DOI:10.12441/spyswjs.20251028001 [文章编号] 1673-1689(2026)01-0154-11

# 脂肽递送系统的构建及其抑菌作用研究

陈 蓉 郭明烨 侯 阁 陈 艳

(四川保宁醋有限公司,四川 阆中 637400)

**摘要:【目的】**通过构建稳定的脂肽(lipopeptide,LP)递送系统,提升其环境稳定性和分散性,进而增强其抗菌效果。**【方法】**利用壳聚糖(chitosan,CS)和海藻酸钠(sodium alginate,SA)构建LP微粒,通过差异构建及单因素试验研究其组装性质的变化;采用傅里叶红外光谱仪(FT-IR)和流变仪研究CS、LP、SA之间的相互作用及体系的流变特性;以大肠杆菌(*Escherichia coli*,*E. coli*)和金黄葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*,*S. aureus*)为模型菌株,探究LP微粒的抗菌效果。**【结果】**将相对分子质量300 000的CS滴入低黏度SA与LP的混合溶液中,且当三者质量比为1∶1∶1、搅拌速率为150 r/min、pH为4时,所构建的LP微粒封装效果最佳;此时LP微粒的封装率为(92.95±1.31)%,载药量为(41.14±1.63)%,粒径为420~489 nm,Zeta电位为(−21.56±3.54) mV。FT-IR结果表明,LP被包埋于LP微粒内部,微粒外壳为SA;流变学数据显示,该复合物为水凝胶结构。此外,LP微粒对*E. coli*和*S. aureus*具有较强的抑制作用,且其对温度和紫外辐照的敏感性较低。**【结论】**该研究构建的LP微粒可有效抑制LP的聚集效应,提升其抵抗环境胁迫的能力,为脂肽类抗菌剂在食品保鲜等领域的应用提供了一种新方案。

**关键词:**脂肽;聚电解质复合物;抗菌作用;壳聚糖;海藻酸钠

# Construction and Antibacterial Activity Evaluation of a Lipopeptide Delivery System

*CHEN Rong GUO Mingye HOU Ge CHEN Yan*

(Sichuan Baoning Vinegar Co., Ltd., Langzhong 637400, China)

**Abstract:** [**Objective**] This study constructed a stable lipopeptide (LP) delivery system to improve the stability and dispersibility of LP, thereby enhancing their antibacterial efficacy. [**Method**] LP particles were constructed with chitosan (CS) and sodium alginate (SA). Assembly property changes were evaluated by means of different construction and single factor experiments. Interactions among CS, LP, and SA were investigated by Fourier transform-infrared spectroscopy (FT-IR), and the rheological properties of the system were examined by a rheometer. Antibacterial activity of LP particles was evaluated with *Escherichia coli* (*E.coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) as model microorganisms. [**Result**] LP particles prepared by dripping CS with the relative molecular mass of 300 000 into a mixed solution of SA (low viscosity) and LP at the CS∶LP∶SA mass ratio of 1∶1∶1, 150 r/min, and pH 4 achieved the best encapsulation performance. The LP particles prepared under the conditions above showed the encapsulation rate of (92.95±1.31)%, loading content of (41.14±1.63)%, particle size of 420~489 nm, and Zeta potential of (–21.56±3.54) mV. FT-IR results indicated that LP was encapsulated inside the particles, with SA forming the outer shell. Rheological data confirmed a hydrogel-like structure. In addition, LP particles showed strong inhibitory effects against both *E. coli* and *S. aureus* and resistance to thermal and UV stress. [**Conclusion**] LP particles constructed in this study not only reduce LP aggregation but also provides effective protection against environmental stress, offering a promising strategy for the delivery of LP-based

**基金项目:**食醋胀气变质新型细菌防控关键技术研究及应用的成果转化应用项目(2023ZHCG0081)。

**通信作者:**陈蓉(1982—),女,学士,主要从事调味品、肉制品研究。E-mail: 18188530@qq.com

**收稿日期:**2025-10-28 **修回日期:**2025-12-11

antimicrobials in fields such as food preservation.

**Keywords:** lipopeptide; polyelectrolyte complex; antibacterial activity; chitosan; sodium alginate

LP是一类由微生物产生的天然生物表面活性剂，具有广谱抗菌活性、生物可降解性及不易诱导耐药性等优点，在食品保鲜领域具有极大的应用潜力[1]。然而，其两亲性结构易导致自聚集现象，且对温度、紫外光照等环境敏感，极大地限制了其实际应用场景[2-3]。因此，构建高效递送系统以增强LP的环境稳定性、抑制其无序聚集并实现可控释放，是推动其产业化应用的关键。但现有的封装策略（如脂质体、乳化交联等）多基于LP的疏水脂肪链设计，普遍存在封装率与载药量偏低的问题。更重要的是，现有体系多聚焦于利用LP的疏水端，却忽视了亲水环肽链的静电特性在递送系统构建中的潜在作用，尤其是利用环肽的静电特性参与递送系统组装的策略鲜有报道。

CS和SA通过聚电解质自组装技术构建的聚电解质复合物系统，凭借其自组装过程条件温和、生物相容性优异、可降解性良好及结构可调性强等优势，已成为活性分子递送领域的研究热点[4]。在该系统中，CS的氨基葡萄糖单元赋予其控制释放、增强渗透等特性[5]。但利用CS单独构建的载体会出现吸水失控、物理结构不稳定或流变性能不足等缺陷，而将SA与CS复合形成聚电解质复合物，是克服上述缺陷的有效方法[6-9]。然而，将两者用于封装LP，并利用LP亲水环肽链的静电特性参与三元协同组装的研究鲜见报道。与以往依赖LP疏水链封装策略不同，LP自身的理化性质会深度介入复合物的组装过程，对递送系统的最终性能产生决定性影响[10]。因此，系统研究LP在CS-SA体系中的封装机制具有重要的理论与实践意义。

本研究以表面活性素（LP的代表性化合物）为模型，旨在系统探究其在CS-SA体系中的封装机制与构效关系。通过差异构建LP微粒及单因素试验，制备封装率高、载药能力强、分散性好、聚电解质结构稳定的LP微粒；随后，运用FT-IR和流变学技术，揭示LP与CS、SA之间的相互作用机制；最后，以*E. coli*和*S. aureus*为模型菌株，评估所构建的递送系统在模拟环境胁迫（温度、紫外辐照）下的抗菌活性。本研究不仅为开发高效、稳定的LP递送系统提供新策略，也期望从分子相互作用层面深化对聚电解质-两亲分子复合系统组装规律的理解，为相关功能性递送系统的设计提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

LP（纯度≥99%）、CS1（相对分子质量30 000，纯度99%）、CS2（相对分子质量300 000，纯度≥99%）、氯化十六烷基吡啶（CPC，纯度≥98%）、溴百里酚蓝（BTB）：上海麦克林生化科技有限公司；低黏度SA、中黏度SA：上海阿拉丁生化科技股份有限公司；LB培养基：上海唯地生物技术有限公司；硫酸、乙酸、苯酚、无水乙醇：均为分析纯，成都科隆化学品有限公司。*E. coli* ATCC25922、*S. aureus* ATCC6538p：西华师范大学微生物实验室。

### 1.2 仪器与设备

恒流泵：HL-2型，上海精科实业有限公司；磁力搅拌仪：SCN 10型，上海小聪科技有限公司；酶标仪：Multiskan Sky型，美国Thermo Fisher Scientific公司；超纯水仪：Dura 24 FV型，上海泽拉布仪器科技有限公司；离心机：Heraeus Multifu X1R型，美国Thermo Fisher Scientific公司；FT-IR：Nicolet is50型，美国Thermo Fisher Scientific公司；流变仪：HAAKE Mars III型，美国Thermo Fisher Scientific公司；激光粒度扫描仪：ZS90型，英国MARLVEN公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 LP质量的测定

利用CPC-BTB比色法测定LP质量[11]。用PBS缓冲液（pH=8.0）分别配制0.2 mmol/L的CPC和BTB溶液，将2种溶液按体积比1∶1混合，得到CPC-BTB溶液。在酶标板上分别加入50 μL不同质量浓度（50、100、150、200、250、300、350、400、450、500 μg/mL）的表面活性素标准溶液，再向每孔加入100 μL CPC-BTB溶液。将酶标板置于25 ℃避光条件下反应5 min，以CPC-BTB溶液为空白对照，采用酶标仪测定其在600 nm下的吸光度。以表面活性素质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标建立回归方程，并计

算LP质量。

1.3.2 CS质量的测定

参照戴照琪等[12]的方法测定CS质量。用0.5 mol/L的醋酸溶液将CS分别配制为0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mg/mL的标准溶液。以100 μL 0.5 mol/L的醋酸溶液为空白对照，在100 μL CS标准溶液中依次加入100 μL pH 5.5的醋酸钠缓冲液、10 mg/mL茚三酮试剂，充分混匀后置于沸水浴中加热10 min。冷却至室温后，加入体积分数60%的乙醇至1 mL，静置20 min后，采用酶标仪于570 nm处测定吸光度。以CS质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标建立回归方程，并计算CS质量。

1.3.3 SA质量的测定

参照施佳利[13]的方法测定SA质量。将SA分别配制为不同质量浓度（10、20、30、40、50、60、70、80、90 μg/mL）的标准溶液。以蒸馏水为空白对照，向0.4 mL SA溶液中加入0.2 mL苯酚溶液（50 mg/mL），振荡混匀后加入1 mL硫酸，将反应体系置于沸水浴中加热5 min。冷却至室温后，采用酶标仪测定样品于490 nm下的吸光度。以SA质量浓度为横坐标、吸光度为纵坐标建立回归方程，并计算SA质量。

1.3.4 LP微粒的构建及封装率与载药量的测定

按照表1的构建方式，在室温（25 ℃）下分别将CS溶液、SA溶液和LP溶液进行混合与滴加，完成LP微粒的构建。2种溶液混合时，每种溶液的体积均为1 mL、质量浓度均为2 mg/mL；混合后以1 mL/min滴入2 mL CS溶液（1 mg/mL）。随后用HCl或NaOH溶液调节样品的pH至6.5，确保三者混合后的最终质量比为1∶1∶1。在混合过程中，保持转速为100 r/min，滴加的同时利用磁力搅拌器将3种溶液搅拌均匀，于20 ℃、12 000 r/min条件下离心10 min，所得沉淀即为LP微粒。

LP微粒封装率按式（1）计算。

$$E=\frac{L_T-L_S}{L_T}\times 100\% \quad (1)$$

式中：

$E$——LP微粒封装率，%；

$L_T$——LP总质量，mg；

$L_S$——上清液中LP的质量，mg。

LP微粒的载药量按式（2）计算。

表1 LP微粒的构建方式

Table 1 Construction methods of LP particles

| 组别 | 构建方式 |
|---|---|
| G1组 | CS1+LP→SA（低黏度） |
| G2组 | SA（低黏度）→CS1+LP |
| G3组 | SA（低黏度）+LP→CS1 |
| G4组 | CS1→SA（低黏度）+LP |
| G5组 | CS1+LP→SA（中黏度） |
| G6组 | SA（中黏度）→CS1+LP |
| G7组 | SA（中黏度）+LP→CS1 |
| G8组 | CS1→SA（中黏度）+LP |
| G9组 | CS2+LP→SA（低黏度） |
| G10组 | SA（低黏度）→CS2+LP |
| G11组 | SA（低黏度）+LP→CS2 |
| G12组 | CS2→SA（低黏度）+LP |
| G13组 | CS2+LP→SA（中黏度） |
| G14组 | SA（中黏度）→CS2+LP |
| G15组 | SA（中黏度）+LP→CS2 |
| G16组 | CS2→SA（中黏度）+LP |

注：“+”表示2种溶液混合；“→”表示溶液流动方向。

$$L_C=\frac{L_T-L_S}{(C_T-C_S)+(L_T-L_S)+(S_T-S_S)}\times 100\% \quad (2)$$

式中：

$L_C$——LP微粒的载药量，%；

$L_T$——LP总质量，mg；

$L_S$——上清液中LP的质量，mg；

$C_T$——CS总质量，mg；

$C_S$——上清液中CS的质量，mg；

$S_T$——SA总质量，mg；

$S_S$——上清液中SA的质量，mg。

1.3.5 Zeta电位与粒径分布的测定

参考Stetefeld等[14]的方法对LP微粒的Zeta电位和粒径分布进行测定。用少量蒸馏水重悬LP微粒并放入样品池中，利用激光粒度扫描仪测定其Zeta电位与粒径分布。

1.3.6 LP微粒的单因素试验

1）转速：考察不同转速（100、150、200、250、300、350 r/min）对LP微粒封装率、载药量、Zeta电位和粒径分布的影响。LP微粒构建方式为CS2→SA（低黏度）+LP，CS、LP、SA质量比为1∶1∶1，构建体系pH为6。

2）质量比：考察不同CS、LP、SA质量比（5∶1∶1、4∶1∶1、3∶1∶1、2∶1∶1、1∶1∶1、1∶1∶2、1∶1∶3、1∶1∶4、1∶1∶5）对LP微粒封装率、载药量、

Zeta电位和粒径分布的影响。构建方式为CS2→SA（低黏度）+LP，转速为150 r/min，构建体系pH为6。

3）pH：考察不同pH（1、2、3、4、5、6、7）对LP微粒封装率、载药量、Zeta电位和粒径分布的影响。构建方式为CS2→SA（低黏度）+LP，转速为150 r/min，CS、LP、SA质量比为1∶1∶1。

1.3.7　FT-IR的测定

采用KBr压片法，以CS、SA、LP为对照，通过FT-IR分析LP微粒的化学键和官能团信息[15]。室温下在4 000~400 $cm^{-1}$内记录光谱。

1.3.8　流变性质的测定

参照Su等[16]和Giuntoli等[17]的方法，使用流变仪评估LP微粒的屈服应力-模量、黏度-剪切率和频率-模量关系。其中储能模量（$G'$）按式（3）计算，损耗模量（$G''$）按式（4）计算，损耗因子（tan $\delta$）按式（5）计算。

$$G'=K'\times\omega^{n'} \quad (3)$$

式中：

$G'$——储能模量，Pa；

$K'$——常数，Pa·$s^n$；

$n'$——频率指数；

$\omega$——频率，$s^{-1}$。

$$G''=K''\times\omega^{n''} \quad (4)$$

式中：

$G''$——损耗模量，Pa；

$K''$——常数，Pa·$s^n$；

$n''$——频率指数；

$\omega$——频率，$s^{-1}$。

$$\tan\delta=G''/G' \quad (5)$$

式中：

tan $\delta$——损耗因子；

$G'$——储能模量，Pa；

$G''$——损耗模量，Pa。

1.3.9　LP微粒抑菌性能的测定

参照纪帅奇等[18]的方法，分别向*E. coli*和*S. aureus*培养基中加入CS（0.32 mg/mL）、SA（1.43 mg/mL）、LP（1.25 mg/mL）、LP微粒（3.00 mg/mL，其中封装的LP质量浓度为1.25 mg/mL），随后连续培养24 h。培养期间，每隔2 h采用酶标仪测定菌液的$OD_{600}$值，以培养时间为横坐标、$OD_{600}$值为纵坐标，分别绘制*E. coli*和*S. aureus*的生长曲线。

分别对LP和LP微粒进行升温（模拟常温储藏的波动上限温度，40 ℃处理0~6 h）和紫外辐照（模拟食品加工环境或透明包装食品在光照贮藏中所受到的紫外暴露，处理0~24 h）。将处理后的LP和LP微粒分别加入*E. coli*和*S. aureus*培养基中，以未添加任何样品、正常培养基培养的*E. coli*和*S. aureus*为空白对照，连续培养12 h后，采用酶标仪测定菌液的$OD_{600}$值。

1.3.10　统计分析

采用SPSS 17.0软件进行统计分析，用Origin 9.0绘图，结果用平均值±标准差表示。使用One-Way ANOVA进行显著性分析，其中$P<0.05$表示差异显著，$P<0.01$表示差异极显著。

## 2　结果与讨论

### 2.1　LP微粒构建方式的确定

为了构建封装率高、载LP能力强且分散性好的LP微粒，本研究首先对LP微粒的构建方式进行了研究，见表2。结果表明，构建方式为SA（低黏度）→CS1+LP的G2组与构建方式为CS2→SA（低黏度）+LP的G12组封装率和载药量较高。这可能是由于此类构建方式有利于CS与SA发生充分且有序的静电络合反应，从而将LP有效地封装于形成的聚电解质网络之中。相比之下，将同样带负电荷的SA与LP混合后再滴入CS的构建方式（SA+LP→CS）效果普遍较差，推测这可能是由于SA与LP之间的静电排斥作用阻碍了两者与CS的有效组装。

由于聚电解质复合物的粒径分布会影响其封装物的水溶液分散性[19]，因此本研究对LP微粒的粒径分布进行了测定，见图1（a）。结果表明，不同构建方式对LP微粒的粒径分布影响较大，其中G12组的粒径分布最为集中（661~769 nm），表明该条件下形成的LP微粒均一性较好。Zeta电位用于衡量聚电解质复合物的稳定性，当其绝对值>30 mV时，体系具有足够的静电斥力以维持良好的物理稳定性。由图1（b）可知，除G2组、G4组、G9组、G10组、G11组外，其余各组的Zeta电位均>30 mV。其中G12组的Zeta电位最大，表明以CS2→SA（低黏度）+LP方式构建的LP微粒在水溶液中具有良好的稳定性。综上可知，G12组的构建方式可形成结构稳定、分散均一的LP微粒。

表 2　不同构建方式对 LP 微粒封装率和载药量的影响

Table 2　Encapsulation rates and loading content of LP particles constructed with different methods

| 组别 | 封装率/% | 载药量/% |
|---|---|---|
| G1 组 | 83.97±4.29 | 33.38±3.39 |
| G2 组 | 94.59±3.87 | 41.28±3.42 |
| G3 组 | 73.43±5.01 | 24.83±2.48 |
| G4 组 | 71.47±7.12 | 22.14±1.76 |
| G5 组 | 75.12±5.27 | 25.21±1.94 |
| G6 组 | 79.77±8.35 | 29.68±5.63 |
| G7 组 | 70.54±5.75 | 20.04±3.59 |
| G8 组 | 73.32±3.76 | 23.01±1.90 |
| G9 组 | 70.94±4.25 | 20.39±1.60 |
| G10 组 | 81.69±2.36 | 31.59±3.62 |
| G11 组 | 70.58±4.50 | 20.26±1.77 |
| G12 组 | 91.96±4.30 | 40.09±2.02 |
| G13 组 | 60.23±6.09 | 10.85±1.55 |
| G14 组 | 70.50±1.80 | 19.95±2.93 |
| G15 组 | 72.33±3.78 | 22.70±2.21 |
| G16 组 | 78.58±3.08 | 27.06±1.71 |

因此，后续研究将基于 G12 组的构建方式，进一步考察 LP 微粒构建因素对其组装行为及性能的影响。

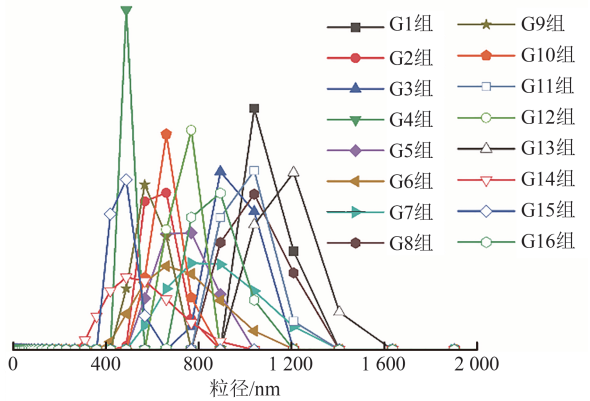
## 2.2　LP 微粒的单因素试验结果

### 2.2.1　转速对 LP 微粒的影响

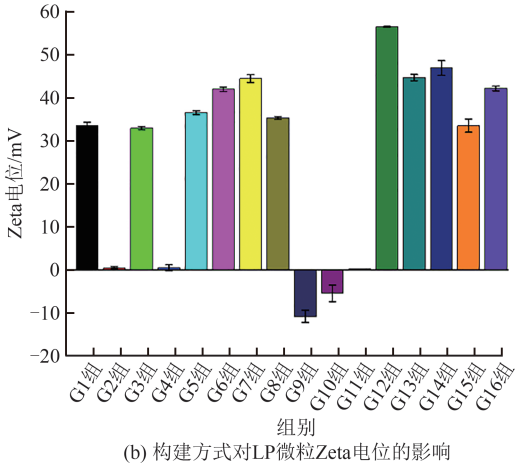
转速会影响聚电解质之间的相对扩散速度，进而影响 LP 微粒的组装，因此本研究对构建 LP 微粒的转速进行了优化，见图 2。随着转速的升高，LP 微粒的封装率和载药量均呈现先升高后降低的趋势；当转速为 150 r/min 时，封装率和载药量均最高。提高转速可增强 CS、LP 与 SA 的混合效率，促进聚电解质分子链间的有效碰撞与络合；当转速过高时，过强的剪切力可能会破坏已形成或正在形成的复合物结构，导致封装率下降。转速对 LP 微粒的粒径分布和 Zeta 电位影响较小，各转速下微粒均保持较强的正电性和相对集中的粒径范围。综上可知，150 r/min 是兼顾高封装率与稳定结构的最优转速。

### 2.2.2　CS、LP、SA 质量比对 LP 微粒的影响

CS、LP、SA 质量比会影响聚电解质复合物的结构及性能[20]，因此本研究对三者的质量比进行了优化，见图 3。结果表明，当体系中固定 LP 与 SA 质量比，仅减少 CS 质量时，封装率和载药量逐渐上升并在质量比 1∶1∶1 时达到最佳；当固定 CS 与 LP 质量比，仅增加 SA 质量时，封装率和载药量则呈下降趋势。这表明体系存在一个最优的电荷平衡点（CS、LP、SA 质量比 1∶1∶1），此时阳离子




(a) 构建方式对LP微粒粒径分布的影响




(b) 构建方式对LP微粒Zeta电位的影响

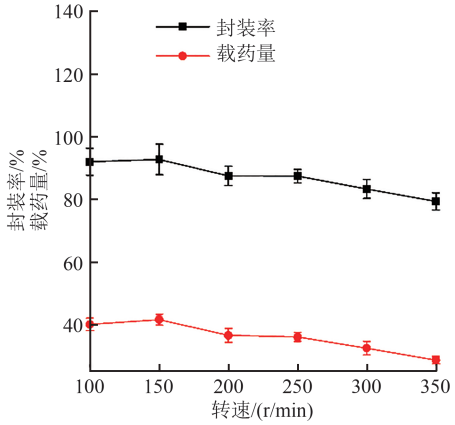
图 1　构建方式对 LP 微粒粒径分布和 Zeta 电位的影响

Fig. 1　Effects of construction methods on particle size distribution and Zeta potential of LP particles

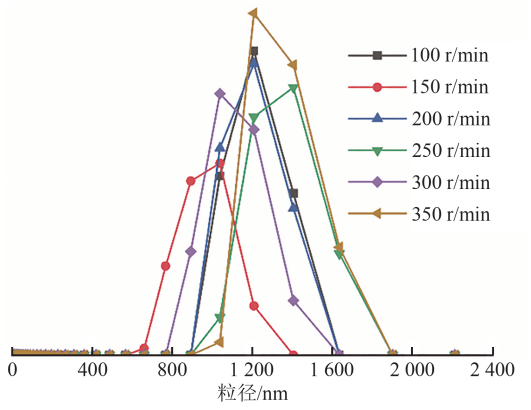
（CS）与阴离子（SA 及 LP）提供的电荷量最为匹配，有利于形成结构致密、封装完整的复合物。由图 3（b）可知，提高 CS 的质量占比可减小 LP 微粒粒径并使其分布更集中，这可能源于过量 CS 对复合物核心的压缩与稳定作用。然而，Zeta 电位的变化趋势较为复杂。当 CS 质量占比较高时，Zeta 电位出现剧烈波动，表示此时组装机理或表面性质可能发生突变[21]；而当 SA 过量时，Zeta 电位随 SA 质量占比的增加而下降，复合物表面负电性增强，这与 SA 在微粒表面的覆盖度增加有关。基于最优封装率、载药量及综合性能，后续试验采用 1∶1∶1 的质量比。

### 2.2.3　pH 对 LP 微粒的影响

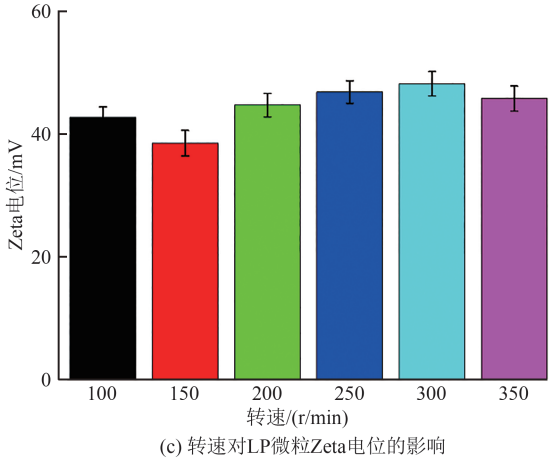
pH 可影响各电解质的电离状态，调控静电组装过程，对分子组装具有较大影响[22]，因此本研究对 LP 微粒组装时的 pH 进行了优化，见图 4。当 pH 为 1~7 时，LP 微粒封装率和载药量随 pH 升高



(a) 转速对LP微粒封装率和载药量的影响



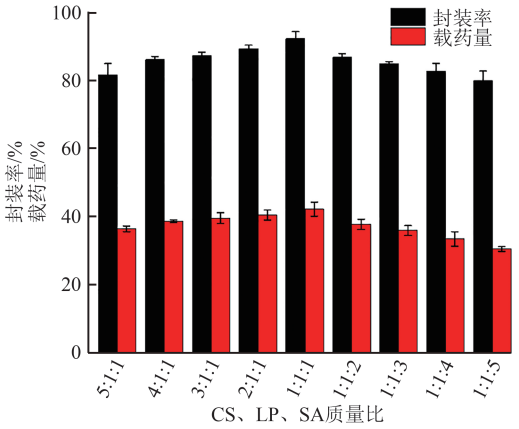
(b) 转速对LP微粒粒径分布的影响



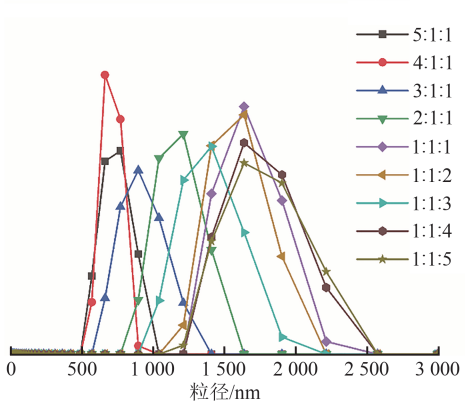
(c) 转速对LP微粒Zeta电位的影响

图 2　转速对 LP 微粒的影响

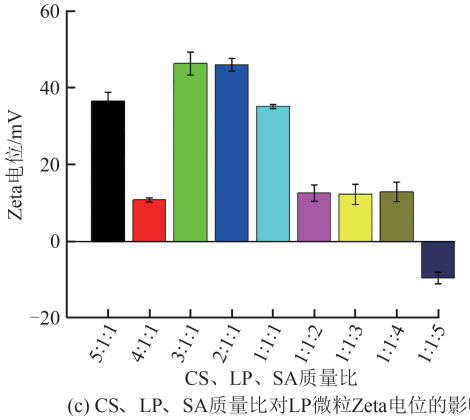
Fig. 2　Effects of stirring speed on LP particles



(a) CS、LP、SA质量比对LP微粒封装率和载药量的影响



(b) CS、LP、SA质量比对LP微粒粒径分布的影响

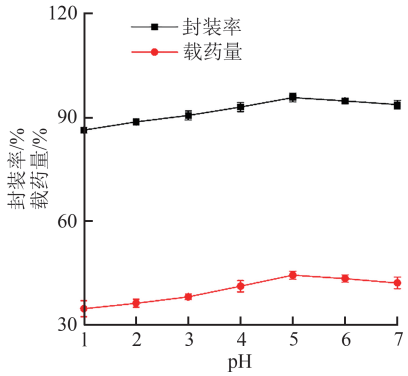


(c) CS、LP、SA质量比对LP微粒Zeta电位的影响

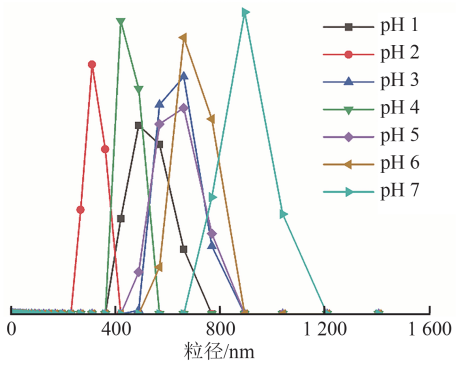
图 3　CS、LP、SA 质量比对 LP 微粒的影响

Fig. 3　Effects of CS∶LP∶SA mass ratio on LP particles

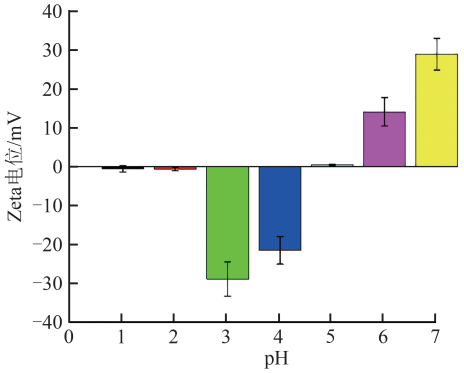
呈先升高后略有降低的趋势，当 pH 为 5 时均达到最大值。这是因为在过低 pH 下，CS 的氨基高度质子化，但 SA 羧基质子化程度高、电离度低，导致静电驱动力不足[23]；随着 pH 升高，SA 电离度增加，与 CS 的静电作用增强；但当 pH 超过 CS 的酸度系数后，CS 发生去质子化，阳离子特性减弱，与 SA 的络合能力下降。当 pH 为 1~3 时，LP 微粒的粒径与 Zeta 电位均出现不规则波动，这可能与 SA 在强酸下溶解性变化及结构破坏有关；当 pH 为 4~6 时，体系趋于稳定。尽管当 pH 为 5 时的封装率与载药量最高，但此时 LP 微粒的 Zeta 电位接近 0 mV，预示胶体稳定性较差。相比之下，当 pH 为 4 时，LP 微粒在保持较高封装率和载药量的同时，兼具较集中的粒径分布和适中的 Zeta 电位，表明




(a) pH对LP微粒封装率和载药量的影响




(b) pH对LP微粒粒径分布的影响




(c) pH对LP微粒Zeta电位的影响

图 4　pH 对 LP 微粒的影响

Fig. 4　Effects of pH on LP particles

其具有良好的分散性与稳定性。因此，选择 pH 4 作为后续 LP 微粒表征与应用的优化条件。

综上，LP 微粒构建的最优工艺参数为：转速 150 r/min、三者质量比 1∶1∶1、pH 4。此时构建的微粒具有较高的封装率、载药量及良好的分散稳定性；LP 的封装率为（92.95±1.31）%，载药量为（41.14±1.63）%，粒径为 420~489 nm，Zeta 电位为（−21.56±3.54）mV。为进一步阐明该微粒的化学结构以及 CS、SA、LP 之间的相互作用机制，后续将利用 FT-IR 对体系内各组分的键合状态进行分析。

## 2.3　LP 微粒的 FT-IR 结果

本研究利用 FT-IR 探究 CS、LP、SA 在 LP 微粒中的分子相互作用[24]。LP 微粒、CS-SA 聚电解质复合物、CS、LP、SA 的 FT-IR 结果见图 5。其中 3 600~3 000 $cm^{-1}$ 处的吸收峰是多糖类化合物中多个 C—OH 伸缩振动叠加形成的[25]，1 650~1 550 $cm^{-1}$ 处为羰基伸缩振动产生的尖锐吸收峰[26]。LP 的 FT-IR 中除了羰基吸收峰外，还出现了 1 659 $cm^{-1}$ 处的酰胺 I 吸收峰、1 541 $cm^{-1}$ 处的酰胺 II 吸收峰和 1 466 $cm^{-1}$ 处的酰胺 III 吸收峰[24]。与 LP 相比，LP 微粒的酰胺吸收峰消失；与 CS 和 SA 相比，LP 微粒不但出现了较宽的吸收峰（3 600~3 000 $cm^{-1}$），还存在羰基吸收峰。这一结果表明，LP 微粒的表面结构为多糖类化合物，且 LP 被成功封装在 LP 微粒内部。为深入探究 LP 微粒的微观结构与力学性能，接下来将通过流变学手段对其进行系统表征。

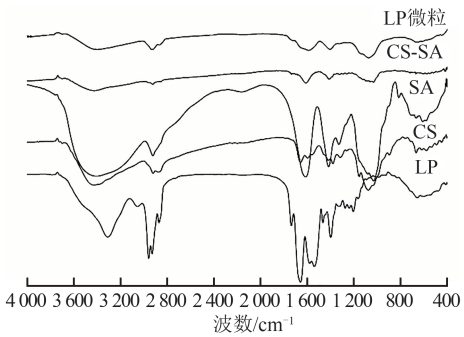


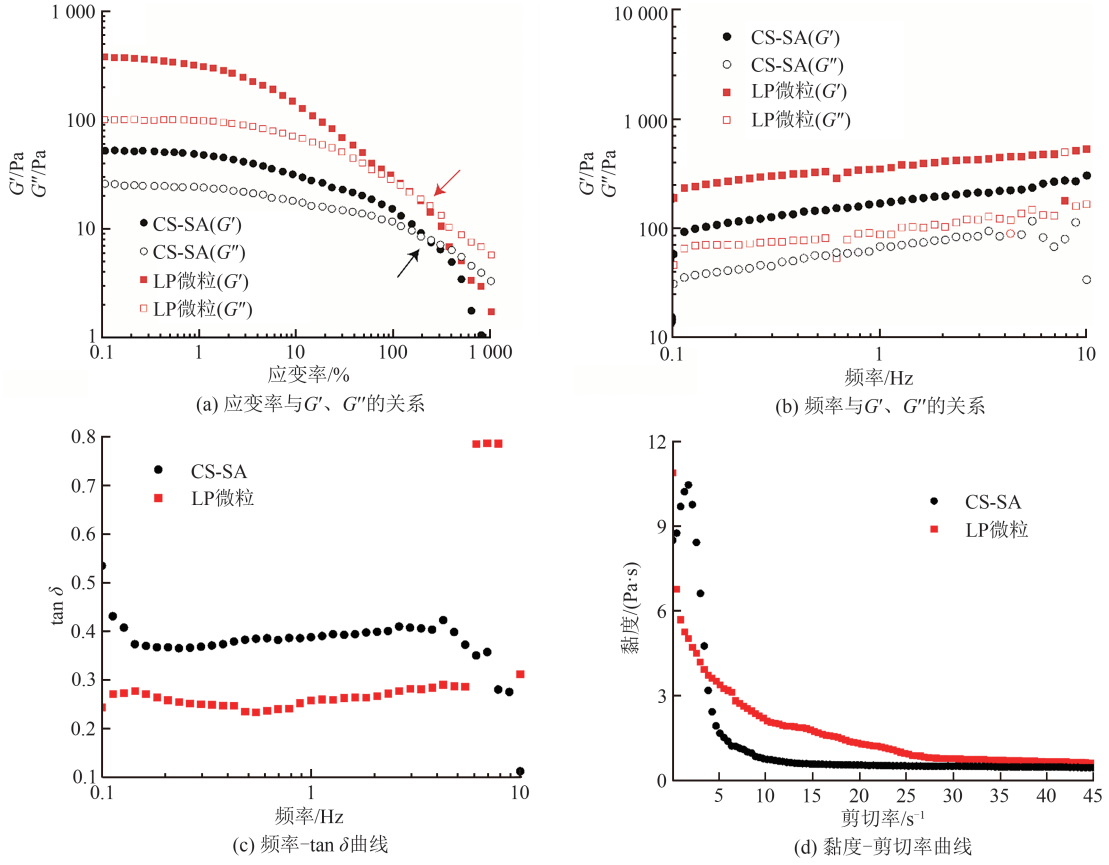

图 5　LP 微粒、CS-SA、SA、CS、LP 的 FT-IR 图

Fig. 5　FT-IR spectra of LP particles, CS-SA, SA, CS, and LP

## 2.4　LP 微粒的流变性质

为研究 LP 微粒的力学性能和微观结构，作者对 LP 微粒的流变性质进行了测定，见图 6。结果表明，CS-SA 与 LP 微粒均表现出固体凝胶行为（初始 $G'>G''$）和剪切稀化特性（模量随应变率增加而下降）。与 CS-SA 相比，LP 微粒在更低的应变下即发生 $G'$ 与 $G''$ 的急剧下降并出现屈服现象，表明 LP 的加入使凝胶网络在应力作用下更易发生结构重组或破坏。频率扫描结果进一步证实，两者均为弱频率依赖型凝胶（$G'>G''$）[16]，但 LP 微粒的 $G'$ 和 $G''$ 在整个频率范围内均高于 CS-SA，且其 tan $\delta$ 更低，见图 6（c）。结果表明，LP 的参与增强了复合物网络的弹性强度和结构完整性，同时降低了其黏性耗散。幂律模型参数拟合结果见表 3，LP 微粒的 $K'$ 和

$K''$均显著增大，而$n'$降低，说明LP的引入形成了弹性更强、网络结构更致密的复合水凝胶。黏度-剪切率曲线同样证实了两者的剪切稀化行为，且LP微粒的黏度对剪切速率的敏感性更低，表明其网络结构更具韧性和均匀性。流变学数据共同表明，LP并非简单地被物理包裹，而是积极参与了CS-SA聚电解质网络的组装，可增强水凝胶微粒的机械强度并稳定其网络结构。综合FT-IR与流变学结果可知，LP在LP微粒体系中实现了双重防自聚集机制：一方面，FT-IR证实LP被有效封装于微粒内部，其分子与外界水相隔绝，从物理层面避免了游离状态下的直接碰撞与聚集；另一方面，流变学数据表明，LP通过其亲水环肽链的静电作用参与CS-SA网络的交联，这种分子层面的嵌入不仅增强了凝胶的结构完整性，更通过空间位阻与静电稳定效应，进一步限制了LP分子在体系内的迁移与自缔合倾向。这种“物理隔离”与“结构限域”相结合的策略，为解决脂肽类两亲分子易聚集的难题提供了新思路。基于上述稳定的结构与性能，接下来将对LP微粒的抑菌效果及环境耐受性进行系统评估。




(a) 应变率与$G'$、$G''$的关系　(b) 频率与$G'$、$G''$的关系

(c) 频率-tan $\delta$曲线　(d) 黏度-剪切率曲线

图6　LP微粒和CS-SA的流变性质

Fig. 6　Rheological properties of LP particles and CS-SA

表3　幂律模型参数拟合结果

Table 3　Parameter fitting results of power law model

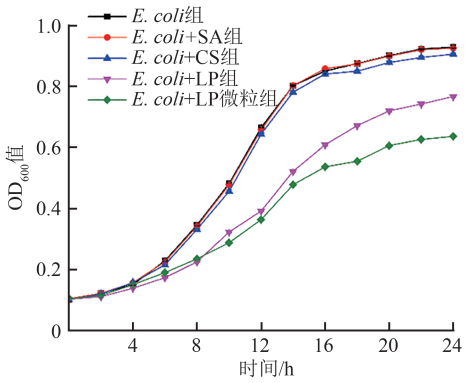
| 样品 | $G'$ | | | $G''$ | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | $K'$/(Pa·s$^n$) | $n'$ | $R^2$ | $K''$/(Pa·s$^n$) | $n''$ | $R^2$ |
| CS-SA | 164.75±1.52$^a$ | 0.24±0.01$^a$ | 0.977 6 | 62.59±2.32$^a$ | 0.18±0.03$^a$ | 0.606 5 |
| LP微粒 | 347.38±8.61$^b$ | 0.14±0.02$^b$ | 0.661 1 | 95.34±10.02$^b$ | 0.33±0.07$^b$ | 0.412 7 |

注：同列不同小写字母表示差异显著（$P$<0.05）。

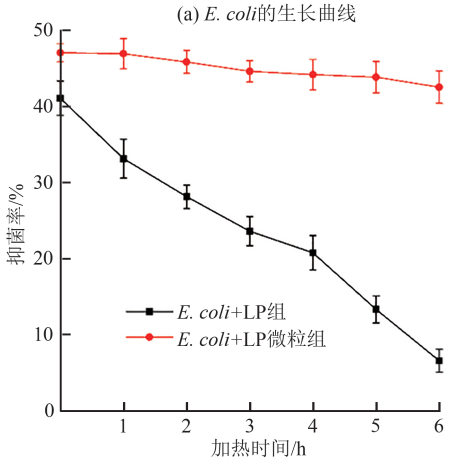
## 2.5　LP微粒的抑菌效果

### 2.5.1　LP微粒对*E. coli*的抑制效果

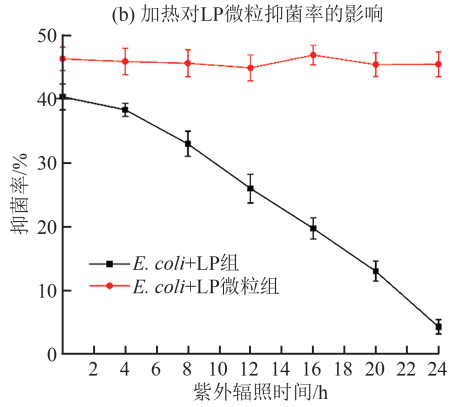
*E. coli*和*S. aureus*是食品工业领域中较为常见的条件致病菌[27]。以这2种菌为测试菌株评估LP微粒的抑菌能力，见图7。结果表明，无LP微粒时，*E. coli*组展现出S形生长曲线。CS或SA单独处理



(a) *E. coli*的生长曲线



(b) 加热对LP微粒抑菌率的影响



(c) 紫外辐照对LP微粒抑菌率的影响

图 7　LP 微粒对 *E. coli* 的抑制效果

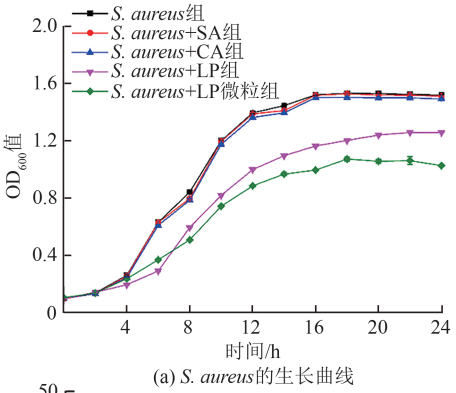
Fig. 7　Inhibitory effect of LP particles on *E. coli*

对其生长无显著影响($P$>0.05)，而游离 LP 在培养前期(0~8 h)表现出较强的抑菌作用；但 LP 微粒组前期(0~8 h)的抑菌效果弱于游离 LP，在培养后期(10 h 后)其抑菌效果超过游离 LP 组。这一结果揭示了 LP 微粒的缓释特性：培养初期，LP 从微粒中缓慢释放，培养基中有效质量浓度较低；随着培养时间的延长，LP 持续释放并避免因自聚集而失活，从而能在更长时间内维持有效的抗菌质量浓度[28]。与此相反，游离 LP 可能因自聚集或降解导致后期抑菌活性下降。

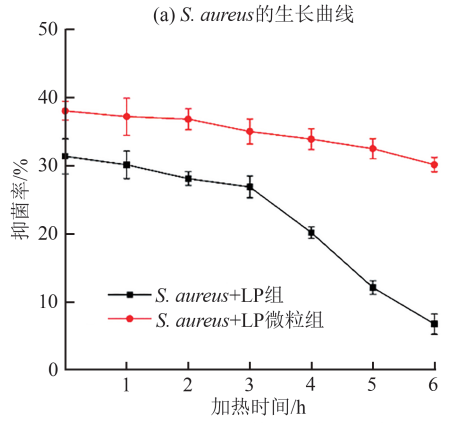
环境稳定性是评估抗菌剂实用性的关键，因此本研究对加热及紫外辐照后 LP 微粒的抑菌效果进行了研究。游离 LP 的抑菌活性对热(40 ℃)和紫外辐照极为敏感，加热 6 h 或紫外辐照 24 h 后，抑菌活性大幅下降。相比之下，LP 微粒组在上述胁迫条件下，抑菌活性仅出现微弱下降。这表明 CS-SA 聚电解质外壳为内部的 LP 提供了有效的物理屏障，可屏蔽热和紫外辐照对 LP 分子的直接破坏，极大地提升了其环境稳定性。

### 2.5.2　LP 微粒对 *S. aureus* 的抑制效果

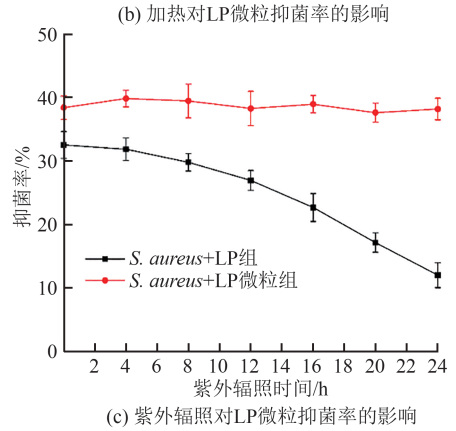
*S. aureus* 的抑菌试验结果与 *E. coli* 结果类似，见图 8。LP 微粒组的缓释效应更为明显，其在培



(a) *S. aureus*的生长曲线



(b) 加热对LP微粒抑菌率的影响



(c) 紫外辐照对LP微粒抑菌率的影响

图 8　LP 微粒对 *S. aureus* 的抑制效果

Fig. 8　Inhibitory effect of LP particles on *S. aureus*

养前期（0~6 h）的抑菌作用弱于游离LP，直至8~10 h后优势才得以显现，这可能是由于LP对不同菌种细胞壁结构的穿透速率存在差异。在环境稳定性方面，LP微粒同样表现出明显优势，经热和紫外辐照处理后，其抑菌活性远高于游离LP组。结果表明，本研究所构建的LP微粒不仅能通过缓释机制延长LP的作用时间，更能增强LP对不利环境因素的耐受性，对革兰氏阴性菌（*E. coli*）和革兰氏阳性菌（*S. aureus*）均展现出更稳定、更持久的抗菌性能。

## 3 结论

本研究系统探索了基于CS和SA的聚电解质自组装策略，成功构建了用于负载LP的稳定性和分散性较好的微粒。该体系同时实现了对LP聚集的抑制与对环境降解的防护，直接应对了LP在实际应用中易自聚集的问题。通过系统的单因素试验与结构-性能表征，构建出具有高封装率、高载药量、粒径分布集中且稳定性较好的LP微粒。FT-IR分析证实LP被有效封装于微粒内部，其外部化学环境主要由CS与SA主导；流变学结果表明，LP参与并强化了CS-SA聚电解质网络的交联，形成了具有稳定网络结构的水凝胶体系，该结构为LP提供了良好的物理屏障与缓释系统。不同于以往主要依赖脂质疏水相互作用或单纯物理包埋的传统策略，本研究利用LP分子中亲水环肽链的静电特性，使其直接参与CS与SA的静电驱动自组装过程。该策略不仅极大地提升了封装效率与载药能力，还通过构建“SA为壳、CS为骨架、LP嵌入其中”的类骨架溶蚀型复合结构，实现了对LP的稳定负载、可控释放以及对环境胁迫的有效屏蔽。未来仍需进一步开展LP微粒的释放动力学研究，明确其释放机制与数学模型，并系统考察其在复杂食品基质中的稳定性、释放行为及保鲜效果，为推动两亲性生物活性分子（尤其是环肽类）在食品保鲜等领域的应用提供数据支撑。

## 参考文献


[1] 翟世玉. 枯草芽孢杆菌LF17鉴定及对苹果树腐烂病生防作用效果研究[D]. 太谷：山西农业大学，2019.

[2] 李紫英，沙帅帅，唐御忻，等. 贝莱斯芽孢杆菌SY01诱导苹果树抗性基因表达及其脂肽类抑菌物质分析[J]. 山东农业大学学报（自然科学版），2024，55（5）：711-719.
LI Z Y，SHA S S，TANG Y X，et al. Expression of resistance genes induced by *Bacillus velezensis* SY01 in apple trees and analysis of its lipopeptide inhibitory substances [J]. Journal of Shandong Agricultural University（Natural Science Edition），2024，55（5）：711-719.（in Chinese）

[3] YANG L X，CHEN C X，LIANG T T，et al. Disassembling ability of lipopeptide promotes the antibacterial activity[J]. Journal of Colloid and Interface Science，2023，649：535-546.

[4] SABERI RISEH R，VATANKHAH M，HASSANISAADI M，et al. A review of chitosan nanoparticles：nature's gift for transforming agriculture through smart and effective delivery mechanisms [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2024，260：129522.

[5] BERNKOP-SCHNÜRCH A，DÜNNHAUPT S. Chitosan-based drug delivery systems [J]. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics，2012，81（3）：463-469.

[6] XU Y S，LIU M M，FAISAL M，et al. Selective protein complexation and coacervation by polyelectrolytes [J]. Advances in Colloid and Interface Science，2017，239：158-167.

[7] CHEN B Y，AI C，HE Y J，et al. Preparation and structural characterization of chitosan-sodium alginate nanocapsules and their effects on the stability and antioxidant activity of blueberry anthocyanins [J]. Food Chemistry，2024，23：101744.

[8] NIKOLOVA D，SIMEONOV M，TZACHEV C，et al. Polyelectrolyte complexes of chitosan and sodium alginate as a drug delivery system for diclofenac sodium [J]. Polymer International，2022，71（6）：668-678.

[9] 井勇慧，李桥，康丽，等. 响应面法优化山楂多酚微粒制备工艺[J]. 食品工业科技，2024，45（20）：187-195.
JING Y H，LI Q，KANG L，et al. Optimization of preparation process for hawthorn polyphenol microparticles based on response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry，2024，45（20）：187-195.（in Chinese）

[10] SAETHER H V，HOLME H K，MAURSTAD G，et al. Polyelectrolyte complex formation using alginate and chitosan [J]. Carbohydrate Polymers，2008，74（4）：813-821.

[11] 李光月，李雪玲，祁姣姣，等. 响应面法优化枯草芽孢杆菌表面活性素的发酵工艺[J]. 食品工业科技，2022，43（12）：146-154.
LI G Y，LI X L，QI J J，et al. Optimization of fermentation conditions of surfactin from *Bacillus subtilis*

by response surface methodology [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(12): 146-154. (in Chinese)

[12] 戴照琪,赵见营,张一凡,等. 壳聚糖缓释抑菌纳米涂膜材料制备及对采后草莓品质的影响[J]. 食品科技, 2024,49(11):37-45,55.
DAI Z Q, ZHAO J Y, ZHANG Y F, et al. Preparation of chitosan sustained release antibacterial nanofilm material and its effect on postharvest strawberry quality[J]. Food Science and Technology, 2024, 49(11): 37-45, 55. (in Chinese)

[13] 施佳利. 海藻酸钠基水凝胶药物载体的制备及性能研究[D]. 淮南:安徽理工大学,2024.

[14] STETEFELD J, MCKENNA S A, PATEL T R. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences[J]. Biophysical Reviews, 2016, 8(4):409-427.

[15] LIU W, LIU Y M, ZHU R, et al. Structure characterization, chemical and enzymatic degradation, and chain conformation of an acidic polysaccharide from *Lycium barbarum* L.[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 147:114-124.

[16] SU C Y, LI D, WANG L J, et al. Green double crosslinked starch-alginate hydrogel regulated by sustained calcium ion-gluconolactone release for human motion monitoring[J]. Chemical Engineering Journal, 2023,455:140653.

[17] GIUNTOLI A, PUOSI F, LEPORINI D, et al. Predictive relation for the α relaxation time of a coarse-grained polymer melt under steady shear[J]. Science Advances, 2020,6(17):eaaz0777.

[18] 纪帅奇,乌日娜,张淘崴,等. 芽孢杆菌脂肽对金黄色葡萄球菌的抑制机理[J]. 中国食品学报,2024,24(8):197-205.
JI S Q, WU R N, ZHANG T W, et al. The antimicrobial mechanism of *Bacillus* lipopeptide against *Staphylococcus aureus*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(8): 197-205. (in Chinese)

[19] MIHAI M, GHIORGHITA C A, STOICA I, et al. New polyelectrolyte complex particles as colloidal dispersions based on weak synthetic and/or natural polyelectrolytes [J]. Express Polymer Letters, 2011, 5(6): 506-515.

[20] HU X Y, WANG Y M, ZHANG L L, et al. Formation of self-assembled polyelectrolyte complex hydrogel derived from salecan and chitosan for sustained release of vitamin C [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 234: 115920.

[21] TAN C, XIE J H, ZHANG X M, et al. Polysaccharide-based nanoparticles by chitosan and gum Arabic polyelectrolyte complexation as carriers for curcumin[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 57:236-245.

[22] SIMSEK-EGE F A, BOND G M, STRINGER J. Polyelectrolyte complex formation between alginate and chitosan as a function of pH [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2003, 88(2): 346-351.

[23] POTAŚ J, SZYMAŃSKA E, WINNICKA K. Challenges in developing of chitosan: based polyelectrolyte complexes as a platform for mucosal and skin drug delivery [J]. European Polymer Journal, 2020, 140: 110020.

[24] KANG L, LI Q, JING Y H, et al. *Auricularia auricula* anionic polysaccharide nanoparticles for gastrointestinal delivery of *Pinus koraiensis* polyphenol used in bone protection under weightlessness[J]. Molecules, 2024, 29(1):245.

[25] JIN M L, WANG Y M, XU C L, et al. Preparation and biological activities of an exopolysaccharide produced by *Enterobacter cloacae* Z0206[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(3): 607-611.

[26] GERICKE M, GABRIEL L, GEITEL K, et al. Synthesis of xylan carbonates: an approach towards reactive polysaccharide derivatives showing self-assembling into nanoparticles [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 193: 45-53.

[27] TAN S L, LEE H Y, MAHYUDIN N A. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from food handler's hands[J]. Food Control, 2014, 44:203-207.

[28] MEKA V S, SING M K G, PICHIKA M R, et al. A comprehensive review on polyelectrolyte complexes[J]. Drug Discovery Today, 2017, 22(11): 1697-1706.