际应用中玉米醇溶蛋白却存在自身缺陷;一方面,玉米醇溶蛋白的等电点在6.2左右,即在中性条件下纳米粒子间的静电斥力弱,使形成的纳米粒子 (NPs) 容易在疏水力驱动下发生团聚^[8];另一方面,玉米醇溶蛋白疏水的外表面使形成的纳米粒

子干燥后在水中无法再次分散,因此在实际应用中受到了很大的限制。

酪蛋白酸钠 (SC) 是一种安全无害的乳化剂,具有良好的表面活性,与玉米醇溶蛋白形成配合物后,可以提高由冷冻或喷雾干燥制备的纳米粒子在水中的再分散性^[9]。Yuan等^[10]发现玉米醇溶蛋白和酪蛋白酸钠可以溶于强碱性溶液,并且在溶液酸化至中性过程中SC和Zein会发生重组,从而形成共组装的SC/Zein NPs,该制备方法被称为pH驱动法。另外,在碱性条件下,某些含有羟基的EOs会发生去质子化反应,使其水溶性增加;在酸化至中性过程中,其又可以再次质子化,并且可以在氢键和疏水力作用下被封装到生物聚合物基质中^[11]。

相较于传统的反溶剂沉淀法^[12],pH驱动法具有明显的优势。首先,实验过程中无需添加大量的乙醇,制备过程更加绿色、环保;其次,pH驱动法所制备的载香芹酚纳米粒子粒径更小,在水中分散后的稳定性更强;而且,其抗氧化性能和抗菌性能较前者分别提高了14.69%和12%左右。因此,本文采用pH驱动法,制备出了负载香芹酚的玉米醇溶蛋白/酪蛋白酸钠纳米颗粒,将其应用于食品包装时,可有效地抑制食品腐败变质和延长食品的货架寿命。

doi:10.16865/j.cnki.1000-7555.2022.0178

收稿日期:2022-04-18

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51803155);武汉工程大学第十三届研究生教育创新基金(CX2021181)

通讯联系人:蔡子青,主要从事全生物降解材料、智能包装材料研究,E-mail: baozhuang126@126.com

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

Car: 纯度 $\geq 99.9\%$, 上海麦克林生化科技有限公司; Zein: 纯度 $\geq 95\%$, 北京索莱宝科技有限公司; SC: 纯度 $\geq 99\%$, 上海梯希爱化成工业发展有限公司; 大肠杆菌 ATCC25922 菌株、金黄色葡萄球菌 ATCC25923 菌株: 江西省人民医院; 其他试剂: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

傅里叶变换红外光谱仪(FT-IR): Nicolet 6700; 紫外分光光度计: Lambda35; 激光粒度仪: Zetasizer Nano-ZS90, 英国 Malvern; 恒温培养振荡器: ZWY-2102C, 上海智城分析仪器制造有限公司。

1.2 负载香芹酚纳米颗粒的制备

将 2.5 g 的香芹酚与 3 mol/L 的 NaOH (25 mL) 混合后在 120 °C 油浴中加热 10 min, 得到透明的去质子化香芹酚碱溶液。取 1 mL 去质子化香芹酚碱溶液与 19 mL 去离子水完全混合, 然后将 0.1 g 玉米醇溶蛋白溶于上述溶液中, 以 800 r/min 搅拌 30 min, 直至无可见颗粒。将 0.025 g, 0.05 g, 0.1 g 和 0.2 g 的酪蛋白酸钠分别溶于玉米醇溶蛋白/香芹酚碱水溶液中, 相应的 Zein 和 SC 质量比为 4:1, 2:1, 1:1 和 1:2, 在磁性搅拌器上以 800 r/min 搅拌 30 min。最后, 在 Zein/SC/Car 碱性混合溶液中加入质量分数 20% 的葡萄糖- δ -内酯 (GDL) 调节 pH 为 7.0, 最终获得复合纳米粒子分散液。所有分散液经冷冻干燥并充分研磨后, 低温密封储存, 备用。

1.3 测试与表征

1.3.1 纳米粒子的 FT-IR 分析: 样品的红外光谱图采用溴化钾压片法来测定。将干燥后的样品与溴化钾以 1:100 的质量比进行混合, 然后充分研磨后压制成片。光谱的扫描范围为 500~4000 cm^{-1} , 分辨率 4 cm^{-1} , 扫描 64 次。其中, 纯溴化钾压片为空白组。

1.3.2 纳米粒子的包封率的测定: 根据 Wang 等^[13]的测定方法, 并适当修改。香芹酚-乙醇溶液标准曲线 $Y = 0.01439X + 0.0061$ ($R^2 = 0.9996$) 的建立: 配制一定浓度 (10、20、30、40 $\mu\text{g/mL}$ 和 50 $\mu\text{g/mL}$) 的香芹酚-乙醇标准溶液, 其中香芹酚的质量浓度为自变量, 吸光度值为因变量, 经拟合后即为标准曲线的函数方程式。

取 4 mL 新鲜制备的纳米粒子分散液和 16 mL 石油醚于离心管中, 充分振荡 5 min 后, 取 0.5 mL 的石油醚相转移到 10 mL 的试剂瓶中, 并在通风柜中静置 50 min, 使石油醚完全挥发。然后在试剂瓶中

加入 4 mL 无水乙醇。利用紫外分光光度计测定样品在 276 nm 处的吸光度值, 乙醇为空白对照组。用式(1)计算包封率 (Encapsulation efficiency, EE)

$$EE = \frac{\lambda_0 - \lambda_1}{\lambda_0} \quad (1)$$

式中: λ_0 ——投入香芹酚的总含量; λ_1 ——游离香芹酚量。

1.3.3 纳米粒子的粒径分布和 Zeta 电位测试: 在室温条件下, 通过激光粒度仪来检测负载香芹酚纳米颗粒的粒径分布、平均电位和 PDI 值。所有样品均用去离子水稀释至适当浓度, 每组样品均重复测试三次, 结果取平均值。

1.3.4 纳米粒子的复溶性分析: 分别取 20 mg 冻干后的 Zein/Car 纳米粒子、Zein/SC 纳米粒子、Zein/SC/Car 纳米粒子溶于 10 mL 去离子水中搅拌使其分散均匀。将样品静置 1 d 后, 观察不同复合纳米粒子的分散情况。

1.3.5 纳米粒子复溶后的存储稳定性分析: 取不同 Zein/SC 质量比的纳米粒子溶于去离子水中, 配制成浓度为 2 mg/mL 的分散液, 通过观察新鲜复溶和静置 15 d 后的分散液的粒径、电位和 PDI 值的变化, 用于研究不同 Zein/SC 质量比的复合纳米粒子分散液的储存稳定性。

1.3.6 纳米粒子的表观形貌表征 (FE-SEM): 将纳米粒子分散液滴在样品台上, 风干后进行喷金。采用德国 Zeiss SIGMA 300 场发射电子显微镜, 在加速电压为 3 kV 条件下观察负载香芹酚纳米颗粒的微观形貌。

1.3.7 纳米粒子的热性能分析: 采用差示扫描量热仪 (DSC-60, 日本岛津) 分析样品的热稳定性。将 5 mg 左右的样品放入坩埚中, 密封。测试条件: 在流速为 20 mL/min 的 N_2 氛围中, 样品从室温以 10 °C /min 升温速率加热到 100 °C, 10 min 后以 20 °C /min 降温速率冷却至 30 °C, 随后以 10 °C /min 升温速率加热到 270 °C。

1.3.8 纳米粒子的抗氧化性能分析: 采用自由基 DPPH 清除法^[14]测定香芹酚纳米粒子 ($m(\text{Zein})/m(\text{SC}) = 1:2$) 的抗氧化活性。向 20 mL 试剂瓶中依次添加 3 mL 质量浓度为 40 mg/mL 的 DPPH-乙醇溶液和 3 mL 不同质量浓度 (0 $\mu\text{g/mL}$, 60 $\mu\text{g/mL}$, 80 $\mu\text{g/mL}$, 100 $\mu\text{g/mL}$, 120 $\mu\text{g/mL}$ 和 140 $\mu\text{g/mL}$) 的复合纳米粒子分散液, 混匀后在室温、避光条件下静置 1 h。然后通过紫外分光光度计来检测样品在 $\lambda = 525$ nm 处的吸光度值。以 DPPH-乙醇溶液加 3 mL

去离子水作为空白对照。抗氧化活性以 DPPH 清除率(R)为指标,计算公式如式(2)

$$R = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \quad (2)$$

式中: A_0 ——空白对照的吸光度值; A_1 ——不同质量浓度的复合纳米粒子溶液的吸光度值。

1.3.9 纳米粒子的抗菌性能分析:用平板计数法研究负载香芹酚的纳米粒子($m(\text{Zein})/m(\text{SC}) = 1:2$)对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌效果。将负载香芹酚的纳米粒子溶于生理盐水中,配制成不同质量浓度(分别为 0 mg/mL, 2 mg/mL, 6 mg/mL, 10 mg/mL)的分散液,并通过紫外灯照射 30 min 来实现样品的无菌环境。

将金黄色葡萄球菌和大肠杆菌分别接种于固体培养基中,在 37 °C 的恒温培养箱中培养 24 h,实现细菌的纯化。取纯化后的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌单菌落分别于 10 mL 液体培养基中活化培养 24 h。用生理盐水稀释菌液,使其浓度大约在 10^8 CFU/mL,然后在 8.9 mL 的液体培养基中加 0.1 mL 稀释好的菌液和 1 mL 不同质量浓度的复合纳米粒子分散液。振荡培养 24 h 后,稀释菌液至合适的浓度,涂平板,培养 24 h 后拍照记录细菌菌落数。最后,利用菌落数计算抑菌率(I)。计算公式如式(3)

$$I = \frac{B_0 - B_1}{B_0} \quad (3)$$

式中: B_0 ——空白对照组的菌落数; B_1 ——不同质量浓度样品的菌落数。

2 结果与分析

2.1 纳米粒子的 FT-IR 分析

红外光谱分析图可以鉴别物质间的氢键相互作用。红外吸收峰的频率变化越大,表明氢键相互作用越强。各组分及复合纳米颗粒的 FT-IR 光谱如图 1 所示。在 SC 和 Zein 的光谱中可以观察到几个蛋白质的特征峰,3200~3500 cm^{-1} 和 2800~3000 cm^{-1} 处分别代表亲水性 O—H 吸收峰和疏水性 C—H 的伸缩振动峰,表明蛋白质具有较好的两亲性;另外,2 种蛋白质的光谱在 1400~1600 cm^{-1} 区域的酰胺基的红外特征峰分布也相似^[15],1630 cm^{-1} 左右为酰胺 I 带,1540 cm^{-1} 左右为酰胺 II 带。香芹酚的光谱在 1400~1650 cm^{-1} 由于苯环的骨架振动有 4 个吸收峰,在 2700~2960 cm^{-1} 处的吸收峰为烷基 C—H 峰,其中 2960 cm^{-1} 处的峰强度大较尖锐,表明香芹酚的疏水性较强。在 Zein/SC NPs 的光谱中出现了

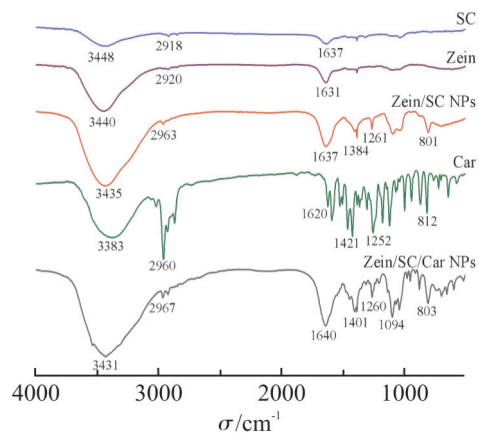


Fig.1 FT-IR spectra of zein, Car, SC, zein/SC and zein/SC/Car 2 个新的吸收峰,是调节 pH 过程中加入的葡萄糖- δ -内酯中酯基的 C—O 峰和端基的 C—H 弯曲振动峰,分别在 1261 cm^{-1} 和 801 cm^{-1} 处,另外,光谱中—OH 特征峰值移动到 3435 cm^{-1} ,在包覆香芹酚后,峰值进一步移动到 3431 cm^{-1} 。该峰值的变化表明,由于 zein 结构中的酰胺键与 SC 中的酰胺键、Car 中的羟基相互作用,使三者物质间形成了强烈的氢键^[16]。Zein/SC/Car NPs 在 800~1450 cm^{-1} 处的光谱与 Zein/SC NPs 在 800~1450 cm^{-1} 处的光谱有明显区别,并且在 1450 cm^{-1} 处观察到 1 个振动峰,这是由于香芹酚结构中的苯环振动引起的,进一步证实了香芹酚被成功包埋在纳米粒子中。通过比较香芹酚与 Zein/SC/Car NPs 在 2960 cm^{-1} 处的吸收峰,可以发现后者的峰强度减小,没有出现 C—H 强尖峰,即在三元纳米粒子中香芹酚与玉米醇溶蛋白间存在相互作用力,使其疏水性减弱。综上可知,复合纳米粒子的形成主要依赖于氢键和疏水驱动力。

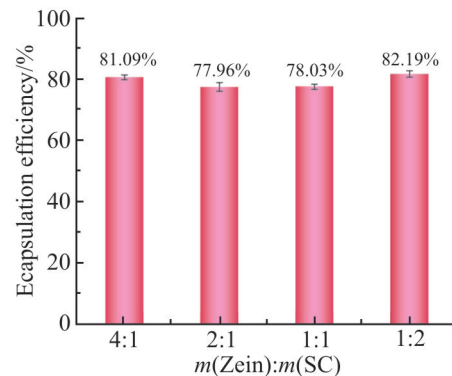


Fig.2 Effect of zein and SC mass ratio on encapsulation efficiency of Zein/SC nanoparticles

2.2 纳米粒子包封率分析

包封率是指某种活性物质实际包裹量与理论投入量的比值。在香芹酚的添加量恒定的条件下,纳米粒子的 EE 受 Zein/SC 比例的影响如图 2 所

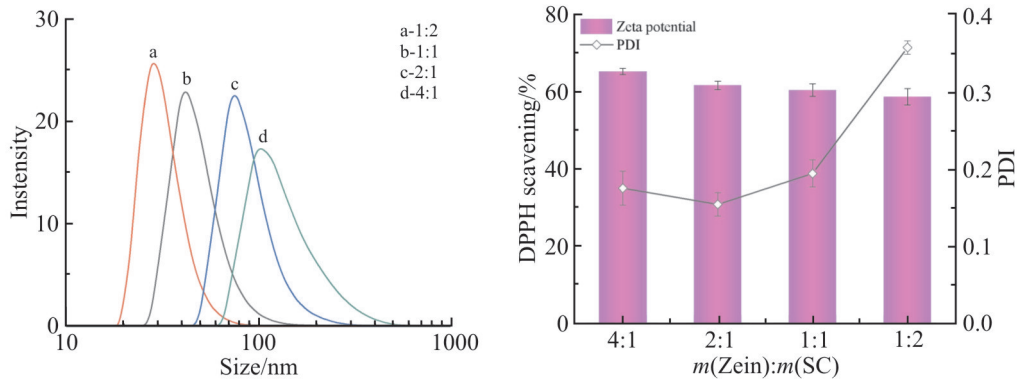


Fig.3 Effect of zein and SC mass ratio on particle size, potential and polymer dispersity index(PDI) of zein/SC nanoparticles

示。从图中可以发现, $m(\text{Zein})/m(\text{SC}) = 1:2$ 时, 纳米粒子的 EE 最高达到 82.19%, 相较于 Liu 等^[17] 最大包封率 (74.2%) 提高了 8% 左右。当 $m(\text{Zein})/m(\text{SC})$ 小于 4:1 时, 随着酪蛋白酸钠质量的进一步增加, 负载香芹酚的纳米粒子的 EE 也在逐渐增加。实验中所制备的 Zein/SC 纳米粒子的包封率都较高, 但适量的酪蛋白酸钠可作为 Zein/Car NPs 表面的静电稳定剂, 能防止纳米粒子在疏水力驱动下聚集形成大颗粒^[11]。

2.3 粒径分布及其电位、多分散系数

从 Fig.3 可以发现, 不同 Zein/SC 质量比的 Zein/SC/Car NPs 的粒径分布呈单峰状, 并且分布曲线的峰都比较尖锐, 多分散系数(PDI)值也都小于 0.4, 该现象表明在同一质量比下的复合纳米粒子的尺寸分布均匀, 粒径大小集中。随着 SC 含量的增加纳米粒子的粒径在逐渐减少, 当 Zein/SC 的质量比为 4:1, 2:1, 1:1 和 1:2 时, 形成的纳米粒子的平均粒径分别大约在 200 nm, 140 nm, 100 nm 和 70 nm。由于 Zein 和 SC 分子间容易形成氢键^[18], 随着 SC 含量的增加, 两者结构中形成的氢键越致密, 导致生成的纳米粒子的粒径减小且分散性提高。不同 Zein/SC 质量比对纳米粒子电位的影响与粒径变化有相似的趋势, 随着纳米粒子中 SC 含量的增加, 纳米粒子的电位值在逐渐减小。当 $m(\text{Zein})/m(\text{SC}) = 4:1$ 时, 粒子的电位值最小为 -32.7 mV; 当 $m(\text{Zein})/m(\text{SC}) = 1:2$ 时, 粒子的电位值最大为 -29.4 mV。随着 Zein/SC/Car NPs 粒径的减小, 其表面的电荷密度增加, 但是粒子表面的净电荷却减少, 导致粒径较小的纳米粒子的表面电位也减小。

2.4 复溶性

在实际应用中, 固体的纳米粒子有利于储存和运输。因此, 复溶性是冻干粉末在实际应用中的一

个重要性能。Fig.4 分别是 Zein/SC NPs, Zein/SC/Car NPs 和 Zein/Car NPs 在相同浓度下, 在去离子水中的不同溶解分散图。从 Fig.4 可以发现, 未添加 SC 的 Zein/Car NPs 分散液在静置后表现出明显的分层现象, 并且分散液中的 Zein/Car NPs 快速沉降于试剂瓶底部, 上层的水溶液依然澄清透明; 而添加了 SC 的复合纳米粒子都有较好的复溶性, 都能在水中分散并形成了均一的分散液。此外, Zein/SC NPs 分散液呈乳白色、Zein/SC/Car NPs 分散液呈淡蓝色, 该现象是因为香芹酚与玉米醇溶蛋白的非极性氨基酸间生成氢键, 使形成的复合纳米粒子粒径变小, 分散液更澄清所致。

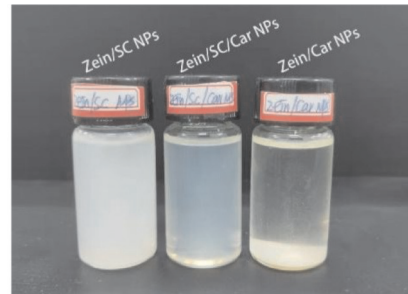


Fig.4 Redispersibility of zein/SC NPs, Zein/SC/Car NPs and Zein/Car NPs

2.5 纳米粒子的存储稳定性

Fig.5 分别是 Zein/SC/Car NPs 在储存 0 d 和 15 d 时其粒径、电位、PDI 值的变化图。实验中所制备的 Zein/SC/Car NPs 都能溶于水, 但稳定性不同。当 $m(\text{Zein})/m(\text{SC}) = 1:2$ 时, Zein/SC/Car NPs 在静置 15 d 后, 粒径大小及分布几乎没有变化。而其它样品的粒径都出现了不同程度的变化, 主要表现为粒径变小、分布更加集中。该结果表明, 在静置过程中由于部分不稳定的复合纳米粒子会逐渐沉降, 致使上层分散液中粒子的粒径更小、分布更加集中。通过比较纳米粒子的电位可以发现, 当 $m(\text{Zein})/m(\text{SC}) =$

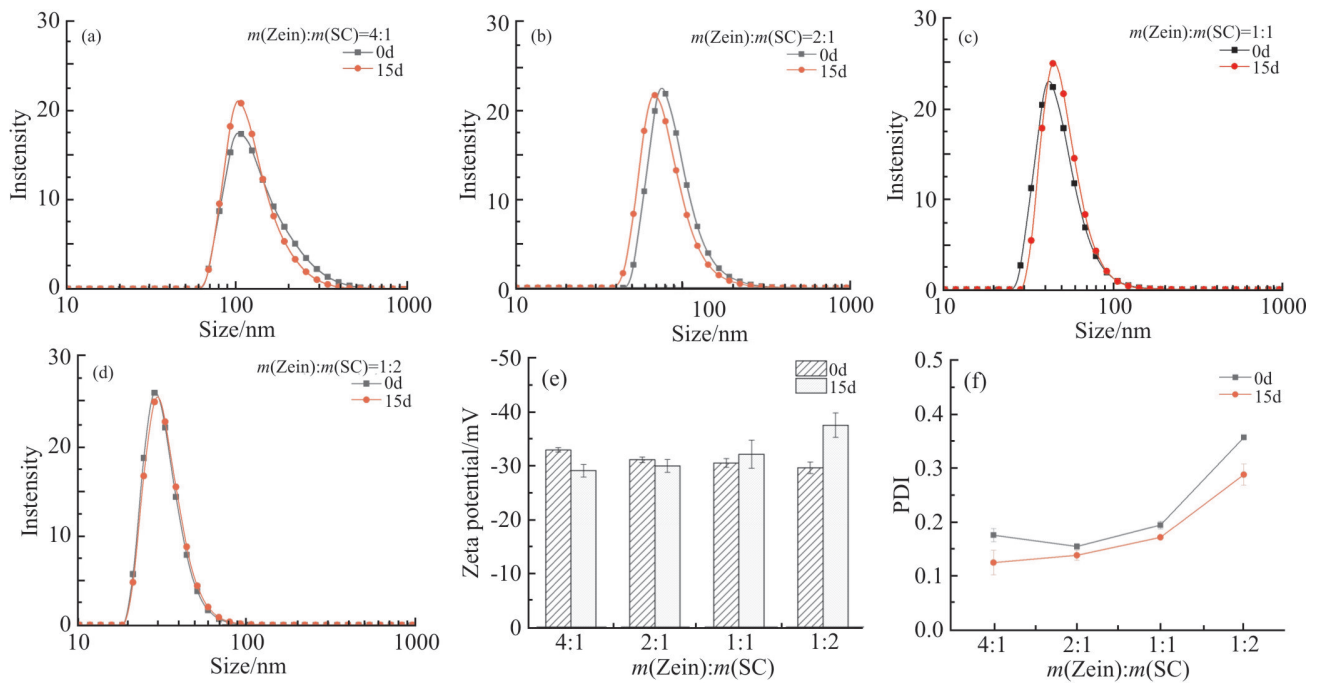


Fig.5 (a~d)Size, (e)potential and (f)PDI of zein/SC/Car nanoparticles with different mass ratios of zein and SC after storage for 0 d and 15 d

4:1 和 2:1 时, 静置 15 d 后 Zein/SC/Car NPs 的电位有所减小; 当 $m(\text{Zein})/m(\text{SC})=1:1$ 和 $1:2$ 时, Zein/SC/Car NPs 的电位有所增大, 其中 $m(\text{Zein})/m(\text{SC})=1:2$ 的电位值变化最大, 从 -29 mV 增加到 -37 mV。由此可见, SC 作为稳定剂, 有利于提高分散液的稳定性。PDI 越小, 表明粒径分布得更均匀。不同 Zein/SC 质量比的分散液经静置 0 d 和 15 d 后, PDI 值均会出现不同程度的降低, 即表明在静置过程中分散液中的

纳米粒子的分布均匀性都会变好。综上所述, $m(\text{Zein})/m(\text{SC})=1:2$ 的复合纳米粒子的存储稳定性最好, 其在放置过程中粒径几乎不会发生变化, 并且其分散液的稳定性和分散情况都趋于最好。

2.6 纳米粒子的表观形貌

通过 FE-SEM 分析复合纳米粒子的微观形貌。如 Fig.6 所示, 负载香芹酚的复合纳米颗粒都具有较好的球形结构。通过 Fig.6(a~c) 可以发现, Zein 和 SC

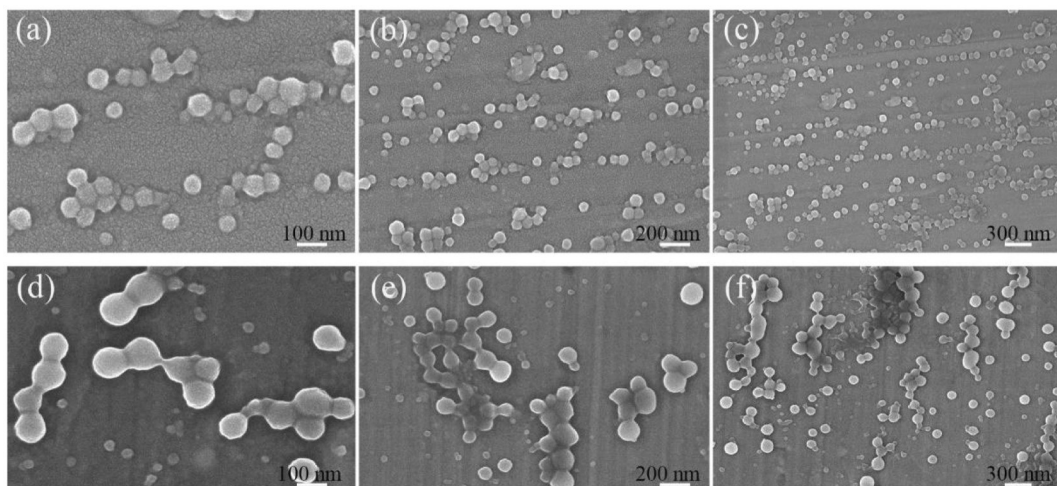


Fig.6 FE-SEM images of carvacrol-loaded nanoparticles (a~c): $m(\text{Zein}):m(\text{SC})=1:2$; (d~f): $m(\text{Zein}):m(\text{SC})=4:1$

质量比为 1:2 时,复合纳米粒子的粒径多数为 50~90 nm,并且分布较均匀;极少数纳米粒子尺寸小于 50 nm,这是 Zein 自组装形成了中空的颗粒;少量的复合纳米粒子的粒径为 160 nm 左右,是因为部分复合纳米粒子表面缺乏带电荷数少、斥力小,导致其团聚成大颗粒。通过 Fig.6(d~f)可以发现,Zein 和 SC 的质量比为 4:1 时,复合纳米粒子粒径在 100~200 nm,并且粒子间相互粘连,团聚在一起,该结果表明,少量 SC 无法使纳米粒子稳定存在。由此可见,适量的 SC 可以与玉米醇溶蛋白纳米粒子相互作用,使粒子表面形成负电荷的 COO^- ,促使粒子间相互排斥,从而提高其稳定性;而缺乏 SC 的复合纳米粒子由于表面电荷数少,导致其稳定性较差,容易发生团聚,从而形成大颗粒。

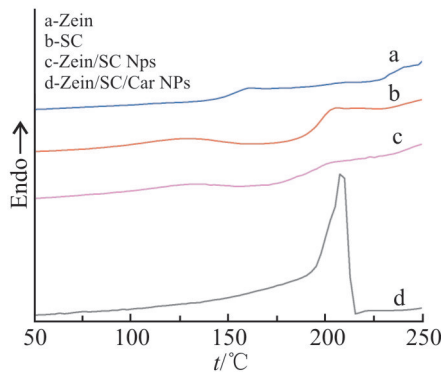


Fig.7 DSC curves of (a) zein, (b)SC, (c)zein/SC NPs and (d)zein/SC/Car NPs

2.7 纳米粒子的 DSC 分析

DSC 可以用来研究高分子聚合物的热性能。Zein, SC, Zein/SC NPs 和 Zein/SC/Car NPs 的 DSC 如图 7 所示,从曲线 a, b 的变化可以看出,Zein 和 SC

的 T_g 分别约为 160 °C 和 208 °C [19]。SC 在 120 °C 左右出现了较为宽阔吸热峰,这主要是因为样品中水分蒸发引起的。Zein/SC NPs (曲线 c) 的 DSC 曲线上在 197 °C 出现了 1 个 T_g ,表明 Zein 与 SC 完全混合。香芹酚的沸点在 237 °C,从曲线 d 可以明显看出包覆香芹酚的纳米粒子在 210 °C 左右出现 1 个强的吸热峰,这主要是因为香芹酚的蒸发和沸腾共同所致。与曲线 a 和 b 相比较,曲线 d 中出现的明显吸热峰也再次验证了香芹酚被成功负载到玉米醇溶蛋白/酪蛋白酸钠的纳米粒子之中。

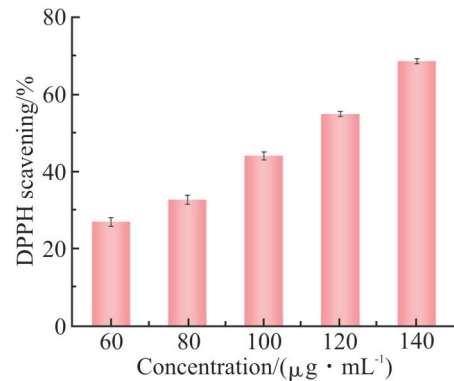


Fig.8 DPPH scavenging rate of zein/SC/Car nanoparticles with different mass concentrations (60 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 140 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

2.8 抗氧化性能

香芹酚结构上的酚羟基使香芹酚具有较好的抗氧化和抗菌性能,以空白组为对照,DPPH 自由基清除率为指标,来研究负载香芹酚纳米粒子的抗氧化活性。由 Fig.8 可知,随着负载香芹酚纳米粒子质量浓度从 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 增加到 140 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,抗氧化能力也在随之提高,从开始的 27% 提高到了 68.69%,

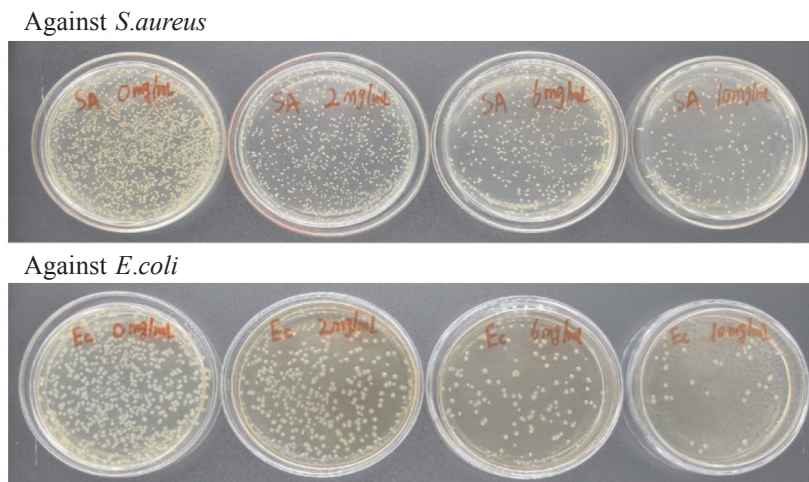


Fig.9 Antibacterial effect of zein/SC/Car nanoparticles with different mass concentrations(0 mg/mL, 2 mg/mL, 6 mg/mL, 10 mg/mL)

并且 DPPH 清除率的变化率也一直在增大,说明复合纳米粒子的质量浓度越大,其抗氧化性能也越强。该结果表明,适量浓度的香芹酚可以表现出优异的抗氧化性能,被包覆于纳米粒子中时,其抗氧化活性不会被封装体系所影响。

2.9 抗菌性能

复合纳米粒子具有优异的抗菌性能是其应用于食品保鲜的重要基础。包覆香芹酚纳米粒子对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌效果如图 9 所示。随着复合纳米粒子的质量浓度的增加,平板上存活的菌落数逐渐减小,表明包覆香芹酚的复合纳米粒子对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有优异的抗菌效果。对金黄色葡萄球菌的抗菌结果:当纳米粒子的质量浓度为 2 mg/mL, 6 mg/mL 和 10 mg/mL 时,抑菌率分别为 69%, 76% 和 91%;对大肠杆菌的抗菌结果:当纳米粒子的质量浓度为 2 mg/mL, 6 mg/mL 和 10 mg/mL 时,抑菌率分别为 54%, 72% 和 85%。从抑菌结果可以发现,包覆香芹酚的玉米醇溶蛋白纳米粒子对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌都具有的良好抑菌效果,并且纳米粒子质量浓度越高时,抗菌效果越明显。该结果表明将香芹酚包覆于玉米醇溶蛋白纳米粒子中时,既可以提高其稳定性也不影响其抗菌性能。

3 结论

本研究采用 pH 驱动法制备了负载香芹酚的玉米醇溶蛋白纳米粒子,通过添加酪蛋白酸钠提高了复合纳米粒子的储存稳定性和复溶性,使香芹酚的抗菌和抗氧化性能更好地得到应用。通过红外光谱和 DSC 分析证实香芹酚被成功包埋在复合纳米颗粒中,复合纳米粒子的形成主要是由于 3 种物质间形成了氢键和疏水力驱动。Zein/SC 质量比为 1:2 时的复合纳米粒子,其粒径小、包封率高且具有更好的复溶性和储存稳定性,同时也表现出较好的抗氧化性能和抗菌性能。Zein/SC/Car 纳米粒子在食品保鲜和延长食品货架寿命方面中具有广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] Liu F, Jin P P, Sun Z L, *et al.* Carvacrol oil inhibits biofilm formation and exopolysaccharide production of enterobacter cloacae[J]. Food Control, 2021,119:107473.
- [2] Taskeen N, Muhammad I, Alan M. Improving carvacrol bioaccessibility using core - shell carrier- systems under simulated gastrointestinal digestion[J]. Food Chemistry, 2021, 353:129505.
- [3] Silva F T D, Cunha K F D, Fonseca L M, *et al.* Action of ginger essential oil (*Zingiber officinale*) encapsulated in proteins ultrafine fibers on the antimicrobial control in situ[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118: 107-115.
- [4] 宁静娴, 许超群, 岳淑丽, 等. 精油微胶囊在食品保鲜中的应用研究进展[J]. 包装工程, 2021,42(15):94-102.
Ning J X, Xu C Q, Yue S L, *et al.* Research progress in the application of essential oil microcapsules in food preservation [J]. Packaging Engineering, 2021, 42(15): 94-102.
- [5] Xu T, Gao C C, Yang Y L, *et al.* Retention and release properties of cinnamon essential oil in antimicrobial films based on chitosan and gum arabic[J]. Food hydrocolloids, 2018,84:84-92.
- [6] Sun C X, Gao Y X, Zhong Q X. Effects of acidification by glucono-delta-lactone or hydrochloric acid on structures of zein-caseinate nanocomplexes self-assembled during a pH cycle[J]. Food Hydrocolloids, 2018,82:173-185.
- [7] Kringel D H, Silva W M F, Biduski B, *et al.* Free and encapsulated orange essential oil into a β - cyclodextrin inclusion complex and zein to delay fungal spoilage in cakes[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2020,44:e14411.
- [8] 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.
- [9] Pan K, Zhong Q. Low energy, organic solvent-free co-assembly of zein and caseinate to prepare stable dispersions[J]. Food Hydrocolloids, 2016,52:600-606.
- [10] Yuan Y K, Xiao J Z, Zhang P Y, *et al.* Development of pH-driven zein/tea saponin composite nanoparticles for encapsulation and oral delivery of curcumin[J]. Food Chemistry, 2021,364:130401.
- [11] Wang L, Xue J, Zhang Y. Preparation and characterization of curcumin loaded caseinate/zein nanocomposite film using pH-driven method[J]. Industrial Crops and Products, 2019,130:71-80.
- [12] 郑华明, 王江丽, 田宇航, 等. 玉米醇溶蛋白 - 香芹酚纳米颗粒的制备及其性能研究[J]. 包装工程, 2022,43(13):53-60.
Zheng H M, Wang J L, Tian Y H, *et al.* Preparation and Properties of Zein-Carvacrol Nanoparticles[J]. Packaging Engineering, 2022, 43(13): 53-60.
- [13] Wang L, Zhang Y. Eugenol nanoemulsion stabilized with zein

- and sodium caseinate by self-assembly[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2017,65:2990-2998.
- [14] Hamelian M, Varmira K, Veisi H. Green synthesis and characterizations of gold nanoparticles using thyme and survey cytotoxic effect, antibacterial and antioxidant potential[J]. *Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology*, 2018, 184:71-79.
- [15] Chang C, Wang T, Hu Q, *et al.* Caseinate zein polysaccharide complex nanoparticles as potential[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017,72:254-262.
- [16] Veneranda M, Hu Q, Wang T, *et al.* Formation and characterization of zein-caseinate-pectin complex nanoparticles for encapsulation of eugenol[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2018,89:596-603.
- [17] Liu Y X, Liang Q F, Liu X Q, *et al.* Treatment with ultrasound improves the encapsulation efficiency of resveratrol in zein-gum arabic complex coacervates[J]. *Food Science & Technology*, 2022,153:112331.
- [18] Luis A I S, Campos E V R, de Oliveira J L, *et al.* Zein nanoparticles impregnated with eugenol and garlic essential oils for treating fish pathogens[J]. *ACS Omega*, 2020,5:15557-15566.
- [19] Pereira R N, Souza B W S, Cerqueira M A, *et al.* Effects of electric fields on protein unfolding and aggregation: influence on edible films formation[J]. *Biomacromolecules*, 2010,11:2912-2918.

Properties of Carvacrol-Loaded Nanoparticles Prepared by pH-Driven Method

Huaming Zheng, Jiangli Wang, Yuhang Tian, Mingyu Zhou, Feng You, Ziqing Cai

(*School of Materials Science and Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China*)

ABSTRACT: In order to safely and effectively prolong the shelf life of food, zein and sodium caseinate were utilized to prepare composite nanoparticles loaded with carvacrol by pH-driven method. The zein/sodium caseinate composite nanoparticles have a good encapsulation efficiency (77.96% ~ 82.19%) for carvacrol. Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and differential scanning calorimetry (DSC) analysis show that carvacrol was loaded successfully. Scanning electron microscopy (SEM) results show that the composite nanoparticles are spherical with a particle size range of 50 ~ 200 nm, and have the strong antioxidation activity and antibacterial activity. When the composite nanoparticles were used in food packaging, they could effectively inhibit food spoilage and prolong the shelf life of food, showing potential application prospects in food industry.

Keywords: zein; carvacrol; nanoparticles; sodium caseinate; pH-driven