

岩藻黄素纳米复合物的制备及抗氧化、 抗肿瘤活性研究*

孙潇雯¹ 赵海龙² 赵丽丽³ 徐莹¹ 汪东风¹

(1. 中国海洋大学 食品科学与工程学院 青岛 266003; 2. 中国海洋大学 船舶中心 青岛 266003; 3. 青岛明月海藻集团有限公司 海藻活性物质国家重点实验室 青岛 266400)

摘要 岩藻黄素是一种脂溶性类胡萝卜素, 由于其水溶性差、环境敏感性强, 使其应用受到限制。本研究采用有机溶剂浸提、大孔树脂纯化法, 从裙带菜中提取高纯度岩藻黄素。通过复凝聚反应制备乳清分离蛋白-岩藻黄素-阿拉伯胶纳米复合物。通过透射电镜观察, 纳米复合物呈光滑的球形, 粒径约为 44nm。红外光谱则表明, 岩藻黄素与乳清分离蛋白、阿拉伯树胶发生相互作用, 导致联烯键、乙酰基等特征吸收峰被遮蔽。与单一岩藻黄素相比, 纳米包封的岩藻黄素具有较好的抗氧化活性稳定性。抗肿瘤实验表明, 纳米复合物保留了岩藻黄素抑制 HT29 细胞增殖的生物活性。

关键词 裙带菜; 岩藻黄素; 岩藻黄素纳米复合物; 抗氧化; 抗肿瘤

中图分类号 R284; R285 **doi:** 10.11693/hyhz20190500088

岩藻黄素(fucoxanthin, 图 1)是自然界中含量最丰富的类胡萝卜素, 主要分布在裙带菜、昆布、羊栖菜等褐藻, 以及三角褐指藻、金色奥杜藻、新月筒柱藻等微藻中, 约占自然界中类胡萝卜素总量的 10% (Zhu *et al.*, 2016)。研究表明, 岩藻黄素具有抗癌、减肥、抗炎和治疗糖尿病等活性(汪曙晖等, 2010; Peng *et al.*, 2011; Sathasivam *et al.*, 2018), 对人类健康具有重要意义, 具备开发成功能食品或者膳食补充剂的潜能。

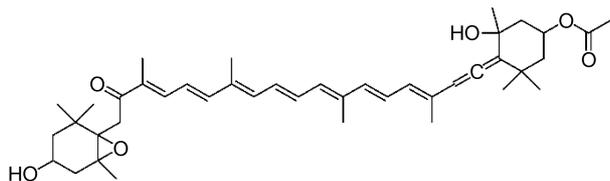


图 1 岩藻黄素结构

Fig.1 The structure of fucoxanthin

岩藻黄素市场前景十分广阔, 但却因其高度不

饱和结构, 存在水溶性差、环境敏感性强等缺陷 (Muthuirulappan *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2014; Zhu *et al.*, 2016), 这限制了它在食品工业中的应用范围。可以通过设计和构建一种保护性运载体系以增加其在水基质中的溶解度和稳定性, 克服应用限制。目前, 基于岩藻黄素稳态化技术构建的岩藻黄素运载体系非常少, 其中以脂质型载体和表面活性剂型载体为主, 如固体脂质纳米颗粒、微乳、纳米乳等。Dai 等(2014)利用以中链甘油三酯为油相, 以吐温 80 和 PEG400 为表面活性剂, 制备了负载岩藻黄素的 O/W 微乳, 储存 4 周后仍保留约 95% 的岩藻黄素。徐丽青等(2014)以吐温 80 为乳化剂, 采用高压微射流制备岩藻黄素纳米乳, 显著增加了岩藻黄素在酸性条件下的稳定性。Koo 等(2016)通过电喷雾系统构建了岩藻黄素-壳聚糖-酪蛋白纳米颗粒, 有效提高了岩藻黄素在水中的溶解度和稳定性。在前期研究中, 我们以吐温 80 为乳化剂, 以乳清分离蛋白或阿拉伯树胶为主要材料, 采用喷雾干燥技术制备了单一壁材的岩藻黄素

* 青岛市黄岛区自主创新重大项目, 2014-3-11 号; 海藻活性物质国家重点实验室开放基金资助项目, SKL-BASS1704 号。孙潇雯, 博士研究生, E-mail: sunxiaowen89@163.com

通信作者: 汪东风, 教授, 博士生导师, E-mail: wangdf@ouc.edu.cn

收稿日期: 2019-05-08, 收修改稿日期: 2019-05-20

载体,有效提高了其贮藏、热稳定性和耐模拟胃酸特性(Sun *et al.*, 2018)。然而在构建这些载体时,由于大量使用表面活性剂,带来极大的安全隐患;而引入高能设备可以降低表面活性剂的使用量,却增加了生产成本。因此,安全有效的运载体系亟需进行研发。

在前期研究的基础上,本研究期望利用简单、环保的复凝聚法,以乳清分离蛋白和阿拉伯树胶为基础高分子材料,构建岩藻黄素纳米复合物载体,并评价纳米包埋对岩藻黄素水溶性和生物活性的影响。本文研究结果对促进岩藻黄素功能食品的研发具有重要意义。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

干制裙带菜(*Undaria pinnatifida*)由山东佳宜水产食品有限公司提供。乳清分离蛋白(whey protein isolated, WPI)购于美国 Hilmar Ingredients 公司。阿拉伯胶(gum Arabic, GA)购于北京索莱宝生物科技公司。DMEM 培养基、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)均购于以色列 BI 公司。四唑盐(MTT)、二甲基亚砷(DMSO)购于北京白鲨易科技有限公司。

1.2 岩藻黄素的制备

将干燥的裙带菜用中药粉碎机粉碎 2—3min,粉末粒度在 50—300 目之间。利用本课题组建立的提取纯化方法制备高纯度岩藻黄素(汪东风等, 2017): 40°C 水浴、75%乙醇浸提、AB-8 大孔树脂纯化等流程制备天然岩藻黄素。通过 HPLC 检测岩藻黄素浓度,测定条件如下:检测器: DAD; 色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C18 column (4.6mm×250mm, 5μm); 柱温: 25°C; 检测波长: 450nm; 流速: 0.8mL/min; 流动相 A: 乙腈/水(80/20, v/v); 流动相 B: MTBE。流动相梯度变化程序: 0—10min, 流动相 B 从 0 线性增加到 10%, 然后恒定 10min, 最后在 5min 内返回至初始条件。采用外标法分析所制备岩藻黄素的浓度。

1.3 岩藻黄素纳米复合物的制备

分别制备 10mg/mL 的 WPI、GA 储备液。用 0.1mol/L NaOH 溶液调节 WPI 储备液 pH 至 8.0, 磁力搅拌 2h 后, 在 4°C 环境中静置过夜, 以使 WPI 充分水合(Hébrard *et al.*, 2013)。根据上一步检测的浓度, 用乙醇将岩藻黄素稀释至 1mg/mL。取 100mL WPI(1%, w/v)溶液, 加入 2mL 岩藻黄素溶液, 室温低速搅拌 30min。然后边搅拌边滴加 50mL GA(1%, w/v)溶液, 用 1mol/L HCl 溶液调节 pH 至 4.08, 继续搅拌

2h 以完成反应。将制备的岩藻黄素纳米复合物冻干后, 密封避光保存备用。

1.4 岩藻黄素纳米复合物表征

1.4.1 透射电镜观察 通过透射电镜(TEM)观察颗粒的形态和大小。吸取 5μL 新制备的溶液滴在铜网的碳支撑膜上, 滴加邻钨酸染色 5min, 用滤纸吸去多余溶液。室温干燥后, 用 TEM 观察拍照, 并通过 Image J 测量纳米颗粒大小。

1.4.2 粒度分析 在 25°C 的条件下, 用马尔文 Nano-ZS90 粒径分析仪测定纳米复合物悬液的粒径和多分散指数 PDI 值。

1.4.3 包封率测定(Wang *et al.*, 2014) 称取 0.5g 岩藻黄素纳米复合物, 用正己烷萃取颗粒表面的岩藻黄素; 另称取 0.5g 岩藻黄素纳米复合物, 加入适量等体积混合的正己烷/丙酮混合液, 涡旋振荡, 4000g 离心 5min, 取上层有机相, 重复操作两次至水相无色, 合并有机相即为纳米复合物中总的岩藻黄素。经氮吹除去有机相, 加入乙腈复溶, 过 0.22μm 滤膜后用 HPLC 检测岩藻黄素浓度, 测定条件参见 1.2。按公式(1)计算纳米复合物中岩藻黄素的包埋率 EE:

$$EE(\%)=(M-M_1)/M\times 100, \quad (1)$$

其中, M 和 M_1 分别表示纳米复合物中岩藻黄素的总质量和纳米复合物表面未被包埋的岩藻黄素的质量。

1.4.4 红外光谱鉴定 分别取单一岩藻黄素样品和岩藻黄素纳米复合物与 KBr 粉末研磨混合, 并压制成透明小圆片, 使用傅里叶变换红外光谱仪(FTIR), 扫描 400—4000/cm 范围内的光谱图。

1.5 ABTS 自由基(ABTS⁺)清除活性测定

参考 Li 等(2019)报道的 ABTS⁺脱色试验测定岩藻黄素和岩藻黄素纳米复合物的抗氧化作用。取等体积 7.4mmol/L ABTS 溶液与 2.6mmol/L 过硫酸钾溶液混合, 室温避光反应 16h, 然后用 0.1mmol/L PBS 缓冲液进行稀释, 使之在 734nm 处吸光值为 0.70±0.02。分别用乙醇和 0.1mmol/L PBS 缓冲液(pH 7.4)溶解单一岩藻黄素和纳米复合物, 调整岩藻黄素至合适浓度。取 40μL 样品与 4mL ABTS⁺工作液混匀, 避光反应 7min 后, 在 734nm 处测其吸光值。用 0.1mmol/L PBS 缓冲液作为对照组。按照公式(2)计算样品的 ABTS⁺清除率:

$$ABTS^+清除率(\%)=(A_c-A_s)/A_c\times 100, \quad (2)$$

其中, A_c 和 A_s 分别是对照组和样品组的吸光值。

然后将岩藻黄素及其纳米复合物进行不同处理(热处理: 90°C 水浴加热处理 1h; 酸处理: 将分散体系 pH

调至 2, 处理 2h; 紫外辐射处理: 紫外灯辐照处理 3h), 测定其清除 ABTS⁺ 的能力, 评估其抗氧化稳定性。

1.6 抑制肿瘤细胞增殖实验

将处于对数生长期的 HT29 细胞接种于 96 孔板内, 每孔 4×10^4 个细胞。在 37°C, 5% CO₂ 环境中孵育。岩藻黄素溶于 DMSO 中(DMSO 在溶液中的最终浓度小于 0.1%, v/v), 岩藻黄素纳米复合物溶于 PBS 缓冲液制备受试液母液。细胞孵育 24h 后, 分别加入 100 μL 无血清 DMEM 溶解的不同浓度(0、3.30、6.59、13.18、19.77、26.36、32.5 μg/mL)的单一岩藻黄素或其纳米复合物, 每组 6 个复孔。继续培养 24h 后, 用 37°C 预热的 PBS 缓冲液清洗细胞, 然后每孔加入 100 μL 无血清 DMEM 培养基和 10 μL 5 mg/mL 的 MTT-PBS 溶液。孵育 4h, 弃去溶液, 每孔加入 50 μL DMSO, 振荡 10 min 促溶。于 570 nm 波长下测定吸光

值, 计算细胞活力[公式(3)]:

$$\text{细胞活力}(\%) = A_t / A_c \times 100, \quad (3)$$

其中, A_c 和 A_t 分别是对照组和实验组的吸光值。

1.7 统计分析

实验结果表示为 $\bar{x} \pm \text{SD}$ 。数据统计分析采用 SPSS 单因素方差分析(One-Way ANOVA), $P < 0.05$ 表示差异显著, 使用 Origin 8.0.6.1 统计作图。

2 结果

2.1 岩藻黄素纳米复合物的表征

本研究通过透射电镜表征了岩藻黄素纳米复合物的微观结构特征, 如图 2 所示。单一岩藻黄素在水中形成不规则的聚集体(图 2a), 粒径超过 200 nm。而岩藻黄素纳米复合物呈规则的球形(图 2b), 平均粒径为 44 nm。

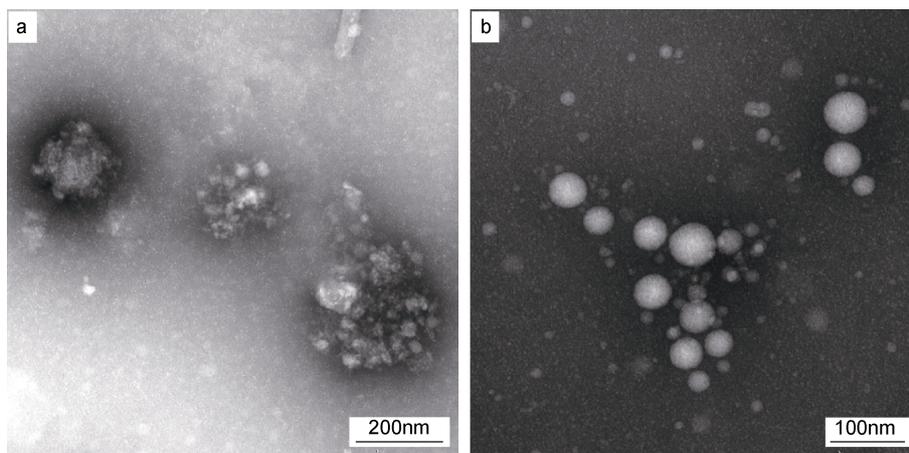


图 2 游离岩藻黄素(a)和岩藻黄素纳米复合物(b)透射电镜图片
Fig.2 TEM images of fucoxanthin (a) and fucoxanthin nanocomplex (b)

通过动态光散射对单一岩藻黄素和岩藻黄素纳米复合物进行粒度分析, 结果如图 3 所示。由电镜图可知, 游离岩藻黄素分散在水中形成聚集体。聚集体水合动力学半径为 316.9 nm (图 3a); 包埋处理组粒径下降明显(图 3b), 其水合半径为 $140.60 \text{ nm} \pm 2.57 \text{ nm}$ 。采用 PDI 法对纳米复合物的粒径分布情况进行分析, 数值越小表示分布越均匀。如图 3c 所示, 岩藻黄素水分散体系的 PDI 为 0.45 ± 0.03 。然而, 负载岩藻黄素的纳米复合物的 PDI 低于 0.3, 表明纳米颗粒尺寸分布均匀, 且分布范围较窄。

2.2 包埋率

纯化的岩藻黄素制品色谱图如图 4 所示, 色谱图中有 4 个峰, 主峰 为全反式岩藻黄素, 保留时间为

12.57 min; 峰 — 为其同分异构体。经 HPLC 测定和计算得, 0.5 g 岩藻黄素纳米复合物中岩藻黄素的总量为 6.25 mg, 同质量的复合物表面的岩藻黄素质量为 0.43 mg。代入公式(1)计算后得出, 制备的岩藻黄素纳米复合物的包埋率为 93.12%。

2.3 红外光谱分析

用红外光谱法研究了岩藻黄素与高分子材料的化学结合状况, 结果见图 5。对于单一岩藻黄素, 红外吸收光谱在 1928/cm 处有一个特征峰, 这是岩藻黄素独特官能团共轭双键(C=C)的特征峰; 在 2858/cm 处的峰代表 -C-H 的伸缩振动, 1363/cm 处的峰代表 -C-H 的弯曲振动, 3011/cm 处的峰代表 =C-H 的弯曲振动, 均是类胡萝卜素的特征峰; 在 1732/cm (-C=O 拉

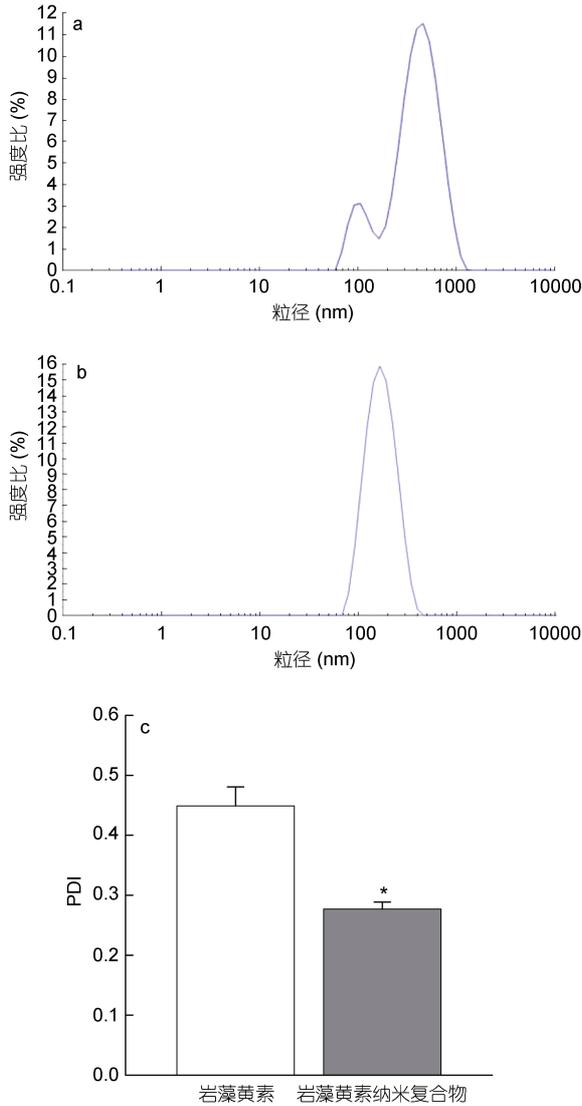


图3 游离岩藻黄素(a)和岩藻黄素纳米复合物(b)粒度分布图、多分散指数 PDI (c)

Fig.3 The particle size distribution of fucoxanthin (a), fucoxanthin nanocomplexes (b) and PDI (c)

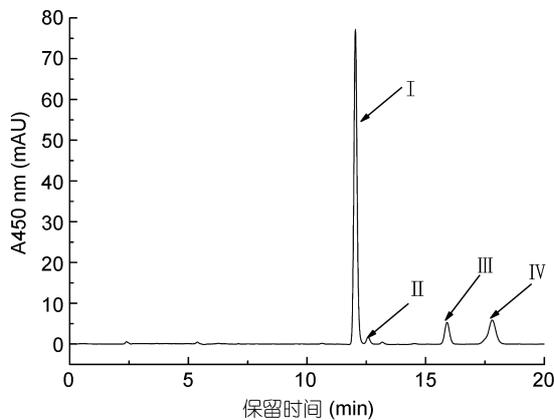


图4 纯化岩藻黄素的液相色谱图

Fig.4 HPLC chromatogram of purified fucoxanthin

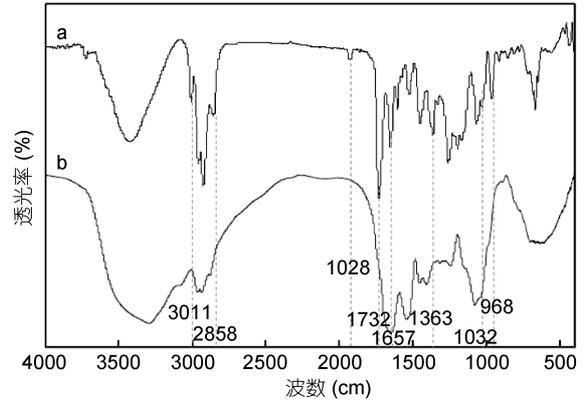


图5 单一岩藻黄素(a)和岩藻黄素纳米复合物(b)的红外光谱图

Fig.5 FTIR scanning spectra of fucoxanthin (a) and the fucoxanthin nanocomplex (b)

伸), 1032/cm (-C-O 拉伸), 是酯类的特征峰; 在 1657/cm 表示酮类物质(C=O)的存在。此外, 峰值 968/cm 为 C、C 共轭体系中 C-H 键面外弯曲振动的吸收峰, 是反式取代乙烯的特征峰。而在 WPI-Fx-GA 纳米复合物中, 岩藻黄素在 3011、2858、1928、1732、1363 以及 1032/cm 等特征峰均未出现。

2.4 抗氧化活性分析

为评价纯化岩藻黄素及其纳米复合物的抗氧化能力, 进行了 ABTS⁺清除还原能力的测定。如图 6 所示, 随着岩藻黄素浓度从 15μg/mL 增加到 60μg/mL, 岩藻黄素的还原能力缓慢增加, 60μg/mL 游离岩藻黄素的 ABTS⁺清除能力为 38.19%。而岩藻黄素纳米复合物表现出更高的抗氧化活性, 同样浓度为 60μg/mL

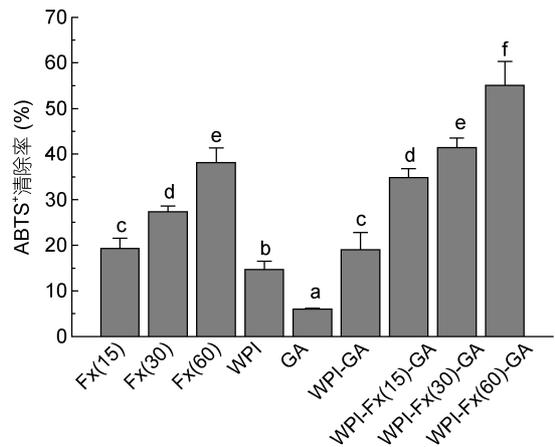


图6 岩藻黄素和纳米复合物对 ABTS⁺的清除能力

Fig.6 ABTS⁺ scavenging activity of fucoxanthin and nanocomplexes

注: WPI 浓度为 16mg/mL, GA 浓度为 8mg/mL, 与纳米复合物中浓度一致; 不同的字母代表有显著性的差异 $P < 0.05$ 。

的纳米复合物清除了 55.11% 的 $ABTS^+$ 。对照组中 WPI 和 WPI-GA, 均对 $ABTS^+$ 表现出一定的清除能力。因此, 我们可以得出结论, 经 WPI 和 GA 包埋处理显著提高了岩藻黄素清除 $ABTS^+$ 的能力, 明显高于单一的岩藻黄素。

考虑到岩藻黄素在不利的环境条件下很容易发生降解, 如紫外线照射, 高温和低 pH 等。因此, 采用 $ABTS^+$ 脱色试验评价包埋处理对岩藻黄素自

由基清除能力的影响。结果表明, 经酸处理、加热处理和紫外光处理后, 单一岩藻黄素对 $ABTS^+$ 的清除能力明显降低 ($IC_{50}=130.85-158.24\mu\text{g/mL}$)。纳米微胶囊化可以稳定岩藻黄素的抗氧化活性, 酸处理和加热处理对纳米复合物清除自由基的能力有着类似影响, 均显著增加了 IC_{50} 。紫外辐射处理结果比较出乎意料, 纳米复合物的 $ABTS^+$ 清除活性反而升高 (表 1)。

表 1 单一岩藻黄素和岩藻黄素纳米复合物对 $ABTS^+$ 的半数清除率
Tab.1 IC_{50} values of $ABTS^+$ scavenging of fucoxanthin and fucoxanthin nanocomplexes

样品	$ABTS^+$ 半数清除率 $IC_{50}(\mu\text{g/mL})$			
	对照组	酸处理	加热处理	紫外辐射
单一岩藻黄素	79.38 ± 0.47^{bA}	158.24 ± 1.28^{bD}	146.72 ± 0.77^{bC}	130.85 ± 0.91^{bB}
岩藻黄素纳米复合物	52.49 ± 0.35^{aB}	75.53 ± 0.44^{aD}	61.59 ± 0.40^{aC}	29.65 ± 0.22^{aA}

注: 数据表示为平均值±标准差($n=3$)。A—D 在同一行字母中, a, b 在同一列字母中, 相同表示差异不显著($P>0.05$), 不同则表示差异显著($P<0.05$)。

2.5 HT29 细胞抑制实验

研究表明, 与其他类胡萝卜素相比, 结肠癌细胞对岩藻黄素作用更为敏感(Hosokawa *et al*, 2004)。本研究采用 MTT 法研究了单一岩藻黄素和岩藻黄素纳米复合物对结肠癌细胞 HT29 存活率的影响, 同时以未处理的癌细胞作为对照。如图 7 所示, 不同浓度的岩藻黄素对细胞存活率的影响存在明显差异, 当岩藻黄素浓度增加到 $32.95\mu\text{g/mL}$, 癌细胞存活率降至 2.17%。而经岩藻黄素纳米复合物处理后, HT29 细胞增殖率受到明显抑制, 并且呈剂量依赖性。但是在与 HT29 细胞作用相同时间下, 纳米包埋过程降低了其

对细胞的毒性, 当岩藻黄素浓度为 $32.95\mu\text{g/mL}$ 时, 癌细胞活力仍为 63.72%。

3 讨论

3.1 岩藻黄素纳米复合物形态分析

岩藻黄素是一种脂溶性色素, 由于其较强的疏水性, 在细胞水环境中、加工过程中或者食品体系中受分子间作用力驱动, 自发组装形成聚集体(Simonyi *et al*, 2003; Gómez-Loredo *et al*, 2014), 因此表现出极低的水溶性。通过透射电镜观察到, 当将岩藻黄素乙醇溶液滴加到去离子水中时, 形成了形状不规则的聚集体; 而岩藻黄素与 WPI、GA 结合后, 形成光滑的球状颗粒。以上现象说明 WPI 和 GA 对岩藻黄素形成了比较好的包埋效果。

岩藻黄素与 WPI、GA 结合后, 形成的颗粒粒径小于 200nm, 因此可认为形成的复合物属于纳米复合物(Steichen *et al*, 2013)。并且溶液体系的 PDI 低于 0.3, 表明岩藻黄素纳米复合物符合单分散标准, 粒度分布单一(Sponton *et al*, 2015)。通过动态光散射分析单一岩藻黄素和复合物的粒径, 数据略大于透射电镜下观察到的粒径大小, 主要是由于采用该方法测量的是水合动力学粒径, 而透射电镜测量的是干燥状态的粒径。

3.2 岩藻黄素纳米复合物结构分析

红外光谱学可用于高效表征复合物结构中生物活性基团的存在或新键的形成。与单一岩藻黄素相比,

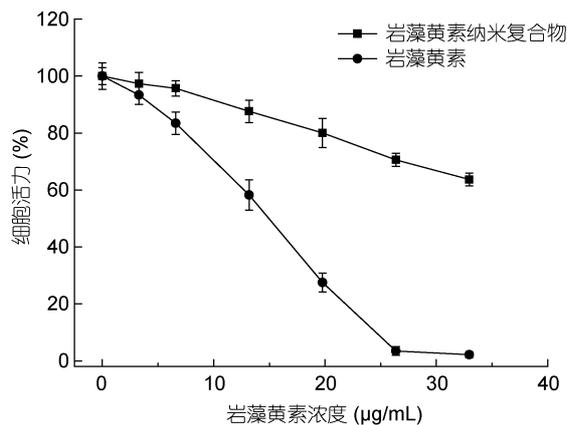


图 7 岩藻黄素在经纳米包埋前后对 HT29 细胞存活率的影响

Fig.7 Effect of fucoxanthin and fucoxanthin nanocomplexes on HT29 cell viability

岩藻黄素纳米复合物的光谱中多个岩藻黄素的特征吸收峰消失,如 1928/cm(联烯键伸缩振动峰)、1032 和 1732/cm 附近的特征峰(酯键伸缩振动峰),表明岩藻黄素被包封在纳米颗粒内部,并通过与 WPI、GA 基团之间发生相互作用,有效遮蔽了联烯键及六元环上的乙酰基等活性基团(Koo *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2018; Sun *et al.*, 2018)。岩藻黄素经纳米包埋后,实现了对活性基团的有效保护,有利于提高其贮藏稳定性和对光、热等不利条件的耐受能力,使得岩藻黄素在食品体系中的应用范围大大增加。

3.3 岩藻黄素纳米复合物抗氧化活性分析

在本实验条件下,单一岩藻黄素对 ABTS⁺的清除能力较低。研究认为岩藻黄素中共轭碳链和联烯键的存在是赋予其抗氧化活性的主要因素,然而,岩藻黄素分子中的乙酰基可能导致其 ABTS⁺清除活性相对较低(Sachindra *et al.*, 2007)。纳米包埋的岩藻黄素反而表现出更高的抗氧化活性,结合红外光谱结果知乙酰基被遮蔽可能是提高纳米复合物清除 ABTS⁺的原因之一。此外,乳清蛋白中的半胱氨酸、色氨酸和蛋氨酸等氨基酸残基具有较强的抗氧化活性(Elias *et al.*, 2005; Xu *et al.*, 2013)。而本研究所用的纳米复合物中乳清蛋白对 ABTS⁺表现出较高的清除能力,这一结果与 Ma 等人研究相似(Ma *et al.*, 2018)。因此,我们得出结论,乳清蛋白在提高 ABTS⁺清除能力中起着关键作用。

纳米包埋可以稳定岩藻黄素的抗氧化活性,减少酸处理和热处理对纳米复合物清除自由基能力的不利影响。然而,经紫外光照射处理 3h 后,纳米复合物对 ABTS⁺清除率增加了 38%。Fu 等(2018)发现 WPI 经紫外光照射 3h 后,其清除 ABTS⁺的能力增加至未处理 WPI 的 3.4 倍。因此我们推测,WPI 受到较高频率的紫外线辐射会发生电离和化学键断裂(Kuan *et al.*, 2013),导致更多的还原性氨基酸残基暴露,提高蛋白质的抗氧化活性,同时可以更好地防止岩藻黄素的降解,因此提高了纳米复合物的抗氧化活性。

3.4 岩藻黄素纳米复合物的细胞毒性分析

纳米包埋前后的岩藻黄素的细胞毒性效应通过 HT29 细胞进行评价,结果发现单一岩藻黄素及其纳米复合物均显著降低了 HT29 细胞的生存活力,且呈剂量依赖性。经单一岩藻黄素或岩藻黄素纳米复合物处理组中,随着岩藻黄素浓度增加,二者均明显表现出抑制 HT29 细胞增殖的作用。岩藻黄素即使被包埋到纳米复合物中,仍能保持其抗癌潜能,却与单一岩

藻黄素抗 HT29 细胞增殖活性效果存在显著差异。这一显著差异可能是由于纳米复合物释放岩藻黄素是一个缓释过程,与对照组相比,对癌细胞的作用较慢所致,这方面需要进一步的研究(Rahaiee *et al.*, 2017)。本研究结果表明,即使将岩藻黄素包埋在 WPI-GA 纳米颗粒中,也能够对癌细胞的增殖产生影响。

4 结论

本研究采用复凝聚法成功制备了岩藻黄素纳米复合物,实验结果表明,该方法制备的纳米颗粒增加了岩藻黄素在水中的溶解性,而且可以有效保护岩藻黄素的抗氧化稳定性,并且对岩藻黄素具有缓释作用。该流程为岩藻黄素相关产品的开发提供了技术支持,为传统海藻加工产业提供新的经济增长点,对于我国蓝色产业发展具有十分重要的意义。

参 考 文 献

- 汪东风,陈晓利,张莉等,2017-03-08. 高纯度岩藻黄素制备技术:中国, CN106478553A
- 汪曙晖,薛长湖,2010. 岩藻黄素的结构、性质和功能. 食品工业科技, 31(6): 408—410, 407
- 徐丽青,朱雪梅,熊华,2014. 高压微射流制备岩藻黄素纳米乳液的影响因素及其理化分析. 食品科学, 35(24): 45—50
- Dai J, Kim S M, Shin I S *et al.*, 2014. Preparation and stability of fucoxanthin-loaded microemulsions. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20(4): 2103—2110
- Elias R J, McClements D J, Decker E A, 2005. Antioxidant activity of cysteine, tryptophan, and methionine residues in continuous phase β -lactoglobulin in oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(26): 10248—10253
- Fu X J, Wusigale, Cheng H *et al.*, 2018. Mechanism for improved protection of whey protein isolate against the photodecomposition of folic acid. *Food Hydrocolloids*, 79: 439—449
- Gómez-Loredo A, Benavides J, Rito-Palomares M, 2014. Partition behavior of fucoxanthin in ethanol-potassium phosphate two-phase systems. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 89(11): 1637—1645
- Hébrard G, Hoffart V, Cardot J M *et al.*, 2013. Development and characterization of coated-microparticles based on whey protein/alginate using the Encapsulator device. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 39(1): 128—137
- Hosokawa M, Kudo M, Maeda H *et al.*, 2004. Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPAR γ ligand, troglitazone, on colon cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1675(1—3): 113—119

- Koo S Y, Mok I K, Pan C H *et al*, 2016. Preparation of fucoxanthin-loaded nanoparticles composed of casein and chitosan with improved fucoxanthin bioavailability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(49): 9428—9435
- Kuan Y H, Bhat R, Patras A *et al*, 2013. Radiation processing of food proteins—a review on the recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 30(2): 105—120
- Li H, Xu Y, Sun X *et al*, 2018. Stability, bioactivity, and bioaccessibility of fucoxanthin in zein-caseinate composite nanoparticles fabricated at neutral pH by antisolvent precipitation. *Food Hydrocolloids*, 84: 379—388
- Li H, Wang D F, Liu C Z *et al*, 2019. Fabrication of stable zein nanoparticles coated with soluble soybean polysaccharide for encapsulation of quercetin. *Food Hydrocolloids*, 87: 342—351
- Ma S, Wang C N, Guo M R, 2018. Changes in structure and antioxidant activity of β -lactoglobulin by ultrasound and enzymatic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 43: 227—236
- Muthuirulappan S, Francis S P, 2013. Anti-cancer mechanism and possibility of nano-suspension formulation for a marine algae product fucoxanthin. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(4): 2213—2216
- Peng J, Yuan J P, Wu C F *et al*, 2011. Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. *Marine Drugs*, 9(10): 1806—1828
- Rahaiee S, Hashemi M, Shojaosadati S A *et al*, 2017. Nanoparticles based on crocin loaded chitosan-alginate biopolymers: antioxidant activities, bioavailability and anticancer properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99: 401—408
- Sachindra N M, Sato E, Maeda H *et al*, 2007. Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21): 8516—8522
- Sathasivam R, Ki J S, 2018. A review of the biological activities of microalgal carotenoids and their potential use in healthcare and cosmetic industries. *Marine Drugs*, 16(1): 26
- Simonyi M, Bikádi Z, Zsila F *et al*, 2003. Supramolecular exciton chirality of carotenoid aggregates. *Chirality*, 15(8): 680—698
- Sponton O E, Perez A A, Carrara C R *et al*, 2015. Linoleic acid binding properties of ovalbumin nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 128: 219—226
- Steichen S D, Caldorera-Moore M, Peppas N A, 2013. A review of current nanoparticle and targeting moieties for the delivery of cancer therapeutics. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 48(3): 416—427
- Sun X W, Xu Y, Zhao L L *et al*, 2018. The stability and bioaccessibility of fucoxanthin in spray-dried microcapsules based on various biopolymers. *RSC Advances*, 8(61): 35139—35149
- Wang B, Adhikari B, Barrow C J, 2014. Optimisation of the microencapsulation of tuna oil in gelatin-sodium hexametaphosphate using complex coacervation. *Food Chemistry*, 158: 358—365
- Xu D X, Wang X Y, Jiang J P *et al*, 2013. Influence of pH, EDTA, α -tocopherol, and WPI oxidation on the degradation of β -carotene in WPI-stabilized oil-in-water emulsions. *LWT-Food Science and Technology*, 54(1): 236—241
- Zhao D, Kim S M, Pan C H *et al*, 2014. Effects of heating, aerial exposure and illumination on stability of fucoxanthin in canola oil. *Food Chemistry*, 145: 505—513
- Zhu J X, Sun X W, Chen X L *et al*, 2016. Chemical cleavage of fucoxanthin from *Undaria pinnatifida* and formation of apo-fucoxanthinones and apo-fucoxanthinals identified using LC-DAD-APCI-MS/MS. *Food Chemistry*, 211: 365—373

PREPARATION OF FUcoxANTHIN NANOCOMPLEXES AND THEIR ANTIOXIDANT AND ANTITUMOR ACTIVITY

SUN Xiao-Wen¹, ZHAO Hai-Long², ZHAO Li-Li³, XU Ying¹, WANG Dong-Feng¹

(1. College of Food Science and Technology, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Research Vessel Center, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 3. State Key Laboratory of Bioactive Seaweed Substances, Qingdao Brightmoon Seaweed Group Co Ltd, Qingdao 266400, China)

Abstract Fucoxanthin, a liposoluble carotenoid, has a limited application in food industry due to poor water solubility and strong environmental sensitivity. In the paper, high-purity fucoxanthin was prepared by organic solvent extraction in macroporous resin column chromatography from *Undaria pinnatifida*; then, fucoxanthin loaded whey protein isolated (WPI)-gum Arabic (GA) nanocomplexes were developed using complex coacervation. The nanocomplexes presented a smooth spherical shape with a diameter of about 44nm under TEM. The Fourier Transform infrared spectroscopy show that the typical peak of allenic bond and acetyl group vanished, indicating there was interaction between fucoxanthin and WPI/GA. The fucoxanthin nanocomplexes showed a higher antioxidant activity stability than free fucoxanthin. In addition, anti-tumor assay showed that the nanocomplexes retained the biological activity of fucoxanthin to inhibit the proliferation of HT29 cells.

Key words *Undaria pinnatifida*; fucoxanthin; fucoxanthin nanocomplexes; anti-oxidant; anti-tumor