

木薯淀粉硬脂酸复合纳米颗粒的表征及其 Pickering乳液稳定性分析

姚先超¹, 钟庆旭², 刘鑫¹, 梁玉石¹, 焦思宇¹, 许丁予¹, 林日辉^{1,*}

(1.广西民族大学化学化工学院, 林产化学与工程国家民委重点实验室, 广西林产化学与工程重点实验室, 广西林产化学与工程协同创新中心, 广西 南宁 530006; 2.广西警察学院刑事科学技术学院, 广西 南宁 530023)

摘要: 为研究木薯淀粉脂肪酸复合物用于稳定Pickering乳液的可行性, 利用支链淀粉含量为78.65%的木薯淀粉溶液在95 °C与硬脂酸复合, 通过醇沉制备了复合指数分别为2.74%、9.17%、27.66%的复合纳米颗粒。通过扫描电镜可观察到3种复合物均呈现不规则的似球形形貌, 激光粒度分析平均粒径分别为315.35、348.19、427.60 nm。3种复合纳米颗粒均在X射线衍射13°、21°处有V型结晶的特征峰, 结晶含量随复合指数增大而增加。其去卷积红外光谱在1 047、1 022、995 cm⁻¹表现出短程有序性变化趋势。复合指数最高的颗粒接触角达到60.30°。3种复合纳米颗粒均能使Pickering乳液稳定7 d以上, 而淀粉纳米颗粒乳液稳定不足2 d。复合指数为27.66%的复合纳米颗粒比复合指数2.74%、9.17%的颗粒能更好地稳定乳液。添加量为0.1 g/100 mL以上的复合指数为27.66%的颗粒可以使油水比1:9 (V/V) 形成乳液。当添加量增加至7 g/100 mL时, 乳液放置60 d后没有发生乳析、相分离现象, 液滴分布也没有发生显著变化。乳液能够稳定在pH 5.6~9.0之间, 能够抵抗0.01~0.1 mol/L NaCl离子强度的影响, 加热到80 °C仍然呈现出较好的乳液形态。木薯淀粉硬脂酸复合纳米颗粒具有稳定Pickering乳液的潜在能力。

关键词: 木薯淀粉; 高含量支链淀粉; 复合纳米颗粒; 脂肪酸; Pickering乳液

Characterization of Cassava Starch-Stearic Acid Complex Nanoparticles and Stability of Pickering Emulsions Stabilized by It

YAO Xianchao¹, ZHONG Qingxu², LIU Xin¹, LIANG Yushi¹, JIAO Siyu¹, XU Dingyu¹, LIN Rihui^{1,*}

(1. Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, State Ethnic Affairs Commission, Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, Guangxi Collaborative Innovation Center for Chemistry and Engineering of Forest Products, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi Minzu University, Nanning 530006, China;
2. School of Criminal Science and Technology, Guangxi Police College, Nanning 530023, China)

Abstract: In order to study the feasibility of applying cassava starch-fatty acid complexes as a Pickering emulsion stabilizer, complex nanoparticles with complexing index (CPI) of 2.74%, 9.17% and 27.66% were prepared by mixing cassava starch paste containing 78.65% amylopectin at 95 °C and stearic acid followed by alcohol precipitation. The three complexes had an irregular spherical-like shape under field emission scanning electron microscopy (FESEM), and their average particle sizes, determined by a laser particle size analyzer, were 315.35, 348.19 and 427.60 nm, respectively. The X-ray diffraction pattern of each of the complexes showed two peaks at 13° and 21°, which were characteristics of the V type crystal structure, and the crystal content increase with increasing CPI. Their deconvoluted infrared spectra exhibited changes in short-range ordering at 1 047, 1 022 and 995 cm⁻¹. The contact angle of the particles with the highest CPI was 60.30°. The three complex nanoparticles stabilized Pickering emulsions for more than seven days compared to less than two days with starch nanoparticles. The complex nanoparticles with CPI of 27.66% stabilized emulsions best. The addition of the complex nanoparticles with CPI of 27.66% at levels above 0.1 g/100 mL resulted in the formation of an emulsion with an oil-to-water ratio of 1:9 (V/V). The emulsion with this nanoparticle at 7 g/100 mL exhibited an improved stability for 60 days without

收稿日期: 2022-11-21

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目(21766004); 广西自然科学基金项目(2019GXNSFAA185008); 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2023KY0175)

第一作者简介: 姚先超(1984—)(ORCID: 0000-0002-7200-4057), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为生物质纳米材料。

E-mail: yaoxch@aliyun.com

*通信作者简介: 林日辉(1972—)(ORCID: 0000-0002-3928-0439), 男, 研究员, 博士, 研究方向为蛋白质与酶工程、化学与生物转化。E-mail: rihuilin@aliyun.com

creaming or phase separation. Moreover, no significant changes in the droplet size distribution were observed. The emulsion was stable at pH 5.6–9.0 and not affected by NaCl concentration in the range of 0.01–0.1 mol/L. The emulsion maintained its morphology well after being heated to 80 °C. These results suggest that the complex nanoparticles are a potential Pickering emulsion stabilizer.

Keywords: cassava starch; high amylopectin content; complex nanoparticles; fatty acids; Pickering emulsions

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221121-246

中图分类号: TS235.1; TQ658; O648.23 文献标志码: A 文章编号: 1002-6630 (2023) 16-0061-10
引文格式:

姚先超, 钟庆旭, 刘鑫, 等. 木薯淀粉硬脂酸复合纳米颗粒的表征及其Pickering乳液稳定性分析[J]. 食品科学, 2023, 44(16): 61-70. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221121-246. <http://www.spkx.net.cn>

YAO Xianchao, ZHONG Qingxu, LIU Xin, et al. Characterization of cassava starch-stearic acid complex nanoparticles and stability of Pickering emulsions stabilized by it[J]. Food Science, 2023, 44(16): 61-70. (in Chinese with English abstract)
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20221121-246. <http://www.spkx.net.cn>

乳液是至少由2种互不相溶的液体混合而成的体系, 其中一种液体(称为分散相)以微小液滴的形式被分散在另一种连续的液体(连续相)中。乳液是热力学不稳定体系, 通常需要乳化剂维持稳定性^[1-2]。在Pickering乳液中, 乳液的稳定由吸附在界面上的固体颗粒实现^[3]。颗粒的界面润湿性和粒径分布是控制Pickering乳液形成和稳定的关键因素, 两亲的润湿性可以使颗粒有效吸附在油/水界面上并降低水相和油相界面张力^[4], 这些颗粒在油水界面上聚集形成稳固的物理屏障, 能有效阻止液滴聚结、聚并和奥斯瓦尔德熟化, 从而较好地稳定乳液^[5]。颗粒稳定剂可用无机物或有机物制备, 但无机物颗粒通常生物相容性差、不可生物降解^[6], 无法满足食品和制药的应用要求。近年来, 淀粉、纤维素、明胶、蛋白多肽及壳聚糖等生物质资源成为了制备Pickering乳液稳定剂的研究热点。淀粉来源广泛、生物可降解、生物相容性好、安全无毒, 是一种重要的食品原料。然而天然淀粉颗粒的尺寸较大、亲水性太强, 对乳液的稳定能力较弱, 需要改性才能够更好地稳定Pickering乳液^[7-12]。

纳米沉降法是常用的高效降低淀粉颗粒尺寸的方法, 该法利用淀粉分子在反溶剂中溶解度较低的机制, 使淀粉在剧烈搅拌的反溶剂中聚沉析出纳米尺寸的颗粒^[13]。纳米沉降法制备的淀粉纳米颗粒通常为无定形形态, 其糖链上存在的大量羟基, 对水分子具有很强的亲和性, 水较容易侵入颗粒内部, 从而造成颗粒耐水性差和界面润湿性差^[14]。为此, 一些研究用化学法对淀粉纳米颗粒进行改性, 以改善其界面润湿性^[15]。但化学法可能会存在反应效率低、产物中残余有害成分等问题。在非化学改性中, 研究表明淀粉的直链部分在回生过程中能形成单螺旋体构象的空腔结构, 这种螺旋空腔能吸附装载脂肪酸、油脂等疏水性小分子并形成超分子复合物^[16]。这些疏水分子会减少水分子靠近或浸入淀粉颗粒, 从而

改善颗粒耐水性能、界面润湿性^[17-18]。颗粒界面润湿性的改变有助于改善淀粉颗粒在油水界面的吸附效果, 因而淀粉脂质复合物可能是一种新型的Pickering乳液稳定剂。Hay等^[19]使用加压微波反应器中通过0~140 °C升温工序制备脂肪酸钠盐-高直链玉米淀粉包合物, 得到的山嵛酸钠包合物乳化稳定性比辛烯基琥珀酸酯化淀粉提高了60%。Yan Xiaoxia等^[20]采用酶处理4 h得到的含直链淀粉达52.63%的脱支油莎草淀粉制备平均粒径为500~567.2 nm的棕榈酸复合纳米颗粒, 0.5%的颗粒用量能使油水比为1:9的乳液乳化稳定42 d, 其乳滴的平均粒径在357.5~369.5 nm之间。可见直链淀粉脂质复合颗粒可以稳定Pickering乳液。

天然淀粉一般富含支链淀粉, 而直链淀粉含量较低。由于众多短支链会阻止或阻碍主链形成螺旋构象, 支链淀粉与脂质物的结合程度低于直链淀粉, 支链淀粉仅能形成少量脂质复合物^[21-22]。因此富含支链淀粉脂质复合物用于稳定乳液的研究鲜有报道。木薯淀粉是广西产量最大的淀粉资源, 木薯淀粉的支链成分含量达75%以上^[23]。本实验采用未脱支处理的木薯淀粉溶液与硬脂酸复合后醇沉制备木薯淀粉硬脂酸复合纳米颗粒(cassava starch-stearic acid complex nanoparticles, CSSNs), 探讨其在Pickering乳液应用中的稳定能力, 为开发低成本的食用级颗粒稳定剂提供参考, 为木薯淀粉的深加工与应用提供新思路。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

食品级木薯淀粉(cassava starch, CS), 支链淀粉实测质量分数为78.65%, 由广西岑溪市三角淀粉责任有限公司无偿捐赠。食用大豆油为当地市售; 硬脂酸、无水乙醇等分析试剂均购自上海麦克林生物技术公司。

1.2 仪器与设备

JY92-IIIN超声波机 宁波新芝生物科技公司；SDS350接触角测量仪 东莞市晟鼎精密仪器公司；ML30光学显微镜 广州市明美科技有限公司；SUPRA55场发射扫描电子显微镜（scanning electron microscopy, SEM）德国Carl Zeiss公司；Zetasizer Nano ZS纳米激光粒度仪 英国Malvern公司；Ultime IV X射线衍射（X-ray diffraction, XRD）仪 日本Rigaku公司；UV-2600分光光度计 日本Shimadzu公司。

1.3 方法

1.3.1 CSSNs复合颗粒的制备

5 g木薯淀粉加入100 mL去离子水，在95 °C水浴中糊化60 min，超声处理15 min以降低溶液的黏度。将硬脂酸（淀粉干基质量的1%、10%和20%）乙醇溶液逐滴加入上述溶液中，在95 °C中搅拌30 min，随后冷却至75 °C，逐滴滴加无水乙醇（1:3, V/V）。8 000 r/min离心，用75%乙醇溶液清洗2次，在40 °C真空干燥24 h，即得到CSSNs复合颗粒。另外，处理过程不添加脂肪酸，可得到淀粉纳米颗粒（starch nanoparticles, StNPs）。

1.3.2 碘比色法测定复合指数

参考文献[24-25]，将100 mg待测样品与水混合煮沸后配制成25 mL溶液。取500 μL溶液，加入0.5 mL乙酸溶液（1 mol/L）、0.5 mL碘试剂（I₂, 0.1%；KI, 0.2%）混匀，加水定容到25 mL。测定溶液在波长610 nm处的吸光度。以StNPs作为对照，按式（1）计算复合指数（complexing index, CPI）：

$$\text{CPI}/\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

式中： A_0 为StNPs样品溶液的碘染色吸光度； A_1 为CSSNs样品溶液的碘染色吸光度。

1.3.3 扫描电子显微镜表征颗粒形貌

参考文献[26]，用导电双面胶将样品固定到样品台上，在真空下喷涂铂膜，用SEM在15 kV的加速电压下扫描样品，拍摄电子显微照片。

1.3.4 动态光散射（dynamic light scattering, DLS）分析

参考文献[27]，通过DLS分析样品的粒度分布。将样品放入超纯水中超声处理得到0.01 g/100 mL分散液，用塑料样品池装样，放入纳米激光粒度仪中自动平衡120 s后，测量颗粒的粒径分布。Zeta电位用该分散液在同一设备中测定。

1.3.5 CSSNs的结晶形态

参考文献[28]，采用配置有铜靶、Ni片滤波、电压40 kV和电流15 mA的Cu-K α 辐射的XRD仪，以8°/min的扫描速率、0.02°的扫描步长，在3°~60°范围内扫描样品。使用Jade 6.0软件通过结晶面积与总衍射面积的比率，按式（2）计算淀粉的相对结晶度：

$$\text{相对结晶度}/\% = \frac{A_c}{A_c + A_a} \times 100 \quad (2)$$

式中： A_c 为XRD结晶峰的面积； A_a 为非晶态峰的面积。

1.3.6 红外光谱分析

参考文献[25]，采用KBr粉末压片法制样测定傅里叶变换红外光谱（Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR）。扫描波数范围为400~4 000 cm⁻¹，扫描次数为32次，分辨率为4 cm⁻¹。用OMNIC 8.2软件对波数范围为1 250~850 cm⁻¹的FTIR图谱进行去卷积处理（峰宽19 cm⁻¹，增强因子1.9），计算1 047/1 022 cm⁻¹吸光度比，分析复合物颗粒的短程有序性。

1.3.7 接触角

参考文献[29]，将CSSNs、StNPs分散液在薄玻片上铺展成膜，放入真空干燥箱在35 °C、-0.095 MPa干燥24 h。将玻片浸入豆油中，用接触角仪观察水滴在膜上的接触角随时间的变化过程，测定接触角值。每个样品测量3个以上不同位置的接触角，取其平均值。

1.3.8 Pickering乳液制备

取不同复合指数的CSSNs（0.1~2 g/100 mL），在冰水浴中，通过超声波（功率为650 W，占空比为开2 s，关1 s）作用20 s，将纳米颗粒充分分散到去离子水中。加入大豆油作为油相（油水比1:9），在冰水浴中，通过超声波（功率为650 W，占空比为开2 s，关1 s）作用20 s，制备乳液。

1.3.9 乳液微观光学表征

参考文献[30]，使用配备有数码相机的光学显微镜对乳液的微观形态分布进行观察并拍照。

1.3.10 乳液贮存稳定性

将乳液在室温下贮存一段时间，测量相应时间的乳液体积，按式（3）计算乳析指数（creaming index, CI），对乳液的物理稳定性评估^[5]。

$$\text{CI}/\% = \frac{H_{\text{total}} - H_{\text{cream}}}{H_{\text{total}}} \times 100 \quad (3)$$

式中： H_{total} 和 H_{cream} 分别为乳液层的总高度和乳析层高度。

另外，通过激光粒度仪测定不同贮存时间下乳液乳滴粒径变化，分析乳滴的贮存稳定性。

1.3.11 环境因素对乳液稳定性的影响

参考文献[31]的方法，考察pH值、盐离子浓度、温度等环境因素对乳液稳定性的影响。在水相中加入相对于乳液总体积7 g/100 mL的CSSNs，用0.001 mol/L NaOH和0.1 mol/L HCl溶液分别将pH值调节为1.0、3.0、5.6、7.0、9.0，制备油水比为1:9（V/V）的乳液。所得乳液均在25 °C存放，观察乳液外观变化。用显微镜、激光粒度仪观察和测定存放期间液滴分布的变化。

取CSSNs添加量为7 g/100 mL, 0.5 mol/L NaCl溶液作为水相, 制备油水比为1:9的乳液, 所得乳液的盐离子浓度分别为0.005、0.01、0.05 mol/L和0.1 mol/L四个梯度。乳液在25 °C存放。观察和测定存放期间乳液外观、液滴分布的变化。

分别取添加量7 g/100 mL的CSSNs制备油水比为1:9的乳液, 分别置于8、25、50、80 °C恒温存放, 观察和测定存放期间乳液外观、液滴分布的变化。

1.4 数据处理

所有实验至少进行3个平行测定, 采用Tukey法单因素方差分析对数据进行统计和差异显著性检验。采用Origin 2008对实验结果绘图。

2 结果与分析

2.1 CSSNs的理化表征

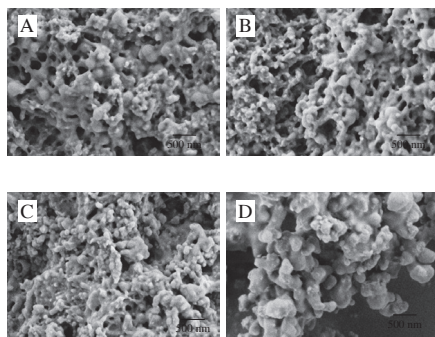
所得CSSNs的CPI由1.3.2节碘比色法测定。硬脂酸添加量为1%、10%和20%的CSSNs的CPI值分别为2.74%、9.17%、27.66%。为了方便描述, 将CSSNs按CPI值分别记为CSSNs-2、CSSNs-9、CSSNs-27, 对应的理化数据如表1所示。

表1 样品的理化表征

测定参数	CS	StNPs	CSSNs-2	CSSNs-9	CSSNs-27
CPI/%	—	0	2.74±0.01 ^c	9.17±0.03 ^b	27.66±0.03 ^a
颗粒粒径/nm	—	281.43±33.16 ^c	315.35±29.87 ^c	348.19±37.26 ^b	427.60±77.14 ^a
PDI	—	0.46±0.04 ^c	0.49±0.02 ^c	0.57±0.08 ^b	0.90±0.07 ^a
Zeta电位/mV	—	0.61±1.25 ^c	-2.14±0.62 ^b	-5.72±0.13 ^b	-15.41±0.25 ^a
相对结晶度/%	22.71±1.54 ^a	0	1.15±0.12 ^d	3.79±0.38 ^c	7.82±0.09 ^b
A_{1047}/A_{1022}	0.87±0.04 ^a	0.66±0.04 ^d	0.66±0.11 ^d	0.67±0.03 ^c	0.81±0.01 ^b
接触角/(°)	—	47.70±2.81 ^c	50.44±3.60 ^b	51.98±5.77 ^b	73.60±4.52 ^a

注: 多分散指数 (polydispersity index, PDI); A_{1047}/A_{1022} 表示FTIR去卷积后1 047 cm^{-1} 峰与1 022 cm^{-1} 峰的积分面积比值; 接触角为在水滴落在样品膜上10 s后的测值; 同行不同字母表示差异显著 ($P<0.05$); —, 未检测。

2.2 CSSNs的形貌与结构特征

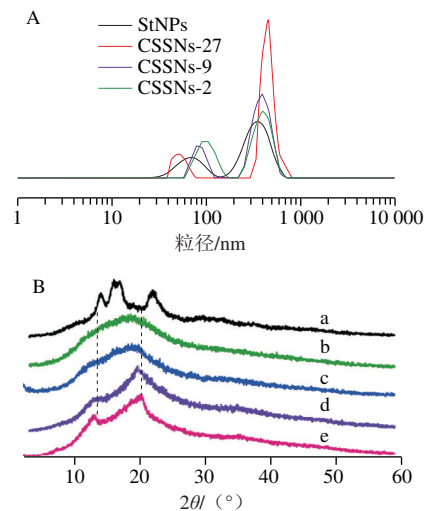


A~D分别为StNPs、CSSNs-2、CSSNs-9、CSSNs-27。

图1 淀粉样品的SEM图

Fig. 1 SEM images of starch samples

StNPs (图1A) 颗粒主要呈球形形貌, 尺寸大小不均匀, 颗粒间存在明显的黏连现象。在拍摄SEM过程中, 当扫描探针靠近淀粉样品进行对焦时, 观察到这些黏连区域会快速地发生收缩, 出现图中的桥连现象。StNPs这种不稳定的黏连区域的形成可能与其中残留水分有关^[6]。CSSNs-2 (图1B) 的颗粒形貌类似于StNPs, 也存在大量的黏连现象。CSSNs-9 (图1C) 和CSSNs-27 (图1D) 的微观形态为更显著的颗粒状, 颗粒形貌为不规则的似球形, 颗粒的尺寸不均匀, 颗粒之间也有相连的迹象, 与文献报道的淀粉脂质复合物形态类似^[32-33]。



A. DLS粒径分析; B. XRD分析, 其中a~e分别为CS、StNPs、CSSNs-2、CSSNs-9、CSSNs-27, 图3同。

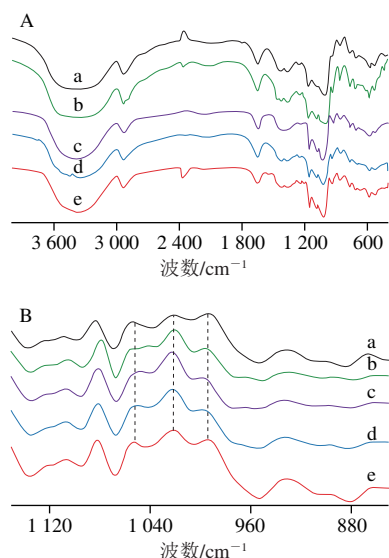
图2 淀粉样品的DLS粒径分析和XRD分析

Fig. 2 DLS and XRD analysis of starch samples

DLS粒度分析 (图2A) 表明, StNPs和CSSNs的粒径分布均出现在2个较为集中的尺寸范围, 即50~110 nm和110~800 nm之间。相对于StNPs, CSSNs-27在120~800 nm的激光强度峰值更大, 说明CSSNs-27的大尺寸颗粒的含量更多。StNPs的平均粒径为281.43 nm, CSSNs-27的平均粒径为427.60 nm, 可见复合颗粒的粒径相对更大。

如图2B所示, CS在15°、17°、18°和23°处存在4个强峰, 表明木薯淀粉包含典型的A型结晶^[34]。StNPs衍射图谱是一个大包峰, 没有出现精细的谱峰或强衍射峰, 说明StNPs是一种无定形聚集状态的淀粉颗粒。糊化破坏了糖链之间的氢键, 淀粉的结晶形态被完全破坏, 溶解的淀粉分子链得到充分伸展, 并在之后的醇沉过程中无规则地聚集重排析出纳米颗粒, 因此StNPs没有形成定形结晶的结构形态^[35-36]。CSSNs的衍射图谱在13°和21°处均出现了2个可明显观察到的峰, 这是归属于V型结晶结构形态的特征衍射峰, 2处峰值随着复合指数增大明显增强。

3种CSSNs颗粒结晶度分别为1.15%、3.79%、7.82%，也随复合指数增大而明显增大，这与文献[19]报道的淀粉脂肪酸复合物的结晶情况相似。



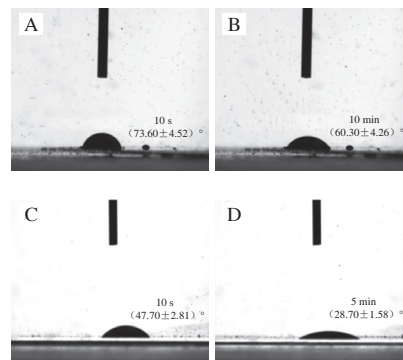
A、B分别为样品的FTIR和去卷积图谱。

图3 淀粉样品的红外光谱及其短程有序性

Fig. 3 FTIR and short-range ordering analysis of starch samples

为了确认淀粉与脂肪酸形成了复合物，对样品的红外光谱进行傅里叶去卷积处理。由图3B可知，StNPs、CSSNs-2、CSSNs-9、CSSNs-27在 1047 cm^{-1} 和 995 cm^{-1} 处峰的吸收强度均逐渐增强，在 1022 cm^{-1} 处的吸收峰逐渐减弱，它们的 $1047/1022\text{ cm}^{-1}$ 的吸光度比值分别为0.655、0.66、0.67、0.81。根据相关文献^[37]报道， 1047 cm^{-1} 峰与淀粉样品的结晶结构相关，而 1022 cm^{-1} 峰与淀粉颗粒的无定形结构相关， 995 cm^{-1} 峰则与葡萄糖链中C-6位置上羟基的分子内氢键相关， $1047/1022\text{ cm}^{-1}$ 吸光度比值越大，淀粉颗粒的短程有序性越高。因此，CSSNs-2、CSSNs-9、CSSNs-27的短程有序性随复合指数增大而增大，意味着其结晶含量随复合指数增大而增加，而StNPs吸光度比值均小于CSSNs，结晶含量很低，这均与XRD分析结果相一致。根据文献报道，尽管较低的温度（淀粉的玻璃化转变温度）会抑制微晶淀粉结晶的传播，但有利于淀粉的结晶成核析出微晶^[38-40]，因而推测低温下淀粉分子链运动（如位移、链的蛇形摆动等）的自由度降低，使相互接近的淀粉分子更容易形成通过氢键作用形成结晶核生成微晶颗粒，据此进一步推测脂肪酸插入淀粉单螺旋空腔可能降低了淀粉分子链运动的自由度，提高了淀粉链的短程有序性排列，从而有利于淀粉单螺旋分子相互靠近，结晶成核析出，因而复合指数越高，脂质复合物的结晶度和短程有序性越大。

2.3 颗粒表面的界面润湿性



A、B分别为水滴在CSSNs-27膜上停留10 s、10 min的接触角，C、D分别为水滴在StNPs膜上停留10 s、5 min的接触角。

图4 StNPs和CSSNs-27的接触角

Fig. 4 Contact angles of StNPs and CSSNs-27

颗粒的界面双向润湿性是判断颗粒能否稳定乳液的重要依据，可以通过接触角进行表征^[5]。如图4所示，水滴在CSSNs-2、CSSNs-9、CSSNs-27表面的接触角（10 s）分别为 50.44° 、 51.98° 、 73.60° （表1），StNPs的接触角为 47.70° ，表明CSSNs均具有相对增强的界面双向润湿性，复合指数越大颗粒的界面润湿性越强。静置10 min后，CSSNs-27的接触角仍然能保持 60.30° 以上（图4A、B），而StNPs静置5 min后，接触角已降至 28.70° （图4C、D）。说明表明脂肪酸的存在阻碍了水分子的靠近，降低了淀粉纳米颗粒的亲水性，延长了淀粉颗粒在水中的润湿时长，增强了淀粉颗粒抵抗水渗透的能力。根据Chevalier等^[41]描述，颗粒在油水界面的解吸附能与接触角在 $30^\circ\sim 90^\circ$ 区间存在正相关，当颗粒的接触角越接近于 90° ，越容易被吸附到界面上，颗粒的界面双向润湿性越强。疏水改性的淀粉颗粒的接触角趋近 90° 时，展现出良好的乳化性，能够在油水界面形成物理屏障并阻碍油滴聚合并，从而使其制备的乳液能保持长期稳定^[5,7]。CSSNs-27的接触角比StNPs更趋近 90° ，因此CSSNs-27更具有更强的界面双向润湿性。

2.4 不同复合指数CSSNs乳液的稳定性

通常，乳液由于经历重力分离、絮凝、聚结、颗粒聚结、奥斯特瓦尔德熟化和相分离等一种或多种物理化学过程会随着时间的推移而失稳崩解，从而影响乳液加工和乳液品质，因此乳液的稳定性极为重要^[42]。在Pickering乳液中，具有良好界面润湿性的固体颗粒才能较快地被吸附到油水界面，才能在界面上形成稳固的物理屏障层，从而有效地防止液滴聚结和奥斯特瓦尔德熟化等失稳现象，赋予乳液长期物理稳定性^[43]。为考察所得颗粒稳定乳液的可行性，制备了一系列乳液。用添加量

均为7 g/100 mL的CSSNs-2、CSSNs-9、CSSNs-27制备油水比为3:7 (V/V) 的不含传统表面活性剂的乳液时, 所得到的乳液都能稳定7 d以上。之后CSSNs-2、CSSNs-9乳液均出现淀粉颗粒沉降、油水相分离和乳析现象, 而CSSNs-27乳液没有发生显著变化(图5)。在2.3节中, CSSNs-2、CSSNs-9、CSSNs-27颗粒的界面润湿性随复合指数增大而增强。因此, 复合指数较高CSSNs-27颗粒比CSSNs-2、CSSNs-9具有更好的稳定乳液的能力。

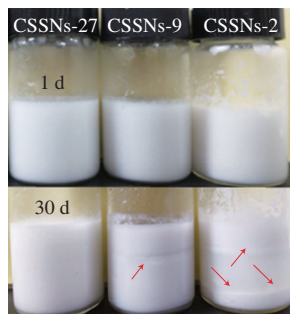


图5 CSSNs复合指数对Pickering乳液稳定性的影响

Fig. 5 Effect of complexing index of CSSNs on the stability of Pickering emulsion

作为对比, 分别使用添加量为7 g/100 mL的StNPs、CSSNs-27制备油水比为3:7 (V/V) Pickering乳液。乳液外观如图6所示。从外观上, 静置1 h后的StNPs乳液和CSSNs-27乳液均为乳白色的均相状态。静置2 d后, 观察到StNPs乳液的上层漂浮有大豆油, 乳液的底部出现较清的水层, 说明乳液发生油水分离和乳析现象; 而CSSNs-27乳液没有出现类似现象, 外观没有明显变化。静置30 d后, 观察到StNPs乳液的底部沉积有大量淀粉颗粒, 说明StNPs不适用于稳定Pickering乳液; CSSNs-27乳液没有类似情况, 也没有出现乳析、分层、相分离等。Shao Ping等^[44]报道添加量为7 g/100 mL的芋头淀粉茶多酚复合纳米颗粒, 能使油水比1:1的乳液稳定28 d以上, 但需要用NaCl将乳液离子浓度维持在0.04~0.06 mmol/L之间。Wang Ran等^[45]用添加2.5 g/100 mL的蜡质玉米淀粉茶多酚复合物能使油水比1:4的乳液在15 d内不发生乳析, 加入量达15%的亲水性的茶多酚使复合物颗粒形貌不明显。

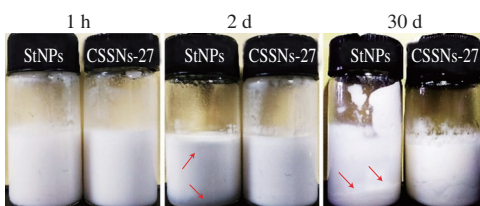
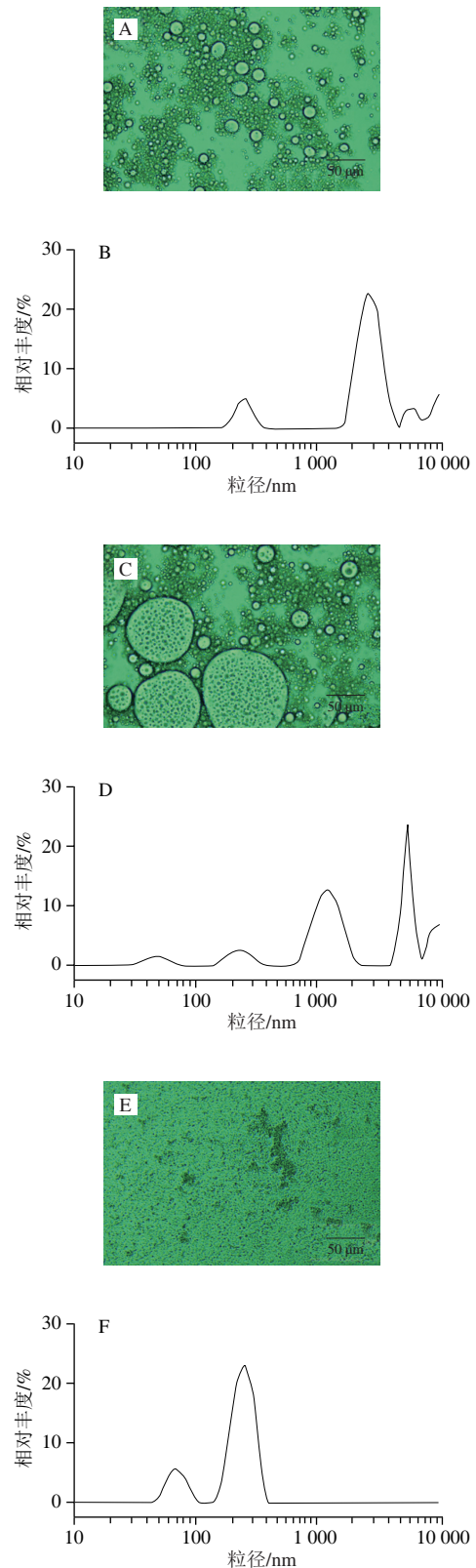


图6 StNPs、CSSNs-27制备的Pickering乳液贮存稳定性

Fig. 6 Stability of Pickering emulsions with StNPs or CSSNs-27



A、C、E为乳液贮存1 h、2 d、30 d后显微照片,

B、D、F为对应乳液液滴的粒径分布。图8同。

图7 StNPs制备的Pickering乳液贮存期间的液滴变化
Fig. 7 Changes in droplet size distribution of Pickering emulsion with StNPs

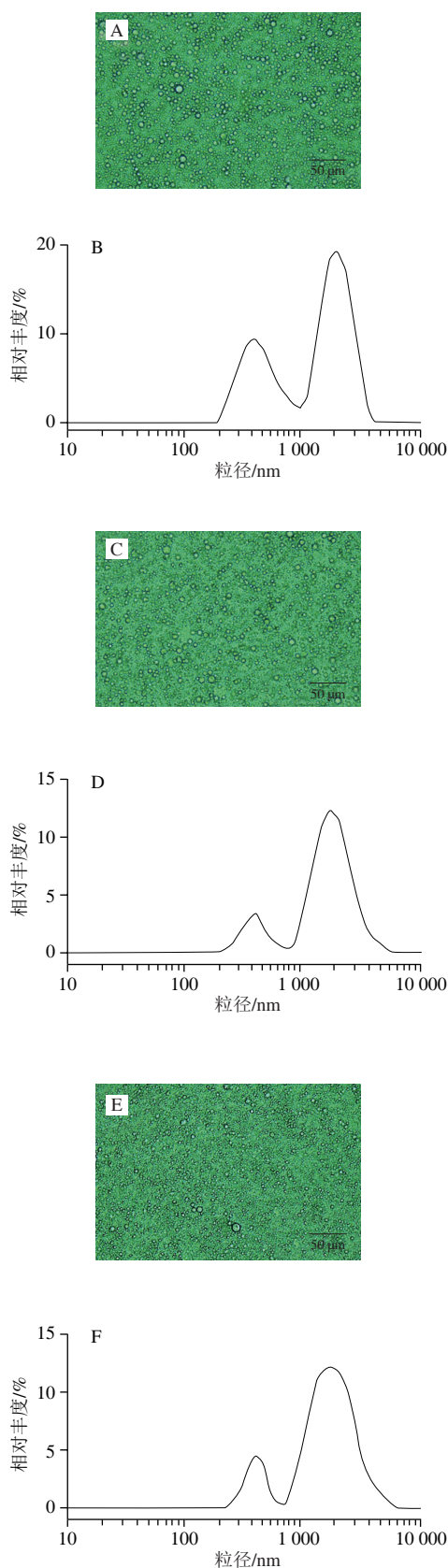


图8 CSSNs-27制备的Pickering乳液贮存期间的液滴变化
Fig. 8 Changes in droplet size distribution of Pickering emulsion with CSSNs-27

液滴粒径分布是表征Pickering乳液稳定性重要手段^[33]。在显微镜观察到的乳液微观形态和DLS分析(图7)中,静置1 h后的StNPs乳液的液滴粒径在1~40 μm均有分布,范围较宽;静置24 h后,一些液滴的粒径超过了100 μm,液滴形状不规则,DLS粒径分布曲线相比于静置1 h时明显偏向于更大尺寸方向,这是由于StNPs几乎不具有界面润湿活性,不能吸附到油水界面,无法有效阻隔乳滴聚结聚并,因此StNPs制备的乳液液滴发生聚并;存放30 d后,StNPs乳液通过显微镜没有观察到乳滴,而是看到一些淀粉颗粒在水相中分散或聚集成胶块,不能吸附到油水界面,因此不适用于稳定乳液。而在30 d的贮存期间,CSSNs-27乳液(图8)的液滴形态均呈现为规则的球形,液滴粒径均主要分布在0.3~5 μm之间,液滴粒径分布没有发生明显的变化,液滴之间较为分散,不聚集。颗粒表面所带电荷也会影响乳液的稳定性,当颗粒表面带有适量的同种电荷时,颗粒之间会形成静电斥力,有利于抑制乳液液滴的聚结,从而提高乳液的稳定性^[33,46]。CSSNs的Zeta电位均为负值,CSSNs-27电位达到了-15.41 mV(表1),比StNPs携带更多的电荷,可能有助于液滴分散。可见CSSNs-27比StNPs具有更强的Pickering乳液稳定能力。

2.5 CSSNs-27颗粒添加量的影响

物理屏障的有效构建不仅依赖于颗粒良好的润湿性,也依赖于乳液中的颗粒浓度。如图9所示,添加量为0.1 g/100 mL以上的复合纳米颗粒可以形成乳液。在贮存一段时间后,一部分CSSNs-27乳液的外观形态发生了变化。CSSNs-27添加量在0.1~5 g/100 mL,乳液在1~9 d内相继发生明显的乳析、油水分离,CSSNs-27添加量为1~5 g/100 mL的乳液还出现了颗粒沉积于底部的现象。当CSSNs-27添加量增加至7 g/100 mL和10 g/100 mL(图5~9)时,在60 d贮存期间,CSSNs-27乳液均没有发生乳析、相分离现象。

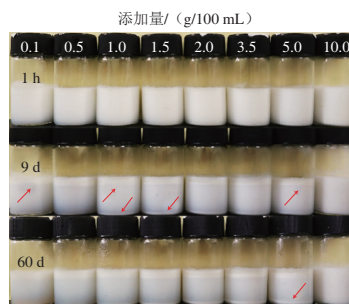
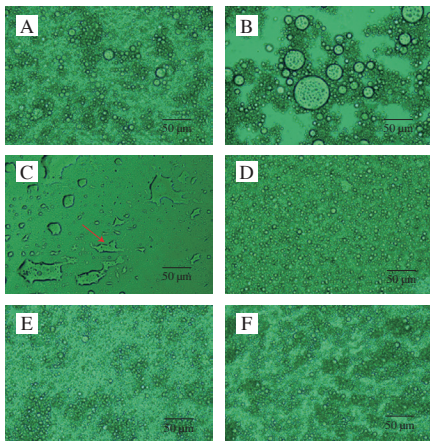


图9 CSSNs-27添加量对Pickering乳液稳定性的影响
Fig. 9 Stability of Pickering emulsion influenced by the amount of added CSSNs-27

通过显微镜观察(图10), CSSNs-27添加量为5 g/100 mL的乳液液滴有聚结现象, 在贮存5 d后出现了许多大尺寸的液滴, 贮存9 d后大部分液滴消失, 并观察到淀粉团聚现象, 说明乳液已经失稳。可能是由于较低浓度的CSSNs-27在液滴表面覆盖率较小, 不能在油水界面上形成完整的屏障膜层和空间网络结构, 导致油滴聚并和颗粒沉析。当添加量增加到7 g/100 mL(图6)和10 g/100 mL(图10)时, 乳液的液滴分布没有发生显著变化, 液滴形状和大小均没有发生较显著的变化, 液滴之间保持相对稳定的分散状态, 表面乳液稳定性好。



A、B、C为CSSNs-27添加5.0 g/100 mL贮存1 h、5 d、9 d的乳液显微照片; D、E、F为CSSNs-27添加10.0 g/100 mL贮存1 h、5 d、60 d的乳液显微照片。

图10 乳滴微观形态随CSSNs-27添加量的变化

Fig. 10 Evolution of micromorphology of emulsion droplets with the amount of added CSSNs-27

CI是Pickering乳液非常重要的评价指数之一^[5]。如图11所示, 在贮存期间, CSSNs-27添加量为0.1~5 g/100 mL的Pickering乳液CI值均呈现出随着时间延长而增加的趋势。CSSNs-27添加量为7 g/100 mL和10 g/100 mL的Pickering乳液CI值在60 d贮存期间无明显变化。这个结果说明, CSSNs-27添加量影响了Pickering乳液的稳定性。

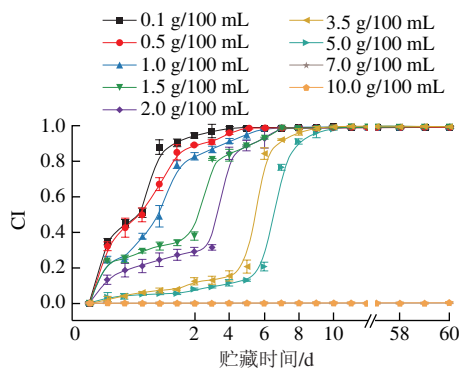
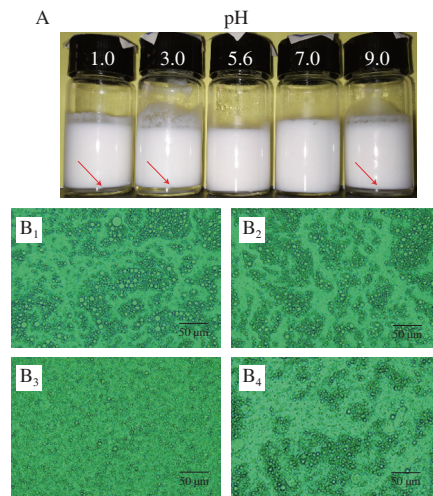


图11 不同添加量CSSNs-27乳液的乳析变化

Fig. 11 Evolution of creaming index of Pickering emulsion with different addition levels of CSSNs-27

2.6 环境因素对乳液稳定性的影响

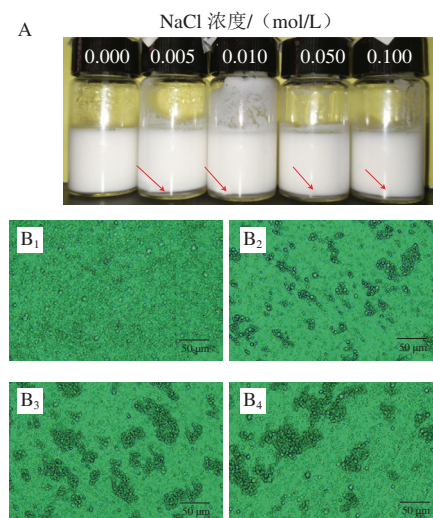
如图12所示, 当pH值为5.6~7.0时, 乳液外观稳定, 液滴的分散性较好, 没有发生聚集。当pH值为1.0、3.0时, 乳液出现乳析现象, 乳析层体积分数为7%~8%, 液滴出现聚集。当pH值为9.0时, 乳液也发生乳析现象, 但液滴分散性比在强酸性环境下的分散性好。可见, CSSNs-27乳液在弱酸、弱碱环境中稳定性更强。可能的原因是强酸性条件下颗粒的表面电荷被中和, 减弱了颗粒和液滴的静电斥力, 导致了液滴出现不同程度的聚集。在弱碱性条件下, 颗粒能较好地维持形貌, 颗粒表面能维持一定的负性电荷, 乳液表现出一定的稳定性, 这些情况与文献报道类似^[31]。



B. 下标1~4依次为pH 1.0、3.0、5.6、9.0。

图12 pH值对CSSNs-27乳液稳定性的影响

Fig. 12 Stability of CSSNs-27-based Pickering emulsion influenced by pH

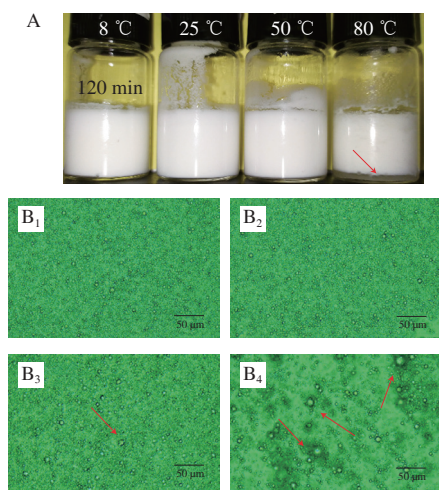


B. 下标1~4依次为NaCl浓度0、0.005、0.01、0.1 mol/L。

图13 NaCl浓度对CSSNs-27乳液稳定性的影响

Fig. 13 Stability of CSSNs-27-based Pickering emulsion influenced by NaCl concentration

如图13所示,与加入酸的情况类似,当乳液中NaCl浓度由0 mol/L增加至0.01 mol/L,乳液均出现了乳析,液滴的聚集程度增加。可能是因为NaCl的加入,减弱了纳米淀粉颗粒表面电荷,降低了静电斥力,而静电斥力对Pickering乳液稳定性的维持有重要作用^[31]。当NaCl浓度从0.01 mol/L增加至0.1 mol/L时,乳液的乳析现象和液滴聚集程度没有发生更剧烈变化。可见,CSSNs-27乳液对低离子强度较敏感。



B.下标1~4依次为保存温度8、25、50、80 °C。

图14 环境温度对CSSNs-27乳液稳定性的影响

Fig. 14 Stability of CSSNs-27-based Pickering emulsion influenced by ambient temperature

如图14所示,当乳液保存在8~50 °C之间,乳液外观稳定,液滴分散性好,液滴粒径没有观察到较显著的改变。当温度升高到80 °C,存放120 min后,乳液出现了乳析,液滴发生了一些聚集,乳液中出现了一些粒径较大的乳滴,有的液滴粒径达到了15~20 μm,但是仍能呈现出较好的乳液形态。可能的原因是颗粒、液滴的热运动增加导致了部分液滴聚并,这种现象在大部分的乳液中均较为常见^[3]。

3 结论

利用木薯淀粉溶液与硬脂酸复合的方法制备了CSSNs复合纳米颗粒。通过碘比色法、XRD、FTIR分析颗粒的结构性质,发现CSSNs复合指数为3%~27%,具有淀粉脂质复合物特征性的V型结晶和红外短程有序性。通过SEM和DLS分析CSSNs的微观形态和颗粒尺寸,发现颗粒呈不规则的似球形形态,颗粒粒径主要集中在为50~800 nm之间。CSSNs颗粒的接触角达到60.30°,表面负电荷数达到了-15.41 mV,界面润湿性相对于StNPs明显提高。添加7 g/100 mL的CSSNs-27能稳定Pickering乳液60 d以上,期间乳液外观和液滴分布没有发生显

著变化。乳液能够稳定在pH 5.6~9.0之间,能够抵抗0.01~0.1 mol/L浓度NaCl离子强度的影响,加热到80 °C仍然呈现出较好的乳液形态。研究表明,通过简单复合、醇沉方法得到的高含量支链淀粉木薯淀粉可用于制备出具有稳定乳液性能的CSSNs颗粒,可供相关领域参考和应用。

参考文献:

- [1] YAN S Z, ZHANG S, ZHU H P, et al. Recent advances in protein-based multilayer emulsions: fabrication, characterization, and applications: a review[J]. *Food Reviews International*, 2022: 1-18. DOI:10.1080/87559129.2022.2090576.
- [2] ZHENG Y, OGUZLU H, BALDELLI A, et al. Sprayable cellulose nanofibrils stabilized phase change material Pickering emulsion for spray coating application[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 291: 119583. DOI:10.1016/j.carbpol.2022.119583.
- [3] ALBERT C, BELADJINE M, TSAPIS N, et al. Pickering emulsions: preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications[J]. *Journal of Controlled Release*, 2019, 309: 302-332. DOI:10.1016/j.jconrel.2019.07.003.
- [4] CHOI H D, HONG J S, PYO S M, et al. Starch nanoparticles produced via acidic dry heat treatment as a stabilizer for a Pickering emulsion: influence of the physical properties of particles[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 239: 116241. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116241.
- [5] 李松南. 淀粉基Pickering乳液稳定机理及在叶黄素递送中的应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- [6] BERTON-CARABIN C C, SCHROEN K. Pickering emulsions for food applications: background, trends, and challenges[J]. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2015, 6: 263-297. DOI:10.1146/annurev-food-081114-110822.
- [7] LI W H, YU Y, PENG J L, et al. Effects of the degree of substitution of OSA on the properties of starch microparticle-stabilized emulsions[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 255: 117546. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.117546.
- [8] WANG X, HUANG L X, ZHANG C H, et al. Research advances in chemical modifications of starch for hydrophobicity and its applications: a review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 240: 116292. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116292.
- [9] GUIDA C, AGUIAR A C, CUNHA R L. Green techniques for starch modification to stabilize Pickering emulsions: a current review and future perspectives[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2021, 38: 52-61. DOI:10.1016/j.cofs.2020.10.017.
- [10] OJOGBO E, OGUNSONA E O, MEKONNEN T H. Chemical and physical modifications of starch for renewable polymeric materials[J]. *Materials Today Sustainability*, 2020, 7/8: 100028. DOI:10.1016/j.mtsust.2019.100028.
- [11] LU X, HUANG Q. Nano/submicrometer milled red rice particles-stabilized Pickering emulsions and their antioxidative properties[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(1): 292-300. DOI:10.1021/acs.jafc.9b04827.
- [12] DAS A, SIT N. Modification of taro starch and starch nanoparticles by various physical methods and their characterization[J]. *Starch-Stärke*, 2021, 73(5/6): 2000227. DOI:10.1002/star.202000227.
- [13] DONG H M, ZHANG Q, GAO J, et al. Preparation and characterization of nanoparticles from cereal and pulse starches by ultrasonic-assisted dissolution and rapid nanoprecipitation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 122: 107081. DOI:10.1016/j.foodhyd.2021.107081.

- [14] PEREZ HERRERA M, VASANTHAN T. Rheological characterization of gum and starch nanoparticle blends[J]. Food Chemistry, 2018, 243: 43-49. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.09.011.
- [15] LU H, TIAN Y Q. Nanostarch: preparation, modification, and application in Pickering emulsions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(25): 6929-6942. DOI:10.1021/acs.jafc.1c01244.
- [16] PUTSEYS J A, LAMBERTS L, DELCOUR J A. Amylose-inclusion complexes: formation, identity and physico-chemical properties[J]. Journal of Cereal Science, 2010, 51(3): 238-247. DOI:10.1016/j.jcs.2010.01.011.
- [17] ZHANG B, DHITAL S, GIDLEY M J. Densely packed matrices as rate determining features in starch hydrolysis[J]. Trends in Food Science & Technology, 2015, 43(1): 18-31. DOI:10.1016/j.tifs.2015.01.004.
- [18] YASSAROH Y, WOORTMAN A J J, LOOS K. Physicochemical properties of heat-moisture treated, stearic acid complexed starch: the effect of complexation time and temperature[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 175: 98-107. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.01.124.
- [19] HAY W T, FANTA G F, FELKER F C, et al. Emulsification properties of amylose-fatty sodium salt inclusion complexes[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 90: 490-499. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.12.038.
- [20] YAN X X, DIAO M X, LI C F, et al. Formation and properties of starch-palmitic acid complex nanoparticles and their influence on Pickering emulsions[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 204: 685-691. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.01.170.
- [21] GURAYA H S, KADAN R S, CHAMPAGNE E T. Effect of rice starch-lipid complexes on *in vitro* digestibility, complexing index, and viscosity[J]. Cereal Chemistry, 1997, 74(5): 561-565.
- [22] WANG S J, WANG J R, YU J L, et al. Effect of fatty acids on functional properties of normal wheat and waxy wheat starches: a structural basis[J]. Food Chemistry, 2016, 190: 285-292. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.05.086.
- [23] WANG Z Y, MHASKE P, FARAHNAKY A, et al. Cassava starch: chemical modification and its impact on functional properties and digestibility: a review[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 129: 107542. DOI:10.1016/j.foodhyd.2022.107542.
- [24] 敖颖, 徐飞, 朱科学, 等. 菠萝蜜淀粉-月桂酸复合物的理化特性研究[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40: 98-107. DOI:10.12301/spxb202100257.
- [25] 褚绍言, 孙冰华, 马森, 等. 淀粉粒径对小麦淀粉-月桂酸复合物结构及消化性的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2021, 42(5): 21-29. DOI:10.16433/j.1673-2383.2021.05.003.
- [26] CUENCA P, FERRERO S, ALBANI O. Preparation and characterization of cassava starch acetate with high substitution degree[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105430. DOI:10.1016/j.foodhyd.2019.105430.
- [27] CHANG R R, JI N, LI M, et al. Green preparation and characterization of starch nanoparticles using a vacuum cold plasma process combined with ultrasonication treatment[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2019, 58: 104660. DOI:10.1016/j.ultsonch.2019.104660.
- [28] LI B, ZHANG Y T, XU F, et al. Supramolecular structure of *Artocarpus heterophyllus* Lam seed starch prepared by improved extrusion cooking technology and its relationship with *in vitro* digestibility[J]. Food Chemistry, 2021, 336: 127716. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.127716.
- [29] YAO X C, LIN R H, LIANG Y S, et al. Characterization of acetylated starch nanoparticles for potential use as an emulsion stabilizer[J]. Food Chemistry, 2022, 400: 133873. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.133873.
- [30] NIE C L, BU X P, MA S H, et al. Pickering emulsions synergistically stabilized by cellulose nanocrystals and peanut protein isolate[J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 167: 113884. DOI:10.1016/j.lwt.2022.113884.
- [31] 王然. 辛烯基琥珀酸钠米淀粉酯颗粒的制备及其食品级Pickering乳液的特性[J]. 食品科学, 2019, 40(20): 94-99. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190316-204.
- [32] JIA X Z, SUN S W, CHEN B Y, et al. Understanding the crystal structure of lotus seed amylose-long-chain fatty acid complexes prepared by high hydrostatic pressure[J]. Food Research International, 2018, 111: 334-341. DOI:10.1016/j.foodres.2018.05.053.
- [33] 王然. 茶多酚-淀粉纳米颗粒稳定Pickering乳液的特性[J]. 食品科学, 2022, 44(6): 1-11. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220415-176.
- [34] WANG S Q, WU T H, CUI W J, et al. Structure and *in vitro* digestibility on complex of corn starch with soy isoflavone[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(11): 6061-6068. DOI:10.1002/fsn3.1896.
- [35] 邹金浩, 李燕, 欧阳华峰, 等. 不同薯类淀粉结构性质与粉条品质的关系[J]. 食品科学, 2020, 41(23): 77-82. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20191123-271.
- [36] CHANG Y, YAN X, WANG Q, et al. Influence of ultrasonic treatment on formation of amylose nanoparticles prepared by nanoprecipitation[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157: 1413-1418. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.11.019.
- [37] LIU P F, GAO W, ZHANG X, et al. Physicochemical properties of pea starch-lauric acid complex modified by maltogenic amylase and pullulanase[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 242: 116332. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116332.
- [38] ZELEZNAK K J, HOSENEY R C. Characterization of starch from bread aged at different temperatures[J]. Starch-Stärke, 1987, 39(7): 231-233. DOI:10.1002/star.19870390704.
- [39] WANG S J, LI C L, COPELAND L, et al. Starch retrogradation: a comprehensive review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2015, 14(5): 568-585. DOI:10.1111/1541-4337.12143.
- [40] JOUPPILA K, KANSIKAS J, ROOS Y H. Factors affecting crystallization and crystallization kinetics in amorphous corn starch[J]. Carbohydrate Polymers, 1998, 36(2): 143-149. DOI:10.1016/S0144-8617(98)00024-1.
- [41] CHEVALIER Y, BOLZINGER M-A. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2013, 439: 23-34. DOI:10.1016/j.colsurfa.2013.02.054.
- [42] MCCLEMENTS D J, JAFARI S M. Improving emulsion formation, stability and performance using mixed emulsifiers: a review[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2018, 251: 55-79. DOI:10.1016/j.cis.2017.12.001.
- [43] LI Q, WU Y L, FANG R X, et al. Application of nanocellulose as particle stabilizer in food Pickering emulsion: scope, merits and challenges[J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 573-583. DOI:10.1016/j.tifs.2021.02.027.
- [44] SHAO P, ZHANG H, NIU B, et al. Physical stabilities of taro starch nanoparticles stabilized Pickering emulsions and the potential application of encapsulated tea polyphenols[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118(Pt B): 2032-2039. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.07.076.
- [45] WANG R, ZHOU J. Waxy maize starch nanoparticles incorporated tea polyphenols to stabilize Pickering emulsion and inhibit oil oxidation[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 296: 119991. DOI:10.1016/j.carbpol.2022.119991.
- [46] MASOUDIPOUR E, KASHANIAN S, AZANDARYANI A H, et al. Surfactant effects on the particle size, zeta potential, and stability of starch nanoparticles and their use in a pH-responsive manner[J]. Cellulose, 2017, 24(10): 4217-4234. DOI:10.1007/s10570-017-1426-3.