DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250905002
引用格式: 鲁孟丽, 周陶鸿, 林津, 等. 负载槲皮素的大豆分离蛋白/岩藻多糖复合纳米颗粒的制备及表征[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(7): 73–81.
LU ML, ZHOU TH, LIN J, *et al*. Fabrication and characterization of quercetin loaded with soy protein isolates/fucoidan composite nanoparticles [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(7): 73–81. (in Chinese with English abstract).

负载槲皮素的大豆分离蛋白/岩藻多糖复合纳米颗粒的制备及表征

鲁孟丽[1,2,3], 周陶鸿[1,2,3], 林　津[1,2,3], 游　云[1,2,3], 李心愿[4], 周　蕊[1,2,3], 陈　锂[1,2,3], 李诗瑶[1,2,3], 张　莉[1,2,3*]

[1. 湖北省食品质量安全监督检验研究院, 武汉　430075; 2. 国家市场监督管理总局重点实验室(动物源性食品中重点化学危害物检测技术), 武汉　430075; 3. 湖北时珍实验室, 武汉　430065; 4. 湖北省药品监督管理局药品审评检查中心(湖北省疫苗检查中心), 武汉　430071]

摘　要: 目的　构建负载槲皮素(quercetin, QT)的递送体系, 提高 QT 溶解性和稳定性。**方法**　本研究以大豆分离蛋白(soy protein isolates, SPI)、岩藻多糖(fucoidan, Fuc)为原料, 通过 pH 驱动法构建复合纳米粒对 QT 进行包封。通过粒径、电位、负载率、包埋率、冻干复溶性及微观形貌等对不同质量比的 SPI-QT-Fuc 复合纳米粒(SPI-QT-Fuc composite nanoparticles, SQF NPs)进行评价; 利用荧光光谱、傅里叶红外光谱等分析 SQF NPs 的理化特性; 考察 SQF NPs 在不同环境条件下(温度、光、盐浓度、pH 及储藏时间)的稳定性变化情况, 模拟胃肠道消化评估 SQF NPs 的胃肠道稳定性及生物可利用能力。**结果**　当 SPI/Fuc/QT 添加质量为 10:2:1 时, 复合纳米粒粒径为(130.60±1.03) nm, 电位为(–33.14±2.35) mV, 包封率达 80.05%。复合纳米粒粒径分布均匀、通过氢键、疏水、静电作用等有效结合; 相对于游离 QT, 复合纳米粒明显改善了 QT 的溶解性、光热稳定性及胃肠道利用率。**结论**　基于 SPI 和 Fuc 构建的复合纳米粒能明显提高 QT 的溶解度、增强其稳定性, 有望为 QT 在食品领域的高效应用提供技术参考。

关键词: 大豆分离蛋白; 岩藻多糖; 槲皮素; pH 驱动; 复合纳米粒

Fabrication and characterization of quercetin loaded with soy protein isolates/fucoidan composite nanoparticles

LU Meng-Li[1,2,3], ZHOU Tao-Hong[1,2,3], LIN Jin[1,2,3], YOU Yun[1,2,3], LI Xin-Yuan[4], ZHOU Rui[1,2,3], CHEN Li[1,2,3], LI Shi-Yao[1,2,3], ZHANG Li[1,2,3*]

[1. *Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test*, *Wuhan* 430075, *China*; 2. *Key Laboratory of Detection Technology of Focus Chemical Hazards in Animal-derived Food*, *State Administration for Market Regulation*, *Wuhan* 430075, *China*; 3. *Hubei Shizhen Laboratory*, *Wuhan* 430065, *China*; 4. *Center for Drug Evaluation and Inspection of HMPA* (*Hubei Center for Vaccine Inspection*), *Wuhan* 430071, *China*]

收稿日期: 2025-09-05
基金项目: 湖北省食检院自主立项科研项目(ZZLX2025001)
第一作者: 鲁孟丽(1998—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为纳米递送系统及食品微生物检测。E-mail: 1791605912@qq.com
***通信作者:** 张莉(1978—), 女, 正高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全检测和分析研究。E-mail: 38496899@qq.com

ABSTRACT: Objective To construct a delivery system loaded with quercetin (QT), enhance QT's solubility and stability. **Methods** This study used soy protein isolates (SPI) and fucoidan (Fuc) as raw materials, and constructed composite nanoparticles using the pH-driven method to encapsulate QT. The different quality ratios of SPI-QT-Fuc composite nanoparticles (SQF NPs) were evaluated based on particle size, potential, loading rate, embedding rate, freeze-drying reconstitution properties and microscopic morphology. The physicochemical properties of SQF NPs were analyzed using fluorescence spectroscopy and Fourier transform infrared spectroscopy. The stability changes of SQF NPs under different environmental conditions (temperature, light, salt concentration, pH and storage time) were investigated to simulate gastrointestinal digestion and evaluate the gastrointestinal stability and bioavailability of SQF NPs. **Results** The particle size of composite nanoparticles was (130.60±1.03) nm, the potential was (–33.14±2.35) mV, and the encapsulation rate reached 80.05% when the SPI/Fuc/QT mass ratio was 10:2:1. The binding forces of composite nanoparticles with uniform size distribution were the interplay of hydrogen bonds, hydrophobic interactions, and electrostatic forces. Compared to free QT, composite nanoparticles significantly enhanced the solubility, photothermal stability and gastrointestinal utilization of QT. **Conclusion** The composite nanoparticles, built upon SPI and Fuc, significantly improves the solubility, stability of QT, and will provide a promising avenue for the efficient application of QT in the food industry.

KEY WORDS: soy protein isolates; fucoidan; quercetin; pH-driven method; composite nanoparticles

0 引 言

槲皮素(quercetin, QT)是一种多羟基酚类化合物, 以糖苷形式存在于自然界的植物体内[1]。作为一种天然的膳食类黄酮, QT 常见于洋葱、苹果、葡萄、蓝莓等果实中[2], 经人体摄入后, 被肠道细菌和肠上皮细胞中相关酶代谢, 整个过程会调节肠道微生物菌群、改善免疫微环境, 从而对人体产生健康益处, 预防疾病[3]。此外, QT 也是槐米、银杏、三七等中药中重要的核心活性成分, 具有抗菌[4]、抗炎[5]、抗氧化[6]、降血糖、降血压[7]、抗肿瘤[8]等多种生理作用, 在食品健康和医药领域均有广阔的应用前景。QT 具有多种生物功能活性, 但水溶性差、化学性质不稳定、代谢快, 这导致其生物利用度有限, 这些特性导致 QT 在功能性食品和医药领域的广泛应用存在巨大挑战[9]。

研究表明[10–11], 将疏水活性成分包埋于高分子载体材料中制备成纳米体系, 能有效增强其溶解性、提高环境稳定性, 有助于扩大其应用范围。近些年, 天然聚合物蛋白质-多糖体系因具有良好的生物相容性、生物可降解性等优势而备受关注, 多糖与蛋白质可以通过静电作用、氢键、共价结合等形成纳米体系, 用于疏水性活性成分的递送[12]。此外, 蛋白质-多糖体系也逐步应用于食品涂层[13]、食品保鲜防腐[14]等领域。大豆分离蛋白(soy protein isolates, SPI)是一种低成本、具备高营养价值和良好功能特性的水溶性植物蛋白, 在极端 pH 条件下, 蛋白质结构中部分疏水性氨基酸残基解折叠, 肽链柔性增加, 与疏水性活性物质产生强大的相互作用[15–16]; 此外, 在水溶液中, SPI 具有两亲性, 能自组装形成亲水性外壳和疏水性内核的聚集体, 通过氢键和静电作用将疏水性活性成分有效包埋[17]。岩藻多糖(fucoidan, Fuc)[18]是一种带负电荷的硫酸化多糖, 具有抗氧化、抗菌、抗癌等作用, 在药物的递送研究中应用广泛[19–21]。近些年, Fuc 还被发现具有清除幽门螺杆菌、保护胃肠道的功能, 常被用作功能饮料的食品原料[22]。截至目前, 基于 SPI 和 Fuc 体系包封 QT 的复合纳米粒鲜少有研究报道。

鉴于此, 本研究以 QT 低水溶性、稳定性差为出发点, 采用低成本、高营养价值的 SPI 和生物相容性良好的 Fuc 为原料, 采用 pH 驱动法将 QT 进行包埋构建复合纳米粒, 进而筛选纳米粒的制备工艺, 对纳米粒的结构、理化特性、稳定性、溶解性、胃肠道消化等进行评价, 研究结果将为 QT 在食品和医药领域的广泛应用提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

SPI、透析袋(3500 Da)、胰蛋白酶(250 U/mg)(上海源叶生物科技有限公司); QT(纯度 97%)、胆酸盐(生物试剂)、胃蛋白酶(酶活>3000 U/mg)、Fuc(纯度 98%)、吐温 80(上海麦克林生化科技有限公司); 无水乙醇、氯化钠、磷酸二氢钾(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 氢氧化钠(NaOH, 浓度 1 mol/L)、盐酸(HCl, 浓度 1 mol/L)(深圳市博林达科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

ZSU 3305 纳米粒度分析仪(英国马尔文帕纳科仪器有限公司); V-32 涡旋混匀仪(英国 Grant 公司); HH-6 恒温水浴锅(常州国华电器有限公司); FD5-48 真空冷冻干燥机(美国 GOLD-SIM 公司); SG 3-18K 台式高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司); PL600E/02 万分之一天平(瑞士梅特勒托利多

公司); F-4600 分子荧光分光光度计、UH 5300 紫外分光光度计(日本日立公司); ZQTY-70F 台式全温振荡培养箱(上海知楚仪器有限公司); NICOLET 6700 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Thermo Fisher Scientic 公司); ZF-7C 三用紫外分析仪(上海华康生化仪器制造有限公司); CJ 78-1 磁力搅拌器(常州市金坛大地自动化仪器厂); SB 25-12DTS 双频超声清洗机、SCIENT-IID 超声波细胞粉碎机(宁波新芝生物科技有限公司); JSM-IT800 扫描电子显微镜[捷路欧(北京)科贸有限公司]。

1.3 实验方法

1.3.1 构建荷载 QT 的复合纳米粒

根据 DI 等[23]的方法稍作修改, 将一定量的 SPI 溶于去离子水中, 制备得 10 mg/mL 的 SPI 溶液, 用 1 mol/L NaOH 调节溶液 pH 至 12.0, 600 r/min 磁力搅拌平衡 30 min; 称取 10 mg QT 粉末超声溶解于无水乙醇中, 将 QT 溶液逐滴加入至 SPI 溶液中, 避光搅拌 30 min 使二者混合均匀, 即得 SPI-QT 溶液; 将 Fuc 溶液加入 SPI-QT 溶液中, 使 SPI 与 Fuc 的质量比分别为 6:1、5:1、4:1、3:1、2:1、1:1、1:2, 避光搅拌 1 h, 用 1 mol/L HCl 将溶液 pH 调至 7.0, 搅拌 1 h 后透析过夜, 除去未包封的 QT 和溶剂, 8000 r/min 离心 20 min, 收集上清液冷冻干燥即得 SPI-QT-Fuc 复合纳米粒(SPI-QT-Fuc composite nanoparticles, SQF NPs), 将冻干后的纳米粒置于 4 ℃冰箱保存。并以粒径、多分散指数(polydispersity index, PDI)、Zeta 电位为指标, 考察上述不同 SPI 与 Fuc 质量比对复合纳米粒的影响。不加 Fuc 即为 SPI-QT 纳米粒(SPI-QT nanoparticles, SQ NPs)。

1.3.2 SPI-QT-Fuc 复合纳米粒的工艺优化

在明确 SPI/Fuc 质量比后, 按 1.3.1 项下方法, 固定其余制备条件不变, 以包封率(encapsulation efficiency, EE)和负载率(loading capacity, LC)为考察指标, 研究 SPI/QT 不同质量比(15:1、10:1、5:1)对 SQF NPs 的影响, 确定 SQF NPs 中 SPI、QT 的最佳比例。

用无水乙醇溶解 QT 标准品, 分别制备成 1、2、4、6、8、10 μg/mL 的 QT 系列标准溶液。在 374 nm 处测量吸光度, 以质量浓度为横坐标(X, μg/mL), 吸光度为纵坐标(Y)绘制标准曲线。

根据文献[24]方法对 SPI/QT 不同质量比的纳米粒进行包封率和负载率的测定。取 1 mL 新制纳米粒溶液用无水乙醇稀释至 5 mL, 超声破碎 10 min, 使纳米颗粒被完全破坏, 10000 r/min 离心 10 min, 收集上清液。用紫外分光光度计在 374 nm 处测量吸光度, 代入用 QT 标准曲线中计算。QT 的 EE 和 LC 的计算如公式(1)~(2):

$$\text{EE}/\% = \frac{\text{纳米颗粒中QT的量 / mg}}{\text{加入QT总量 / mg}} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{LC}/\% = \frac{\text{纳米颗粒中QT的量 / mg}}{\text{纳米颗粒的总量 / mg}} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.3 荷载 QT 纳米粒的理化特性

(1)红外光谱测定

将冻干后的样品与溴化钾粉末用玛瑙研钵研磨混合均匀, 采用红外光谱仪在 400~4000 cm^{-1} 的波数范围内进行扫描, 每个样品扫描 32 次, 以溴化钾粉末压片作为空白, 分别测定 SPI、QT、Fuc、SQ NPs、SQF NPs 的结构特征。

(2)荧光光谱测定

将 SPI、SQ NPs 和 SQF NPs 溶液装入 1.0 cm 的石英池中, 采用分子荧光分光光度计在 25 ℃下进行荧光发射光谱扫描。设置测量参数如下: 发射波长: 300~500 nm, 激发波长: 280 nm, 狭缝宽度: 5 nm。

(3)再分散性测定

取新制的 SQ NPs 和 SQF NPs 溶液, 采用动态光散射技术测定纳米粒的粒径、多分散系数和 Zeta 电位。取一定体积上述两种溶液放入–20 ℃低温冰箱预冻, 接着将其放入冷冻干燥机中冻干 48 h, 得到黄色海绵状固体粉末。将粉末再次用等体积的去离子水进行复溶, 用涡旋仪混匀 1 min 后, 再次测定纳米粒的粒径、多分散系数和 Zeta 电位。

(4)光热性质研究

将 QT、SQ NPs、SQF NPs 溶液置于样品瓶中, 将其置于紫外灯下照射 0、30、60、90、120、150、180 min, 分别测游离 QT 和纳米粒中 QT 的保留率; 同样地, 另取一组 QT、SQ NPs、SQF NPs 溶液置于 85 ℃水浴中孵育 0、30、60、90、120、150、180 min, 分别测定游离 QT 和纳米粒中 QT 的保留率。保留率计算如公式(3):

$$\text{保留率}/\% = \frac{A}{A_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中: A 为不同条件处理后纳米粒中 QT 的吸光度, A_0 为处理前纳米粒中 QT 的吸光度。

1.3.4 复合纳米粒粒径及外观形貌表征

将冻干后的 SQF NPs 用去离子水溶解并稀释至适宜浓度, 采用纳米粒度分析仪通过动态光散射技术测定纳米颗粒的粒径、PDI、Zeta 电位, 每个样品平行测定 3 次; 使用扫描电子显微镜观察 SQF NPs 的形态特征, 将样品粉末进行喷金制样, 在 1 kV 下观察样品的形貌结构。

1.3.5 复合纳米粒的稳定性评价

(1)储存稳定性

将新制备的 SQF NPs 溶液放置于 4 ℃避光储存, 分别在 0、7、14 d 后取样, 测定纳米颗粒的粒径、PDI, 每个样品测定 3 次。

(2) pH 稳定性

用 HCl 或 NaOH 溶液将 SQF NPs 溶液的 pH 分别调节到 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0, 测定样品的粒径、PDI。

(3)离子稳定性

配制 30、60、90、120、150、180 mmol/L 等系列浓度的 NaCl 溶液, 将其分别与等体积的纳米粒溶液混合, 测

样品的粒径、PDI。

1.3.6 复合纳米粒的体外胃肠道消化

参照 CHENG 等[25]的方法稍作修改进行纳米粒的胃肠道模拟消化。将 3.2 mg/mL 胃蛋白酶与 2.0 mg/mL NaCl 等体积混合，调节 pH 为 2.0，即为模拟胃液(SGF)；配制一定体积的模拟肠液(SIF)，SIF 含 12 mg/mL 胆酸盐、8.8 mg/mL NaCl、6.8 mg/mL KH_2PO_4、2 mg/mL 胰蛋白酶，将 SIF 的 pH 调成 6.8。将 20 mL SQF NPs 溶液和同含量的 QT 溶液分别与等体积的 SGF 混合，在 37 ℃恒温摇床(100 r/min)孵育 2 h，间隔 30 min 取出 3 mL 混合物，补充 3 mL SGF，在 374 nm 下测定 QT 的含量。2 h 后，调节混合物的 pH 为 7.4，终止胃液消化。将其与等体积的 SIF 混合，将 pH 调至 6.8，在 37 ℃恒温摇床(100 r/min)孵育 4 h，间隔 30 min 取出 3 mL 混合物，补充 3 mL SIF，混合液 80 ℃灭活 10 min，在 374 nm 下测定上清液 QT 的吸光度。

1.4 数据处理

本研究中所有实验结果均采用 SPSS 20.0 软件进行数据处理，运用 Student's *t* 检验统计方法进行分析研究，以平均值±标准偏差表示；绘图软件为 Origin 2024。

2 结果与分析

2.1 SPI/Fuc 不同质量比对 QT 复合纳米粒的影响

蛋白质与多糖的投料比不同会改变各自的电荷密度，也会对复合纳米粒的粒径、PDI、Zeta 电位值等性质产生影响[26]。如图 1 所示，随着 Fuc 的投料质量增加，SQF NPs 的粒径呈现逐步上升的趋势，这可能是由于 Fuc 结构中存在带负电荷的硫酸根，而 SPI 结构中大量的氨基，二者可通过静电作用结合，随着投料质量的增加有更多的 Fuc 吸附在 SPI 表面，导致粒径的增大[27]。同时，Fuc 的延展也会为 QT 提供更多的包封空间和结合位点，进而增强复合纳米粒的稳定性[28]。此外，随着 Fuc 含量的增高，SQF NPs 的 Zeta 电位绝对值也呈现增大趋势，说明复合纳米颗粒的表面电荷主要受 Fuc 的控制。分散体系的 Zeta 电位绝对值大于 30 mV 时，一般会被认为比较稳定，PDI 值越小，体系的分散性也会越好。因此，虽然 SPI 与 Fuc 的比例为 6:1 时，粒径最小，但其电位绝对值小于 30 mV。综合 Zeta 电位、PDI、粒径三者结果，当 SPI 与 Fuc 的比例为 5:1 时，Zeta 电位为–33.14 mV，PDI 和粒径均较小，最终选择 5:1 作为 SPI 与 Fuc 的最佳质量比，进行后续进一步研究。

2.2 EE 和 LC 分析

为了明确复合纳米体系中 QT 的最大 LC 和 EE，研究了不同质量比 SPI 与 QT 的添加量对 QT 在复合纳米粒中的 EE 和 LC。使用紫外分光光度计测定系列浓度 QT 在 374 nm 下的吸光度，通过线性拟合得 QT 的标准曲线为：Y=0.12722X–0.00595、r^2=0.9993。分别测定 SPI 与 QT 质量比为 15:1、10:1、5:1 时复合纳米粒在 374 nm 处的吸光度，计算 QT 的 EE 和 LC。结果如下图 2 所示，QT 的 EE 可达 80.05%，随着 QT 投入量的增大，包封率呈逐渐下降趋势，这是因为 QT 增多，相应的 SPI 能提供的疏水性区域有限，超过了载体的最大承载量，以致一部分 QT 会游离或者吸附聚集在 SPI 表面。同时，当 SPI 与 QT 的投料比从 15:1 降低到 5:1 时，LC 由 4.43%上升到 10.01%，这可能归因于 SPI 投入质量减少，复合纳米粒整体质量降低，从而 QT 荷载率也逐渐上升。因此，综合 EE 和 LC 两者结果选择 SPI/Fuc/QT 质量比为 10:2:1 进行后续 SQF NPs 纳米粒的制备和研究。

2.3 FT-IR 分析

SPI、QT、Fuc、SQ NPs、SQF NPs 的红外光谱图结果如下图 3 所示。SPI 的红外光谱中 3295 cm^{-1} 归属于 O-H 的伸缩振动、2935 cm^{-1} 属于 C-H 的反对称伸缩振动，而 1650 cm^{-1} 对应于 C=O 拉伸振动(酰胺I带)，1527 cm^{-1} 处对应于 C-N-H 的弯曲振动(酰胺II带)；QT 在 3403 cm^{-1} 处

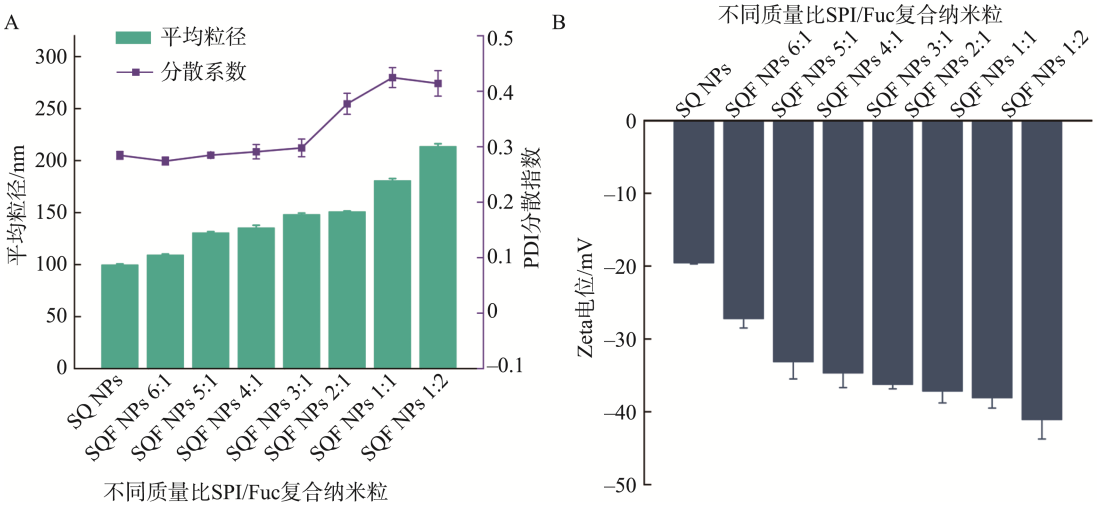


图 1 不同质量比 SPI/Fuc 对复合纳米粒的粒径、PDI 和 Zeta 电位的影响

Fig.1 Effects of different SPI/Fuc mass ratios on particle size, PDI and Zeta potential

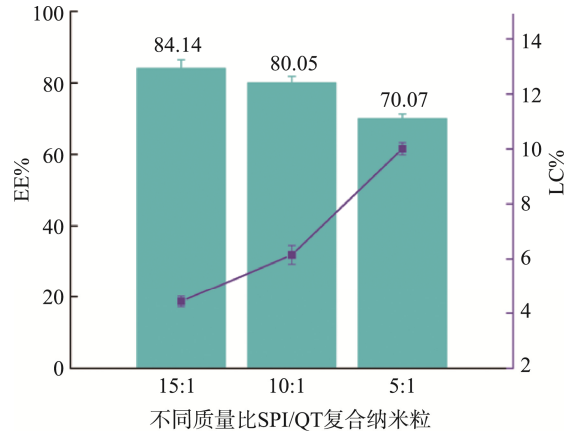


图 2　不同质量比 SPI/QT 对复合纳米粒的 EE 和 LC 的影响

Fig.2　EE and LC of composite nanoparticles loaded with different SPI/QT mass ratios

有较宽吸收峰，且在 1170~1614 cm^{-1} 范围存在许多特征吸收峰，为代表性芳香伸缩振动；SQ NPs 中 O-H 的拉伸振动峰值从 3295 cm^{-1} 变为 3291 cm^{-1}，酰胺 I 带的峰值从 1650 cm^{-1} 变到 1648 cm^{-1}，酰胺 II 带的峰值从 1527 cm^{-1} 变到 1536 cm^{-1}，这可能与 SPI 和 QT 之间形成的氢键、疏水和静电相互作用有关；而在 Fuc 的红外光谱中，1646 cm^{-1} 处的吸收峰归因于 C=O 的伸缩振动，1260 cm^{-1} 处的吸收峰归因于 O=S=O 的伸缩振动，1056 cm^{-1} 处的吸收峰归因于 C-O-C 的伸缩振动；加入 Fuc 后，SQF NPs 的 O-H 拉伸振动峰值从 3295 cm^{-1} 变为 3280 cm^{-1}，且呈现出较宽的谱带，表明氢键增强；SQF NPs 酰胺 II 的峰值从 1527 cm^{-1} 移至 1535 cm^{-1}，这是因为 SPI 与 Fuc 间可能存在静电相互作用。此外，SQ NPs 和 SQF NPs 纳米颗粒的光谱中，QT 的大多数特征峰在复合物的光谱中消失了，这可能是与 SPI 结合时，QT 分子结构中特征基团的弯曲和振动拉伸受到了限制而产生了屏蔽，表明 QT 成功负载在复合纳米颗粒中。

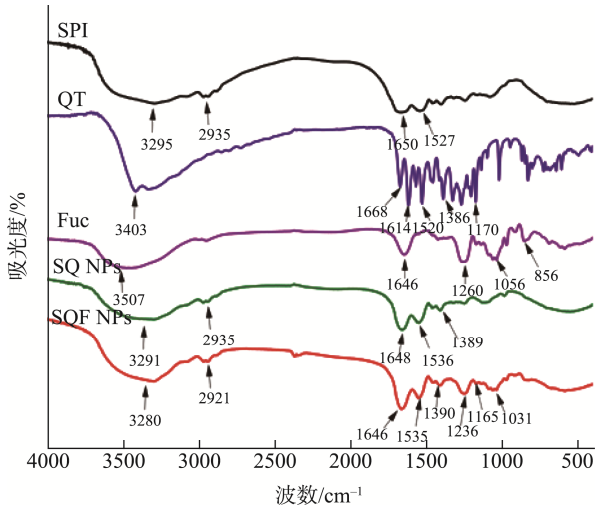


图 3　SPI、QT、Fuc、SQ NPs、SQF NPs 的傅里叶变换红外光谱图

Fig.3　Fourier transform infrared spectroscopy spectra of SPI, QT, Fuc, SQ NPs and SQF NPs

2.4　荧光光谱分析

测定蛋白质的空间结构的固有荧光变化可以评估 SPI 与 QT 和 Fuc 的结合性质[29]。如下图 4 所示，SPI 在 336 nm 处有很强的荧光信号，是疏水区域中色氨酸残基的特征固有荧光[30]。当 SPI 负载 QT 后，336 nm 处的荧光信号明显降低，这是因为 QT 可能与色氨酸残基上的疏水基团产生疏水相互作用后，SPI 的特征荧光信号发生猝灭。与 SQ NPs 相比，SQF NPs 中 SPI 的荧光信号强度进一步降低，这说明 Fuc 与 SPI 结合后，SPI 进一步展开呈现出更灵活的构象，这可能归因于 Fuc 中带负电荷的硫酸基团与 SPI 中带正电的色氨酸残基产生静电相互作用，多糖长链的屏蔽作用可进一步降低 SPI 的荧光信号强度。此外，SPI 最大发射波长位置发生明显红移，这进一步表明其蛋白质结构发生变化，SPI 分子中疏水基团暴露更多，从而可为 QT 提供更多的结合位点[31]。

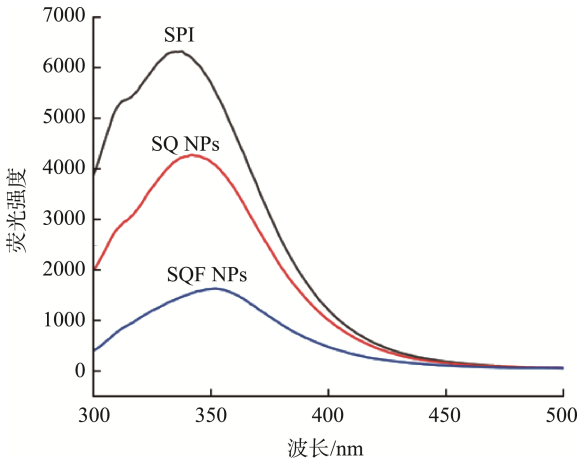


图 4　SPI、SQ NPs、SQF NPs 的荧光光谱图

Fig.4　Fluorescence spectra of SPI, SQ NPs and SQF NPs

2.5　冻干复溶性分析

纳米粒的冻干复溶能力很大程度上决定了其应用价值。SQ NPs 和 SQF NPs 冻干后的复溶能力如下图 5 所示，新鲜制备的 SQ NPs 和 SQF NPs 均处于相对稳定状态，复溶后，两者均具有较好的复溶性，在水溶液中分散均匀，无沉淀产生。

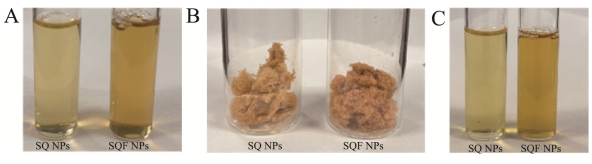


图 5　新鲜制备(A)、冻干 48 h (B)和再分散后(C)的纳米粒外观

Fig.5　Appearance of freshly-prepared (A), freeze dried for 48 h (B), and re-dissolved nanoparticles (C)

比较新鲜制备和冻干复溶后纳米粒的粒径、PDI 及 Zeta 电位变化情况可知(表 1 所示), 冻干再溶解的 SQ NPs 粒径较新鲜制备的纳米粒有所增大, 这可能是由于冷冻干燥过程中 SQ NPs 发生粒子聚集所致。而 SQF NPs 冻干前后纳米粒的粒径无明显变化, 表明在纳米粒中加入 Fuc 后能有效防止纳米粒的聚集, 使纳米粒溶液冻干再分散后分布均匀。SQF NPs 的粒径、Zeta 电位均无明显变化, PDI 结果也表明纳米粒体系处于单分散状态。

2.6 光热性质探究

QT 暴露于紫外光和高热环境下短时间内即会迅速降解, 通过测定紫外光和高热下纳米粒中 QT 的保留率来探究纳米粒的光热稳定性质。如图 6A 所示, 随着紫外光照时间的不断延长, 游离 QT、SQ NPs 及 SQF NPs 中 QT 的保留率逐渐下降, 紫外光照 180 min 后, 游离 QT 中 QT 的保留率仅有 56.71%、而 SQ NPs 及 SQF NPs 的保留率分别为 72.77%和 92.87%, 说明将 QT 包埋于 SPI 中能有效提高 QT 的光稳定性, 这是由于 QT 被包埋后, 其容易氧化脱羧的 C 环与 SPI 的疏水基团结合, 从而将 C 环中的活性基团保护起来, 避免受到紫外光的影响[32]。而加入 Fuc 后, 多糖的长链能提供更高的光物理屏障, 进一步增强复合纳米粒的抗紫外光效果。热稳定性结果如图 6B 所示, 经过热处理 180 min 后, 所有纳米粒的保留率均有所下降, 但相较于游离 QT, SQ NPs 和 SQF NPs 的保留率下降并不明显, 加入 Fuc 后, 纳米粒中 QT 的保留率在加热过程中下降的更加缓慢, 这说明将 QT 包埋后能有效保护其在加热过程中结构不被破坏。SQ NPs 和 SQF NPs 均在紫外光和 85 ℃条件下的保存率相较于游离 QT 有所提高, SQ NPs 分别提高了 16.06%和 38.33%, SQF NPs 则提高了 36.16%和 50.47%。

2.7 复合纳米粒的粒径、电位及形貌分析

采用动态激光粒度分析仪测定复合纳米粒的粒径和电位, SQF NPs 的粒径和电位分布图如图 7A~B 所示, 纳米粒的平均粒径为(130.60±1.03) nm, 粒径分布均一, 纳米分散体系呈现乳光, PDI 为 0.28±0.01, 纳米粒表面带负电荷, Zeta 电位为(–33.14±2.35) mV, 可能是由于 Fuc 表面的硫酸化阴离子多糖控制着复合纳米颗粒的电荷特性, 使纳米粒的结构更加稳定。扫描电镜结果如图 7C 所示, 复合纳米粒的结构基本为不规则的类球形状, 颗粒分布较为均一, 基本无聚集体的存在, 颗粒的粒径大小与激光粒度分析仪结果一致。

2.8 复合纳米粒的稳定性评价结果

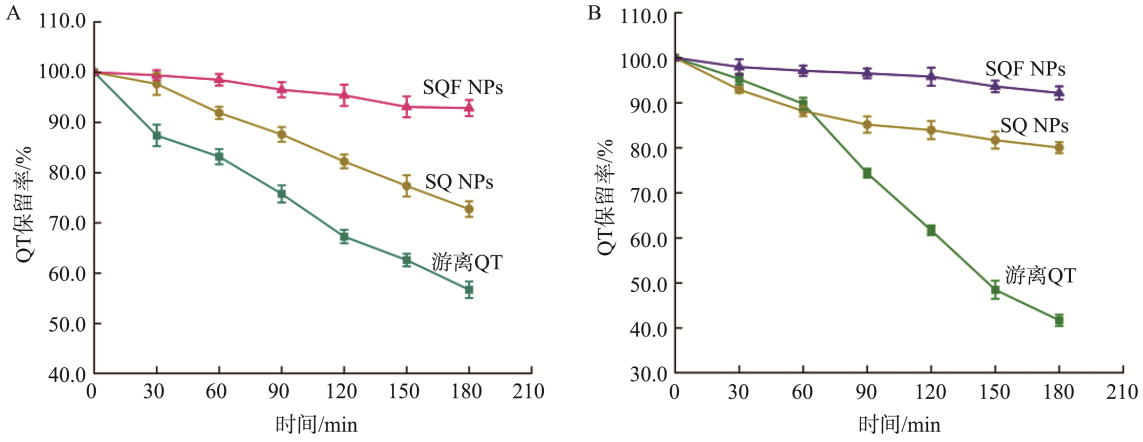
2.8.1 储存稳定性分析

纳米颗粒长期储存时, 颗粒容易聚集而产生沉淀, 分散状态也会发生变化, 包埋其中的活性成分也会随着降解而失活[33]。将新鲜制备的 SQF NPs 纳米分散体系放置于 4 ℃冰箱放置 14 d, 分别于 7 d 和 14 d 分别测定纳米粒的粒径、PDI 和 Zeta 电位的变化情况, 评价复合纳米粒的储存稳定性, 结果如图 8 所示。图 8A 中可以看出储存过程中, SQF NPs 的粒径存在略微增大的趋势, 这可能由于纳米颗粒之间的疏水作用所致, 7 d 内 PDI 无明显变化, 说明纳米粒子结构稳定分散均匀。图 8B 显示 Zeta 电位绝对值随着储存时间的延长而略微下降, 但 14 d 后 Zeta 电位的绝对值仍大于 30, 说明纳米颗粒在 14 d 内的储存稳定性仍较佳。

表 1 新鲜制备和再分散纳米粒的粒径、PDI、Zeta 电位(n=3)

Table 1 Particle size, PDI, Zeta-potential of freshly prepared and re-dispersed nanoparticles (n=3)

样品	粒径/nm		PDI		Zeta 电位/mV	
	新鲜制备	再分散	新鲜制备	再分散	新鲜制备	再分散
SQ NPs	99.70±0.92	106.60±1.23	0.27±0.01	0.29±0.02	–19.60±0.14	–18.45±0.22
SQF NPs	130.60±1.03	131.80±1.77	0.28±0.01	0.29±0.01	–33.14±2.35	–32.22±0.19



注: A. 紫外光照, B. 高热环境。

图 6 游离 QT 和纳米粒的光热稳定性

Fig.6 Photothermal stability of free QT and nanoparticles

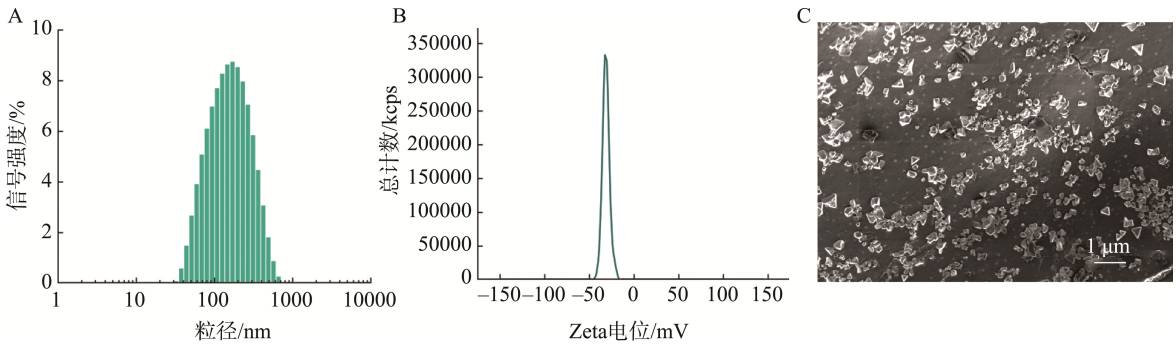


图 7　SQF NPs 的粒径(A)、Zeta 电位(B)和扫描电镜图(C)

Fig.7　Particle size (A), Zeta potential (B) and scanning electron microscope images (C) of SQF NPs

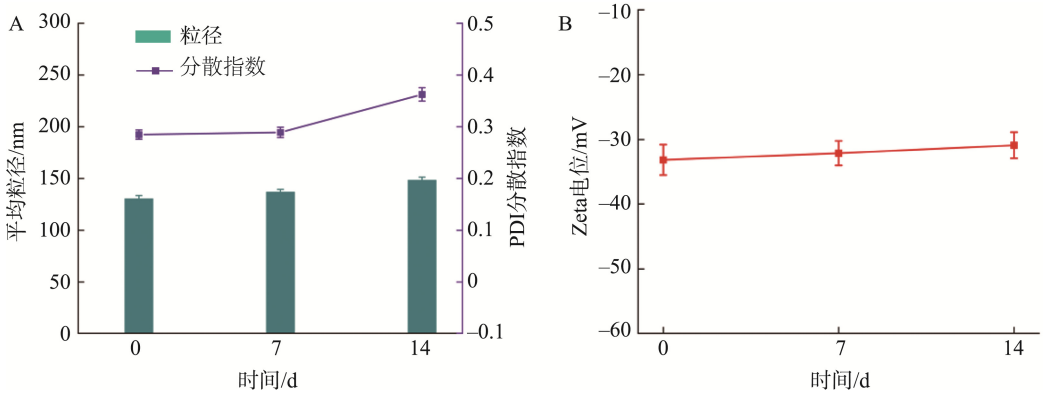


图 8　SQF NPs 的储存稳定性

Fig.8　Storage stability of SQF NPs

2.8.2　pH 和离子稳定性分析

纳米颗粒作为活性成分的载体，被人体摄取后会经历胃肠道内 pH 的不同变化，而 NaCl 的静电屏蔽效应会中和聚电解质的部分电荷，会阻止带有相反电荷的聚电解质相互结合导致体系失稳，从而对纳米粒的粒径、PDI 都会产生影响。因此，研究纳米粒的 pH 及离子稳定性对其实际应用具有重要意义。图 9A 为 SQF NPs 在不同 pH 条件下的粒径和 PDI 变化情况。从图 9A 中可以看出，pH 从 8.0 降至 4.0 时，粒径和 PDI 随着 pH 值的降低而逐渐增大，当 pH 为 4 时达到最大，pH 为 5 时粒径同样较高，这主要由于此时 pH 处于 SPI 的等电点附近，蛋白质处于等电点时纳米颗粒的表面净电荷较低，纳米颗粒之间的静电排斥难以抵抗静电引力作用，纳米颗粒发生聚集导致粒径增大[34]。当 pH 低于 SPI 的等电点时蛋白质会带负电，与附着在纳米粒表面带负电的 Fuc 产生静电斥力作用，又会导致纳米粒分散，粒径也会相应降低。如图 9B 所示，当盐浓度在 0~120 mmol/L 时，SQF NPs 的粒径均无明显变化，这可能是氯化钠离子浓度较低，仅中和了部分电荷，随着氯化钠浓度增大到 180 mmmol/L 时，纳米粒的粒径和 PDI 均呈现逐渐增大的趋势，但粒径均小于 200 nm，说明纳米粒依然可以维持相对稳定的分散状态，这可能归因于 Fuc 表面的硫酸化基团，与盐离子接触结合程度大，可以更好地减少盐离子对纳米粒结构的影响。

2.9　体外胃肠道消化分析

纳米颗粒的释放特性对其包埋有效成分的生理活性具有重要意义，因此，研究体外模拟消化过程中 QT 的释放情况来评价纳米颗粒的胃肠道消化性能。如图 10 所示，在模拟胃液消化期间，QT 释放量逐渐增加，模拟胃液消化 120 min 后 SQF NPs 中 QT 总释放量仅为 25.4%，尽管模拟胃液中的胃蛋白酶会水解少部分 SPI，使空隙间的 QT 有略微泄漏，但表面附着的 Fuc 对纳米粒起到了保护作用，同时在低 pH 下，纳米粒也会部分聚集，阻止了 QT 在胃液中大量释放，从而提高在肠道内的消化吸收。进入模拟肠液的前 30 min，QT 的释放量增加到 46.1%，这是由于模拟肠液中增加了胰酶、胆汁盐等物质，胰酶能分解纳米颗粒表面的 SPI 和 Fuc，而胆汁盐能增加纳米颗粒中 QT 的溶解性[35]。而后在模拟肠液环境下的孵育下，缓慢释放，270 min 后趋于平缓，360 min 后 QT 累积释放 75.1%。上述结果表明 SQF NPs 中 QT 能在胃液中能被有效保护，而进入肠道后能充分缓慢释放，复合纳米体系能显著提高 QT 在模拟消化液中的消化吸收能力，从而改善 QT 的生物可利用率。

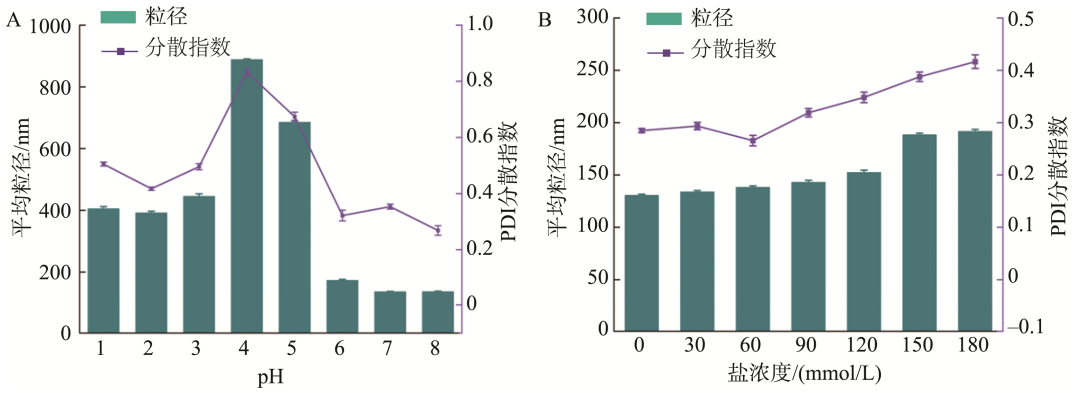


图 9 pH (A)和盐浓度(B)对 SQF NPs 粒径、PDI 的影响

Fig.9 Effects of pH (A), ionic concentration (B) on particle size and PDI of SQF NPs

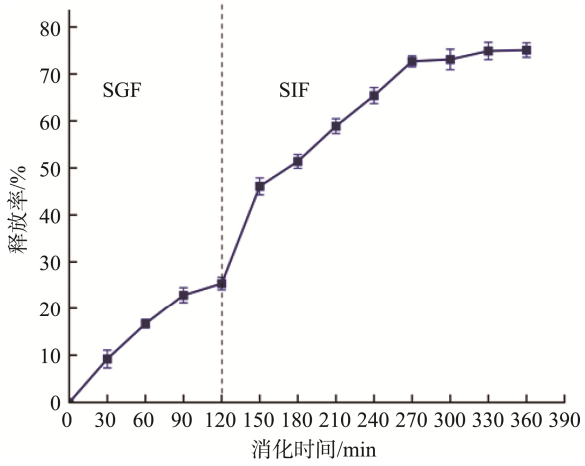


图 10 SQF NPs 的胃肠道消化释放特性

Fig.10 Gastrointestinal digestion release characteristics of SQF NPs

3 结 论

本研究采用简单、低成本、安全无毒的 pH 驱动法制备了 SQF NPs, 并通过多种分析手段探究了 Fuc、QT 的添加量对纳米粒的粒径、PDI、电位、包封率、载药量等的影响。研究结果表明, 当 SPI/Fuc/QT 三者质量比分别为 10:2:1 时, 所制备的复合纳米颗粒的稳定性最佳, 分散性良好、粒径分布也较窄, 平均粒径、PDI 及 Zeta 电位分别为(130.60±1.03) nm、0.28±0.01、(–33.14±2.35) mV, 其中 QT 的 EE 可达 80.05%, SPI 与 Fuc 之间的作用力为氢键作用和静电相互作用。此外, SPI 和 Fuc 的保护作用使 QT 具有更好的光热稳定性和胃肠道利用率, 实验结果显示 SQ NPs 和 SQF NPs 均在紫外光和 85 ℃条件下的保存率相较于游离 QT 有所提高, SQ NPs 分别提高了 16.06%和 38.33%, SQF NPs 则提高了 36.16%和 50.47%。SQF NPs 在较宽的 pH 范围(2.0~8.0)和系列离子浓度(0~180 mmol/L)条件下均具有良好的稳定性, 可显著提高 QT 胃肠道生物可利用率。

本研究结果可为改善 QT 溶解性研究及含 QT 的功能性食品或保健食品的开发提供理论依据和技术指导, 同时也为深入探索蛋白质-多糖输送体系递送生物活性成分奠定基础。后续, 将对复合纳米颗粒的细胞毒性及功能性评价等进行进一步探索。

参考文献

[1] BISCHOF F, STEPHAN C. Quercetin: Potentials in the prevention and therapy of disease [J]. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2008, 11 (6): 733–740.

[2] PAN S, WEIJI L, XUAN D, *et al*. Potential implications of quercetin in autoimmune diseases [J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 689044.

[3] LOPEZ-LAZARO M. Flavonoids as anticancer agents: Structure-activity relationship study [J]. Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents, 2002, 2(6): 691.

[4] YANG D, WANG T, LONG M, *et al*. Quercetin: Its main pharmacological activity and potential application in clinical medicine [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020, 8825387. DOI:10.1155/2020/8825387

[5] 倪湾, 李敬双, 于洋. 洋葱槲皮素对脂多糖诱导的小鼠腹腔巨噬细胞炎症反应抑制作用[J]. 食品工业科技, 2017, 38(23): 284–288.
NI W, LI JS, YU Y. Inhibiting effect of onion quercetin on lipopolysaccharide-induced mice's enterocoelia macrophage inflammatory response [J]. Science and technology of Food Industry, 2017, 38(23): 284–288.

[6] 季伟. 乳清浓缩蛋白基包覆槲皮素体系构建及相互作用机制研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2022.
JI W. Construction and interaction mechanism of whey protein concentrate based quercetin-coated system [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2022.

[7] 陈辉, 刘应才. 槲皮素的心血管保护作用[J]. 国际心血管病杂志, 2007(1): 57–60.
CHEN H, LIU YC. Cardiovascular protective effects of quercetin [J]. International Journal of Cardiovascular Disease, 2007(1): 57–60.

[8] EID AH, NASRALLAH G, SHAITO A, *et al*. Therapeutic potential of flavonoids in cancer: ROS-mediated mechanisms [J]. Biomedicine Pharmacotherapy, 2022 (146): 112442.

[9] 苏舒宜. 京尼平交联的槲皮素纳米颗粒的制备及性质研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
SU SY. Study on preparation and properties of quercetin loaded nanoparticles crosslinked by genipin [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.

[10] LUO L, WU Y, LIU C, *et al*. Elaboration and characterization of curcumin-loaded soy soluble polysaccharide (SSPS)-based nanocarriers mediated by antimicrobial peptide nisin [J]. Food Chemistry, 2020, 336: 127669.

[11] XUE J, LUO Y. Protein-polysaccharide nanocomplexes as nanocarriers for delivery of curcumin: A comprehensive review on preparation methods and encapsulation mechanisms [J]. Journal of Future Food, 2023, 3(2): 99–114.

[12] LI H, WANG D, LIU C, *et al*. Fabrication of stable zein nanoparticles coated with soluble soybean polysaccharide for encapsulation of quercetin [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87(2): 342–351.

[13] WU D, TANG L, ZENG Z, *et al*. Delivery of hyperoside by using a soybean protein isolated-soy soluble polysaccharide nanocomplex: Fabrication, characterization, and *in vitro* release properties [J]. Food Chemistry, 2022(8): 386.

[14] 王清, 陈秋怡, 雷磊, 等. 海藻酸钠/壳聚糖/纳米硒复合膜的制备及其在草莓保鲜中的应用[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(17): 317–325.
WANG Q, CHEN QY, LEI L, *et al*. Preparation of sodium alginate/chitosan/nano-selenium composite film and its application in strawberry preservation [J]. Food and Fermentation Indutries, 2025, 51(17): 317–325.

[15] YOUXIA S, TAOTAO L, HONGXIA Q, *et al*. Nano-preservation: An emerging postharvest technology for quality maintenance and shelf life extension of fresh fruit and vegetable [J]. Food Frontiers, 2023, 4(1): 100–130.

[16] LEI W, JIAYU W, LUYING W, *et al*. Characterization of the extreme pH-induced molten globule state of soy protein isolate and its influence on functional properties [J]. Food Hydrocolloids, 2023, 144. DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2023.109040

[17] FEI-PING C, BIAN-SHENG L, CHUAN-HE T. Nanocomplexation between curcumin and soy protein isolate: Influence on curcumin stability/bioaccessibility and *in vitro* protein digestibility [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(13): 3559–3569.

[18] LIU W, XU X, DUAN L, *et al*. Fucoidan-based delivery systems: From fabrication strategies to applications [J]. Food Research International, 2025, 218: 116752.

[19] 高新涛. 以岩藻多糖为载体的药物递送系统的制备及其药效学研究[D]. 青岛: 青岛科技大学, 2024.
GAO XT. Preparation of a fucoidan-based drug delivery system and its pharmacological study [D]. Qingdao: Qingdao university of Science & Technology, 2024.

[20] 章宏. 玉米醇溶蛋白-岩藻多糖复合纳米体系的构建及其递送疏水性活性物质研究[D]. 杭州: 浙江海洋大学, 2021.
ZHANG H. Study on the construction of zein-fucoidan composite nanosystem and its delivery of hydrophobic active substances [D]. Hangzhou: Zhejiang Ocean University, 2021.

[21] HONG Z, HAO ZF, JUN HL, *et al*. Enhancing the stability of zein/fucoidan composite nanoparticles with calcium ions for quercetin delivery [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 193: 2070–2078.

[22] 黄娟, 黄金莉, 孙佳悦, 等. 岩藻多糖对免疫低下小鼠模型免疫功能和肠道菌群的调节作用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(5): 92–102.
HUANG J, HUANG JL, SUN JY, *et al*. Regulation of fucoidan on immune function and intestinal flora in immunocompromised mouse model [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2022, 22(5): 92–102.

[23] DI W, LAN T, ZHEN Z, *et al*. Delivery of hyperoside by using a soybean protein isolated-soy soluble polysaccharide nanocomplex: Fabrication, characterization, and in vitro release properties [J]. Food Chemistry, 2022, 386: 132837.

[24] ASLAM KM, LINGYUN C, LI L. Improvement in storage stability and resveratrol retention by fabrication of hollow zein-chitosan composite particles [J]. Food Hydrocolloids, 2020: 106477-. DOI: 10.1016/J.FOODHYD.2020.106477

[25] CHENG C, PENG S, LI Z, *et al*. Improved bioavailability of curcumin in liposomes prepared using a pH-driven, organic solvent-free, easily scalable process [J]. RSC Advances, 2017, 7(42): 25978–25986.

[26] YANG H, WANG S, YANG L, *et al*. Preparations, application of polysaccharide -protein nanoparticles and their assembly at the oil-water interface [J]. Food Science & Biotechnology, 2024, 33(1): 13–22.

[27] LUO D, ZHAO Q, ZHAO M, *et al*. Effects of limited proteolysis and high-pressure homogenisation on structural and functional characteristics of glycinin [J]. Food Chemistry, 2010, 122(1): 25–30.

[28] 杨丽, 许为东, 陈晨, 等. 负载紫檀芪的岩藻多糖-小麦醇溶蛋白纳米颗粒的制备及体外抗肝癌活性研究[J]. 中国粮油学报, 2023, 38(12): 106–113.
YANG L, XU WD, CHEN C, *et al*. Preparation and anti- hepatoma activity *in vitro* of pterostilbene loaded with fucoidan-gliadin nanoparticles [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2023, 38(12): 106–113.

[29] KEPPLER JK, STUHLDREIER MC, TEMPS F, *et al*. Influence of mathematical models and correction factors on binding results of polyphenols and retinol with *β*-lactoglobulin measured with fluorescence quenching [J]. Food Biophysics, 2014, 9(2): 158–168.

[30] TANG CH, WANG XY, LIU F, *et al*. Physicochemical and conformational properties of buckwheat protein isolates: influence of polyphenol removal with cold organic solvents from buckwheat seed flours [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2009, 57(22): 10740–10748.

[31] ZHANG JY, HAMADOU AH, CHEN C, *et al*. Entrapment of carvacrol in zein-trehalolipid nanoparticles via pH-driven method and antisolvent co-precipitation: Influence of loading approaches on formation, stability, and release [J]. LWT-Food Science and Technology, 2023, 183: 114916.

[32] ZHANG H, FENG H, LING J, *et al*. Enhancing the stability of zein/fucoidan composite nanoparticles with calcium ions for quercetin delivery [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 193: 2070–2078.

[33] 刘钱媛. 负载紫檀芪的玉米醇溶蛋白-褐藻糖胶纳米颗粒制备及生物活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
LIU QY. Study on the fabrication and biological activity of pterostilbene-loaded zein-fucoidan nanopasticles [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.

[34] 陈敬鑫, 刘族昕, 吕静祎, 等. 大豆分离蛋白/可溶性大豆多糖作为生物活性物质包埋载体的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2021, 36(4): 193–202.
CHEN JX, LIU ZX, LV JY, *et al*. Research progress of soybean protein isolate/soluble soybean polysaccharide as bioactive material embedding carrier [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2021, 36(4): 193–202.

[35] GUO Q, SU J, SHU X, *et al*. Fabrication, structural characterization and functional attributes of polysaccharide-surfactant-protein ternary complexes for delivery of curcumin [J]. Food Chemistry, 2020, 337: 128019–128019.

(责任编辑: 韩晓红　安香玉)