

陈海华教授主持“淀粉改性和品质改善”特约专栏文章之四

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.05.009

王雨生, 赵敬松, 栾茜玉, 等. 钙源及海藻酸钠/多孔玉米淀粉配比对其凝胶特性的影响[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(5): 139-148.

WANG Y S, ZHAO J S, LUAN Q Y, et al. Effects of calcium source and sodium alginate to porous corn starch ratio on the characteristics of sodium alginate-porous starch complex gel[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(5): 139-148.

钙源及海藻酸钠/多孔玉米淀粉配比对其凝胶特性的影响

王雨生^{1,2}, 赵敬松¹, 栾茜玉¹, 陈海华^{1,3}✉

(1. 青岛农业大学 食品科学与工程学院, 山东 青岛 266109;

2. 青岛农业大学学报 编辑部, 山东 青岛 266109;

3. 青岛农业大学 巴瑟斯未来农业科技学院, 山东 青岛 266109)

摘要: 采用氯化钙滴注法和碳酸钙内源固化法制备不同多孔淀粉含量的海藻酸钠凝胶, 并分析了凝胶硬度、析水率、溶胀特性、结晶结构、微观结构等性质。结果表明: 钙源和海藻酸钠/多孔淀粉配比(质量比 r 值)显著影响凝胶性质, r 较高时($r=4:2$ 或 $5:1$), 碳酸钙诱导形成形状均一、结构致密凝胶块, 硬度较大, 析水率低, 氯化钙诱导形成形状均一、具有致密外壳的凝胶珠。不同的凝胶结构使凝胶珠在初期溶胀较慢, 最终的溶胀率较高; 而凝胶块在初期溶胀较快, 最终的溶胀率稍低。两种方法制备的凝胶具有结肠液中溶胀率高、胃液中溶胀率低的特点, 具有良好的pH响应性。微观结构分析表明, 海藻酸钠与多孔淀粉之间具有良好的相容性。研究结果对开发制备pH响应型生物活性物质递送载体有借鉴意义。

关键词: 海藻酸钠; 多孔淀粉; 凝胶; 氯化钙; 碳酸钙

中图分类号: TS236.9 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2022)05-0139-10

网络首发时间: 2022-09-01 10:26:09

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20220831.1804.010.html>

Effects of Calcium Source and Sodium Alginate to Porous Corn Starch Ratio on the Characteristics of Sodium Alginate-Porous Starch Complex Gel

WANG Yu-sheng^{1,2}, ZHAO Jing-song¹, LUAN Qian-yu¹, CHEN Hai-hua^{1,3}✉

(1. College of Food Science and Engineering, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China;

2. Editorial Department, Journal of Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China;

3. Barthurst Future Agri-Tech Institute of Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109, China)

Abstract: Sodium alginate-porous starch complex gels were prepared by calcium chloride dripping method and calcium carbonate internal gelation method. Furthermore, hardness, syneresis, swelling characteristics,

收稿日期: 2022-06-15

基金项目: 日照市创新领军人才(团队)(日政字[2021]64号); 山东省自然科学基金项目(ZR2016CM17); 青岛农业大学研究生创新立项(QNYCX20029)

Supported by: Innovation Leader Talent(team) of Rizhao City(No.2021-64); Natural Science Foundation of Shandong Province(No.ZR2016CM17); Qingdao Agricultural University Postgraduate Creative Education Program(No.QNYCX20029)

作者简介: 王雨生, 男, 1979年出生, 硕士, 副教授, 研究方向为农产品加工及贮藏。E-mail: dawangyusheng@126.com.

通讯作者: 陈海华, 女, 1973年出生, 博士, 教授, 研究方向为食品化学。E-mail: haihchen@163.com.

crystalline structure and microstructure of the complex gels were analyzed. The results showed that the gel properties were significantly affected by calcium source and sodium alginate to porous starch ratio (mass ratio defined as r value). At high r value ($r=4:2$ or $5:1$), calcium carbonate caused the formation of gel curds with uniform shape and dense structures, which also showed high gel hardness and low syneresis. Meanwhile, calcium chloride caused the formation of gel beads with uniform shape and hard shell. Due to different gel structures, the initial swelling speed of gel beads was slow and the final swelling ratio was high, while the initial swelling speed of gel curds was fast and the final swelling ratio was relatively low. The gels prepared by these two methods showed high swelling ratio in simulated colonic fluid and low swelling ratio in simulated gastric fluid, indicating good pH response. Microstructure analysis showed there was good compatibility between sodium alginate and porous starch. The results of the present research could provide useful information to develop pH responded delivery system for bioactive substances.

Key words: sodium alginate; porous starch; gel; calcium chloride; calcium carbonate

海藻酸钠 (Sodium alginate, AG) 是一种来自褐藻类植物的阴离子多糖, 由 β -D-甘露糖醛酸和 α -L-古洛糖醛酸通过 β -1,4-糖苷键连接而成^[1], 具有较好的生物相容性和可降解性, 可在金属阳离子 (尤其是 Ca^{2+}) 存在时, 形成具有三维网络结构的水凝胶。近年来, AG 被广泛用作胶凝剂, 制备各种凝胶药物递送系统^[2-3]。利用 Ca^{2+} 交联海藻酸钠制备水凝胶通常有滴注法和内源固化法两种方法^[4]。滴注法常以 CaCl_2 为钙源, 依靠 Ca^{2+} 从外到内扩散, 实现海藻酸钠的交联作用。 CaCl_2 溶液中游离的 Ca^{2+} 在接触羧基后立即发生交联, 反应迅速, 因此, CaCl_2 溶液难以与 AG 溶液混合均匀。当两种液体相互接触时, Ca^{2+} 离子扩散到 AG 表面并形成一层交联外壳, 随着 Ca^{2+} 由外向内扩散和进一步交联, 外壳厚度进一步增加。由于局部不均匀性和潜在的未胶凝区域, 所形成的水凝胶结构可变, 稳定性较差^[5]。内源固化法常以 CaCO_3 为钙源, 通过原位释放 Ca^{2+} , 实现内部交联形成凝胶。 CaCO_3 则能与 AG 溶液均匀混合, Ca^{2+} 在酸化剂 D-葡萄糖酸- δ -内酯 (GDL) 作用下缓慢释放, 并与附近的羧基结合, 均匀交联形成水凝胶。 CaCO_3 中 Ca^{2+} 的释放、GDL 的水解均需要一定时间, 与滴注法相比, 内源固化法制备凝胶所需时间更长, 但形成的水凝胶结构更均匀^[6]。

然而, AG 分子含有较多的亲水基团, 凝胶亲水性强, 特别是当外部环境存在过剩单价离子时, 凝胶容易分解, 致使包封物质被快速释放^[7]。

为解决这一问题, 人们试探在 AG 中添加不同聚合物, 如碳纳米管、多糖纳米晶体、黏土材料等, 以改善凝胶结构和功能特性。Zhang 等^[8]在 AG 基体中加入碳纳米管, 有效提高凝胶包封效率和机械稳定性, 减少药物泄漏; Hosseini 等^[9]将 Ag 与淀粉结合提高了 AG 基凝胶的化学和机械稳定性, 提高包封效率和生物活性物质的持续释放能力。多孔淀粉是一种呈海绵状结构的酶水解淀粉, 表面积大、孔洞多^[10], 这种特殊结构使多孔淀粉具有良好的吸附性能和缓慢释放特性, 常用于吸附和保护生物活性物质, 在食品和医药工业中则被广泛用作吸附剂和微胶囊剂, 使生物活性物质免受光、氧气和热引起的降解作用影响, 是优良的生物活性物质递送载体^[11]。

目前, 关于多孔玉米淀粉 (Porous starch, PS) 添加量、钙源对 AG 凝胶结构、理化性质的研究很少。本文以氯化钙和碳酸钙为钙源, 通过扫描电镜、质构分析、红外及 X 射线衍射光谱分析、体外模拟消化等, 研究钙源及 AG/PS 配比 (质量比 r) 对 AG-PS 混合凝胶结构、硬度、析水率、溶胀特性等理化性质的影响。本研究对制备开发 pH 响应型生物活性物质递送载体具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

多孔玉米淀粉: 辽宁立达生物科技有限公司; 海藻酸钠 (甘露糖醛酸与古洛糖醛酸质量比约为 1.17:1): 青岛明月海藻集团有限公司; CaCl_2 、

CaCO₃、KBr、D-葡萄糖酸- δ -内酯：天津巴斯夫化工股份有限公司。

1.2 仪器与设备

TA-XT-Plus 物性测定仪：英国 Stable Micro Systems 公司；is10 傅里叶红外光谱分析仪：美国热电尼高力公司；D8-ADVANCE X 射线衍射仪：德国布鲁克 AXS 有限公司；S-3400N 扫描电子显微镜：日本日立公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样品的制备

1.3.1.1 AG-PS 混合溶液的制备 准确称取一定质量 AG，分散于蒸馏水中，加入一定质量 PS，使用磁力搅拌器搅拌过夜，使 AG 和 PS 充分水化，得 AG-PS 混合溶液。AG-PS 混合溶液质量分数为 2.5%，AG 与 PS 质量比 r 分别为 0:6、1:5、2:4、3:3、4:2、5:1、6:0。

1.3.1.2 CaCl₂ 滴注法制备 AG-PS 混合凝胶 取一定体积的 AG-PS 混合溶液，每隔 1 s 滴入 0.06 mol/L CaCl₂ 溶液 1 滴，静置固化 24 h，得到氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶珠，取出并用蒸馏水清洗 2 次，备用。

1.3.1.3 CaCO₃ 内源固化法制备 AG-PS 混合凝胶 取一定体积的 AG-PS 混合溶液，加入一定量 CaCO₃ 粉末（质量分数为 0.06 mol/L），再加入一定量的 GDL 粉末（质量分数为 0.12 mol/L），快速搅拌 1 min 后，静置固化 24 h，得到碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶块。

1.3.1.4 冻干样品的制备 将所制备的 AG-PS 混合凝胶冷冻干燥后，用于扫描电镜观察和溶胀特性测定；将冷冻干燥后的 AG-PS 混合凝胶研磨成粉，用于 X 射线衍射实验和傅里叶变换红外光谱分析。

1.3.2 样品宏观形貌和微观结构观察

用相机拍摄不同钙源诱导的 AG-PS 混合凝胶，观察其宏观形貌。

参照 Li 等^[12]方法，将 AG-PS 混合凝胶冻干粉末置于样品架，溅射涂布机涂覆金钼，在 5 kV 加速电压下，用扫描电子显微镜观察其微观结构，放大倍数为 1 000。

1.3.3 相对硬度的测定

将 AG-PS 混合凝胶置于 pH=6.8 的磷酸盐缓

冲液中，于 37 °C 溶胀 4 h。参照 Li 等^[1]方法，用质构仪分别测定溶胀前后凝胶硬度。测试选用 P/0.5 型探头，测试速度 1.0 mm/s，触发力 5 g，压缩形变量 40%。测量过程中的最大力记为硬度。溶胀前相对硬度记为溶胀前混合凝胶硬度与相应纯 AG 凝胶硬度的比值，溶胀后相对硬度记为溶胀后混合凝胶硬度与相应纯 AG 凝胶硬度的比值。

1.3.4 析水率的测定

称取一定质量 AG-PS 混合凝胶 (m_0) 置于培养皿中，室温下放置 24 h 后，测量析出水质量 m ，析水率记为 m/m_0 。

1.3.5 溶胀特性

分别配制模拟胃液 (0.1 mol/L HCl 溶液，pH=1.0)、模拟小肠液 (0.1 mol/L 磷酸缓冲液，pH=6.8)、模拟结肠液 (0.1 mol/L 磷酸缓冲液，pH=7.4)。称取一定质量冻干 AG-PS 混合凝胶 (M_0) 置于三角烧瓶中，加入 300 mL 模拟消化液或者去离子水 (pH=7.0)，37 °C 水浴，180 r/min 恒温振荡。其间，每隔一定时间取样，用滤纸除去样品表面水分后立即测其质量 M ，直至溶胀平衡 (约 4 h)。溶胀率为 M/M_0 。

1.3.6 X 射线衍射分析

参照 Li 等^[12]方法，取 AG-PS 混合凝胶冻干粉末，置于 X 射线衍射仪样品台，设置扫描范围 4°~40°，扫描速度 0.1 °/s，电压和电流分别为 40 kV 和 40 mA，记录样品的 X 射线衍射图谱。

1.3.7 傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 分析

参照 Li 等^[12]方法，取 AG-PS 混合凝胶冻干粉末，与 KBr 按质量比 1:100 混合并压片。以空气为背景，设置波数扫描范围 4 000~400 cm⁻¹，重复扫描 64 次，分辨率 4 cm⁻¹，记录 FT-IR 图谱。

1.4 数据分析

实验重复 3 次，数据以平均值±标准差形式表示。用 Excel 2010 软件作图，用 SPSS 22.0 软件对数据进行差异显著性分析 ($P<0.05$) 和多重比较。

2 结果与分析

2.1 样品形貌及微观结构

由图 1 可以看出，氯化钙和碳酸钙两种不同

钙源诱导的 AG-PS 混合凝胶具有不同的外观形貌。氯化钙为钙源时, 凝胶呈球形, 形成凝胶珠, 且凝胶珠状态与 AG 的占比 (r) 有关: 当 r 较小时, 凝胶珠形状不均一、不规则; 随着 r 的增大, 凝胶珠形状逐渐变得均一、规则, $r=4:2$ 或 $5:1$ 时, 形成的 AG-PS 球形凝胶珠形状均一、规则; 当 $r=6:0$ 时, PS 缺失, 纯 AG 不能形成均一凝胶珠。碳酸钙为钙源时, 形成多孔状或片层状凝胶块, 且 r 较小时, 凝胶块的孔洞大、结构疏松, 随着 r 的增大, 孔洞逐渐变小, 结构变得致密。

上述结果表明, 不同钙源和 r 诱导 AG-PS 混合凝胶形成不同的结构。结构的不同可能使混合凝胶具有不同的溶胀特性^[13]。

PS 本身不能形成凝胶, 扫描电镜下, 纯 PS ($r=0:6$) 呈颗粒状态, 颗粒表面分布着一些孔洞 (图 2)。添加不同比例 AG 后, 在氯化钙或碳酸钙诱导下, AG-PS 混合凝胶呈现不同的微观形貌。当 $r=6:0$ 时, 纯 AG 在氯化钙诱导下, 凝胶表面粗糙, 伴有颗粒状凸起, 而在碳酸钙诱导下, 凝胶表面较光滑, 有少量的凹痕和皱褶。当 $r=4:2$



图 1 氯化钙和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶的宏观照片

Fig.1 Macroscopic photos of AG-PS mixed gel induced by CaCl_2 or CaCO_3

注: 第 1 行为氯化钙诱导, 第 2 行为碳酸钙诱导; 从左至右 r 依次为 $1:5$ 、 $2:4$ 、 $3:3$ 、 $4:2$ 、 $5:1$ 、 $6:0$; r 为海藻酸钠与多孔淀粉的质量比。

Note: The first line showed the mixed gel induced by CaCl_2 . The second line showed the mixed gel induced by CaCO_3 . From left to right, r value was equal to $1:5$, $2:4$, $3:3$, $4:2$, $5:1$, and $6:0$, respectively.

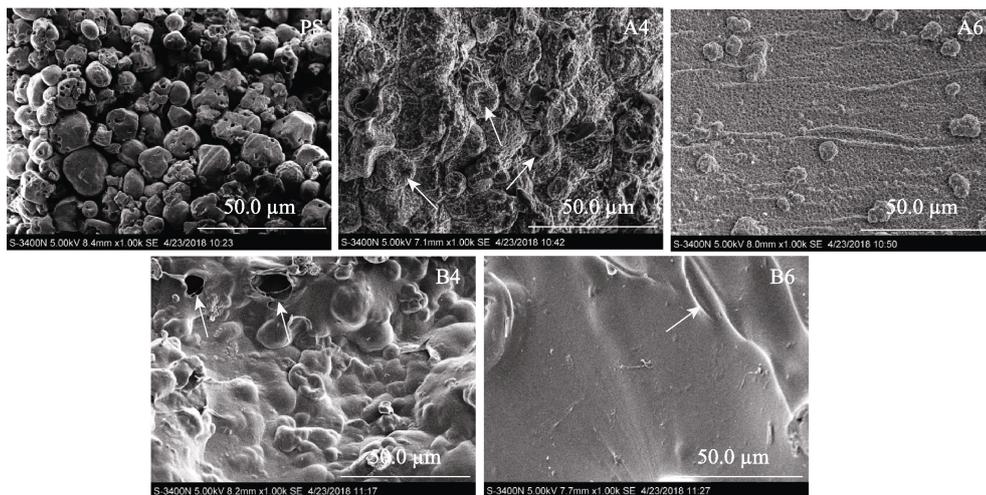


图 2 氯化钙和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶扫描电镜照片

Fig.2 Scanning electron microscopy of AG-PS mixed gel induced by CaCl_2 or CaCO_3

注: 图标记 PS 表示纯多孔玉米淀粉; A 表示氯化钙诱导, B 表示碳酸钙诱导; 数字 4 表示 AG 与 PS 质量比 $r=4:2$, 数字 6 表示 $r=6:0$ 。

Note: code "PS", "A", "B", "4" and "6" represented porous starch, the mixed gel induced by CaCl_2 , the mixed gel induced by CaCO_3 , $r=4:2$, and $r=6:0$, respectively.

时, AG-PS 混合凝胶在氯化钙诱导下呈颗粒堆积状态, 可能是淀粉颗粒被包裹在 AG 形成的凝胶珠内, 这与 Córdoba 等^[14]观察到的海藻酸钠-玉米淀粉凝胶珠的砂状堆积状态一致。而在碳酸钙诱导下的 AG-PS 混合凝胶中, AG 呈现膜状, 覆盖在 PS 颗粒表面, AG 膜表面存在皱褶和孔洞。

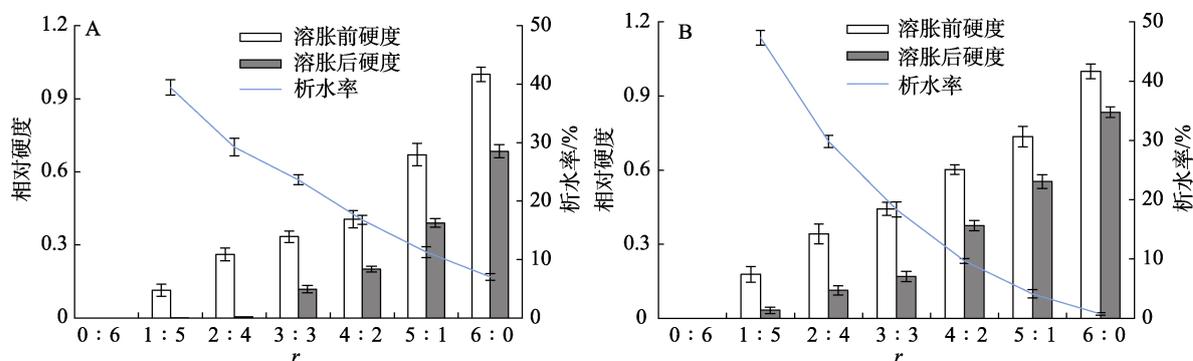
2.2 相对硬度和析水率

硬度是评价物体结构特性的主要指标之一, 凝胶硬度与其内部结构有关^[15]。根据图 3, 钙源不同而 r 相同时, 氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶相对硬度略低于碳酸钙诱导的凝胶。如 $r=5:1$ 时, 氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶, 溶胀前的相对硬度为 0.67, 而碳酸钙诱导的硬度为 0.74。钙源相同时, 随 r 升高, AG-PS 混合凝胶的相对硬度均逐渐增加。如与 $r=1:5$ 时相比, $r=5:1$ 时, 氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶溶胀前的相对硬度高 509%, 说明增加 AG 含量能强化 AG-PS 混合凝胶的网络结构。Hu 等^[15]发现海藻酸钠-透明质酸复合水凝胶的硬度随 AG 比例的增加而增加; Liu 等^[16]在 CaCO_3 和醋酸诱导的海藻酸盐-高甲氧基果胶混合凝胶的研究中也发现了类似的结果。这可能是因为 Ca^{2+} 存在时, AG 通过 Ca^{2+} 的桥联作用形成“蛋盒”模式的网络结构^[17], 提高 AG 的含量, AG-PS 混合凝胶结构会变得更加致密, 因而凝胶硬度增大。

溶胀后, 氯化钙和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶相对硬度均明显减小。如 $r=5:1$ 时, 氯化钙

和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶溶胀后的相对硬度分别比溶胀前下降了 42% 和 24%。Tsai 等^[18]的研究表明, 阿拉伯胶改性海藻酸盐凝胶珠在模拟肠液中溶胀后, 硬度下降, 本文结果与其一致, 这可能与溶胀时凝胶网络中的 Ca^{2+} 、模拟液环境中的 Na^+ 发生交换作用有关^[19]。LeRoux 等^[20]的研究也表明, 在生理浓度下, Na^+ 会使海藻酸盐凝胶“软化”, 显著降低海藻酸盐凝胶的硬度。溶胀过程中, AG 在混合体系中含量较少时, 形成的凝胶网络结构松散, Ca^{2+} 和 Na^+ 容易扩散, 凝胶网络也就容易崩解, 因此凝胶硬度溶胀后会越低^[21]。另外, 纯 PS ($r=0:6$) 无法形成凝胶结构, 凝胶硬度无法测出。

聚合物凝胶网络在贮藏过程中会发生缓慢重排, 引起凝胶网络结构收缩, 导致网络中的部分水分被挤出, 形成脱水收缩现象^[22]。如图 3 所示, 钙源和 r 均能显著影响 AG-PS 混合凝胶的析水率。对同一钙源诱导的 AG-PS 混合凝胶, r 升高, 析水率降低。Nunamaker 等^[4]也发现, 随着 AG 质量分数的增加, AG 凝胶析水率降低。这可能是由于 AG 含量的增加提高了凝胶网络结构的致密性, 使凝胶的持水力增加, 析水率降低。AG 的含量相同 (r 相同) 时: 当 $r < 3:3$ 时, 氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶的析水率小于碳酸钙诱导的混合凝胶; 当 $r > 3:3$ 时, 氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶的析水率大于碳酸钙诱导的混合凝胶。这可能是因为 AG 含量较低时, 碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶网络结构疏松, 持水能力



A. 氯化钙诱导; B. 碳酸钙诱导。

A: the mixed gel induced by CaCl_2 ; B: the mixed gel induced by CaCO_3 .

图3 氯化钙和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶的相对硬度及析水率

Fig.3 The relative hardness and syneresis of AG-PS mixed gel induced by CaCl_2 or CaCO_3

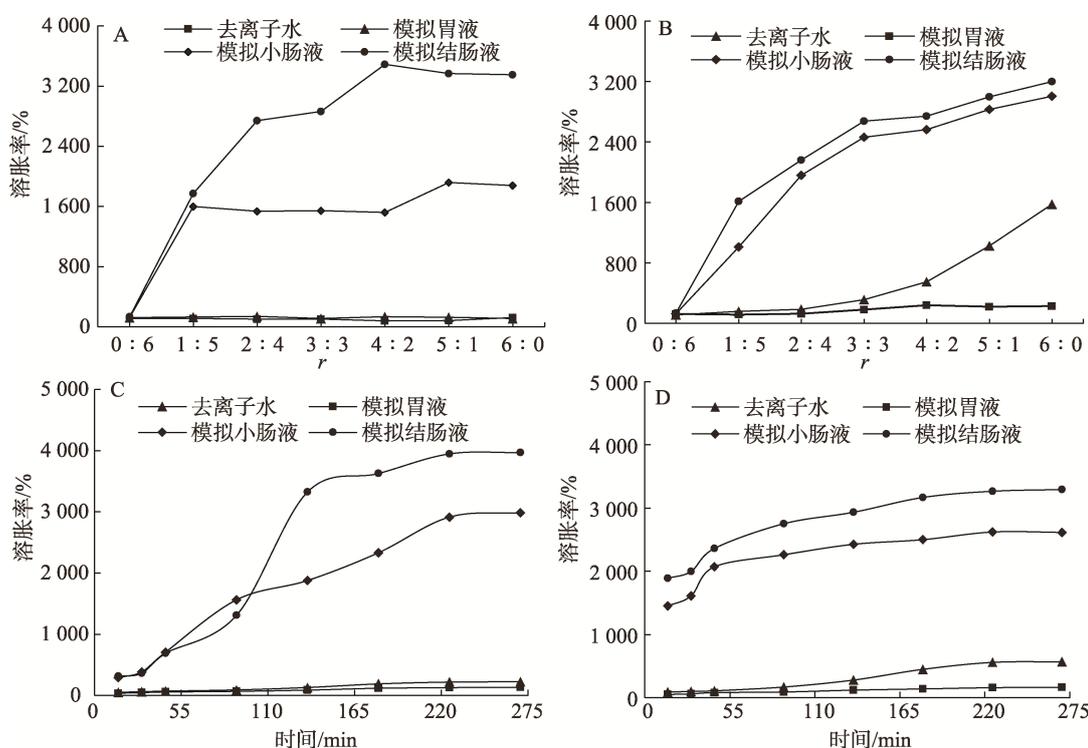
弱, 而氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶能形成较为致密的外壳, 这种特殊的壳结构能够阻碍水分析出。因此, 氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶析水率更小。

Kuo 等^[23]的研究也表明, CaCO_3 和 GDL 制备的海藻酸钙水凝胶网络结构均匀, 而 CaCl_2 制备的海藻酸钙水凝胶具有致密的外壳。但当 AG 含量较高时, 由于氯化钙中的 Ca^{2+} 释放速度很快, 与 AG 形成的凝胶网络不均匀, 持水力低, 析水率高, 而碳酸钙在 GDL 的作用下释放 Ca^{2+} 缓慢, 碳酸钙通过内源固化的方式促使 AG-PS 形成更

加均匀多孔的凝胶网络结构, 因而持水能力强, 析水率低。

2.3 溶胀特性

通常, 生物聚合物材料具有较强的亲水性, 在溶液中放置时会发生溶胀现象^[13]。生物聚合物材料的溶胀会影响其荷载的生物活性物质在生物体内的靶向传递和控制释放效果^[21]。由图 4A、4B 可知, 纯 PS 在模拟结肠液、模拟小肠液、模拟胃液、去离子水中均表现出极小的溶胀率, 纯 AG 凝胶在模拟胃液中溶胀率也很低。



A、C. 氯化钙诱导; B、D. 碳酸钙诱导。

Both A and C were the mixed gel induced by CaCl_2 ; both B and D were the mixed gel induced by CaCO_3 .

图 4 氯化钙和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶的溶胀曲线 ($r=4:2$)

Fig.4 The swelling curve of AG-PS mixed gel with CaCl_2 or CaCO_3

根据图 4A 和 4B, 氯化钙或碳酸钙两种钙源诱导的不同配比 AG-PS 混合凝胶在模拟结肠液、模拟小肠液、模拟胃液及去离子水中的溶胀率不同, 但存在共同特点: 在呈碱性的模拟结肠液 ($\text{pH}=7.4$) 中的溶胀率最高, 其次是模拟小肠液 ($\text{pH}=6.8$), 在模拟胃液 ($\text{pH}=1.0$) 中的溶胀率则最低, 几乎不溶胀, 而在去离子水中, 只有碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶能较好地溶胀。这说明 AG-PS 混合凝胶具有良好的 pH 响应性。

Yotsuyanagi 等^[24]发现, Ca^{2+} 诱导的 AG 凝胶溶胀率在酸性条件下较低, 碱性条件下较高; Hu 等^[15]发现海藻酸钠-辛烯基琥珀酸淀粉复合凝胶也有类似现象。这可能是因为 AG 分子等电点为 4.5 ($\text{pI}=4.5$)^[25]: 当环境 $\text{pH} > \text{pI}$ 时, AG 分子表现出较强的电负性, 分子间的静电斥力增强, 促进了凝胶的溶胀^[26]; 当环境 $\text{pH} < \text{pI}$ 时, AG 分子的羧基质子化, 带有少量净正电荷, 分子间静电斥力弱, 溶胀能力变弱^[27]。因此, AG-PS 混合凝

胶在模拟结肠液或小肠液中溶胀率很高,但在模拟胃液中溶胀率非常低。此外,模拟小肠液和模拟结肠液中的 Na^+ 会逐渐取代混合凝胶中的 Ca^{2+} ,也可以促进混合凝胶的溶胀^[27]。因此,AG-PS 混合凝胶在模拟小肠液和模拟结肠液的溶胀率大于去离子水中的。

在模拟胃液中,氯化钙或碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶几乎不能溶胀,且不受 r 值影响。在去离子水 ($\text{pH}=7.0$) 中:氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶几乎没有溶胀,也不受 r 值影响;但碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶在 $r > 3:3$ 后,随着 r 值升高,溶胀率迅速升高; r 值相同时,碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶的溶胀率明显高于氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶。

由图 4A、4B 可以看出,AG-PS 混合凝胶中 AG 的占比影响凝胶的溶胀率。随着 r 值升高,碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶在模拟结肠液、小肠液和去离子水中的溶胀率均逐渐增大。这可能是因为 r 值较小时,碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶网络结构疏松,而 AG 含量的升高能显著改善 AG-PS 混合凝胶的结构,凝胶网络孔洞多而均匀,可以提高凝胶的持水力,促进溶胀率的提高。对于氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶,提高 r 值:在模拟结肠液中的溶胀率逐渐升高, $r > 4:2$ 后保持稳定;在模拟小肠液、模拟胃液和去离子水中, r 值的升高基本不影响溶胀率。说明碱性环境(模拟结肠液)使 AG 分子所带净负电荷增多,提高 AG 含量则可以增强分子间的排斥力,有利于溶胀率的升高,但若碱性环境的 pH 值一定,AG 含量的升高并不能持续产生更多净负电荷,分子间排斥力趋于稳定,溶胀率逐渐达到饱和。

不同钙源诱导对 AG-PS 混合凝胶的溶胀率也有影响。模拟结肠液或模拟小肠液中,两种钙源诱导的 AG-PS 混合凝胶均具有较高的溶胀率,但随着 r 值的升高,碳酸钙诱导的混合凝胶溶胀率迅速升高,而氯化钙诱导的混合凝胶的溶胀率趋于稳定。

由图 4C、4D 可知,碳酸钙和氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶溶胀率均随模拟消化时间的延长而增加,当模拟消化时间超过 225 min 后,溶

胀达到平衡。在模拟结肠液或模拟小肠液中,两种钙源诱导的混合凝胶的溶胀曲线有显著差别:氯化钙诱导的 AG-PS 混合凝胶在模拟消化初期溶胀速度较慢,模拟消化 90 min 后,溶胀速度迅速增加,直至溶胀平衡;碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶在模拟消化初期就具有较高的溶胀率,模拟消化 90 min 后,溶胀速度变缓,直至溶胀平衡;平衡后,碳酸钙诱导的混合凝胶溶胀率小于氯化钙诱导的。

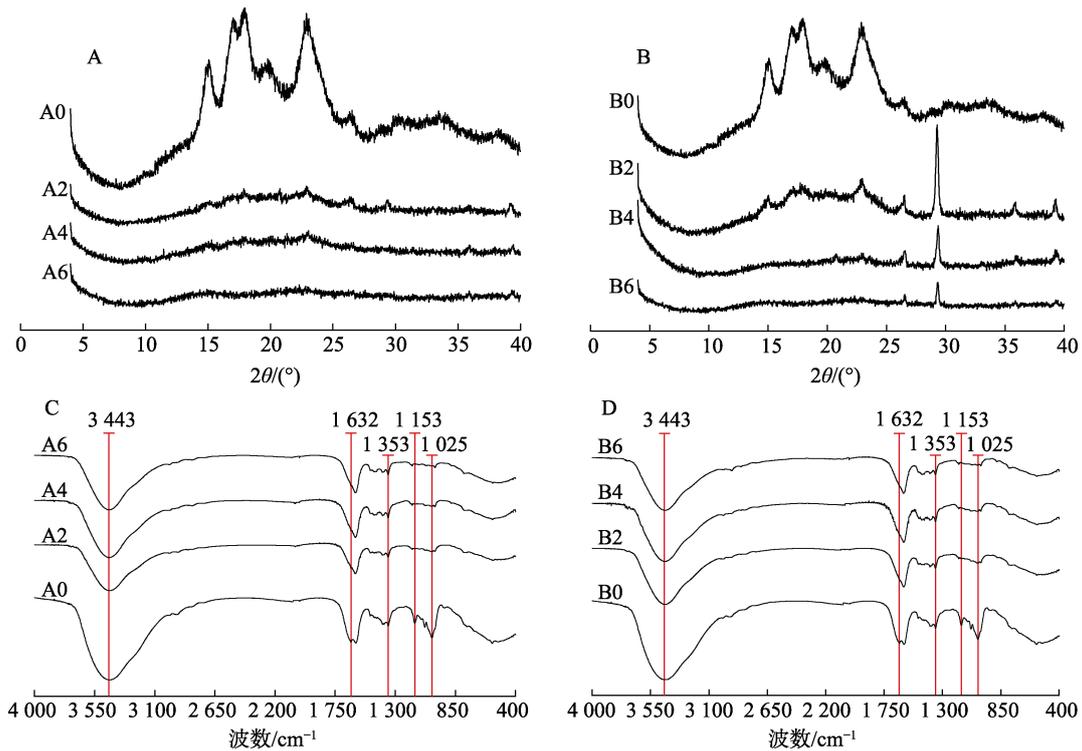
Córdoba 等^[14]也发现,以玉米淀粉为填料的 AG 经氯化钙诱导形成的凝胶珠具有初始溶胀率高、后期缓慢溶胀直至平衡的特点。这可能与所形成的混合凝胶微观结构有关:碳酸钙诱导的混合凝胶表面存在褶皱和孔洞,有利于水分快速进入凝胶内部,因而初始溶胀速度快;氯化钙诱导的混合凝胶,AG 形成具有致密外壳的颗粒状堆积结构,使混合凝胶初始溶胀缓慢,但外壳结构可以保持较多水分,最终溶胀率更高。

上述结果表明,氯化钙或碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶在模拟结肠液或模拟小肠液中均具有良好的溶胀特性,调整钙源或调整 AG 与 PS 配比 r ,可以改变 AG-PS 混合凝胶在模拟结肠液、模拟小肠液和去离子水中的溶胀特性,可以对包封生物活性物质进行控释^[14]。

2.4 X 射线衍射特性和 FT-IR 特性

如图 5A、5B 所示,纯 PS (A0 或 B0) 在 2θ 为 15° 、 17° 、 18° 和 23° 附近出现较强的衍射峰,为典型的 A 型淀粉结晶结构^[28]。氯化钙 (A6) 和碳酸钙 (B6) 诱导的纯 AG 凝胶呈现较宽的弥散峰,说明纯 AG 凝胶呈非晶态结构^[29]。

与纯 PS 相比,添加 AG 后的混合凝胶依然能在纯 PS 衍射峰的位置出峰,但峰强度明显降低,且随 r 值增加,PS 含量逐渐降低,混合凝胶衍射峰强度逐渐减弱,甚至消失。Yu 等^[30]的研究也发现添加 AG 不影响玉米淀粉的结晶结构;Feltre 等^[31]也有类似结果,他们发现玉米淀粉含量较高时,玉米淀粉与 AG 制备的微胶囊的 X 射线衍射图谱与玉米淀粉的基本相同,但随 AG 比例升高,微胶囊的衍射峰强度逐渐降低;Fontes 等^[32]也发现提高海藻酸盐比例可以明显降低海藻酸盐-玉



A、C. 氯化钙诱导; B、D. 碳酸钙诱导。A0、A2、A4、A6 依次表示 AG 与多孔淀粉质量比 r 为 0 : 6、2 : 4、4 : 2、6 : 0。Both A and C were the mixed gel induced by CaCl_2 ; both B and D were the mixed gel induced by CaCO_3 。A0, A2, A4 and A6 meant that $r = 0 : 6, 2 : 4, 4 : 2, \text{ and } 6 : 0$, respectively.

图 5 氯化钙和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶 X 射线和 FT-IR 图谱

Fig.5 X-ray diffraction patterns and FT-IR spectra of AG-PS mixed gel with CaCl_2 or CaCO_3

米淀粉凝胶的衍射峰强度。这应该是因为升高 r , 添加的 AG 产生稀释效应增强, 导致 PS 衍射峰强度降低^[9]。此外, 碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶在 $2\theta=29^\circ$ 处有明显的尖峰, 该峰应为 CaCO_3 晶体的衍射峰^[33]。

如图 5C、5D 所示, 氯化钙和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶的 FT-IR 光谱图相似, 在 $3\ 700\sim 3\ 000\ \text{cm}^{-1}$ 处均出现宽峰, 该峰由 $-\text{OH}$ 伸缩振动引起, 与氢键形成和水分吸附等特性有关^[9]。纯 PS 在 $1\ 632\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 353\ \text{cm}^{-1}$ 、 $1\ 153\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 025\ \text{cm}^{-1}$ 处出现特征吸收峰, 对应 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰、 $-\text{CH}_2$ 伸缩振动峰、 $\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动峰^[34]。PS 中添加 AG 后, 位于 $3\ 443\ \text{cm}^{-1}$ 的吸收峰右移至 $3\ 439\ \text{cm}^{-1}$, 且峰强度减弱。类似结果也出现于海藻酸盐-淀粉混纺纤维^[29]、海藻酸盐-淀粉微粒^[9]中, 这可能是 AG 与 PS 之间形成氢键作用导致的^[35]。此外, 添加 AG 后, PS 在 $1\ 153\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 025\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰消失, $1\ 632\ \text{cm}^{-1}$ 和 $1\ 353\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰强度减弱。

Feltre 等^[31]也发现降低凝胶中玉米淀粉的比

例, 海藻酸钠-玉米淀粉凝胶红外光谱的部分吸收峰强度会降低, 这应该是 AG 的稀释效应引起的。从图 5C、5D 还可以看出, 氯化钙和碳酸钙诱导的 AG-PS 混合凝胶没有出现新的吸收峰, 说明 AG 与 PS 之间没有发生化学反应^[36-37]。AG-PS 混合凝胶特征吸收峰的移动及峰强度的变化表明 AG 中的一 COO 与 PS 中的一 OH 之间可能存在氢键相互作用^[36]。X-Ray 和 FT-IR 的结果说明 AG 与 PS 之间可能存在良好的相容性。

3 结论

采用 CaCl_2 滴注法和 CaCO_3 内源固化法制备了多孔玉米淀粉 (PS) 含量不同的海藻酸钠 (AG) 凝胶, 并分析凝胶硬度、析水率、溶胀特性、结晶结构和微观结构等。所制备的 AG-PS 混合凝胶均具有良好的 pH 响应性, 钙源和 AG/PS 配比 (质量比 r) 对凝胶性质影响显著: r 较高时 ($r=4 : 2$ 或 $5 : 1$), 能够形成形状均一的凝胶, 碳酸钙诱导形成结构均匀致密的凝胶块, 而氯化钙诱导形成具有致密外壳的凝胶珠; 不同的凝胶结构使凝

胶珠在初期溶胀较慢、最终溶胀率较高,凝胶块在初期溶胀迅速、最终溶胀率稍低。结构分析推测,AG与PS通过氢键相互作用,两者具有良好相容性,未通过化学键作用形成新复合物。本研究结果对制备具有pH响应性生物活性物质递送载体具有借鉴意义。

参考文献:

- [1] LI Y H, WANG Y S, ZHAO J S, et al. A pH-sensitive curcumin loaded microemulsion-filled alginate and porous starch composite gels: Characterization, *in vitro* release kinetics and biological activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 182: 1863-1873. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.05.174.
- [2] GÜNTER E A, POPEYKO O V, BELOZEROV V S, et al. Physicochemical and swelling properties of composite gel microparticles based on alginate and callus cultures pectins with low and high degrees of methylesterification[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164:863-870. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.189.
- [3] ROHMAN S, KAEWTATIP K, KANTACHOTE D, et al. Encapsulation of *rhodospseudomonas palustris* KTSSR54 using beads from alginate/starch blends[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2021, 138(12): 50084. DOI:https://doi.org/10.1002/app.50084.
- [4] NUNAMAKER E A, OTTO K J, KIPKE D R. Investigation of the material properties of alginate for the development of hydrogel repair of dura mater[J]. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials, 2011, 4(1): 16-33. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2010.08.006.
- [5] BIENAIMÉ C, BARBOTIN J N, NAVA-SAUCEDO J E. How to build an adapted and bioactive cell microenvironment? A chemical interaction study of the structure of ca-alginate matrices and their repercussion on confined cells[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2003, 67A(2):376-388. DOI:10.1002/jbm.a.10487.
- [6] SHCHIPUNOV Y A, KONEVA E L, POSTNOVA I V. Homogeneous alginate gels: Phase behavior and rheological properties[J]. Polymer Science. Series A, 2002, 44(7): 758-766.
- [7] SMIDSRØD O, SKJÅK-BRÆK G. Alginate as immobilization matrix for cells[J]. Trends in biotechnology, 1990, 8(3): 71-78. DOI: 10.1016/0167-7799(90)90139-O.
- [8] ZHANG X, HUI Z, WAN D, et al. Alginate microsphere filled with carbon nanotube as drug carrier[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 47(3): 389-395. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2010.06.003.
- [9] HOSSEINI S M, HOSSEINI H, MOHAMMADIFAR M A, et al. Preparation and characterization of alginate and alginate-resistant starch microparticles containing nisin[J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 103:573-580. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.12.078.
- [10] JIA X, ZHANG B, CHEN C, et al. Immobilization of chitosan grafted carboxylic Zr-MOF to porous starch for sulfanilamide adsorption[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 253: 117305. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117305.
- [11] ZHOU X, CHANG Q, LI J, et al. Preparation of V-type porous starch by amylase hydrolysis of V-type granular starch in aqueous ethanol solution[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 183: 890-897. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.006.
- [12] LI Y H, WANG Y S, LI X, et al. Effect of freezing-assisted treatment on the formation of stable vii-type complex of fried sweet potato starch and its mechanism[J]. Journal of Food Science, 2022, 87(2): 543-553. DOI:https://doi.org/10.1111/1750-3841.16019.
- [13] DARRABIE M D, KENDALL W F, OPARA E C. Effect of alginate composition and gelling cation on microbead swelling[J]. Journal of Microencapsulation, 2006, 23(6): 613-621. DOI: 10.1080/02652040600687621.
- [14] CÓRDOBA A L, DELADINO L, MARTINO M. Effect of starch filler on calcium-alginate hydrogels loaded with yerba mate antioxidants[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 95: 315-323. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.03.019.
- [15] HU Y, CHEN T, DONG X, et al. Preparation and characterization of composite hydrogel beads based on sodium alginate[J]. Polymer Bulletin, 2015, 72:2857-2869. DOI: 10.1007/s00289-015-1440-2.
- [16] LIU C M, HE X H, LIANG R H, et al. Relating physicochemical properties of alginate-HMP complexes to their performance as drug delivery systems[J]. Journal Biomaterials Science, Polymer Edition, 2017, 28(16/17/18): 2242-2254. DOI: 10.1080/09205063.2017.1393176.
- [17] GRANT G T, MORRIS E R, REES D A, et al. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg - box model[J]. FEBS Letters, 1973, 32(1):195-198.
- [18] TSAI F H, KITAMURA Y, KOKAWA M. Effect of gum arabic-modified alginate on physicochemical properties, release kinetics, and storage stability of liquid-core hydrogel beads[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 174: 1069-1077. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.07.031.
- [19] SEGEREN A J M, BOSKAMP J V, van den TEMPEL M. Rheological and swelling properties of alginate gels[J]. Faraday Discussions of the Chemical Society, 1974, 57:255-262. DOI: 10.1039/DC9745700255.
- [20] LeROUX M A, GUILAK F, SETTON L A. Compressive and shear properties of alginate gel: Effects of sodium ions and alginate concentration[J]. Journal of Biomedical Materials Research, 1999, 47(1):46-53. DOI:10.1002/(SICI)1097-4636

- (199910)47: 1<46::AID-JBM6>3.0.CO;2-N.
- [21] GOLMOHAMADI M, WILKINSON K J. Diffusion of ions in a calcium alginate hydrogel-structure is the primary factor controlling diffusion[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 94: 82-87. DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.01.046.
- [22] PETZOLD G, GIANELLI M P, BUGUEÑO G, et al. Encapsulation of liquid smoke flavoring in ca-alginate and ca-alginate-chitosan beads[J]. Journal of Food Science and Technology, 2014, 51(1): 183-190. DOI: 10.1007/s13197-013-1090-z.
- [23] KUO C K, MA P X. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties[J]. Biomaterials, 2001, 22:511-521.
- [24] YOTSUYANAGI T, OHKUBO T, OHHASHI T, et al. Calcium-induced gelation of alginic acid and pH-sensitive reswelling of dried gels[J]. Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 1987, 35(4): 1555-1563. DOI: https://doi.org/10.1248/cpb.35.1555.
- [25] RAMDHAN T, CHING S H, PRAKASH S, et al. Physical and mechanical properties of alginate based composite gels[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 106: 150-159. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.10.002.
- [26] GONG R, LI C, ZHU S, et al. A novel pH-sensitive hydrogel based on dual crosslinked alginate/N- α -glutaric acid chitosan for oral delivery of protein[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85: 869-874. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.04.011.
- [27] RAYMENT P, WRIGHT P, HOAD C, et al. Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, part 1: *In vitro* characterisation[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23: 816-822. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2008.04.011.
- [28] CAPPA C, LUCISANO M, BARBOSA-CÁNOVAS G V, et al. Physical and structural changes induced by high pressure on corn starch, rice flour and waxy rice flour[J]. Food Research International, 2016, 85:95-103. DOI: 10.1016/j.foodres.2016.04.018.
- [29] WANG Q, HU X, DU Y, et al. Alginate/starch blend fibers and their properties for drug controlled release[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82: 842-847. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.06.004.
- [30] YU Z, WANG Y S, CHEN H H, et al. The gelatinization and retrogradation properties of wheat starch with the addition of stearic acid and sodium alginate[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 81:77-86. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.02.041.
- [31] FELTRE G, SILVA C A, LIMA G B, et al. Production of thermal-resistant comstarch-alginate beads by dripping agglomeration[J]. International Journal of Food Engineering, 2018, 14DOI: 10.1515/ijfe-2017-0296.
- [32] FONTES G C, CALADO V M A, ROSSI A M, et al. Characterization of antibiotic-loaded alginate-Osa starch microbeads produced by ionotropic pregelation[J]. BioMed Research International, 2013, 2013: 472626. DOI: 10.1155/2013/472626.
- [33] LI C, ZHANG C, ZHANG W. The inhibition effect mechanisms of four scale inhibitors on the formation and crystal growth of CaCO₃ in solution[J]. Scientific Reports, 2019, 9:13366. DOI: 10.1038/s41598-019-50012-7.
- [34] TAPIA-BLÁCIDO D, SOBRAL P J, MENEGALLI F C. Development and characterization of biofilms based on Amaranth flour (*Amaranthus caudatus*)[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 67:215-223. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2004.05.054.
- [35] NAYAK A K, PAL D. Formulation optimization and evaluation of jackfruit seed starch-alginate mucoadhesive beads of metformin HCl[J]. International journal of biological macromolecules, 2013, 59: 264-272. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2013.04.062.
- [36] SIDDARAMAIAH, SWAMY T M M, RAMARAJ B, et al. Sodium alginate and its blends with starch: Thermal and morphological properties[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2008, 109(6):4075-4081. DOI: 10.1002/app.28625.
- [37] CHRISTE SONIA MARY M, SASIKUMAR S. Sodium alginate/starch blends loaded with ciprofloxacin hydrochloride as a floating drug delivery system - in vitro evaluation[J]. Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 2015, 34(2): 25-31. 完
- 备注: 本文的彩色图表详见 PC22, 也可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。