

壳聚糖/乳清蛋白复合可食性膜的物理性能研究

Physical properties of edible composite films based on chitosan and whey protein isolate

王耀松^{1,2} 赵黎明^{1,2} 吴艳清^{1,2}

WANG Yao-song^{1,2} ZHAO Li-ming^{1,2} WU Yan-qing^{1,2}

(1. 华东理工大学生物工程学院, 上海 200237; 2. 生物反应器工程国家重点实验室, 上海 200237)

(1. State Key Laboratory of Bioreactor Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. R&D Center of Separation and Extraction Technology in Fermentation Industry, Shanghai 200237, China)

摘要:采用不同分子量壳聚糖(50, 250, 500, 1 000 kDa)与乳清蛋白成膜, 以期获得具有不同功能性复合可食性膜。采用 3% (m/V) 壳聚糖乙酸溶液与 12% (m/V) 经过 80 °C/30 min 热变性的乳清蛋白溶液等体积混合, 再加入 2.4% (m/m, 基于乳清蛋白质量) 搅拌均匀后铺展成膜。通过对壳聚糖/乳清蛋白复合膜的厚度、穿刺强度、透光性和水化性能进行表征。结果表明, 壳聚糖的分子量增加显著提高所成复合膜的厚度、降低穿刺强度、透明性以及吸水性, 但能够显著提高对光线(特别是紫外光)的拦截; 形态学分析以上这些变化主要归结于壳聚糖的分散性。

关键词:壳聚糖; 乳清蛋白; 复合膜; 物理性能

Abstract: The chitosan with different molecular weights (MW: 50 kDa, 250 kDa, 500 kDa and 1 000 kDa) were used to respectively combine whey proteins to form their composite films. It was expected that chitosan/whey proteins films endowed with versatile functionalities to meet practical requirement of food packaging applications. The equal volume of 3% (m/V) chitosan dissolved in 2% (m/V) acetic acid solutions and 12% (m/V) preheated (80 °C for 30 min) whey protein solutions was used to prepare resulting film-forming solutions after 2.4% (based on whey protein content, m/m) glycerol to make cast composite films. The functional properties of the prepared composite films were characterized by their thickness, puncture strength, light transmittance and transparency, and swelling properties (in various solutions, e. g.: distilled water and acids). The result shows the size of chitosan molecular weight remarkably increased the resulting film's thickness, but reduced puncture strength, and meanwhile lowered the light transmittance and transparency, whereas effectively prevented ultraviolet light from penetrating. Overall, these variations in the film functionalities were attributed

to chitosan dispersity when making cast films and confirmed by the morphological analysis.

Keywords: chitosan; whey proteins; composite films; physical properties

生物基质原料因其来源广泛以及可降解性能, 利用它来制备涂层和薄膜食品包装材料, 具有取代(或部分)传统非降解石油基质材料(比如: 塑料)的巨大潜力, 为此对其研究越来越受到重视和欢迎^[1-2]。

目前对膜材料功能改造的技术已经促进膜的功能。从单一组分角度来看, 主要通过物理、化学或者酶法来改造分子结构以获得更优的功能性^[3]; 从多组分的角度来看, 将不同的材料通过共混复合途径成膜也是一种策略, 而此法往往能够将不同组分所成膜的优点整合在一起, 可获得功能多样性的膜材料以满足在实际食品体系中对包装膜的不同要求^[4]。

壳聚糖是几丁质经过脱酰胺作用后的产物, 自然界中含量丰富, 具有无毒、生物兼容性和可降解性, 并且还有抗微生物和止血功能, 是制备薄膜材料的良好基质^[5]。乳清蛋白是奶酪制作的副产物^[6], 利用铺展法能够形成透明、弹性、无色的膜^[7], 非常具有作为食品包装材料的价值, 因此受到比较持久的关注。将这两种组分共混复合可改变膜的亲(疏)水性和机械性能, 可满足食品在蒸煮或咀嚼过程中需要易破碎的要求^[8]; 当然, 这两种组分共混复合还有对机械性能和透气(O₂/CO₂或水汽)可改造的空间^[9]。壳聚糖脱乙酰度和分子量其成膜性能影响较大, 而前人还没有关注这些因素。为此, 本研究基于不同乙酰度及不同分子量的壳聚糖, 研究它与乳清蛋白共混复合成膜, 以期获得改进的多功能性可食性包膜。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 试验材料

壳聚糖: 脱乙酰度为 85%, 分子量分别为 50, 250, 500, 1 000 kDa, 山东济南海得贝生物试剂有限公司;

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(编号: 31401530); 山东省自主创新及成果转化项目(编号: 2014XGA13030)

作者简介:王耀松(1981—), 男, 华东理工大学讲师, 博士。

E-mail: wangyaosong2004@yeah.net

通讯作者:赵黎明

收稿日期:2015-09-21

乳清蛋白:蛋白含量 90%(*m/m*),美国 Hilmar 公司;
其它试剂:分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

pH 计:PHSJ-5 型,上海凯丰仪器检测有限公司;
螺旋测微器:KT5-230-65 型,新加坡 Kenta 公司;
紫外分光光度计:WFZ UV-2000 型,尤尼柯(上海)仪器有限公司;

物性质构仪:TA-XT plus 型,英国 Stable Micro Systems 公司。

1.2 试验方法

1.2.1 共混复合膜的制备 4 种不同分子量的壳聚糖各自称取 1.5 g,溶解于 50 mL 乙酸(2%,*m/V*)中,隔夜充分搅拌均匀,获得浓度均为 3%(*m/V*)的壳聚糖溶液(在预试验中,发现其它浓度的壳聚糖浓度太粘或太稀,不适合制膜);同理,准备 12%(*m/V*)乳清蛋白水溶液,之后用盐酸调节其 pH 至 3.5,再经过 80 ℃ 水浴加热 15 min 后冷却至室温,加入甘油使其与蛋白质质量比为 1.0:2.5 作为增塑剂,混合均匀。将上述两种制备好的溶液,等体积混合均匀,真空抽气后取 10 mL 混合液均匀涂抹在有机玻璃(10 cm×10 cm)上,放置于室温下干燥,然后在 50% RH 下平衡 24 h,之后进行形貌学观察及各种性质测定。

1.2.2 厚度与穿刺强度测定 根据文献[10]修改如下:用螺旋测微器随机测定复合膜上 6 个位置的点,取其平均值作为膜的厚度。将膜切成 2 cm×10 cm 长条,将膜夹在质构仪测定刺穿强度的夹板间。选用质构仪的 P2 探头(*D* = 1.98 mm),设定下压速率为 1 mm/s,下压距离为 10 mm;测定探头刺破膜的 Peak Load 与变形数值。计算测定时最大破坏力与探头横截面的比作为穿刺强度(单位:MPa),测定 3 个平行样品,取平均值。

1.2.3 透光率与透明性测定 参考文献[11]。

1.2.4 膜在不同溶剂中的吸水率测定 根据文献[12],修改如下:将经充分干燥干重为 *W*₁ 的干膜分别于室温和 50 ℃ 的蒸馏水中浸泡 2 h,用滤纸迅速吸干表面水分,称得重量为 *W*₂,吸水率(%)表示为(*W*₂ - *W*₁)/*W*₁ × 100%。同理,采用干燥的复合膜材料分别在 2%(*V/V*)的乙酸和 1%(*V/V*) HCl 中放置 2 h 后,用滤纸吸干样品表面水分再称重,计算。

1.3 统计与分析

测定数据重复 3 次,后取平均值。采用 Statistix 软件(USA,FL)进行统计分析,显著性水平设为 0.05;用 LSD 检验数据间的显著差异性,用 *P* < 0.05 表示。

2 结果与讨论

2.1 壳聚糖与乳清蛋白复合膜的厚度

包装膜的厚度对其在实际食品包装中对食品贮藏保鲜效果有着重要的影响,这主要是通过对膜的水汽透过率、O₂ (或 CO₂)、芳香物质以及光的透过等因素作用从而影响食品的感官质量[13]。为此有必要对膜厚度进行测定。由图 1 可知,不同分子量的壳聚糖与乳清蛋白复合,尽管在同面积上铺展同体积的成膜液,然而所成膜的厚度却随壳聚糖分子量变大而显著增大(*P* < 0.05)。这些分子在空间内都有它们自己的伸展空间,而水分和甘油作为增塑剂改变分子间相互作用力而最终使复合膜呈现一定厚度。分子量大的壳聚糖可能在空间范围内较大伸展而使膜的厚度增加。为此,在实际体

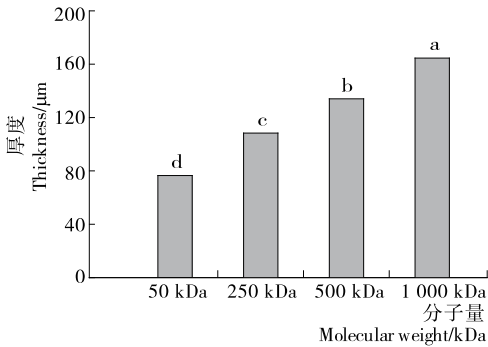


图 1 壳聚糖分子量与乳清蛋白复合成膜的厚度关系
Figure 1 Thickness of different molecular weight chitosan/whey protein composite films

系成膜中要考虑成膜液组分对膜厚度的影响。

2.2 壳聚糖与乳清蛋白复合膜的机械强度及形貌学特征

在实际体系中,膜的机械性能维系膜自身一定的形状而使膜具有一定的操作性,同时也影响到食品感官品质[2]。由图 2 可知,250 kDa 的壳聚糖与乳清蛋白复合膜的穿刺强度最大,显著高于 50 kDa 的壳聚糖以及远高于其它分子量(500 kDa 和 1 000 kDa)壳聚糖与乳清蛋白复合的穿刺强度(*P* < 0.05)。一般理论上认为,分子量越大,分子间的纠缠概率越大,膜的强度越大[14]。然而,在本研究中壳聚糖分子量 250 kDa 以下与理论保持一致,然而当分子量超过 500 kDa,复合膜的穿刺强度却随着分子量增大而变小。在成膜液制备中,发现这些高分子量的壳聚糖分散性能显著下降,特别是后两种分子量的壳聚糖;为此,高分子量的壳聚糖与乳清蛋白膜的机械性能下降可能与壳聚糖分散性有关,即在成膜溶液中,壳聚糖不能有效地分散开而导致分子间纠缠概率降低而削弱作用力。对最终成膜样品的形貌学(图 3)观察结果也显示,50 kDa 和 250 kDa 的壳聚糖与乳清蛋白能够形成相对比较光滑的薄膜,几乎没有团块状小颗粒,质地均匀,无明显不均匀孔洞。对于高分子量的壳聚糖(500 kDa 和 1 000 kDa),与乳清形成的薄膜颗粒数目增多、数量增大,在微米尺度水平质地就变得粗糙且视觉可见。在揭膜过程中,也发现膜塑性明显下降,脆感上升。颗粒状物质是壳聚糖分散性差的表现。在以前的蛋白质材料研究[15]中也发现,这种结构显著降低膜的机械性能。

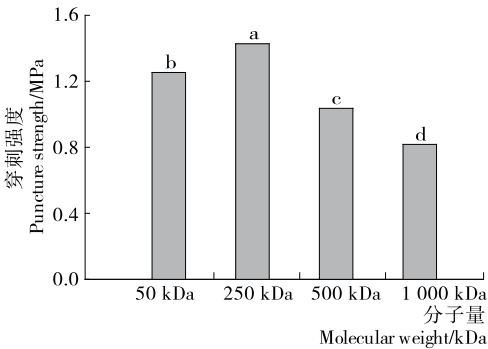


图 2 壳聚糖分子量与乳清蛋白复合膜的穿刺强度关系
Figure 2 Puncture strength of different molecular weight chitosan/whey protein composite films

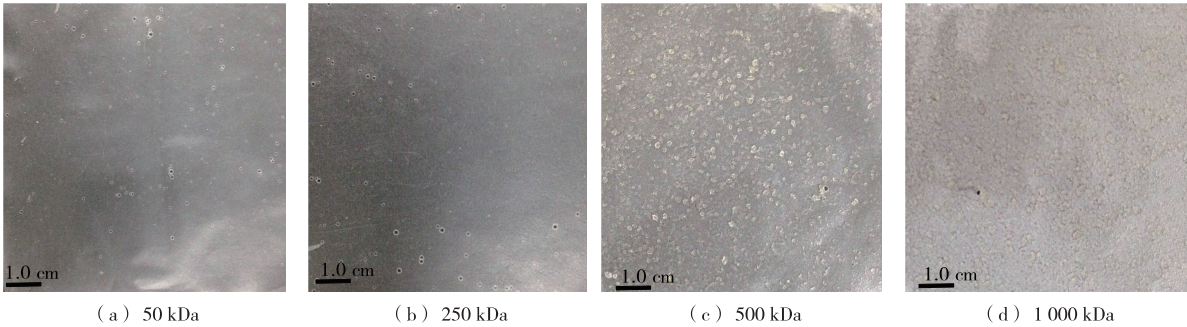


图 3 不同分子量壳聚糖复合膜的形态学
Figure 3 Morphology of different molecular weight chitosan/whey protein composite films

2.3 壳聚糖与乳清蛋白复合膜的光学性能

作为食品包装膜材质,对光透性也是评估膜质量的指标,为在实际体系中包装应用(赋予食品一定的感官特性)和对食品保藏效果提供重要参考^[16]。为此,试验选择了全波长(200~800 nm)对不同分子量壳聚糖与乳清蛋白复合膜的光透性进行扫描,结果见图 4(a)。正如形态学观察(图 3),复合膜的透光率随着壳聚糖相对分子质量越大而显著降低。在紫外区特别是在 200~300 nm 波长范围内,50 kDa 和 250 kDa 的壳聚糖与乳清蛋白复合膜具有较高的透紫外光性,而 500 kDa 和 1 000 kDa 的样品则较低;在可见光区,前二者样品透可见光性能仍然显著高出后二者的。相比较这 4 种分子量的壳聚糖与乳清复合膜的透明性见图 4(b),相对低分子量样品膜具有较高的透明性,而高分子量样品的透明性显著降低($P<0.05$)。高分子量壳聚糖造成复合膜透明性下降的主要原因可能与壳聚糖在膜材料中的均匀分布性有关,而膜的形貌性特征(图 3)验证了这种假设。以上结果表明,高分子量的壳聚糖/乳清蛋白膜可应用到对光线敏感(比如:富含不饱和脂肪酸)的食品包装上,拦截紫外光及可见光的透过率以保护食品原料。

2.4 壳聚糖与乳清蛋白复合膜在不同溶剂里的吸水率

复合生物基质材料与水(或酸)的相互作用,一方面考察膜材料持水性能,另一方面考察膜材料在特定环境下的浸出性以确保膜结构的完整性,同时也为其在一些特定的食品(比如:多汁或易吸水汽类)包装上的应用提供依据。为此,

本试验采用壳聚糖/乳清蛋白复合膜在不同温度的水和酸溶液中的吸水率来表征水化性能,结果见图 5。在室温和 50 ℃ 下,所有样品的吸水率随着壳聚糖分子量增加而显著降低($P<0.05$);此外,50,250,500 kDa 的壳聚糖/乳清蛋白复合膜在这两温度下对应的吸水率无显著差异,而 1 000 kDa 的样品在 50 ℃ 要比室温下吸水率要高见图 5(a)、(b),这可能归结于较高温度促进结晶的壳聚糖结构展开而带来的物理性截留水效应。

不同分子量的壳聚糖/乳清蛋白复合膜在酸溶液里比其对应分子量的样品在蒸馏水中的吸水率显著要高,最高吸水率达到 84.8%;吸水率的增加,可能是由于酸促进壳聚糖的溶解使分子结构展开,提高壳聚糖与水之间的氢键作用力以及比表面积增大而带来的物理性拦截效应造成的。

在同一酸溶液中的膜吸水率随着壳聚糖分子增大亦显著降低,同分子量的壳聚糖/乳清蛋白复合膜在乙酸中要显著高于在盐酸中的吸水率见图 5(c)、(d);前者归结于分子量大壳聚糖分散性差的原因,而后者除了分散性因素外,还要考虑到 pH 对复合材料中蛋白的影响,即乙酸对壳聚糖的溶解效应大和 pH 对复合膜中蛋白质带电性影响的因素;事实上,2%(m/V)乙酸的 pH 为 3.5,1%(V/V)盐酸的 pH 为 0.56,前者更接近乳清蛋白的等电点(pI 5.2)^[17]而使蛋白质构象发生变化,引起持水性能下降;相比较壳聚糖分散性和蛋白溶解性,分散性则对膜结构及吸水率影响更大。

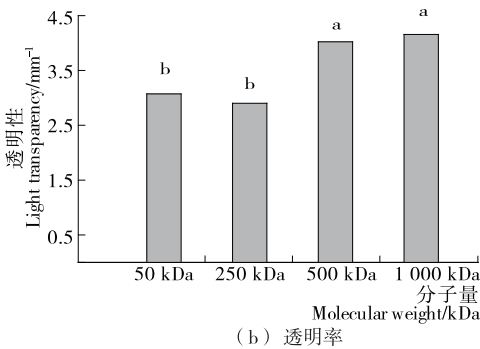
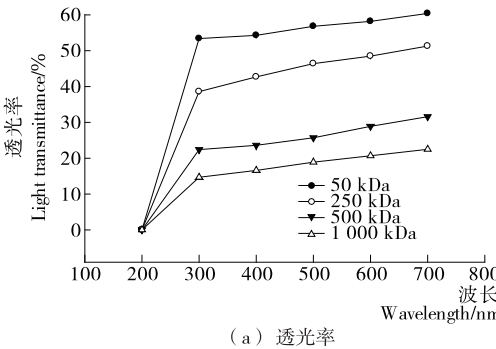


图 4 不同分子量壳聚糖与乳清蛋白复合膜的透光率和透明性

Figure 4 Light transmittance and transparency of different molecular weight chitosan/whey protein composite films

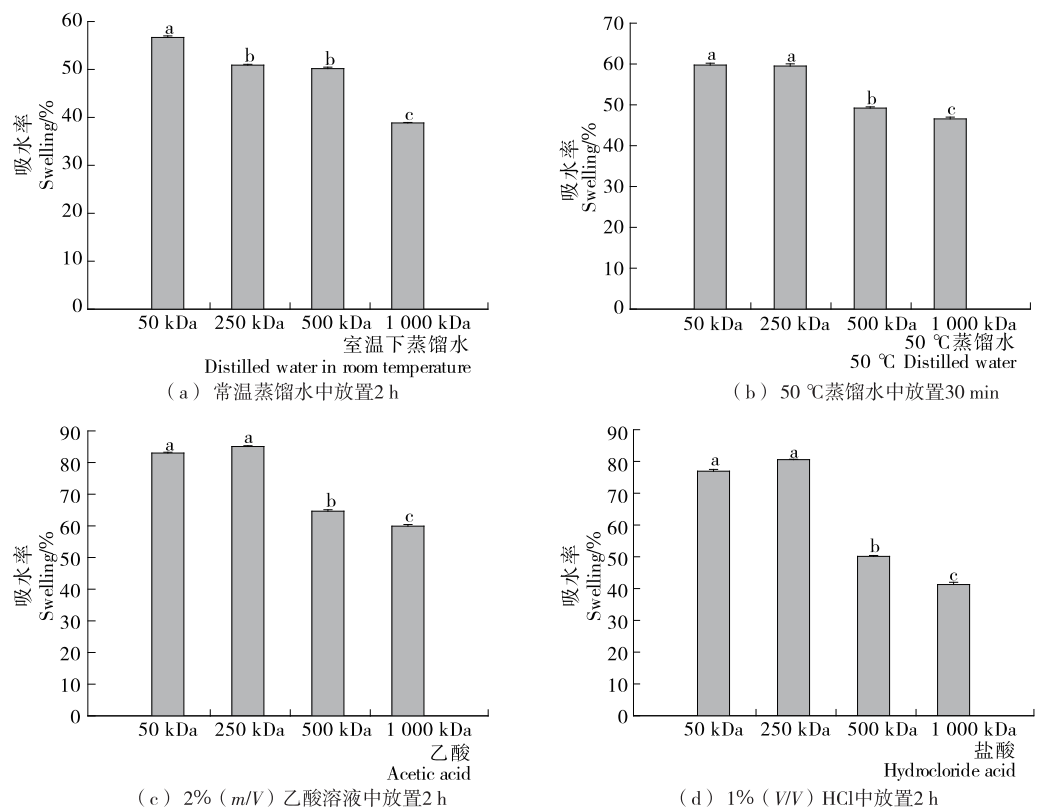


图 5 不同分子量壳聚糖与乳清蛋白复合膜在不同溶剂中的吸水性

Figure 5 Swelling properties of different molecular weight chitosan/ whey protein composite films in various solvents

3 结论

通过选用不同分子量的壳聚糖与乳清蛋白复合成膜的方法,可获得具有不同功能性的可食性膜。壳聚糖/乳清蛋白复合膜的厚度正相关于壳聚糖的分子量。较低分子量(比如:50 kDa 和 250 kDa)壳聚糖与乳清蛋白能够形成质地均匀、机械强度较高的膜,并且具有良好的透明性;较高分子量壳聚糖(比如:500 kDa 和 1 000 kDa)所形成的复合膜对透光率较低,特别是对紫外光有较好的拦截作用。此外,这种复合膜的吸水性负相关于壳聚糖分子量,酸环境提高膜的吸水性;进一步分析认为成膜溶液中壳聚糖的分散性比 pH 影响乳清蛋白带电性对膜的吸水性影响更大。壳聚糖/乳清蛋白复合膜的功能多样性为其在实际食品体系中的应用需求提供了一种方法。

参考文献

1 Tang Xiao-zhi, Kumar P, Alavi S, et al. Recent advances in biopolymers and biopolymer-based nanocomposites for food packaging materials[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2012, 52(5): 426~442.

2 Janjarasskul T, Krochta J M. Edible packaging materials[J]. Annual Review of Food Science and Technology, 2010, 1: 415~448.

3 Bourtoom T. Edible protein films; properties enhancement[J]. International Food Research Journal, 2009, 16(1): 1~9.

4 Tharanathan R N. Biodegradable films and composite coatings

past, present and future[J]. Trends in Food Science and Technology, 2003, 14(3): 71~78.

5 Srinivasa P C, Tharanathan R N. Chitin/Chitosan-Safe, eco-friendly packaging materials with multiple potential uses[J]. Food Reviews International, 2007, 23(1): 53~72.

6 Anker M, Stading M, Hermansson A M. Effects of pH and the gel state on the mechanical properties, moisture contents, and glass transition temperatures of whey protein films[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(5): 1 878~1 886.

7 Fairley P, Monahan F J, German J B, et al. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films from whey protein isolate and sodium dodecyl sulfate[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1996, 44(2): 438~443.

8 Ferreira C O, Nunes C A, Delgadillo I, et al. Characterization of chitosan - whey protein films at acid pH[J]. Food Research International, 2009, 42(7): 807~813.

9 Di Pierro P, Chico B, Villalonga R, et al. Chitosan-whey protein edible films produced in the absence or presence of transglutaminase: analysis of their mechanical and barrier properties[J]. Biomacromolecules, 2006, 7(3): 744~749.

10 Le Tien C, Letendre M, Ispas-Szabo P, et al. Development of biodegradable films from whey proteins by cross-linking and entrapment in cellulose [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(11): 5 566~5 575.

11 Fang Yuan, Tung M A, Britt I J, et al. Tensile and barrier properties of edible films made from whey proteins[J]. Journal of Food Science, 2002, 67(1): 188~193.

(下转第 78 页)

表 3 不同浓度相对标准差 (RSD)和预测误差均方根(RMSEP)

Table 3 Relative standard deviation (RSD) and relative prediction mean square error (RMSEP) of the cured meat treated by different salt content ($n=10$) %

干腌盐质量分数	RSD	RMSEP
0	148.00	10.98
4	3.01	3.27
8	7.22	6.23
12	4.39	2.74

$Y_{2\%} = -0.4876x + 14.28$ ($R^2 = 0.907$) (4)

$Y_{10\%} = -0.3444x + 16.22$ ($R^2 = 0.898$) (5)

每组样本为 30 个 10 cm×10 cm×5 cm 的肉样平行,利用上述的线性拟合公式,进行盐分含量计算,结果见表 4。由表 4 可知,随着盐含量的增加,检测的正确率逐渐上升,12%时,准确率达到了 90.20%。4%的检测准确率高于 10%和 12%的,这与试验结果相符合。工厂模拟试验的意义在于扩大试验测试范围以及样本量,2%~12%的盐分含量基本包含了市售腌腊肉制品。

表 4 基于工厂试验的盐分含量预测结果[†]

Table 4 Predicted results of salt content based on the plant experiment

盐含量/%	样本总数/块	正确个数/块	正确率/%
0	30	7	23.30
2	30	20	66.70
4	30	25	83.30
8	30	21	70.00
10	30	23	76.70
12	30	27	90.20

[†] 正确的个数定义为测量值与真实值之间的误差不超过0.2%的样本量个数。

3 结论

本试验以不同干腌盐质量分数的腌肉作为样品,利用电学阻抗仪对腌肉阻抗值进行测量。结果表明,干腌盐质量分数为 12%时腌肉的相关系数最高(0.980 8),且在工厂的扩大样本试验中,利用其线性拟合公式预测值的均方差最小(2.74%),准确率为 90.20%,已达到检测的要求。其他组别的线性相关系数较高 4%组为 0.941 4,8%组为 0.868 9。说明采用阻抗技术对腌肉盐分含量的检测,可以很好地达到生产线要求,区分不同干腌盐质量分数的腌肉样,并能保证其检测区分准确性。本试验可为更好地在检测领域应用阻抗技术提供参考,同时也可为阻抗仪器在无损检测领域的应用提供参考。然而,由于测定样本数量以及仪器稳定性的限制,在低浓度腌制下的腌肉预测模型准确率的提高有待以后更大样本量的试验分析。后期可以在测试电压或测试频率点的选取上进行优化和进一步的试验。

参考文献

1 杜垒,李艳逢,周光宏,等. 不同浓度盐水对鸭肉湿腌时传质动力的影响[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 79~85.

2 Aaron K J, Paul W, Sanders, et al. Role of dietary salt and potassium intake in cardiovascular health and disease; a review of the evidence [J]. Mayo Clinic Proceedings, 2013, 88(9): 987~995.

3 Ciara K, McDonnell P A, Elaine D, et al. The effect of salt and fibre direction on water dynamics, distribution and mobility in pork muscle: A low field NMR study[J]. Meat Science, 2013 (95): 51~58.

4 徐霞,成芳,应艺斌. 近红外光谱技术在肉品检测中的应用和研究进展[J]. 光谱学和光谱分析, 2009, 29(7): 1 876~1 880.

5 Damez J L, Sylvie C. Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure [J]. Meat Science, 2008, 80 (1): 132~149.

6 Damez J L, Clerjon S. Quantifying and predicting meat and meat products quality attributes using electromagnetic waves; An overview[J]. Meat Science, 2013, 95(4): 879~896.

7 Goli T, Bohuon P, Ricc J, et al. Mass transfer dynamics during the acidic marination of turkey meat[J]. Journal of Food Engineering, 2011, 104(1): 161~168.

8 丁强,王忠义,黄岚,等. 便携式猪肉阻抗谱检测系统研制[J]. 农业工程学报, 2009, 25(12): 138~144.

9 李伟明,王鹏,陈天浩,等. 基于阻抗特性和神经网络的鸡胸肉冻融次数鉴别方法[J]. 农业工程学报, 2014, 30(7): 250~257.

10 贾薇,于晓英,高嵘,等. 肉制品中食盐测定方法的改进[J]. 中国食品卫生杂志, 2009, 21(1): 43~44.

11 Fricke H, Morse S. The electrical resistance and capacity of blood for frequencies between 800 Hz and 4.5 MHz[J]. J. Gen Physiol., 1925, 9:153~167.

(上接第 10 页)

12 王耀科,熊幼翎,陈洁. 氧化咖啡酸交联乳清蛋白膜的热学、光学特性及水汽渗透率、消化率研究[J]. 食品科学, 2012, 33 (19): 133~137.

13 Miller K S, Krochta J M. Oxygen and aroma barrier properties of edible films: A review[J]. Trends in Food Science and Technology, 1997, 8(7): 228~237.

14 Martina J R, Johnson J F, Coopercd A R. Mechanical properties of polymers: the influence of molecular weight and molecular weight distribution[J]. Journal of Macromolecular Science, Part C (Polymer Reviews), 1972, 8(1): 57~199.

15 Wang Yao-song, Xiong You-Ling, Rentfrow G K, et al. Oxidation promotes cross-linking but impairs film-forming properties of whey proteins[J]. Journal of Food Engineering, 2013, 115 (1): 11~19.

16 Kim S J, Ustunol Z. Sensory attributes of whey protein isolate and candelilla wax emulsion edible films[J]. Journal of Food Science, 2001, 66(6): 909~911.

17 Ju Z Y, Kilara A. Gelation of pH-aggregated whey protein isolate solution induced by heat, protease, calcium salt, and acidulant[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46 (5): 1 830~1 835.