



β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的制备及其稳定性的研究

朱凯¹, 徐雪姣², 杨会成³, 沈清¹, 戴志远¹, 郑振霄^{1*}

(1. 浙江工商大学海洋食品研究院, 浙江省水产品加工技术研究联合重点实验室, 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 浙江 杭州 310012;
2. 浙江树人大学生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310015;
3. 浙江省海洋开发研究院, 浙江 舟山 316021)

摘要: 为了确定 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的制备工艺并研究其稳定性, 实验通过研究不同乳化方法(超声、高速剪切和高压微射流)、不同油相体积分数(30%、40%、50%、60%和70%)及不同 β -环糊精添加量(1%、2%、3%、4%和5%, 质量分数)对乳液特征指标(浊度、离心稳定性、粒径和 ζ -电位)的影响, 初步确定了 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的制备工艺, 而后通过乳液的形貌及显微变化、乳液的特征指标评价乳液的热杀菌稳定性、冻融稳定性和贮藏稳定性。结果表明, 油相体积为60%、 β -环糊精添加量为3%、采用高速剪切乳化的方法可以得到南极磷虾油 Pickering 乳液, 乳液的浊度、离心稳定性、粒径和 ζ -电位分别为1.83、85.12%、110.50 nm和-28.39 mV。热杀菌对乳液的形貌及显微结构、乳液的特征指数没有显著影响。冻融显著影响了乳液的特性, 冻融后乳液出现了严重的沉淀、乳析等现象, 乳液不再呈现均一、稳定的状态。乳液在25 °C, 密闭条件下贮藏16 d内, 虽然乳液的形貌结构、显微结构及乳液的特征指标发生了变化, 但乳液仍保持了基本特性。总之, β -环糊精作为稳定剂可以用来制备南极磷虾油 Pickering 乳液, 该乳液具有良好的热杀菌和贮藏稳定性(16 d内), 但不具备冻融稳定性。

关键词: 南极磷虾油; β -环糊精; Pickering 乳液; 形貌变化; 显微变化; 特征指标; 稳定性
中图分类号: TS 254.4 **文献标志码:** A

南极磷虾 (*Euphausia superba*) 是生活在南极海域的一种甲壳类浮游生物, 其资源储量丰富, 开发利用空间巨大^[1-2]。南极磷虾油富含磷脂型二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA) 等 n-3 多不饱和脂肪酸 (n-3PUFA), 和鱼油中甘油酯型 n-3PUFA 相比, 磷脂型的 n-3PUFA 与细胞膜具有更好的融合性, 更有利于人体吸收^[3]。因此, 南极磷虾油具有强大的市场开发潜力^[4-5]。然而,

南极磷虾油黏度大、腥味重, 增加了其加工利用的难度^[6-7]。将南极磷虾油制成乳液可以有效缓解上述问题, 且乳液形式的南极磷虾油具有更好的稳定性和生物利用度。赵嘉雯^[8]采用豌豆分离蛋白作为乳化剂, 通过超声技术构建了稳定的磷虾油乳液体系, 在此基础上建立了包埋有乳液的水凝胶体系, 在提高乳液稳定性的同时实现了南极磷虾油在体内的缓慢释放。张建润^[9]以酪蛋白钠

收稿日期: 2021-12-14 修回日期: 2022-01-05

资助项目: 国家重点研发计划课题 (2018YFC0311204); 浙江省自然科学基金 (LQ22C200008)

第一作者: 朱凯, 从事水产功能食品研究, E-mail: 1090147729@qq.com

通信作者: 郑振霄(照片), 从事水产加工及营养研究, E-mail: zheng_zhen_xiao@163.com



为壁材, 通过高压均质的方法制备了南极磷虾油纳米乳液体系, 并通过加速贮藏实验评价了南极磷虾油乳液的氧化稳定性, 结果表明乳液形式的南极磷虾油具有更好的氧化稳定性。Zheng 等^[10]以吐温-80 为乳化剂, 通过高速剪切的方法建立了南极磷虾油乳液体系, 该乳液体系的离心稳定性为 75.63%, 粒径为 129.6 nm, ζ -电位 -27.2 mV。尽管有学者对南极磷虾油乳液进行了研究, 但关于 β -环糊精稳定的南极磷虾油 Pickering 乳液的研究还未见报道。Pickering 乳液是以微米级固体颗粒为稳定剂的乳状液体体系, 相比于传统液体表面活性剂乳液, Pickering 乳液具有稳定性好、乳化剂用量少、制备方便及环境友好等优势, 成为近年来食品乳液领域研究的热点, 此外, β -环糊精作为一种天然绿色的稳定剂, 具有较好的生物相容性和可降解性^[11-13]。因此, 采用 β -环糊精制备南极磷虾油 Pickering 乳液对南极磷虾油及南极磷虾资源的绿色可持续利用具有较好的借鉴意义。

本实验以 β -环糊精为稳定剂, 制备南极磷虾油 Pickering 乳液, 通过研究不同乳化方法 (超声、高速剪切和高压微射流)、不同油相体积分数 (30%、40%、50%、60% 和 70%) 及不同 β -环糊精添加量 (1%、2%、3%、4% 和 5%, 质量分数) 对乳液体系离心稳定性、粒径、 ζ -电位等特征指标的影响, 初步确定 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的制备工艺, 并通过乳液的形貌及显微变化、乳液的特征指标变化评价乳液的热杀菌稳定性、冻融稳定性及贮藏稳定性, 以期为南极磷虾资源的开发和利用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

β -环糊精购自上海麦克林生化科技有限公司; 南极磷虾油购自辽渔集团有限公司; 其他试剂购于国药集团上海有限公司。

1.2 主要设备

VCX500 超声波细胞粉碎仪 (Sonics, 美国); T18 高速均质机 (IKA, 德国); Nano Genizer 30K 高压微射流均质机 (Genizer, 美国); DK-8D 恒温水浴锅 (上海一恒科学仪器有限公司); AE2000 倒置显微镜 (麦克奥迪实业集团中国有限公司); Nano-ZS 激光粒度仪 (Malvern, 英国)。

1.3 实验方法

乳化方法 取虾油、水和 β -环糊精放置在容器中, 通过不同乳化方法制备乳液, 并通过测定乳液浊度、离心稳定性、粒径和 ζ -电位, 确定合适的乳化方法。超声乳化, 将混合物以 4 s : 2 s 的间歇比, 500 W 的功率进行超声处理 10 min^[14]; 高速剪切乳化, 将混合物用高速均质机在 15 000 r/min 条件下乳化, 每次均质 1 min, 间歇 30 s, 循环 3 次^[15]; 高压微射流乳化, 对混合物进行高压微射流处理, 压力设定为 40 MPa, 循环 3 次^[16]。

不同油相体积分数对乳液的影响 按照不同油相体积分数 (30%、40%、50%、60% 和 70%) 制作油水混合物, 并在其中添加 β -环糊精, 采用合适的乳化方法建立乳液体系。通过乳相、水相、油相体积分数和乳液的粒径及离心稳定性确定合适的油相体积分数。

β -环糊精添加量对乳液的影响 按照合适的油相体积分数配制油水混合物, 并向其中添加不同质量分数 (1%、2%、3%、4% 和 5%) 的 β -环糊精, 采用合适的乳化方法建立乳液体系, 通过测定乳液的浊度、离心稳定性、粒径和 ζ -电位, 确定合适的 β -环糊精添加量。

乳液的热杀菌稳定性评价 按照配方采用合适的乳化方法建立乳液体系, 将乳液放置于容器中密闭, 然后放置在 60 °C 水浴锅中 30 min, 通过对比乳液杀菌前后形貌变化、显微变化及乳液特征指标的变化, 评价乳液的热杀菌稳定性^[17]。

乳液的冻融稳定性评价 按照配方采用合适的乳化方法建立乳液体系, 将乳液放置于容器中密闭, 然后放置于 -18 °C 冰箱中冻藏 24 h, 取出后在 25 °C 水浴中融解 30 min, 通过对比乳液冻融前后形貌变化、显微变化, 评价乳液的冻融稳定性^[18]。

乳液的贮藏稳定性 按照配方采用合适的乳化方法建立乳液体系, 将乳液放置于容器中密闭, 而后放置于 25 °C 恒温环境下贮藏 21 d, 通过乳液的形貌变化、显微变化和特征指标变化和评价乳液的贮藏稳定性^[19]。

乳液的显微观察 取适量乳液均匀涂布在载玻片上, 显微镜下放大 75×40 倍进行观察, 并用附带相机对选取界面进行拍摄。

乳液浊度及离心稳定性评价 取适量乳液稀释一定的倍数, 用紫外/可见分光光度计在 600 nm 测定其吸光值, 得到其吸光值 A_a , 采用吸

光值反映乳液的浊度。为了评价乳液稳定性,将样品在常温下 3 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液在 600 nm 处测定其吸光值, 得到 A_b , 根据公式 1 计算其稳定性^[15,20]。

$$\text{离心稳定性(STD)} = A_b/A_a \times 100\% \quad (1)$$

乳液的粒径及 ζ -电位测定 取适量乳液稀释一定的倍数, 摇匀后采用激光粒度仪分别对乳液的粒径和 ζ -电位进行测定^[20]。

乳液的乳化系数 量取体系的总体积和乳液体积, 通过计算乳液体积占总体积的体积分数表征乳液的乳化系数^[21]。

1.4 数据分析

设置 3 次平行实验, 数据采用平均值 \pm 标准差表示, 分别运用 OriginPro 9.0 和 SPSS 16.0 软件作图 and 数据处理, 并通过单因素方差分析中的 Duncan 氏多重极差检验进行显著性分析, 显著性差异表示为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 乳化方法的选择

超声、高速剪切和高压微射流制备乳液的特征参数如表 1 所示 (油相体积分数为 50%, β -环糊精的添加量为 2%)。3 种乳化方法制备乳液的浊度和离心稳定性分别为 1.71、1.82、2.11 和 85.01%、

87.32%、87.91% (乳液的浊度采用分光光度法测定, 采用吸光值反映其浊度大小, 乳液的离心稳定性以乳液离心后浊度占离心前浊度的百分比值反映, 方法同“乳液浊度及离心稳定性”), 不同乳化方法对乳液浊度的影响要大于其离心稳定性。3 种乳化方法制备乳液的粒径分别为 301.70、126.50 和 103.20 nm, ζ -电位分别为 -16.50、-30.10 和 -33.80 mV, 超声乳化制备乳液的粒径较大且 ζ -电位绝对值较小, 高速剪切和高压微射流乳化制备乳液具有较小的粒径和较大的 ζ -电位绝对值。考虑到操作方便以及设备成本, 选择高速剪切为合适的乳化方法。

2.2 油相体积分数的选择

油相体积分数对乳液的影响如表 2 所示 (采用高速剪切乳化, β -环糊精的添加量为 2%)。油相体积分数对乳液的影响较大, 当油相体积分数低于 40%, 体系中的水为过量, 体系中存在未成乳的水相, 油相体积分数为 50% 和 60% 时, 体系乳化后能够全部形成乳液, 而当油相体积分数超过 70%, 体系中的油为过量, 体系中存在未成乳的油相。油相体积分数为 50% 和 60% 时, 体系乳化后形成乳液的粒径为 151.70 和 162.30 nm, 离心稳定性分别为 88.46% 和 81.21%, 这 2 组数据的差异并不显著, 综合考虑, 选择 60% 作为合适的油相体积分数。

表 1 不同乳化方法对乳液特性的影响

Tab. 1 Effects of different emulsification methods on the properties of the emulsion

方法 methods	浊度 turbidity	稳定性/% stability	粒径/nm particle size	ζ -电位/mV ζ -potential
超声 ultrasound	1.71 \pm 0.12 ^c	85.01 \pm 5.15 ^a	172.70 \pm 9.10 ^a	-16.50 \pm 2.00 ^b
高速剪切 high speed shearing	1.82 \pm 0.09 ^b	87.32 \pm 4.05 ^a	126.50 \pm 10.31 ^b	-30.10 \pm 4.10 ^a
高压微射流 high pressure microfluidics	2.11 \pm 0.13 ^a	87.91 \pm 5.25 ^a	103.20 \pm 6.00 ^b	-33.80 \pm 5.00 ^a

注: 同列字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$); 下同

Notes: Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) among different groups; the same below

表 2 不同油相体积分对乳液的影响

Tab. 2 Effects of different oil volume fractions on the emulsion

油相体积分数/% oil volume fractions	乳相体积分数/% emulsion volume fractions	乳化后油相体积分数/% oil volume fractions (after emulsification)	乳化后水相体积分数/% aqueous volume fractions (after emulsification)	粒径/nm particle size	离心稳定性/% centrifugal stability
30	66.31 \pm 2.05 ^c	0.00 ^b	34.27 \pm 2.55 ^a	301.00 \pm 10.60 ^a	41.16 \pm 2.58 ^d
40	82.15 \pm 3.25 ^b	0.00 ^b	18.48 \pm 1.15 ^b	232.20 \pm 12.53 ^b	62.57 \pm 3.25 ^c
50	100.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c	151.70 \pm 9.51 ^d	88.46 \pm 6.35 ^a
60	100.00 ^a	0.00 ^b	0.00 ^c	162.30 \pm 8.60 ^d	81.21 \pm 7.19 ^a
70	100.00 ^a	5.26 \pm 0.55 ^a	0.00 ^c	193.00 \pm 16.32 ^c	73.15 \pm 6.75 ^b

2.3 β -环糊精添加量的选择

β -环糊精添加量对乳液的影响如表 3 所示 (采用高速剪切乳化, 油相体积分数为 60%)。乳液的浊度随着 β -环糊精添加量的增加而逐渐变大, 对于乳液的离心稳定性来讲, 也是随着 β -环糊精添加量的增加而逐渐升高, 但当 β -环糊精添加量大

于 3% 后, 增加的趋势不明显。乳液的粒径呈现了先减小后增大的趋势, 乳液最小粒径为 121.30 nm (β -环糊精添加量为 3%), ζ -电位的绝对值则呈现了相反的趋势, 最大值为 26.10 mV (β -环糊精添加量为 3%)。综合考虑, 选择 3% 的 β -环糊精添加量作为合适的添加量。

表 3 β -环糊精质量分数对乳液特性的影响

Tab. 3 Effects of different β -cyclodextrin mass fractions on the properties of the emulsion

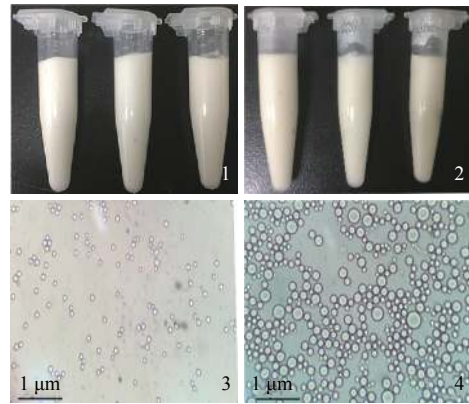
β -环糊精质量分数/ % β -cyclodextrin mass fraction	浊度 turbidity	离心稳定性/% centrifugal stability	粒径/nm particle size	ζ -电位/mV ζ -potential
1	0.79±0.05 ^c	63.12±3.15 ^c	295.70±9.10 ^b	-10.50±0.90 ^d
2	1.32±0.09 ^d	70.15±4.25 ^b	201.60±10.30 ^c	-20.10±1.10 ^b
3	1.96±0.11 ^c	82.01±6.27 ^a	121.30±6.00 ^c	-26.10±2.00 ^a
4	2.85±0.12 ^b	84.21±6.60 ^a	156.20±10.16 ^d	-21.20±1.20 ^b
5	3.65±0.23 ^a	86.16±7.25 ^a	351.50±8.25 ^a	-13.10±0.90 ^c

2.4 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的制备

取 40 mL 超纯水和 60 mL 南极磷虾油放置在容器中, 添加质量分数为 3% 的 β -环糊精, 采用高速剪切乳化法制备 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液。乳液的浊度、离心稳定性、粒径和 ζ -电位分别为 1.83、85.12%、110.50 nm 和 -28.39 mV。

2.5 乳液的热杀菌稳定性

乳液基食品主要通过加热的形式进行杀菌, 以抑制微生物增殖, 因此热稳定性是乳液最重要的性质之一^[22]。乳液热杀菌前后的形貌变化及显微变化结果显示, 从形貌上看, 杀菌后的乳液仍保持稳定均一, 未出现显著的沉降、乳析 (图版 I), 乳液的显微观察结果表明, 乳液经过杀菌后乳滴有增大的趋势。乳液杀菌前后的特征指数变化如表 4 所示。杀菌后, 乳液的浊度和粒径有小幅上升, 稳定性和 ζ -电位的绝对值出现了小幅下降, 但总体看来, 乳液的特征指标未出现大幅变化。这些结果表明, β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的热杀菌稳定性良好。稳定 Pickering 乳液的固体粒子与客体分子在油/水界面发生不可逆自组装, 形成刚性颗粒, 并吸附在界面形成弹性界面膜, 为液滴提供了一定厚度的空间屏障, 可有效防止液滴的聚集, 进而形成稳定的乳液。由于其刚性颗粒的组装是热不可逆的, 因而在一定温度范围内, Pickering 乳液对热处理有较好的抵抗力, 这与之前研究具有一致性^[23]。



图版 I 乳液热杀菌前后的形貌变化及显微变化

1. 杀菌前形貌结构; 2. 杀菌后形貌结构; 3. 杀菌前显微结构; 4. 杀菌后显微结构

Plate I Morphology and microscopic changes of the emulsion before and after the thermal sterilization

1. the morphology before the thermal sterilization; 2. the morphology after the thermal sterilization; 3. the microscopy before the thermal sterilization; 4. the microscopy after the thermal sterilization

2.6 乳液的冻融稳定性

乳液基食品在运输储藏中可能需要经过冷冻处理, 良好的冻融稳定性对于延长乳液基食品的货架期具有重要意义^[24]。乳液冻融前后的形貌及显微变化结果显示, 冻融前, 乳液为乳白色的均一稳定体系, 冻融后, 乳液出现了沉淀、乳析及油水分离的现象 (图版 II), 在此情况下, 评价乳液的特征指标 (浊度、稳定性、粒径和 ζ -电位) 已无太大意义。因此, β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的冻融稳定性较差, 在贮藏、加工

表4 乳液热杀菌前后的特征指数变化

Tab. 4 Characteristic index changes of emulsion before and after the thermal sterilization

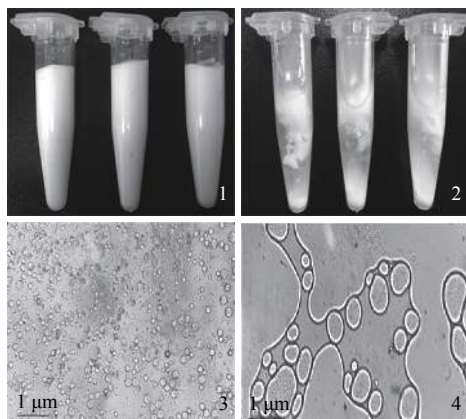
	浊度 turbidity	离心稳定性/% centrifugal stability	粒径/nm particle size	ζ-电位/mV ζ-potential
热杀菌前 before the thermal sterilization	1.83±0.15 ^a	85.12±3.25 ^a	110.50±10.35 ^b	-28.39±2.25 ^a
热杀菌后 after the thermal sterilization	1.94±0.18 ^a	83.25±2.15 ^a	132.6±11.25 ^a	-26.35±2.39 ^a

过程中需避免冷冻处理。南极磷虾油中的长链高度不饱和脂肪酸含量较高, 这些脂肪酸的碳链长、弯曲程度高, 导致β-环糊精与客体分子自组装形成杂化颗粒的结构不够稳定, 呈松散状态, 冷冻后, 晶体的形成刺穿了颗粒形成的脆弱界面膜, 导致乳液冻融后发生严重的沉淀、乳析等现象。Zhu等^[25]的研究表明, 多糖类物质制备Pickering乳液的冻融稳定性较差, 通过增加蛋白在油滴界面的吸附可以一定程度上抑制晶体的生长, 进而

增强乳液的冻融稳定性。

2.7 乳液的贮藏稳定性

贮藏稳定性是指储存期间乳液发生变质的难易程度^[26]。贮藏期间乳液的形貌及显微变化结果显示, 乳液在贮藏的前期形貌没有发生显著变化, 贮藏16 d后, 乳液的状态开始发生变化, 出现了轻微的乳析现象, 贮藏第21 d后, 乳液出现了显著的乳水分离现象, 乳液已经不再呈现均一稳定的状态。对于乳液的显微变化, 贮藏初期, 乳滴均匀分布在水相中, 乳液的颗粒较小, 形状规则, 贮藏7 d后, 乳滴有增大趋势, 随后乳滴进一步增大, 贮藏21 d后, 乳液的均一稳定状态已被破坏, β-环糊精形成的界面膜被破坏, 油滴之间互相聚集, 出现严重的油水分离现象(图版III)。乳液在贮藏过程中的粒径、ζ-电位及乳化指数的变化如图1所示。乳液的粒径随着贮藏时间延长呈不断增大的趋势, 贮藏开始时(第0天)乳液的粒径为110.50 nm, 在贮藏前7 d乳液的粒径缓慢增大, 从第11天开始粒径增加的趋势变大, 到了贮藏的第21天, 乳液的稳定体系受到严重破坏, 乳液的粒径已不再是纳米级别。乳液ζ-电位的绝对值在整个贮藏期间呈下降趋势, 贮藏开始和结束的电位分别为-28.39 mV和-6.52 mV。在贮藏的前11 d, 整个体系全部为乳液, 乳化指数均为100%, 贮藏第16天, 乳液出现了轻微的乳析现象, 乳化指数为93.18%, 贮藏21 d后, 乳液的均一体系被破坏, 出现较为严重的乳析现象, 乳化

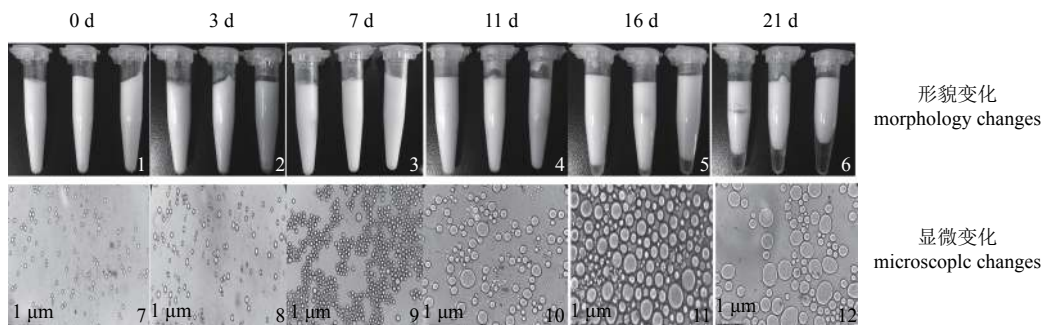


图版II 乳液冻融前后的形貌及显微变化

1. 冻融前形貌结构; 2. 冻融后形貌结构; 3. 冻融前显微结构; 4. 冻融后显微结构

Plate II Morphology and microscopic changes of the emulsion before and after the freezing and thawing

1. the morphology before the freezing and thawing; 2. the morphology after the freezing and thawing; 3. the microscopy before the freezing and thawing; 4. the microscopy after the freezing and thawing



图版III 贮藏期间乳液的形貌及显微变化

Plate III Morphology and microscopic changes of the emulsion during the storage

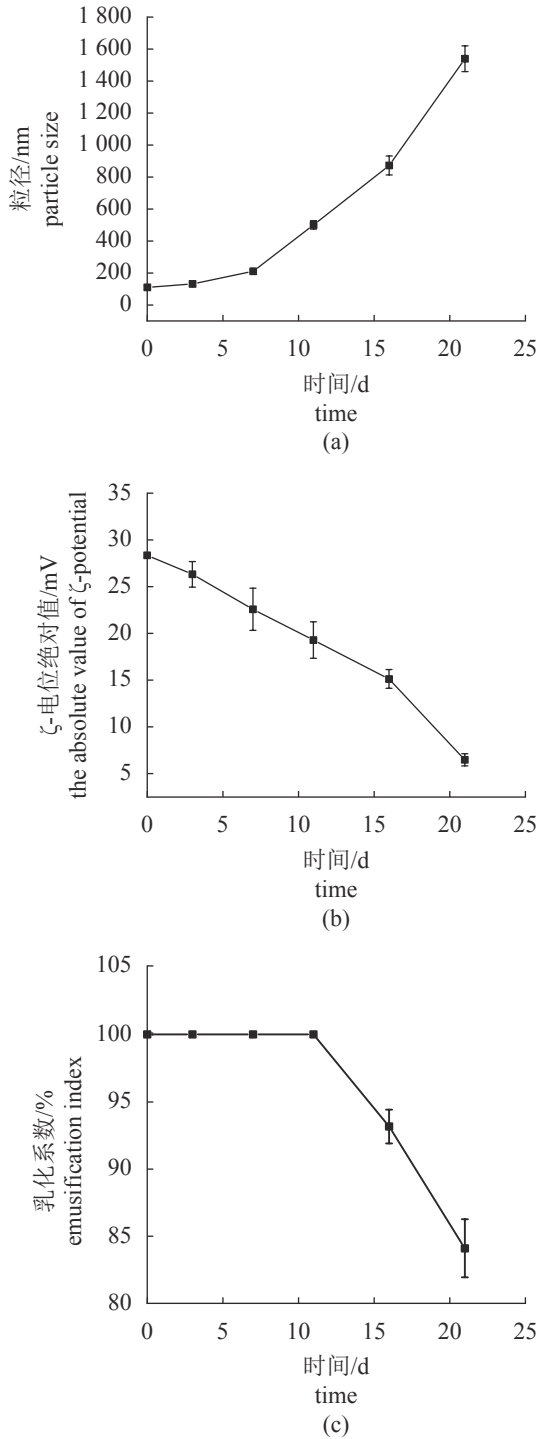


图 1 乳液在贮藏过程中的粒径 (a)、 ζ -电位 (b) 及乳化指数 (c) 的变化

Fig. 1 Particle size (a), ζ -potential (b) and emulsification index changes (c) during the storage

系数降到 81.16%。这些结果表明, β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液在 25 °C 密闭条件下, 可贮藏 16 d。Liu 等^[27] 采用 β -环糊精为稳定剂制备了中链脂肪酸甘油酯的 Pickering 乳液, 该乳液

贮藏 30 d 后仍保持其基本特性, 这说明中链脂肪酸甘油酯形成乳液的稳定性要强于南极磷虾油。相比于南极磷虾油中的长链高度不饱和脂肪酸来讲, 中链脂肪酸与 β -环糊精自组装所形成的界面膜刚性较强, 乳液的稳定性较好。

3 讨论

本实验以 β -环糊精为稳定剂, 通过评价不同乳化方法 (超声、高速剪切、高压微射流)、不同的油相体积分数 (30%、40%、50%、60% 和 70%) 及不同的 β -环糊精添加量 (1%、2%、3%、4% 和 5%) 对乳液特征指标 (浊度、离心稳定性、粒径、 ζ -电位等) 的影响, 确定了合适的 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的制备条件, 即油相体积为 60%, β -环糊精添加量为 3%, 采用高速剪切法进行乳化。在此条件下, 制备了稳定均一的乳液, 乳液的浊度、离心稳定性、粒径和 ζ -电位分别为 1.83、85.12%、110.50 nm 和 -28.39 mV。为了拓展 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的应用形式, 实验又通过乳液的形貌、显微变化以及乳液的特征指标, 评价了该乳液的热杀菌稳定性、冻融稳定性和贮藏稳定性, 结果表明, 在本实验条件下制备的乳液具有良好的热杀菌稳定性和贮藏稳定性, 但不具备冻融稳定性, 说明 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液在后期的贮藏和加工过程中要避免采用冷冻处理, 以免造成不必要的损失。

β -环糊精是淀粉经酸解环化生成的产物, 由于其外部亲水而内部疏水的结构, 具有良好的包合作用, 在食品领域具有广泛的应用。研究表明 β -环糊精可以作为制备 Pickering 乳液的稳定剂在油水二元体系中, β -环糊精率先与油相中的疏水性分子形成包合物, 此包合物在油/水界面发生自组装, 形成具有亲水亲油特性的固体颗粒, 这些固体颗粒在油/水界面形成界面膜, 界面膜能够阻止液滴的聚集, 进而起到稳定乳液的作用。界面膜的强度对乳液的稳定性有着重要的影响, 界面膜强度大则乳液稳定性强, 反之亦然。界面膜的强度与客体分子的极性、尺寸和立体构像等因素密切相关^[28-29]。李学红等^[21] 以 β -环糊精为稳定剂, 采用高速剪切乳化的方法制备了 β -环糊精稳定的紫苏籽油 Pickering 乳液, 该乳液在室温、密闭条件下贮藏 60 d 后仍能保持乳液的基本特性。Xiao 等^[30] 采用 β -环糊精复合物为稳定剂, 通过高速剪切法制备了纳米级别的薰衣草精油乳液体系, 该

乳液在 25 °C、密闭的条件下可以贮藏 30 d。在本研究中, β -环糊精稳定的南极磷虾油乳液贮藏 16 d 后, 乳液出现了析乳、沉降等现象, 相比之下, 南极磷虾油乳液的贮藏稳定性不如紫苏油和薰衣草精油。这表明南极磷虾油与 β -环糊精形成的界面膜强度较弱, 不能够长时间稳定乳液体系。南极磷虾油中的长链高度不饱和脂肪酸占比较高, 这些脂肪酸的碳链较长, 客体分子在与 β -环糊精发生自组装时的空间位阻大, 客体分子进入环糊精内腔后, 仍有疏水部位碳链暴露在外, 形成的固体颗粒具有两亲性质, 导致环糊精在南极磷虾油/水界面的张力较小, 乳液的稳定性较差。另一方面, 南极磷虾油中长链不饱和脂肪酸的碳链高度弯曲, 形成的杂化颗粒结构较为疏松, 界面剪切模量较小, 刚性较弱。综上结果表明, β -环糊精可以作为稳定剂制备南极磷虾油 Pickering 乳液, 然而, 该乳液的稳定性仍需进一步加强, 后续的研究将从增强界面膜的强度展开, 尝试采用 β 环糊精与果胶、卵磷脂、酪蛋白等生物分子复合, 构建杂化颗粒复合物, 以增强对客体的包合作用, 增强 β -环糊精稳定南极磷虾油 Pickering 乳液的稳定性。综上, 利用 β -环糊精作为稳定剂可以制备稳定均一的南极磷虾油 Pickering 乳液, 乳液的类型为水包油型, 乳液的浊度、离心稳定性、粒径和 ζ -电位分别为 1.83、85.12%、110.5 nm 和 -28.39 mV。此外, 该乳液具有良好的热杀菌和贮藏稳定性 (16 d 内), 但不具备冻融稳定性。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Xie D, Gong M Y, Wei W, *et al.* Antarctic krill (*Euphausia superba*) oil: a comprehensive review of chemical composition, extraction technologies, health benefits, and current applications[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2019, 18(2): 514-534.
- [2] 许柳雄, 王腾, 朱国平, 等. 南极磷虾生物量估算方法[J]. *水产学报*, 2018, 42(5): 808-816.
- Xu L X, Wang T, Zhu G P, *et al.* Methods for biomass estimation of Antarctic krill (*Euphausia superba*): a review[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(5): 808-816 (in Chinese).
- [3] 冯迪娜, 袁玥, 苏学锋, 等. 南极磷虾资源综合利用研究现状[J]. *食品研究与开发*, 2015, 36(8): 120-122.
- Feng D N, Yuan Y, Su X F, *et al.* Research status of comprehensive utilization for Antarctic krill resource[J]. *Food Research and Development*, 2015, 36(8): 120-122 (in Chinese).
- [4] 谈俊晓, 赵永强, 李来好, 等. 南极磷虾综合利用研究进展[J]. *广东农业科学*, 2017, 44(3): 143-150.
- Tan J X, Zhao Y Q, Li L H, *et al.* Research progress on comprehensive utilization of Antarctic krill[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2017, 44(3): 143-150 (in Chinese).
- [5] 刘永新, 李梦龙, 方辉, 等. 南极磷虾的资源概况与生态系统功能[J]. *水产学杂志*, 2019, 32(1): 55-60.
- Liu Y X, Li M L, Fang H, *et al.* Resources status and ecosystem function in Antarctic krill[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2019, 32(1): 55-60 (in Chinese).
- [6] Fu J J, Song L, Guan J J, *et al.* Encapsulation of Antarctic krill oil in yeast cell microcarriers: evaluation of oxidative stability and *in vitro* release[J]. *Food Chemistry*, 2021, 338: 128089.
- [7] 张燕平, 王海星, 陈康, 等. 实时质谱新技术分析南极磷虾油的脂质组学轮廓[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(9): 226-231.
- Zhang Y P, Wang H X, Chen K, *et al.* Novel real-time mass spectrometry for detecting the lipidomics profile of Antarctic krill oil[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(9): 226-231 (in Chinese).
- [8] 赵嘉雯. 基于南极磷虾油的乳液的制备、特性表征及其水凝胶系统的性质研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2021.
- Zhao J W. Preparation and characterization of an emulsion based on Antarctic krill oil and the properties of its hydrogel system[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2021 (in Chinese).
- [9] 张建润. 南极磷虾油纳米乳的制备及其氧化稳定性研究 [D]. 大连: 大连工业大学, 2018.
- Zhang J R. Preparation and oxidation stability of Antarctic krill oil nanoemulsion[D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2018 (in Chinese).
- [10] Zheng Z X, Zhu K, Dai Z Y. Preparation of Antarctic krill oil emulsion and its stability under catalase treatment[J]. *Foods*, 2021, 10(11): 2797.
- [11] Xiao J, Li Y Q, Huang Q R. Recent advances on food-grade particles stabilized pickering emulsions: fabrication, characterization and research trends[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2016, 55: 48-60.
- [12] Linke C, Drusch S. Pickering emulsions in foods-opportunities and limitations[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2018, 58(12): 1971-1985.

- [13] 李海明, 杨盛, 韦何雯, 等. 食品级 Pickering 乳液的研究进展[J]. *食品科学*, 2015, 36(19): 265-270.
Li H M, Yang S, Wei H W, *et al.* Food grade Pickering emulsion: a review[J]. *Food Science*, 2015, 36(19): 265-270 (in Chinese).
- [14] Nie J G, Chen D T, Ye J, *et al.* Optimization and kinetic modeling of ultrasonic-assisted extraction of fucoxanthin from edible brown algae *Sargassum fusiforme* using green solvents[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2021, 77: 105671.
- [15] Ke L J, Xu Y, Gao G Z, *et al.* Catalase to demulsify oil-in-water fish oil-polysorbate emulsion and affect lipid oxidation[J]. *Food Research International*, 2020, 133: 109169.
- [16] 靳学远, 刘艳芳. 高压微射流制备叶黄素纳米乳液及稳定性研究[J]. *中国食品添加剂*, 2020, 31(10): 1-5.
Jin X Y, Liu Y F. Study on preparation of nanoemulsion of lutein by high-pressure microfluidization process and its stability[J]. *China Food Additives*, 2020, 31(10): 1-5 (in Chinese).
- [17] 张颖, 闫慧明, 彭德举, 等. 常见热杀菌方式对关中羊乳品质的影响[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(8): 26-30,36.
Zhang Y, Yan H M, Peng D J, *et al.* Effect of common thermal sterilization methods on the quality of Guanzhong goat milk[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2019, 40(8): 26-30,36 (in Chinese).
- [18] 于国萍, 岳崇慧, 陈媛, 等. 转谷氨酰胺酶对大豆分离蛋白乳状液冻融稳定性的影响[J]. *食品科学*, 2019, 40(6): 22-27.
Yu G P, Yue C H, Chen Y, *et al.* Effect of transglutaminase on freeze-thaw stability of soybean protein isolate emulsion[J]. *Food Science*, 2019, 40(6): 22-27 (in Chinese).
- [19] 金蓓, 官金敏, 许佳音, 等. 光催化大豆蛋白纳米颗粒皮克林乳液的制备及稳定性研究[J]. *中国食品学报*, 2018, 18(1): 162-168.
Jin B, Guan J M, Xu J Y, *et al.* Studies on preparation and stability of Pickering emulsion of soy protein nanoparticle obtained through photocatalysis[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2018, 18(1): 162-168 (in Chinese).
- [20] 何蕾. 猪骨汤微纳胶粒构造对胶体特性及其生物活性的影响 [D]. 杭州: 浙江工商大学, 2018.
He L. Study on colloidal micro structures and biological activities of micro-/nano-particles in porcine bone soup[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2018 (in Chinese).
- [21] 李学红, 陆勇, 郝晓萍, 等. 环糊精稳定紫苏籽油 Pickering 乳液的制备及其稳定性[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(12): 59-64.
Li X H, Lu Y, Hao X P, *et al.* Preparation of perilla seed oil emulsion stabilized by cyclodextrin and its stability[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2019, 34(12): 59-64 (in Chinese).
- [22] Yan X J, Ma C C, Cui F Z, *et al.* Protein-stabilized Pickering emulsions: Formation, stability, properties, and applications in foods[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 103: 293-303.
- [23] Fu D W, Deng S M, McClements D J, *et al.* Encapsulation of β -carotene in wheat gluten nanoparticle-xanthan gum-stabilized Pickering emulsions: enhancement of carotenoid stability and bioaccessibility[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 89: 80-89.
- [24] Zhu J J, Zhuang P, Luan L L, *et al.* Preparation and characterization of novel nanocarriers containing krill oil for food application[J]. *Journal of Functional Foods*, 2015, 19: 902-912.
- [25] Zhu X F, Zheng J, Liu F, *et al.* Freeze-thaw stability of Pickering emulsions stabilized by soy protein nanoparticles. Influence of ionic strength before or after emulsification[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 74: 37-45.
- [26] Zhu W, Zheng F, Song X Y, *et al.* Influence of formulation parameters on lipid oxidative stability of Pickering emulsion stabilized by hydrophobically modified starch particles[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 246: 116649.
- [27] Liu Z B, Li Y B, Geng S, *et al.* Fabrication of food-grade Pickering high internal phase emulsions stabilized by the mixture of β -cyclodextrin and sugar beet pectin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 182: 252-263.
- [28] Zhang J F, Wang Y H, Wang J R, *et al.* A novel solid nanocrystals self-stabilized pickering emulsion prepared by spray-drying with hydroxypropyl- β -cyclodextrin as carriers[J]. *Molecules*, 2021, 26(6): 1809.
- [29] Xu H N, Liu H H, Zhang L F. Blocking and blending: different assembly models of cyclodextrin and sodium caseinate at the oil/water interface[J]. *Langmuir*, 2015, 31(33): 9061-9069.
- [30] Xiao Z B, Liu Y F, Niu Y W, *et al.* Cyclodextrin supermolecules as excellent stabilizers for Pickering nanoemulsions[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2020, 588: 124367.

Preparation of Antarctic krill Pickering emulsion stabilized by β -cyclodextrin and its stability

ZHU Kai¹, XU Xuejiao², YANG Huicheng³, SHEN Qing¹, DAI Zhiyuan¹, ZHENG Zhenxiao^{1*}

(1. Collaborative Innovation Center of Seafood Deep Processing, Zhejiang Province Joint Key Laboratory of Aquatic Products Processing, Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, China;

2. College of Biology and Environmental Engineering, Zhejiang Shuren University, Hangzhou 310015, China;

3. Zhejiang Marine Development Research Institute, Zhoushan 316021, China)

Abstract: Pickering emulsion is a new type of emulsion system that uses solid particles to achieve the stability. Compared with traditional emulsions, Pickering emulsion has not only the basic characteristics of classic emulsions, but also better stability, higher safety and a wider range of applications. As a result, Pickering emulsion has received widespread attention. However, most researchers used inorganic particles or organic polymers to prepare Pickering emulsions. These particles have shortcomings such as low biocompatibility and poor degradability, which limit their use in the food industry. Therefore, seeking food-grade natural stabilizers has become a development trend. β -cyclodextrin is a cyclic oligosaccharide composed of seven glucose molecules. It has a unique structure of hydrophobic internal and hydrophilic external, and has good emulsifying properties. In the water-oil system, β -cyclodextrin can embed the oil phase in the inner cavity and adsorb the water phase on the outer wall, forming an interfacial film at the oil-water interface in the form of clathrate particles, thereby forming a stable emulsion system. In order to make the Antarctic krill oil Pickering emulsion stabilized by β -cyclodextrin and study its stability, the effects of different emulsification methods (ultrasonic, high-speed shearing, high pressure microfluidics), different oil phase volume fractions (30%, 40%, 50%, 60%, 70%), and different β -cyclodextrin mass fraction (1%, 2%, 3%, 4%, 5%) on the emulsion system (turbidity, centrifugal stability, particle size, ζ -potential) were studied and the preparation process of β -cyclodextrin stabilized Antarctic krill oil Pickering emulsion was determined. Then, the thermal sterilization stability, freeze-thaw stability and storage stability of the emulsion were investigated through the appearance, microscopic changes of the emulsion and the characteristic indexes. The results showed that a stable Antarctic krill oil Pickering emulsion was prepared with 60% oil volume fraction, 3% β -cyclodextrin mass fraction and high-speed shear emulsification. The turbidity, centrifugal stability, particle size and ζ -potential of the emulsion were 1.83, 85.12%, 110.5 nm and -28.39 mV, respectively. Thermal sterilization had no significant effect on the appearance and microstructure of the emulsion, and the characteristic index of the emulsion. Freezing and thawing process had a significant impact on the emulsion. After the freezing and thawing, serious precipitation and emulsification took place in the emulsion, and the emulsion was no longer in a uniform and stable state. After the emulsion was stored for 16 days, although the appearance structure, microstructure and characteristic indexes of the emulsion had changed, the emulsion still showed a uniform and stable state. In short, β -cyclodextrin as a stabilizer could be used to prepare Antarctic krill oil Pickering emulsion, which could have good thermal sterilization and storage stability (within 16 days), but no freeze-thaw stability.

Key words: Antarctic krill oil; β -cyclodextrin; Pickering emulsion; morphology change; microscopic change; characteristic index; stability

Corresponding author: ZHENG Zhenxiao. E-mail: zheng_zhen_xiao@163.com

Funding projects: National Key R&D Program of China (2018YFC0311204); Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LQ22C200008)