

阿拉伯木聚糖与壳聚糖复凝聚物的制备及表征

王文霞*, 李瑞祺, 张慧君, 王慧敏, 宫春宇, 李昊, 赵晓悦

(齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江省果蔬杂粮饮品工程技术研究中心, 黑龙江省普通高校农产品加工重点实验室, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要: 研究了不同因素对壳聚糖-阿拉伯木聚糖复凝聚的影响, 通过测定平衡相的浊度和复凝聚相收率确定玉米阿拉伯木聚糖 (CAX) 和壳聚糖 (CS) 间复合物形成的条件。采用红外光谱、热重分析、扫描电子显微镜和流变学特性对复凝聚物进行表征。研究结果表明, 在 CAX/CS 配比为 9:1, 体系 pH 值为 4.0, 总固形物浓度为 3% (*m/m*), 室温下反应 10 min, 最大复凝聚相产率达 76.04%。红外光谱和热重分析结果表明, CAX/CS 复凝聚物是通过 CS 中的 $-NH_3^+$ 和 CAX 中 $-COO^-$ 之间的相互吸引形成的。用 SEM 扫描成像显示复凝聚物具有规则且分布均匀的多孔网络结构。CAX/CS 复凝聚物粘弹特性取决于发生复凝聚的 pH 值。在 pH 值 3.5 和 4.0 时, 复凝聚物为液体粘弹行为; 在 pH 值 5.0 时, 复凝聚物为固体粘弹性行为。pH 值 5.0 下形成的复凝聚物的 G' 最高, 说明除静电作用外, 其他因素也可能对 CAX/CS 复凝聚物粘弹特性起重要作用。CAX/CS 复凝聚物可以作为包封营养素和功能性因子的微囊化壁材。

关键词: 阿拉伯木聚糖; 壳聚糖; 复凝聚; 表征

文章编号: 1673-9078(2023)06-212-220

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.6.0612

Preparation and Characterization of Arabinoxylan/Chitosan Complex Coacervates

WANG Wenxia*, LI Ruiqi, ZHANG Huijun, WANG Huimin, GONG Chunyu, LI Hao, ZHAO Xiaoyue

(College of Food and Biology Engineering, Qiqihaer University, Vegetable and Grain Beverage Engineering Technology Research Center of Heilongjiang Province, Key Laboratory of Pressing Agricultural Products of Heilongjiang Province, Qiqihar 161006, China)

Abstract: The influences of different factors on the complex coacervates of corn arabinoxylan (CAX) and chitosan (CS) were investigated and the conditions for the formation of arabinoxylan/chitosan complexes were determined by measuring the turbidity at equilibrium and the complex coacervate yield obtained by precipitation. Complex coacervates were characterized using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis, scanning electron microscopy (SEM), and rheological properties. A maximum complex coacervate yield of 76.04 % was obtained under the optimum conditions of an arabinoxylan/chitosan mass ratio of 9:1, total biopolymer concentration of 3 % (*m/m*), pH of 4.0, the room temperature, and reaction time of 10 min. FTIR and thermogravimetric analysis results suggested that complex coacervates are formed via electrostatic interactions between the CS amine group ($-NH_3^+$) and the CAX carboxyl group ($-COO^-$). SEM micrographs revealed a regular and uniformly distributed porous network structure for the complex coacervates. Viscoelastic properties of CAX/CS complex coacervates depend on the coacervation pH, with coacervates formed at pH 3.5 and 4.0 showing liquid viscoelastic behavior and those formed at pH 5.0 exhibiting solid viscoelastic behavior. The coacervates formed at pH 5.0 had the highest elastic modulus, implying that factors other than electrostatic interaction are important in the viscoelastic properties. The results indicate that CAX/CS coacervates can be applied for the encapsulation of nutrients and other functional factors.

Key words: arabinoxylan; chitosan; complex coacervation; characterization

引文格式:

王文霞,李瑞祺,张慧君,等.阿拉伯木聚糖与壳聚糖复凝聚物的制备及表征[J].现代食品科技,2023,39(6):212-220.

WANG Wenxia, LI Ruiqi, ZHANG Huijun, et al. Preparation and characterization of arabinoxylan/chitosan complex coacervates [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(6): 212-220.

收稿日期: 2022-05-16

基金项目: 黑龙江省教育厅基本业务专项粮头食尾项目 (LTSW201710); 黑龙江省教育厅基本业务专项理工面上项目 (135209275)

作者简介: 王文霞 (1963-), 女, 教授, 研究方向: 农产品精深加工, E-mail: wwwang1127@163.com

近年来,蛋白质-多糖、多糖-多糖之间发生的复凝聚反应在食品、制药和化妆品行业的潜在应用引起了科研人员相当大的兴趣^[1-3]。

复凝聚反应是指两种带相反电荷的聚电解质通过静电吸引作用发生相分离而产生沉淀的一种自发现象。在一定的 pH 值下,作为带相反电荷的聚电解质可能发生静电相互作用,形成不同的复合物:包括可溶复合物,液态凝聚物或固体沉淀^[4]。当聚电解质之间的分子间静电相互作用很强时,复合物的净电荷接近于零,导致液-液相分离,形成一个富溶剂相亦称平衡相和另一富复合物相亦称复凝聚相或复凝聚物^[5]。由相反电荷聚电解质链之间的静电相互吸引作用产生的复凝聚物由具有多种功能的结构单元构成,可用于改善食品的感官机械性能、乳剂稳定性和生物活性成分的口服生物利用度^[6]。复合凝聚法是一种反应过程比较温和、高产率和高效率的方法^[7]。

静电相互作用在复凝聚相的形成中起着重要作用,此外,氢键和疏水相互作用等可能有助于复合物的形成^[8]。复凝聚物的形成、结构和性能受 pH、聚电解质混合比、离子强度、电荷密度、分子量、聚电解质链柔性、温度等参数的影响^[9]。

自复凝聚技术问世以来,已有大量学者对蛋白质-多糖之间的复凝聚进行了较为系统的研究^[10,11]。然而,多糖-多糖相互作用及其应用的报道相对较少。这主要是由于甲壳素及其脱乙酰基衍生物壳聚糖(Chitosan, CS)是唯一的天然阳离子多糖,而且,对甲壳素的研究和利用相对较晚,始于 20 世纪 70 年代^[12]。带正电荷的壳聚糖能够与带负电荷的多糖相互作用,发生复凝聚反应形成静电复合物。目前在食品领域研究多糖-多糖复凝聚体系主要有黄原胶-壳聚糖和阿拉伯胶-壳聚糖体系^[13-16]。阿拉伯胶-壳聚糖是目前研究较为系统的多糖-多糖复凝聚体系^[17,18],利用阿拉伯胶/壳聚糖形成的复合壁材可以保持姜精油的性质和稳定性^[19]。

壳聚糖是由 2-乙酰氨基-2-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖和 2-氨基-2-脱氧- β -D-吡喃葡萄糖残基通过 β -(1,4)糖苷键连接而成的带正电荷的线性多糖^[20]。壳聚糖具有机械性能、成膜特性、抑菌性、生物相容性和生物可降解性等优良性能,越来越多地用于开发食品抗菌剂、食品封装和微胶囊^[21]。玉米阿拉伯木聚糖(Corn Arabinosyln, CAX)是从玉米纤维中提取出来的水不溶性阿拉伯木聚糖。CAX 主要由木糖和阿拉伯糖组成,还含有少量的半乳糖和葡萄糖醛酸,其基本结构是以 β -(1 \rightarrow 4)-D-吡喃木糖残基为线型主链^[22],是一种复杂支链阴离子非均一聚电解质。由于 CAX 具有溶解性好、粘度低、成膜、乳化性和封装性能等理化

性质,可以作为在食品、药品和化妆品工业中成膜物质、增稠剂、乳化剂以及食品包装材料^[23,24]。因此,CAX 是阿拉伯胶的一个替代品^[25]。由于,CAX 的羧酸盐携带负电荷,故 CAX 是 CS 的潜在合适匹配物,CAX 和 CS 可能会产生吸引人的相互作用。而目前,对 CAX 和 CS 复合凝聚反应及其应用尚未得到研究。

本研究旨在研究体系 pH 值、CAX/CS 配比、离子强度、总固形物浓度以及反应时间和温度等因素对复凝聚反应的影响,并采用傅立叶变换红外光谱、热重分析、扫描电子显微镜和动态流变仪等手段对制备的复凝聚相进行表征,以期 CAX/CS 复合凝聚在实际应用中提供有用信息。

1 材料与方法

1.1 材料

壳聚糖: 15 mPa s, 浙江澳兴生物科技有限公司; 玉米阿拉伯木聚糖: 本实验室以脱淀粉玉米纤维为原料,采用碱性过氧化氢提取工艺和超滤相结合方法自制^[26]; 氢氧化钠、盐酸、醋酸等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

B-10 型 pH 计,北京赛多利斯科学仪器有限公司; L5 型紫外分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司; BS124S 分析天平分析天平,北京赛多利斯仪器有限公司; ZNCL-GS 智能磁力搅拌器,巩义市科华仪器设备有限公司; Alpha 2-4 LSCbasic 冷冻干燥机,德国 Martin Christ 公司; Nano ZS90 纳米粒度电位分析仪,英国马尔文有限公司; TESCAN MIRA LMS 扫描电子显微镜,捷克 TESCAN 公司; kinexusPro+型流变仪,英国马尔文有限公司; Diamiand 热重分析仪,美国 PE 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 制备 CAX 和 CS 储备溶液

10% (m/m) CAX 溶液: 取 10 g CAX, 加去离子水至 100 g, 在磁力搅拌器中搅拌过夜, 备用, 贮存时放置在 4 °C 冰箱内。

3% (m/m) CS 溶液: 取 0.6 g CS, 加入 1% (V/V) 的醋酸溶液至 20 g, 在磁力搅拌器中搅拌过夜, 备用, 贮存时放置在 4 °C 冰箱内。

1.3.2 阿拉伯木聚糖与壳聚糖复凝聚反应

将一定量的 10% (m/m) 的 CAX 储备溶液和 3% (m/m) 的 CS 储备溶液, 分别加去离子水和 1% 乙酸溶液 (V/V) 稀释至等体积。将阿拉伯木聚糖溶液缓慢

加到壳聚糖溶液中,采用盐酸溶液或氢氧化钠溶液调节 pH 值,在一定温度下反应一定时间,使其发生复凝聚反应,制备阿拉伯木聚糖与壳聚糖复凝聚体系,复凝聚反应体系于室温条件下放置 12 h。通过测定复凝聚物产率和平衡相的浊度,监测 CAX/CS 复凝聚反应的程度。通过改变 CAX/CS 配比、pH 值、总固形物浓度、盐浓度、温度和时间等,研究各因素对复凝聚反应的影响。

1.3.2.1 浊度的测定

CAX/CS 复凝聚反应后,放置 12 h。测定 CAX/CS 复凝聚反应平衡相在 600 nm 处的吸光值。平衡相的吸光度值越小,则平衡相的浊度就越小,CAX 与 CS 发生复凝聚反应越剧烈。

1.3.2.2 复凝聚物产率的测定

CAX/CS 复凝聚反应后,放置 12 h,在 8 000 r/min,离心 10 min,用去离子水洗沉淀 3 次。收集复凝聚物,在 65 °C 下干燥,根据以下式计算复凝聚物的产率。

$$P = \frac{m}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

P ——复凝聚物产率, %;

m_0 ——CS 和 CAX 的总质量, g;

m ——反应所得复凝聚物干质量, g。

1.3.3 CAX/CS 复凝聚物的制备

制备的 CAX/CS 复凝聚体系,在 4 000 r/min,离心 20 min,收集复凝聚物。一部分复凝聚物洗涤、冷冻干燥;一部分复凝聚物室温放置 30 min。对 CAX/CS 复凝聚物进行表征。

1.3.4 复凝聚物的表征

1.3.4.1 红外光谱分析 (FT-IR)

取少量 CAX、CS 和冻干 CAX/CS 复凝聚物,采用 KBr 压片,利用傅里叶红外光谱仪进行测试,测试波长范围为 400~4 000 cm^{-1} 。

1.3.4.2 热特性分析

对 CAX、CS 和 CAX/CS 复凝聚物冻干粉进行热重分析。测试条件:样品在氧化铝坩埚中加入样品 3.00~5.00 mg,以空坩埚作为对照,程序升温速率 20 °C/min,扫描温度室温~800 °C,氮气流速 20 mL/min。记录了质量损失与炉温的函数关系。

1.3.4.3 扫描电子显微镜分析 (SEM)

将 CAX、CS 和冻干 CAX/CS 复凝聚物研磨成细粉,把制备好的样品进行喷金处理,然后将其置于场发射 SEM 中以观察。

1.3.4.4 流变特性

对 CAX/CS 复凝聚物的粘弹特性进行研究。将样

品加到流变仪测试平台上,周边覆盖少量甲基硅油防止水分蒸发。采用 40 mm 锥板(1 °),板间距离 $d=0.1$ mm,在 (25 ± 0.2) °C 下,应变固定为 1% (线性黏弹区内),在 0.1~10 Hz 范围内进行频率扫描。

1.3.5 数据分析

所有实验重复做 3 次,结果用平均值 \pm 标准差形式表示。使用 WPS 中的 Excel 进行数据处理与分析,采用 SPSS 统计软件进行 t 检验和方差分析,当 $P < 0.05$ 时差异显著。

2 结果与讨论

2.1 复凝聚反应条件对复凝聚反应的影响

2.1.1 pH 对复凝聚反应的影响

将一定量的 10% (m/m) 的 CAX 储备溶液和 3% (m/m) 的 CS 储备溶液,分别稀释并等体积混合,使总固形物浓度为 3% (m/m),CAX/CS 配比为 9:1。分别调节体系 pH 值为 3.0、3.5、3.8、4.0、4.2、4.5、5.0、6.0,室温下搅拌 10 min,静置 12 h 后,测定平衡相的浊度和复凝聚物产率。pH 对 CAX/CS 复凝聚反应的影响见图 1。

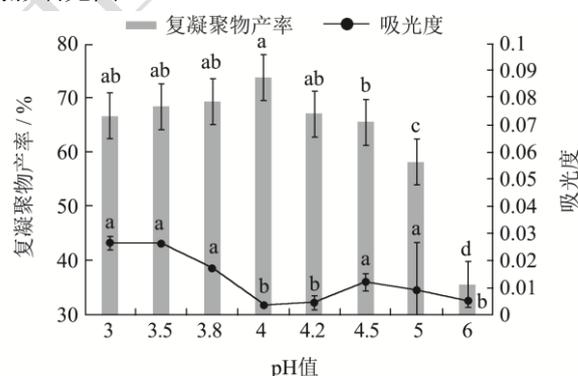


图 1 体系 pH 对复凝聚反应的影响

Fig.1 Arabinoxylan-chitosan coacervate yield and equilibrium phase turbidity as a function of solutions pH

注:图中小写字母表示显著性差异 $P < 0.05$ 。下图同。

CAX 与 CS 发生复凝聚反应后,复凝聚相分离沉淀,平衡相的浊度越小,CAX 与 CS 发生复凝聚反应越剧烈。由图 1 可以看出,当体系 pH 值从 3.0 变化至 4.0 时,复合溶液的复凝聚产率没有显著性差异 ($P > 0.05$),但呈现增加趋势;平衡相的浊度逐渐降低;在体系 pH 值 4.0 时,复凝聚物产率最高;平衡相的浊度最小。当体系 pH 值从 4.0 变化至 6.0 时,凝聚率逐渐降低,平衡相的浊度呈现先增加后降低。说明 CAX/CS 复凝聚相的形成主要是通过二者的静电相互作用产生的,其体系 pH 值影响了两种多糖的解离程度,影响其发生静电相互作用,从而影响了复凝聚相

生成^[27]。pH 值是影响 CAX 与 CS 发生复凝聚反应的一个重要因素。

这是因为溶液的 pH 值不同, CAX 分子中羧基与 CS 分子中氨基发生不同程度的解离, 2 个分子链上的静电荷数量不同, 影响了静电相互作用的程度。当体系 pH 值 3.0~4.2 时, CS 分子中的氨基质子化-NH₃⁺, CAX 中-COOH 完全解离, 二者发生静电复合作用强度大, 因为在这个 pH 值范围内, 生物聚合物的相反电荷密度达到化学计量平衡, 形成较高的复凝聚物产率。CAX 与 CS 两个生物聚合物之间最大相互作用发生在 pH 值 4.0。这一 pH 值是每对聚电解质的特征值, 如阿拉伯胶和 CS 的 pH 值 4.5^[18], 甜豆胶-CS 的 pH 值 4.5^[28], 因此, 在本研究中, 选择 pH 值 4.0 制备 CAX/CS 复凝聚物。

2.1.2 CAX/CS 配比对复凝聚反应的影响

将一定量的 10% (m/m) 的 CAX 储备溶液和 3% (m/m) 的 CS 储备溶液, 分别稀释并等体积混合, 使 CAX/CS 配比分别为: 5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1, 总固形物浓度 3% (m/m)。调节体系 pH 值 4.0, 室温下搅拌 10 min, 静置 12 h 后, 测定平衡相的浊度和复凝聚相产率。CAX/CS 配比对复凝聚反应的影响如图 2 所示。

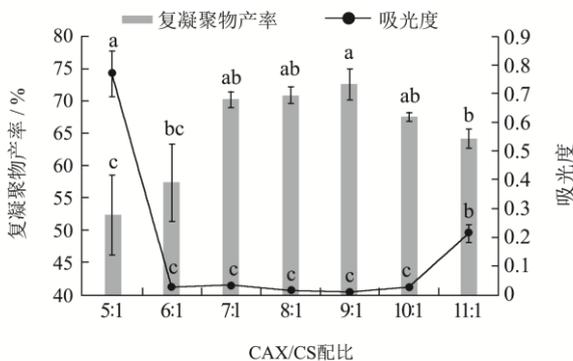


图 2 CAX/CS 配比对复凝聚物产率及浊度的影响

Fig.2 Arabinoxylan-chitosan coacervate yield and equilibrium phase turbidity as a function of mass ratio for arabinoxylan /chitosan coacervate

当 CAX/CS 配比为 9:1 时, 凝聚相产率最大, 均高于其它配比; 浊度最小, 均低于其它配比。而 CAX/CS 配比 9:1 与 7:1、8:1 和 10:1 相比, 凝聚相产率和浊度没有显著性差异。CAX/CS 配比从 9:1 下降到 11:1 凝聚相产率显著下降, 浊度显著升高。CAX/CS 配比从 9:1 降到 6:1 和 5:1 时, 凝聚相产率显著下降; CAX/CS 配比从 9:1 降到 5:1 时, 浊度显著升高。由此可以断定, 在 CAX/CS 配比 9:1 时, CAX 与 CS 两个生物聚合物之间的相互作用最大。

有研究指出, 两种生物聚电解质带等量相反电荷

时, 也就是 ζ -电位为 0 时, 此时盐键的数量最多, 为最佳的复合条件^[8]。显然, CAX 和 CS 之间的化学计量电荷比在 CAX/CS 配比为 9:1 时发生, 导致两种生物聚合物之间的静电相互作用最大。这种现象意味着两种类型的大分子之间都发生了电荷中和。随着 CAX/CS 比离 9:1 越远, 大分子之间的电荷平衡也越偏离其化学计量比, 溶液中相应的电荷也会多, 会产生相应的静电斥力, 复凝聚物解离为水溶性而无法沉淀析出^[29], 复凝聚物产率下降更明显。在本研究中, 选择 CAX/CS 配比为 9:1 制备 CAX/CS 复凝聚物。

2.1.3 总固形物浓度对复凝聚反应的影响

将一定量的 10% (m/m) 的 CAX 储备溶液和 3% (m/m) 的 CS 储备溶液, 分别稀释并等体积混合, 使 CAX/CS 配比为 9:1, 总固形物浓度分别为: 0.5、1.0、1.5、2.0、3.0% (m/m)。调节体系 pH 值 4.0, 室温下搅拌 10 min, 静置 12 h 后, 测定平衡相的浊度和复凝聚相产率。体系总固形物浓度对复凝聚反应的影响如图 3 所示。

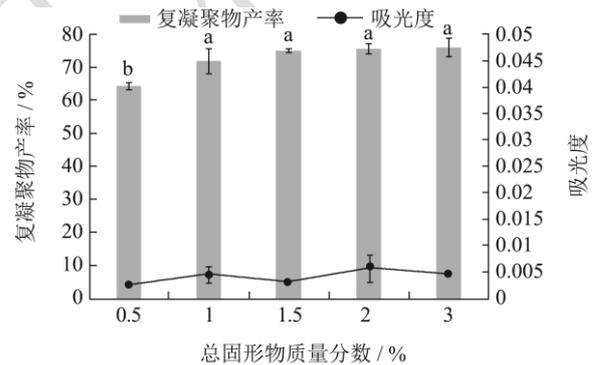


图 3 总固形物质量分数对复凝聚物产率及浊度的影响

Fig.3 Arabinoxylan-chitosan coacervate yield and equilibrium phase turbidity as a function of total biopolymers concentration

注: 总固形物质量分数对浊度的影响无显著性差异, 故图中未进行标注。

总固形物质量分数较低时 (0.5%) 复凝聚率较低。随着总固形物质量分数的升高, 凝聚相产率逐渐增大。当总固形物质量分数达到 1% 后, 复凝聚相产率趋于稳定。总固形物质量分数为 1%~3%, 复凝聚物产率与浊度均无显著性差异, 总固形物质量分数为 3% 时, 复凝聚物产率最高, 其最高值为 76.04%。在本研究中, 选择总固形物质量分数 3% 制备 CAX/CS 复凝聚物。

无论是过低还是过高的总固形物质量分数都不能有效地形成凝聚物。而当总固形物质量分数低于 0.5% 时, 分子链上的可解离基团解离程度高, 分子链伸展程度高、刚性强, 暴露的电荷位点具有更少的反应自由度, 相对来说不容易发生复聚反应。在相对较高的总固形物质量分数 (1%~3%) 下, 大分子的电离程度

较低,大分子主链的灵活性高得多,因为它的膨胀较小,所以电荷位点更容易相互作用,从而导致更高的凝聚率^[9,30]。当总固形物质量分数过高时,CS质量分数过高,溶液黏度过大,分子链很难伸展,与CAX形成复合物不均匀。

2.1.4 时间对复凝聚反应的影响

将一定量的10% (m/m)的CAX储备溶液和3% (m/m)的CS储备溶液,分别稀释并等体积混合,使CAX/CS配比为9:1,体系总固形物质量分数为3.0%。调节体系pH值4.0,室温下搅拌时间分别为:10、20、30、60、90 min,静置12 h后,测定平衡相的浊度和复凝聚相产率。反应时间对复凝聚反应的影响如图4所示。

由图4可知,CAX/CS复凝聚溶液在不同的搅拌时间下,所得的最终复凝聚物产率均在72%~75%之间。其复凝聚物产率无显著性差异。不同搅拌时间的平衡相浊度也无显著性差异。说明在10 min时CAX和CS几乎已经全部反应了,与文献报道基本一致^[31]。而较短的搅拌时间可以很大程度提高实验效率,故选择反应时间10 min制备CAX/CS复凝聚物。

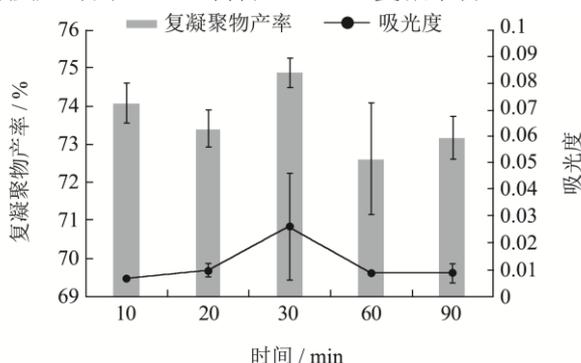


图4 时间对复凝聚物产率及浊度的影响

Fig.4 Arabinoxylan-chitosan coacervate yield and equilibrium phase turbidity as a function of time

注:时间对复凝聚物产率及浊度的影响均无显著性差异,故图中未进行标注。

2.1.5 反应温度对复凝聚反应的影响

将一定量的10% (m/m)的CAX储备溶液和3% (m/m)的CS储备溶液,分别稀释并等体积混合,使CAX/CS配比为9:1,总固形物质量分数为3.0%。调节体系pH值4.0,分别在25、35、45、55、65℃水浴中搅拌10 min,静置12 h后,测定平衡相的浊度和复凝聚相产率。反应温度对复凝聚反应影响如图5所示。

生物聚电解质之间除了静电吸引之外,氢键和疏水性相互作用在复凝聚相的形成中也起着重要作用。高温有利于疏水性相互作用,而低温则可促进氢键相互作用^[32]。由图5可知,反应温度对复凝聚产率以及

浊度都无显著性差异。反应温度在25℃时,其平衡相浊度最小,复凝聚率最高。可能原因是阿拉伯木聚糖和壳聚糖复凝聚相的形成主要是通过静电相互作用产生的,而氢键和疏水性相互作用很弱。故在本研究选择反应温度25℃制备CAX/CS复凝聚物。

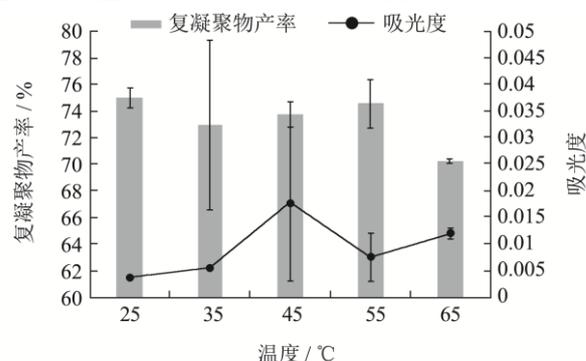


图5 反应温度对复凝聚物产率及浊度的影响

Fig.5 Arabinoxylan-chitosan coacervate yield and equilibrium phase turbidity as a function of temperature

注:温度对复凝聚物产率及浊度的影响均无显著性差异,故图中未进行标注。

2.1.6 盐浓度对复凝聚反应的影响

将一定量的10% (m/m)的CAX储备溶液和3% (m/m)的CS储备溶液,分别稀释并等体积混合,使CAX/CS配比为9:1,总固形物质量分数为3.0%。加入NaCl固体,使体系中NaCl浓度分别为:0、50、100、200、300、400 mmol/L,调节体系pH值4.0,室温条件下搅拌10 min,静置12 h后,测定平衡相的浊度和复凝聚相产率。盐浓度对CAX/CS复凝聚反应的影响如图6所示。

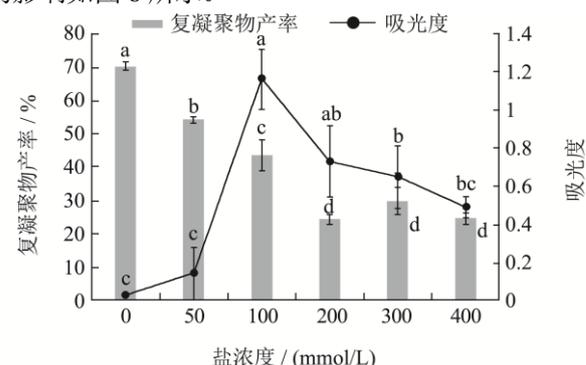


图6 盐浓度对复凝聚物产率及浊度的影响

Fig.6 Arabinoxylan-chitosan coacervate yield and equilibrium phase turbidity as a function of concentration of NaCl

如图6所示,盐浓度对CAX与CS的反应有显著的影响。当未添加NaCl时,复凝聚物产率最高,平衡相浊度最低,复凝聚反应最好。随着NaCl浓度的增加,复凝聚物产率逐渐降低,且都与不加NaCl的产率存在显著差异;其浊度对应不同程度增大,除

NaCl 浓度为 50 mmol/L 外, 亦都与不加 NaCl 的浊度存在显著差异。这说明离子强度的增加会干扰复凝聚相的形成, 且复凝聚率与离子强度成反比^[33]。这种现象可能是因为体系中存在的盐离子屏蔽了 CAX 和 CS 表面的正负电荷, 从而干扰了两者之间的静电相互作用^[5]。这种现象在阿拉伯胶-CS 分离体系中和乳清蛋白-阿拉伯胶分离体系中被观察到^[5,9,31]。因此, 复凝聚反应过程中应该使用去离子水, 以减少盐离子对复凝聚反应的影响。故在本研究中选用去离子水进行复凝聚反应。

综合上述结果表明, CAX/CS 复凝聚反应的最佳条件为: CAX/CS 配比为 9:1, 在不添加任何离子的条件下, 体系 pH 值 4.0, 总固形物质量分数为 3%, 室温下反应 10 min。此条件下复凝聚物产率达 76.04%。

2.2 CAX/CS 复凝聚相的表征

2.2.1 FT-IR 分析

在 4 000~500 cm^{-1} 波数范围内, 对 CS、CAX、CAX/CS 复凝聚物冻干粉 (最佳条件下) 进行红外光谱扫描, 得 FT-IR 谱, 如图 7 所示。

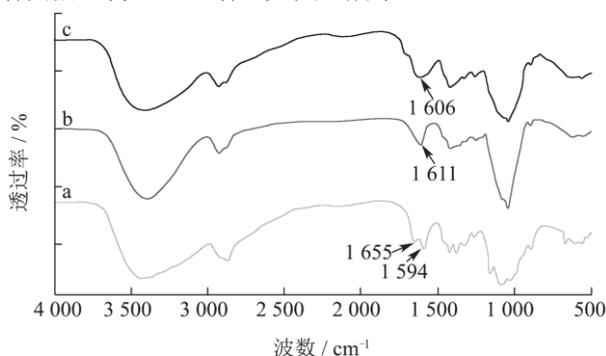


图 7 CAX、CS 和 CAX/CS 复凝聚物的红外光谱图

Fig.7 FT-IR spectra of arabinoxylan, chitosan and arabinoxylan-chitosan complex coacervates

注: a: CS, b: CAX, c: CAX/CS 复凝聚物。

图 7a 为 CS 的红外光谱图, 3 451 cm^{-1} 处吸收峰是 CS 中的 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{OH}$ 伸缩振动形成的, 2 872 cm^{-1} 对应 $-\text{CH}$ 的伸缩振动吸收峰, 1 655 cm^{-1} 对应酰胺基伸缩振动吸收峰, 1 594 cm^{-1} 处对应 $-\text{NH}_3^+$ 的弯曲振动吸收峰, 1 423 cm^{-1} 对应 $-\text{CH}_2$ 的弯曲振动吸收峰, 1 380 cm^{-1} 对应 C-N 的伸缩振动吸收峰, 1 084 cm^{-1} 处对应于 $-\text{CO}$ 弯曲振动吸收峰。图 7b 为 CAX 的红外光谱图, 在 3 396 cm^{-1} 处强而宽的吸收峰为 O-H 的伸缩振动吸收峰, 在 2 929 cm^{-1} 处为 C-H 伸缩振动吸收峰, 1 611 cm^{-1} 处为 $-\text{COO}^-$ 的伸缩振动峰, 表明 CAX 样品中糖醛酸的存在; 在 1 044 cm^{-1} 处对应于 $-\text{CO}$ 弯曲振动吸收峰。图 7c 为 CAX/CS 复凝聚相的红外光谱图,

CAX/CS 复凝聚相红外光谱在羰基和酰胺区域有显著的变化, 即 CAX 的 1 611 cm^{-1} 处的 $-\text{COOH}$ 的伸缩振动峰偏移至 1 606 cm^{-1} ; 而 CS 的 1 594 cm^{-1} 处的 $-\text{NH}_3^+$ 的吸收峰消失, 此外, 没有新的化学键生成。综合上述结果, CS 中的 $-\text{NH}_3^+$ 和 CAX 中的 $-\text{COO}^-$ 之间可发生静电相互作用形成了 CAX/CS 复凝聚物。

2.2.2 热重分析

采用热重分析 (TG)、微分热重分析 (DTG) 评价复合凝聚物的热稳定性。CAX、CS 和 CAX/CS 复合凝聚物冻干粉 (最佳条件下) 的 TG 和 DTG 随温度变化曲线如图 8 所示。

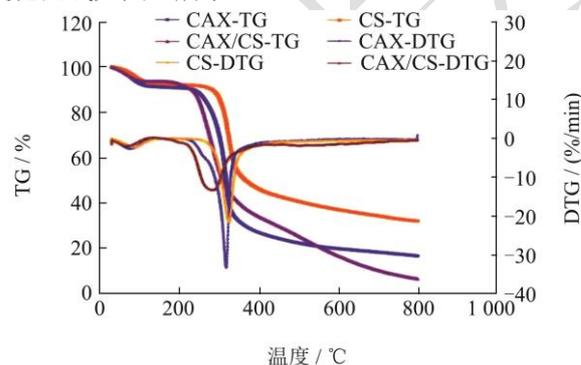


图 8 CAX、CS 和 CAX/CS 复凝聚物热重分析曲线

Fig.8 Thermogravimetric analysis (TGA) and differential thermogravimetric analysis (DTG) curves of arabinoxylan, chitosan and complex coacervates

由图 8 可知, CAX 在热分解过程中呈现两个主要失重阶段, 第一阶段发生在 40~118 $^{\circ}\text{C}$, 第二阶段发生质量快速变化在 298~356 $^{\circ}\text{C}$, 失重率为 40.25%。起始的重量减轻是由于结合水分蒸发引起的, 后者质量减少归因于 CAX 中的羧基分解。CS 第一阶段在 45~131 $^{\circ}\text{C}$ 发生轻微的质量损失, 与结合水分蒸发有关, 第二阶段质量快速变化发生在 305~370 $^{\circ}\text{C}$, 失重率为 34.31%, 归因于 CS 的降解归因于 CS 的 D-氨基葡萄糖和乙酰基-D-氨基葡萄糖单元的解聚和降解。CAX/CS 复合凝聚物第一阶段在 45~98 $^{\circ}\text{C}$ 发生轻微的质量损失, 与结合水分蒸发有关, 第二阶段的最大分解速率发生 245~305 $^{\circ}\text{C}$, 失重率为 35.34%, 低于 CAX 和 CS 的热分解温度。此外, 复合凝聚物在 373~643 $^{\circ}\text{C}$ 间出现一个新较小的缓慢失重状态。这是由于 CAX/CS 发生复凝聚后, 复凝聚物结构变化, 导致 CAX/CS 复凝聚物耐热性降低。这与 FT-IR 的分析结果一致。

2.2.3 SEM 分析

CAX、CS 和 CAX/CS 复凝聚物冻干样品 (最佳条件下) 的微观结构如图 9 所示。

由图 9 可以看出, CAX 的表面结构粗糙, 不规则。

CS 结构呈较为扁平的不规则块状, 表面较为平滑。CAX/CS 复凝聚物具有明显的多孔网络结构、孔径规则, 且分布均匀, 说明 CAX 和 CS 相互作用形成新型结构的复合物, 这种结构可能是由带负电的 CAX, 通过静电吸引附着在带正电 CS 的表面形成的^[34]。这种规则的多孔结构表明, CAX/CS 复凝聚物可以束缚敏感成分, 是食品、药品、化妆品和生物活性化合物的潜在输送系统。

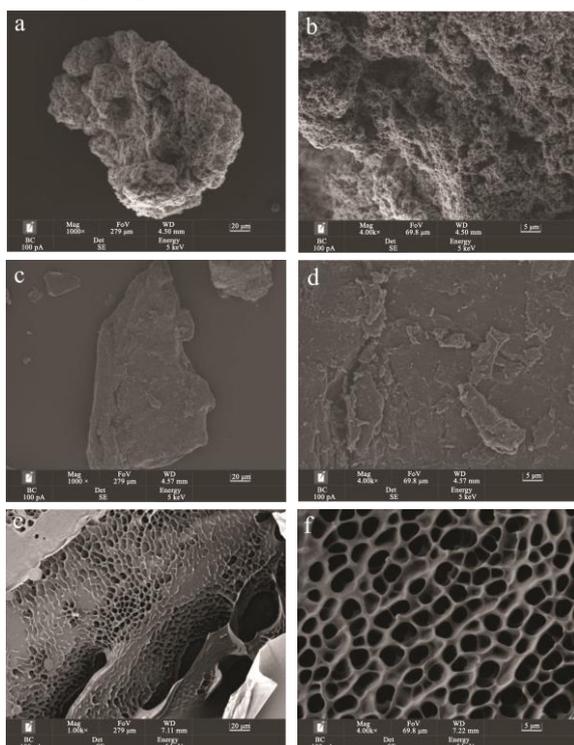


图9 CAX、CS 和 CAX /CS 复凝聚物的扫描电镜图片

Fig.9 SEM micrographs of arabinoxylan, chitosan and complex coacervates

注: a: CAX ($\times 1000$), b: CAX ($\times 4000$), c: CS ($\times 1000$), d: CS ($\times 4000$), e: CAX/CS ($\times 1000$), f: CAX/CS ($\times 4000$)。

2.2.4 流变特性

10% (m/m) 的 CAX 溶液和 3% (m/m) 的 CS 溶液, 分别稀释并等体积混合, 使总固形物质量分数为 3%, CAX/CS 配比为 9:1。分别调 pH 值 3.5、4.0、5.0, 室温下搅拌 10 min, 静置 1 h, 在 4 000 r/min, 离心 20 min, 收集复凝聚相进行表征。

在 pH 值 3.5、4.0 和 5.0 下制备的复凝聚物的频率扫描曲线如图 10 所示。在 pH 值 3.5 和 4.0 时产生的复凝聚物损耗模量 (G'') 高于储能模量 (G'), 因此表现为液体粘弹性行为。而对于 pH 值 5.0 时形成的凝聚体, 其 G' 值高于 G'' 值, 表现为固体粘弹性行为, 说明复凝聚物中存在相互交联的凝胶网络结构。类似地, Espinosa-Andrews 等^[18]报道了不同 pH 条件下的 CS-阿拉伯胶凝聚物的流变性, 发现三种凝聚物均表

现出液体粘弹性行为, pH 值 4.5 形成的凝聚体时 G' 和 G'' 最高, 具有相互交联的网络结构。Huang 等^[34]证明了在 pH 值 3.0 和 4.5 时产生羧甲基壳聚糖与阿拉伯胶的凝聚物为粘性特性占主导的复合体; 而 pH 值 6.0 时形成的是具有弹性凝胶结构的凝聚体。You 等^[35]报道了不同 pH 值条件下的仙草胶-CS 凝聚物的流变特性, 在 pH 值 3.5 时, 仙草胶-CS 混合体系表现为液体行为 ($G'' > G'$); 在 pH 值 4.5、5.5 和 7.0 时, 仙草胶-CS 混合体系形成凝胶网络结构。

在 CAX/CS 复凝聚物产率最高的 pH 值 4.0 下形成的凝聚物, G' 随着频率的升高而显著增加, 高于 pH 值 3.5 和 pH 值 5.0 形成的凝聚体的 G'' ; 而在 pH 值 5.0 下形成的 CAX/CS 复凝聚物的 G' 最高, 这种表明, 除静电作用外, 其他因素也可能对 CAX/CS 复凝聚物粘弹特性起重要作用。

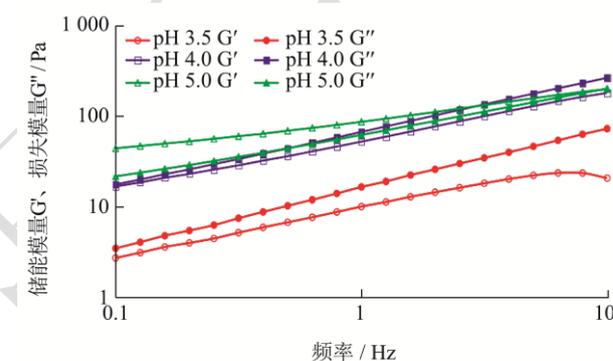


图 10 在 pH 值 3.5、4.0 和 5.0 下制备的复凝聚物储能模量和损耗模量随频率的变化曲线

Fig.10 The viscoelastic modulus (G') and loss moduli (G'') versus frequency for complex coacervates prepared at pH 3.5, 4.0 and 5.0

不同 pH 下形成的复凝聚相黏弹性有所差异。在剪切频率增加过程中, 在 pH 值 4.0 和 pH 值 5.0 下制备的 CAX/CS 复凝聚相的 G' 和 G'' 明显大于 pH 值 3.5 下制备的复凝聚相。这表明可以通过调节反应的 pH 值来获得具有特定黏弹性的 CAX/CS 复凝聚物。

3 结论

本文确定了 CAX/CS 复凝聚反应的最佳条件为: CAX/CS 配比为 9:1, 在不添加任何离子的条件下, 体系 pH 值 4.0, 总固形物质量分数为 3%, 室温下反应 10 min。此条件下复凝聚物产率达 76.04%。复凝聚物的红外光谱和热重分析表明了 CS 中的 $-NH_3^+$ 和 CAX 中 $-COO^-$ 之间发生了静电相互作用。用 SEM 扫描成像显示复凝聚物具有规则且分布均匀的多孔网络结构。CAX/CS 复凝聚物粘弹特性取决于发生复凝聚的 pH 值。在 pH 值 3.5 和 4.0 时, 凝聚物主要表现为液体粘

弹行为; 在 pH 值 5.0 时, 凝聚物表现为固体粘弹性行为。在凝聚产物产率最高的 pH 值 4.0 下形成的凝聚物 G' 最高, 但在 pH 值 5.0 下形成的复凝聚物的 G' 最高, 说明除静电作用外, 其他因素也可能对 CAX/CS 复凝聚物粘弹特性起重要作用。CAX/CS 复凝聚物可以作为水包油型的微囊化壁材, 用于某些营养、活性化合物的传输体系。可以推测, 复凝聚物可在油滴周围形成厚的粘弹性吸附层。

参考文献

- [1] Chen K, Zhang M, Mujumdar A S, et al. Quinoa protein-gum Arabic complex coacervates as a novel carrier for eugenol: Preparation, characterization and application for minced pork preservation [J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 120: 1-10.
- [2] Mostafa J, Pouya T, Saeed B, et al. Application of *Prunus armeniaca* gum exudates and chitosan for encapsulation of Pomegranate peel extract as a natural antioxidant [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2021, 15: 4992-4999.
- [3] Suzana G C, Aine M D S, Amanda L P S, et al. New insights into physicochemical aspects involved in the formation of polyelectrolyte complexes based on chitosan and dextran sulfate [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 271: 1-9.
- [4] Vinayhan T, Williams P A, Phillips G O. Electrostatic interaction and complex formation between gum arabic and bovine serum albumin [J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11: 3367-3374.
- [5] Weinbreck F, Devries R, Schrooyen P, et al. Complex coacervation of whey proteins and gum arabic [J]. *Biomacromolecules*, 2003, 4: 293-303.
- [6] Bertrand M, Baokun Q, Jean D H, et al. Combined plant protein modification and complex coacervation as a sustainable strategy to produce coacervates encapsulating bioactives [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124: 1-19.
- [7] 王颖, 赵萌, 黄雪, 等. 复合凝聚法包埋功能性食品组分的研究进展[J]. *食品科学*, 2018, 39(9): 265-271.
- [8] Weinbreck F, Wientjes R, Nieuwenhuijse H, et al. Rheological properties of whey protein/gum arabic coacervates [J]. *Journal of Rheology*, 2004, 48(6): 1215-1228.
- [9] Espinosa-andrews H, Baez-gonzalez J G, Cruz-sosa F, et al. Gum arabic chitosan complex coacervation [J]. *Biomacromolecule*, 2007, 8: 1313-1318.
- [10] Luo W, Huang H X, Zhang Y H, et al. Complex coacervation behavior and the mechanism between rice glutelin and gum arabic at pH 3.0 studied by turbidity, light scattering, fluorescence spectra and molecular docking [J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2021, 150: 1-9.
- [11] Ifesuba E A, Akoh C C. Microencapsulation of stearidonic acid soybean oil in complex coacervates modified for enhanced stability [J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 51: 136-145.
- [12] Luo Y, Wang Q. Recent development of chitosan-based polyelectrolyte complexes with natural polysaccharides for drug delivery [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 64: 353-367.
- [13] Huang G Q, Xiao J X, Jia L, et al. Characterization of O-carboxymethyl chitosan-gum arabic coacervates as a function of degree of substitution [J]. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2015, 37: 1368-1374.
- [14] Rarblo R S, Tavares G M, Prata A S, et al. Complexation of chitosan with gum Arabic, sodium alginate and κ -carrageenan: effects of pH, polymer ratio and salt concentration [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 223: 1-11.
- [15] Marie E V, Florentin M, Lionel M, et al. Gum Arabic and chitosan self-assembly: Thermodynamic and mechanism aspects [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 96: 463-474.
- [16] 王远一飞, 丁武, 宋莹莹, 等. 壳聚糖黄原胶鼠李糖乳杆菌微胶囊的制备及其特性的研究[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(6): 229-233.
- [17] Espinosa-andrews H, Enriquez-ramirez K E, Garcia M E, et al. Interrelationship between the zeta potential and viscoelastic properties in coacervates complexes [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 95: 161-166.
- [18] Espinosa-andrews H, Sandoval-castilla O, Vazquez-torres H, et al. Determination of the gum arabic-chitosan interactions by Fourier transform infrared spectroscopy and characterization of the microstructure and rheological features of their coacervates [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 79: 541-54.
- [19] Loleny T, Cacicano P Z N. Encapsulation of ginger essential oil using complex coacervation method: coacervate formation, rheological property, and physicochemical characterization [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2020, 13: 1405-1420.
- [20] Daniele B, Jon A P, Zhang Z B, et al. Encapsulation of hexylsalicylate in an animal-free chitosan-gum Arabic shell by complex coacervation [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2021, 625: 1-14.
- [21] Kunal P, Deepi B, Preetam S, et al. Selected applications of chitosan composites [J]. *International Journal of Molecular*

- Science, 2021, 22: 1-26.
- [22] Jung H G, Phillips R L. Putative seedling ferulate ester (Sfe) maize mutant: morphology, biomass yield, and stover cell wall composition and rumen degradability [J]. *Crop Science*, 2010, 50: 403-418.
- [23] He H J, Qiao J L, Liu Y, et al. Isolation, structural, functional, and bioactive properties of cereal arabinoxylan: A critical review [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69: 15437-15457.
- [24] Maria S, Veronica W, Isabel M C, et al. Purification of arabinoxylans from corn fiber and preparation of bioactive films for food packaging [J]. *Membranes*, 2020, 10(5): 1-22.
- [25] Madhav P Y, David B J, Arland T H J, et al. Corn fiber gum: A potential gum arabic replacer for beverage flavor emulsification [J]. *Food Hydrocolloids*, 2007, 21: 1022-1030.
- [26] 王文霞,张慧敏,张慧君,等.阿拉伯木聚糖和壳聚糖复合膜的制备及性能研究[J].*食品与发酵工业*,2021,47(18):208-215.
- [27] Turgeon S L, Schmitt C, Sanche C. Protein-polysaccharide complexes and coacervates [J]. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 2007, 12(4): 166-178.
- [28] Rodriguez R, Espinsa-andrews H, Morales-herandez N, et al. Mesquite gum/chitosan insoluble complexes: relationship between the water state and viscoelastic properties [J]. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 2019, 40(9): 1-8.
- [29] Krishnan S, Kshirsagar A C, Singha R S. The use of gum arabic and modified starch in the microencapsulation of a food flavoring agent [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2005, 62(4): 309-315.
- [30] 张立彦,刘小芳.壳聚糖与阿拉伯胶静电复合作用研究及显微观察[J].*食品科技*,2016,41(4):238-242,248.
- [31] 孙燕婷,黄国清,肖军霞,等.阿拉伯胶/壳聚糖复凝聚相的制备及表征[J].*中国食品学报*,2013,13(2):43-49.
- [32] Schmitt C, Sanchez C, Desobry-banon S, et al. Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes: A review [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1998, 38(8): 689-753.
- [33] Liu S, Low N H, Nickerson M T. Effect of pH, salt, and biopolymer ratio on the formation of pea protein isolate-gum arabic complexes [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(4): 1521-1526.
- [34] Huang G Q, Xiao J X, Wang S Q, et al. Rheological properties of O-carboxymethyl chitosan-gum Arabic coacervates as a function of coacervation pH [J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 43: 436-441.
- [35] You G, Liu X L, Zhao M M. Preparation and characterization of hsian-tsao gum and chitosan complex coacervates [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 74: 255-266.