

两段阶梯加热成膜工艺对蛋白基复合材料疏水性和阻隔性能的影响

Effects of two-step heating process on hydrophobicity and barrier properties of protein-based composites

王 滋¹ 雷 桥^{1,2,3} 张文惠¹

WANG Zi¹ LEI Qiao^{1,2,3} ZHANG Wenhui¹

(1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306; 2. 上海水产品加工及贮藏工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 农业部水产品贮藏保鲜质量安全风险评估实验室〔上海〕, 上海 201306)

(1. College of Food Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Aquatic Products Processing and Storage Engineering Technology Research Center, Shanghai 201306, China; 3. Laboratory of Storage and Preservation Quality and Safety Risk Assessment of Aquatic Products, Ministry of Agriculture [Shanghai], Shanghai 201306, China)

摘要:目的:改良成膜加热工艺。方法:将薄膜基材采用一段 35, 40, 45, 50, 55 °C 低温解链, 二段 85 °C 变性加热的方法制备乳清分离蛋白—普鲁兰多糖薄膜。研究比较了薄膜结构、疏水性、阻隔性能和力学性能的变化, 确定了优化成膜工艺条件。结果:两段阶梯加热的薄膜对比未变性交联(25 °C)的薄膜和一段加热(85 °C)的薄膜, 阻氧性能提高了 25.0%~58.7%, 拉伸强度(TS)增强了 54.8%~89.9%, 断裂伸长率(EAB)增强了 40.2%~59.2%, 水蒸气阻隔性能提高了 20.0%~52.6%。结论:两段阶梯加热的成膜方式能控制蛋白质解链程度, 促进成膜基材基团之间的反应且 45 °C/85 °C 加热条件对提高薄膜各项性能的作用最为显著。

关键词:两段阶梯加热成膜; 乳清分离蛋白; 结构变化; 疏水性; 阻隔性能

Abstract: Objective: To improve the film heating process. **Methods:** In this experiment, edible protein-polysaccharide films were prepared by using the method of chain dissociation at 35, 40, 45, 50, 55 °C at one stage and denaturing and heating whey protein isolation at 85 °C at the second stage. The structure, hydrophobicity, barrier properties and mechanical properties of the films were compared, and the optimum film forming process conditions were determined. **Results:** The oxygen resistance,

tensile strength (TS) and elongation at break (EAB) of the film increased by 25.0%~58.7%, 54.8%~89.9% and 40.2%~59.2%, respectively, when the film was heated at 25 °C and 85 °C respectively. Water vapor barrier performance improved by 20.0%~52.6%. The infrared map of the film shows that temperature does not cause the change of the valence bond of the film. It was found that 45 °C/85 °C two-stage step heating process had the most significant effect on improving the properties of the film. **Conclusion:** After the process optimization, the film's barrier properties and mechanical properties have been improved, which has the potential for food packaging applications.

Keywords: two steps heating film; whey protein isolate; structural change; hydrophobicity; barrier property

乳清分离蛋白—酪蛋白酸钠(whey protein isolate-sodium caseinate, WPI-NaCas)复合膜具有良好的力学性能和阻隔性能。普鲁兰多糖(pullulan, PUL)制备的薄膜具有均一、透明、高韧性、可热封、高阻隔的特点。有研究^[1]表明,乳清蛋白在 35 °C 以上,二聚体开始解聚成单体,温度在 70 °C 以上,球状分子开始展开,疏水基团外露,通过巯基与其他含硫蛋白质相互作用,形成小聚体,进而团聚形成高分子聚集体。Cheng 等^[2]发现,单独加热豌豆分离蛋白 1 h 后,能使薄膜抗拉强度(TS)增强 27.7%,水蒸气渗透率降低 58%,说明湿加热改善了薄膜性能。董爽等^[3]发现,在高压湿热改性条件下,薄膜体外酶解抗性和抗拉强度明显增强;通过傅里叶红外光谱分

基金项目:上海市教育委员会产学研项目(编号:15cyx69)

作者简介:王滋,男,上海海洋大学在读硕士研究生。

通信作者:雷桥(1970—),女,上海海洋大学副教授,博士。

E-mail: qlei@shou.edu.cn

收稿日期:2023-03-12 **改回日期:**2023-10-23

析发现,湿热改性使玉米醇溶蛋白的 β -转角结构向结构更加有规则的无规卷曲、 β -折叠和 α -螺旋结构转变。孙宏霞等^[4]指出大豆蛋白质的变性与红外加热的时间和温度,以及水有很大的关联。上述研究表明,热诱导变性后的结构主要由新的分子间作用力维持,特别是暴露的巯基之间的共价键;热诱导变性会改变分子结构,从而影响薄膜各项理化指标。

前人研究采用单一温度条件加热的方式忽视温度梯度变化对蛋白质多肽链的解链过程和程度的影响,少有学者提出分梯段加热蛋白膜溶液探究薄膜成膜性能的变化,为了补充这一研究领域的空白。研究拟采用低温诱导肽链的解链和高温不可逆变性重新产生聚集体的阶梯加热的方法来制备可食性薄膜,以期改良薄膜阻隔性能和力学性能。

1 材料与方法

1.1 原材料和试剂

乳清分离蛋白粉:蛋白质质量分数 $\geq 98\%$,美国 Isopure 公司;

酪蛋白酸钠:蛋白质质量分数 $\geq 99.21\%$,上海麦克林生化科技有限公司;

普鲁兰多糖:质量分数为 98% ,上海萨斯化学技术有限公司;

丙三醇(甘油):分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;

去离子水:实验室自制;

其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计:U-3900 型,日本日立高新技术科学公司;

色差仪:CR-400 型,日本柯尼卡美能达有限公司;

接触角测量仪:JC2000C 型,上海中辰数字技术设备有限公司;

氧气透过率测试仪:OX-TRAN2/2H 型,美国 MOCON 公司;

水蒸气透过率测试仪:PERMATRAN-W1/50G 型,美国 MOCON 公司;

智能电子拉力试验机:XLW(EC)型,济南蓝光机电技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 两段加热复合膜的制备 在郗梓含等^[5]的方法上进行改进,CK1、CK2 为对照组分别代表空白组 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 溶解、一段加热 $85\text{ }^\circ\text{C}$,A、B、C、D、E 为试验组分别代表两段阶梯加热 $35\text{ }^\circ\text{C}/85\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $40\text{ }^\circ\text{C}/85\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $45\text{ }^\circ\text{C}/85\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $50\text{ }^\circ\text{C}/85\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $50\text{ }^\circ\text{C}/85\text{ }^\circ\text{C}$ 。溶解:用分析天平称量 13.6 g 乳清分离蛋白, 20 g 普鲁兰多糖, 10.22 g 酪蛋白酸钠,分别溶解在 200 mL 去离子水中,在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中分别搅拌 2 h 充

分溶解后,将酪蛋白酸钠与乳清分离蛋白、普鲁兰多糖混合后搅拌均匀 1 h ,等分为 5 份,分别在 35 、 40 、 45 、 50 、 $55\text{ }^\circ\text{C}$ 磁力水浴锅搅拌 1 h 进行一段低温诱导使蛋白链展开,再二段加热, $85\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴 15 min ,使球状蛋白质中的疏水基团暴露出来便于重新聚合。增塑:将 $85\text{ }^\circ\text{C}$ 变性的蛋白溶液冷却至室温,加入质量分数为 35% 的甘油,搅拌 1 h 。脱气和干燥:搅拌后的溶液冷却至室温后,于室温、真空度 0.098 MPa 条件下脱气 1 h ,肉眼观察无气泡,脱气结束。倒入平面皿,在 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 鼓风干燥箱中干燥 $5\sim 6\text{ h}$ 形成复合膜,再将膜放在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 、湿度 50% 的恒温箱中静置 24 h 待测。

1.3.2 薄膜力学性能测定

(1) 厚度:根据 Sukyai 等^[6]的方法修改如下:薄膜的厚度是利用 $0\sim 25\text{ mm}$ 量程,精度为 0.001 的电子数显螺旋测微仪进行测量。选取薄膜随机的 5 个位点,取平均值。

(2) 机械性能:根据 Pankaj 等^[7]的方法修改如下:使用 XLW(EC)智能电子拉力试验机测量薄膜的拉伸强度和断裂伸长率。待测的薄膜被切成 $20\text{ mm}\times 150\text{ mm}$ 的矩形,有效夹持长度为 65 mm ,拉伸速度为 300 mm/min ,每种薄膜测量 3 次,取平均值。

1.3.3 透光率测定 根据 Han 等^[8]的方法修改如下:将薄膜裁剪为 0.8 cm 宽, 2.0 cm 长的矩形,贴在紫外分光光度计的比色皿内壁,使用紫外分光光度计在 $200\sim 800\text{ nm}$ 波长范围内测定薄膜对光的吸收特性,不放置样品的比色皿为空白对照。每组薄膜测量 3 次取平均值。

1.3.4 氧气透过率测定 根据 Gounga 等^[9]的方法进行测定,用样品切割器将薄膜切成直径约为 50 mm 的样品,气体输出压力调节至 0.50 MPa ,用于测试薄膜两侧之间的压力为 101.3 kPa ,在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 下测定薄膜的氧气渗透率,每组薄膜测量 3 次取平均值。

1.3.5 水溶性测定 根据 Carvalho 等^[10]的方法测试薄膜的水溶性。将样品切成 $2.0\text{ cm}\times 2.0\text{ cm}$ 的小块,在 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 的烘箱中干燥 24 h 称量初始重量记为 W_1 ,将薄膜置于 50 mL 蒸馏水中 24 h 。取出未溶解的薄膜样品于 $105\text{ }^\circ\text{C}$ 下再次干燥,直至恒重,最终质量记为 W_2 。每个样品测定均重复 3 次。根据式(1)计算薄膜的水溶性(water solubility, WS)。

$$S = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

S——水溶性, %;

W_1 ——薄膜初始重量, g;

W_2 ——薄膜干燥至恒重质量, g。

1.3.6 薄膜表面接触角测定 裁剪 $1.0\text{ cm}\times 3.0\text{ cm}$ 的薄膜放置于垂直液滴下 0.5 cm 处,将 $3\sim 4\text{ }\mu\text{m}$ 的蒸馏水滴

在薄膜表面用测角仪相机快速拍摄液滴和薄膜接触图像,每张薄膜测量3个不同的位点用ImageJ软件对获取的图像进行分析。

1.3.7 水蒸气透过率测定 根据文献[11]采用PERMATRAN-W1/50G型水蒸气透过率测试仪测定。仪器参数设置:两侧相对湿度10%/100%,测试温度37.8℃。每种薄膜测量3次,求平均值。

1.3.8 红外光谱分析 将成膜基质放于65℃烘箱中干燥5~6h去除水分,测试环境湿度保持在35%以下,分辨率 4 cm^{-1} ,扫描范围 $4\ 000\sim 500\text{ cm}^{-1}$,扫描次数16次,采用Omic8.0软件进行光谱分析[12]。

1.3.9 薄膜色差分析 选择色差仪测定薄膜的颜色,每种薄膜测量3次;标准白板($L'=92.16, a'=1.13, b'=3.96$)对仪器背景值进行校准,测定膜的 L, a 和 b 值。按式(2)计算总色差。

$$\Delta E = \sqrt{(L-L')^2 + (a-a')^2 + (b-b')^2}, \quad (2)$$

式中:

ΔE ——膜与标准白板的色差值;

L, L' ——薄膜、标准白板亮度;

a, a' ——薄膜、标准白板红绿色度;

b, b' ——薄膜、标准白板黄蓝色度。

1.3.10 聚丙烯酰胺凝胶电泳 根据Laemmli[13]和尹燕霞等[14]的方法修改如下:蛋白膜溶液用去离子水稀释10倍,在25℃水浴中磁力搅拌15min后进行蛋白质电泳,分离胶和浓缩胶的质量分数分别为12%,5%。电泳后,用考马斯亮蓝对凝胶进行蛋白质染色。

1.3.11 差示扫描量热(DSC) 根据Tavares等[15]的方法修改如下:称量薄膜样品(约5mg)密封在铝盘内,空样品铝盒作为对照,在氮气保护下(吹扫气流为20 mL/min),以10℃/min的加热速率从0℃到200℃进行加热。

1.4 统计分析

每组样品测量3次平行样。使用SPSS 20软件通过ANOVA对数据进行统计处理和分析。数据表示为平均值±标准差,并使用Origin 9.0进行数据处理。

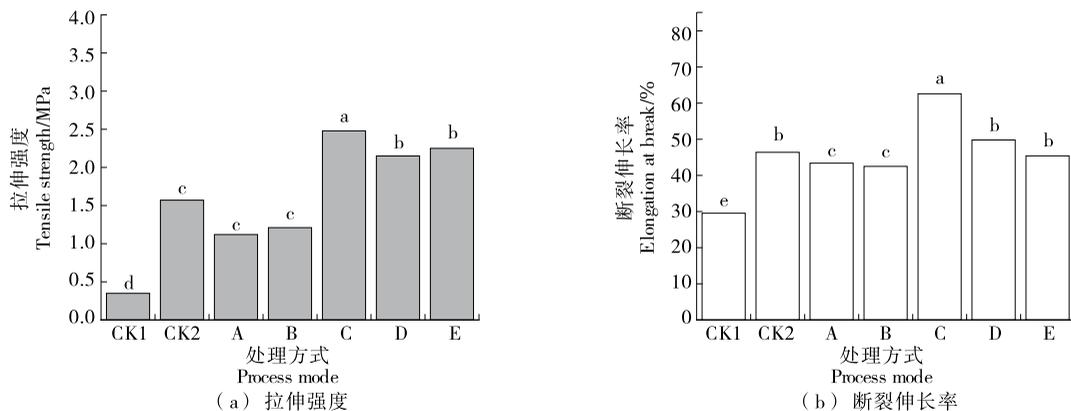
2 结果与分析

2.1 薄膜力学性能

CK1处理条件下乳清分离蛋白仅具有弱的相互作用,如静电力、疏水和亲水相互作用薄膜力学性能较低,与Guckian等[16]所报道的结论相似。阶梯加热的加工工艺方式使蛋白质疏水核心的基团裸露出来,在疏水作用力的影响下形成新的链间二硫键,二硫键与其他次级键的共同作用下增强了成膜基材的内聚力,天然蛋白在热变性后具有强的相互作用力。如图1所示,阶梯加热的处理方式对比对照组CK1、CK2薄膜的抗拉强度(TS)、断裂伸长率(EAB)变化显著($P<0.05$)。处理C与A、B、D、E以及对照组相比TS、EAB较大,变化显著($P<0.05$),分析其主要原因可能是:45℃/85℃两段阶梯加热的第一段加热温度为45℃对比25,35,40℃第一段加热温度较高蛋白质肽链舒展程度更高,成膜基质多糖、甘油、酪蛋白酸钠分子之间作用更加充分,蛋白肽链之间或蛋白链和多糖、甘油的聚合程度高,分子之间作用力强,薄膜的韧性和强度也有所增强。50,55℃较高温度可能会破坏一些弱的次级键如氢键的形成,影响分子之间的团聚,继而影响薄膜的力学性能。阶梯加热对蛋白质解链的可调性是影响薄膜性能的关键原因。

2.2 氧气透过率变化

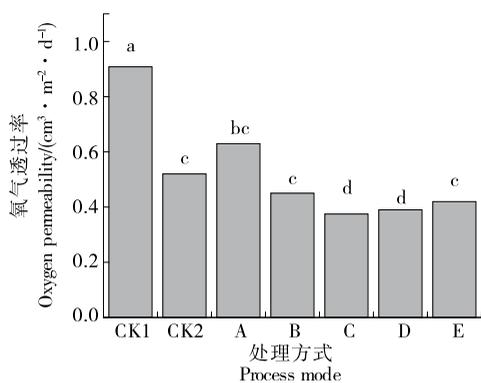
如图2所示,处理C薄膜的最低氧气渗透率(OP)与CK1、CK2、A、B、E的具有显著性差异($P<0.05$)。这与蛋白质交联程度的加强,二硫键数目的增加有关。二硫键数目的增加会使蛋白质肽链之间自由体积减少,可提



字母不同表示差异显著($P<0.05$)

图1 薄膜抗拉强度和断裂伸长率

Figure 1 Tensile strength and elongation at break of thin films



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 2 氧气透过率的变化

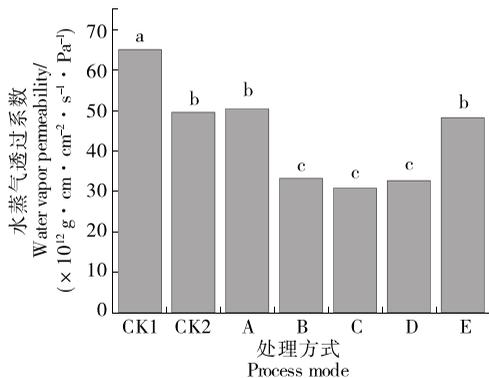
Figure 2 Changes in oxygen transmittance

高薄膜对氧气的阻隔性能。这与 Schmid 等^[17]的研究结果相似。45 °C / 85 °C 处理的蛋白质与多糖的交联共轭更充分,这些综合作用使成膜溶液的空间三维结构改变,形成黏度更大、更致密的聚集体。说明薄膜致密结构越紧凑薄膜的 OP 值越小。

2.3 水蒸气透过系数变化

如图 3 所示,阶梯加热 45 °C / 85 °C 处理的薄膜具有最低的水蒸气透过系数(WVP),表现出更好的水蒸气阻隔性能,有较强的阻隔水蒸气交换或者迁移的能力。原因是 45 °C / 85 °C 阶梯加热使球状蛋白的疏水核心基团如巯基、含苯环的芳基、酯基等由于肽链的舒展而裸露,减少了薄膜的亲水位点,薄膜的 WVP 减小显著。Fang 等^[18]指出一些疏水性官能团的加入也可以减少薄膜的亲水位点,增强薄膜的水蒸气阻隔性能。

成膜溶液在一段加热(25 °C)条件下,羟基、羧基、氨基和增塑剂甘油能够与极性水分子亲和,水分子更容易穿越薄膜而不被阻拦和排斥,薄膜亲水性较强,水蒸气透过率较高。处理 C 与其他处理条件 A、B、D、E 有显著性差异 ($P < 0.05$),主要原因是解链程度对分子之间的作用



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 3 水蒸气透过系数变化

Figure 3 The permeability of water vapor changes

强度有关,与疏水核心非极性基团的暴露数目和氢键数目有关。图 3 表明,较高的处理温度(处理 D)不利于氢键的形成和分子团聚而影响薄膜对水蒸气的阻隔性能。阶梯加热由于改变了蛋白的疏水基团的暴露程度和结构致密程度从而改变薄膜的水蒸气阻隔性能。

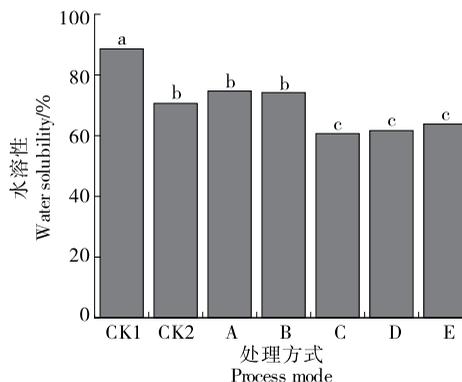
2.4 水溶性变化

如图 4 所示,两段阶梯加热 45 °C / 85 °C 处理的薄膜水溶性(WS)最小,表明其抵抗水破坏的能力最强。两段阶梯加热过程中,热变性使肽链舒展延伸在肽链之间形成强相互作用的二硫键^[19],所以两段阶梯加热薄膜对比 CK1 表现出水溶性较低。Jafari 等^[20]提出了相似的观点即热变性使分子之间相互作用力增强,可以降低成膜基材在水中的溶解度,分子间的作用力和非极性共价键是薄膜力学性能、阻隔性能重要的影响因素。

一段加热的薄膜 CK1 在去离子水中,薄膜的完整性被破坏,出现断裂。原因是薄膜的凝胶化和交联程度不足,空间网络结构强度较低,肽链或肽链之间的半胱氨酸由于无法充分裸露而未形成强的二硫键,二硫键是稳定蛋白质分子结构的重要因素。对比处理 C 与 CK1、A、B、D 和 E 可知,蛋白解链后基团的裸露程度增大、关键基团之间的相互作用力变化、巯基数目的增加增强了基团之间的作用效果,继而显著影响薄膜各项指标。通过水溶性分析发现,增强蛋白质的变性程度可能直接影响较强共价键的形成,从而降低了薄膜在水中的溶解度。

2.5 接触角表征薄膜疏水性变化

如表 1 所示,所有薄膜接触角都小于 90°,表现为较弱的亲水性。引入疏水性较强的非极性共价键和基团可以改良薄膜表面疏水性^[21]。两段阶梯加热(45 °C / 85 °C 处理)的薄膜,相对而言接触角较大,可能的原因:① 两段阶梯加热过程中,蛋白凝胶化增强,多糖、甘油、小分子低聚物蛋白充斥在这种致密网络结构中并形成较强的分子间作用力和次级键,这种致密结构形成的薄膜具有阻隔



字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)

图 4 薄膜水溶性的变化

Figure 4 Changes in water solubility of thin films

表 1 薄膜接触角变化[†]

Table 1 Film contact angle change

处理方式	接触角/(°)	处理方式	接触角/(°)
CK1	51.93 ^d	C	84.04 ^a
CK2	77.46 ^b	D	76.79 ^b
A	69.10 ^c	E	73.59 ^c
B	75.69 ^b		

[†] 字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

其他液相(水或油)渗透的能力;②乳清蛋白、酪蛋白酸钠与多糖的共轭。试验结果表明,在 45 °C/85 °C 处理的阶梯加热中,蛋白质疏水核心暴露得越充分,形成新的共价基团的可能性增大,薄膜性能更趋于稳定。

2.6 阻光性变化

如图 5 所示,各组薄膜在 300 nm 处的透光率降为 0,表明薄膜对 300 nm 处的近紫外线有优良的阻隔性能,这归因于色氨酸的吡啶环以及含有苯环基团的酪氨酸对近紫外光线的吸收,多糖和蛋白之间形成的共轭双键或其自身的 C=C 双键系统也是紫外吸收的重要因素,较好的阻光性能延缓食品品质的降低。两段阶梯加热 E 和一段加热 CK2 的薄膜在 300~800 nm 可见光具有较好的阻隔性能。薄膜的阻光性能取决于其微观结构和结构均匀性^[22],蛋白质和多糖之间的互溶性较低会导致薄膜溶液的异质结构,这种异质结构对可见光的阻隔性增强,Yoo 等^[23]也有类似发现。两种物质互溶性较差会导致界面处的光发生散射或反射^[24],因此推测两段阶梯加热 D、E 和一段加热 CK1、CK2 的条件下多糖与蛋白之间交联较低,互溶性相对较差,导致薄膜对可见光的阻隔性增强,互溶性较低影响成膜基材基团之间的相互作用。两段阶梯加热的方式,对蛋白质的解链有促进和控制的作用,分子间的作用力受蛋白质肽链的解链程度影响。经过两段阶梯加热后,随机分布在肽链上的极性、非极性、巯基基团增强了蛋白链之间或蛋白与多糖分子、甘油等相互作用的

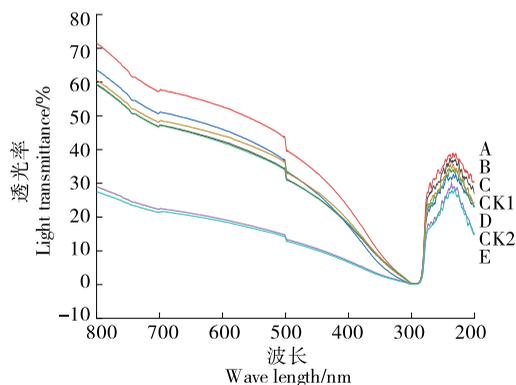


图 5 紫外光谱吸收图

Figure 5 Absorption pattern of ultraviolet spectrum

可能,增强了薄膜的交联性和互溶性。比较重要的是薄膜对水的耐受性、力学性能、阻隔性能与二硫键的重排动力学和二硫键的连续性、数目以及次级键有很大的关联。对比 2.2.4 中的水溶性分析可知,互溶性越好,分子之间的作用力越强,薄膜溶解度越低,同类对比薄膜的力学性能和阻隔性能。

2.7 薄膜色差分析

试验组与对照组在 ΔL 值($L - L'$)上没有明显的差异(表 2),且值均大于 85,表现出较强的亮度, Δa 值($a - a'$)为负值,其负值越小薄膜的颜色越偏向绿色, Δb 值($b - b'$)为正值,其值越大,薄膜的颜色越偏向黄色。试验组与对照组薄膜整体呈明亮的弱黄色,可能是由于:①乳清分离蛋白和酪蛋白酸钠自身具有微黄的原始颜色;②薄膜在制备干燥(65 °C 烘干)过程中蛋白和多糖发生了美拉德反应。蛋白质的赖氨酸 ϵ -氨基、组氨酸、色氨酸的咪唑基和吡啶基团,以及蛋白质和肽链末端氨基酸残基的 α -氨基与还原性多糖糖基缩合,形成席夫碱,发生美拉德非酶褐变反应^[25]。

表 2 薄膜色差的变化[†]

Table 2 Variation of film chromatic aberration

处理方式	ΔL	Δa	Δb	ΔE
CK1	89.21±1.47 ^a	-0.60±0.06 ^c	9.48±0.21 ^c	6.49±0.13 ^d
CK2	87.35±1.65 ^a	-0.45±0.45 ^b	10.56±0.56 ^b	8.34±0.24 ^b
A	88.98±1.23 ^a	-0.88±0.04 ^d	10.02±1.38 ^b	7.36±0.43 ^c
B	88.69±0.96 ^a	-1.36±0.05 ^e	12.80±1.42 ^a	9.81±0.43 ^a
C	89.31±0.95 ^a	-0.51±0.03 ^b	11.22±0.76 ^b	7.96±0.39 ^c
D	88.75±0.66 ^a	-0.67±0.04 ^c	10.99±0.40 ^b	8.01±0.88 ^b
E	90.05±0.82 ^a	-0.21±0.08 ^a	9.39±1.16 ^c	5.97±0.47 ^c

[†] 字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

2.8 傅里叶红外光谱分析

由图 6 可知,傅里叶红外光谱图总体有较大的差异,说明加热变性以及干燥成膜过程中,在 1 500~1 700 cm^{-1} 各官能团有不同的变化。蛋白质二级结构最敏感最突出的振动带为 1 600~1 700 cm^{-1} 的酰胺(C=O 拉伸振动)振动带,其中, α -螺旋在 1 650~1 660 cm^{-1} 处, β -折叠在 1 610~1 640 cm^{-1} 处,转角在 1 660~1 700 cm^{-1} 处,无规卷曲在 1 640~1 650 cm^{-1} ^[26]。红外光谱图观察到在 1 640,1 635 cm^{-1} 处有伸缩振动,在这个振动区间主要是 β -折叠的振动,维系 β -折叠的次级键为 N-H 和 C=O 之间形成的有规则氢键。B、C、D 两段阶梯加热过程中折叠减少原因是多肽链的解旋程度和疏水基团暴露位置及数量会干扰氢键的形成,也可能与肽链重新团聚有关,作用力较强的非极性共价键的增多

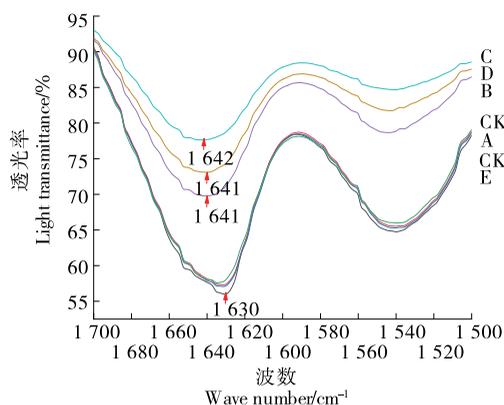


图 6 傅里叶红外光谱图

Figure 6 Fourier infrared spectroscopy

增强了薄膜的结构强度和网络致密紧凑程度。一段变性 CK1、CK2 和两段阶梯加热 A、E 的薄膜在波数为 1 625~1 640 cm⁻¹ 内伸缩振动峰变窄,表明基于氢键结合的大分子聚合物的分子之间作用力较弱^[27],而像氢键等次级键在蛋白质结构和多糖以及甘油分子中大量存在是维系薄膜致密网络结构的重要原因,是增强分子间作用力的重要角色。乳清分离蛋白的 α -乳白蛋白和 β -乳球蛋白各含有 14% 和 45% 的折叠^[28], β -折叠与 α -螺旋是乳清分离蛋白重要的二级结构,无规卷曲是维持蛋白质三级结构的重要角色,折叠的减少即氢键的减少会影响三级结构的完整性,从而影响薄膜的力学性能和阻隔性能。红外光谱之间没有明显的伸缩振动,表明没有新的共价键形成,佐证了两段阶梯加热未改变蛋白溶液的化学性质,只是改善了分子之间的相互作用力、氢键数目以及蛋白与多糖的互溶性。

2.9 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析不同处理条件下的成膜液

乳清分离蛋白主要的成分是 α -乳白蛋白(α -La)、 β -乳球蛋白(β -Lg),两者含有丰富的链间二硫键和游离巯基。如图 7 所示,CK1、CK2、A、B 的处理条件下,显示出更强的条带,C、D、E 条带变弱,这是由于第一阶段加热温度较高导致第二阶段更高度度的蛋白质变性、聚集和交联,降低了蛋白质的溶解度^[29],这与薄膜水溶性较低保持一致。电泳条带分析表明,两段阶梯加热能增强薄膜变性解链的程度,蛋白链的基团之间反应效果越明显,蛋白质越容易聚集交联形成团聚物。数据分析表明,薄膜的各项指标与蛋白质解链后分子之间作用力有关,成膜基质之间作用力越强,形成的高度聚合物越稳定。

2.10 DSC 分析

如图 8 所示,所有薄膜都显示出吸热峰,各组的 DSC 曲线在 150~175 °C 范围内有两处尖锐的熔融吸收峰,对应其两段熔融吸收峰温度(T_m)。从左往右第一个峰可

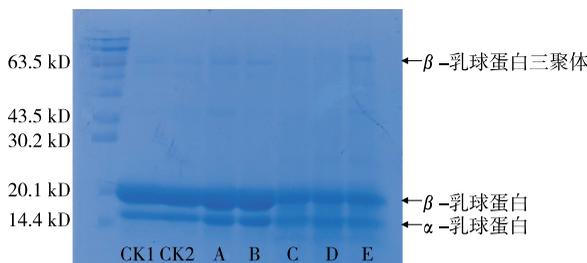


图 7 一段加热和两段加热电泳图

Figure 7 One-stage heating and two-stage heating electrophoresis

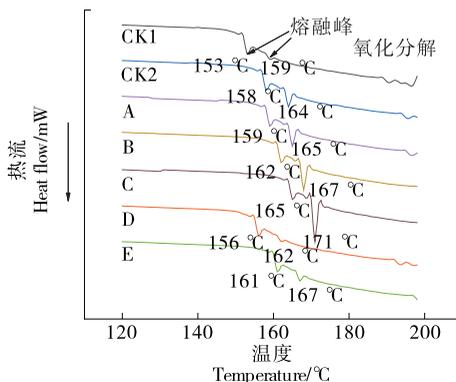


图 8 不同处理温度条件下的薄膜 DSC 曲线分析图

Figure 8 DSC curve analysis of thin films at different temperature conditions

能是弱的相互作用力和一些弱的次级键转换热吸收峰,第二个峰是薄膜主要的热吸收峰,它可以反映出薄膜的有序结构或化学键在热力作用下的破坏情况^[30]。温度处理的不同方式 CK2、A、B、C、D、E 的熔融峰发生了低位移且试验组 T_m 呈先增大后回落的现象。45 °C/85 °C 处理的薄膜 T_m 值分别为 165, 171 °C, 高于其他各组薄膜,表现出更高的热稳定性,意味着打破该条件下蛋白质的结构需要更多的能量。结合电泳条带分析,45 °C/85 °C 处理的蛋白溶液变性程度更高,分子之间作用力更强致使薄膜的稳定性更强。二硫键断裂形成新的链间二硫键使蛋白质的结构更加稳定限制了蛋白质链的移动,此外还与这种稳定的网络结构强度有关,进一步解释了两段加热的处理方式改变了成膜溶液分子之间的作用力,这与红外图谱的结论相似。

3 结论

研究通过改变成膜加热方式优化成膜工艺,对薄膜几个关键指标进行系统的表征。两段阶梯加热的方式对改善聚合物之间的内聚力,增强薄膜基材之间的相互作用效果有调控的作用。电泳、红外光谱、紫外光谱分析表明,聚合物基质的结构变化、分子之间的作用力强度、网络结构的致密性与蛋白质解链程度有很大关系。两段阶梯加热的处理方式优化了成膜工艺,增强了成膜基材之

间的作用效果,使薄膜具有更高的力学性能、阻隔性能,更低的水溶性、水蒸气透过性。两段阶梯加热工艺制备的薄膜具有优良的氧气阻隔性,试验组 45 °C/85 °C 的两段加热法对提高阻氧阻湿性能、力学性能最为显著,疏水性能有所改善,试验制备的薄膜机械强度与低密度聚乙烯相当,但是不如高密度聚乙烯的机械强度,薄膜的机械性能虽能达到包装食品的要求,但对比其他高强度薄膜还有很大的改良空间,解决薄膜力学性能较弱的方法可以引入含有共价键较多的基材。第一段阶梯加热为 50, 55 °C 的两段加热方式对薄膜性能没有进一步改善,推测更高温度的两段加热方式对薄膜性能的优化效果较小,这一观察结果节省了研究成本。

参考文献

- [1] 杨帆, 郭玉华, 李丽雅, 等. 可生物降解的普鲁兰多糖—马铃薯淀粉—明胶三元复合薄膜的制备及性能研究[J]. 塑料科技, 2022(12): 11-17.
YANG F, GUO Y H, LI L Y, et al. Preparation and properties of biodegradable pullulan polysaccharide-potato starch-gelatin ternary composite films[J]. Plastic Science and Technology, 2022(12): 11-17.
- [2] CHENG J J, WANG J, LI Z Z, et al. Improving the mechanical and water-resistance properties of pea protein-based edible film via wet-heating Maillard reaction: Insights into the simultaneous effect of heating and Maillard reaction[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2023, 35(35): 201-210.
- [3] 董爽, 李晓宇, 桑炜才, 等. 高压湿热法改性玉米醇溶蛋白膜的工艺优化及性能分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(16): 207-212.
DONG S, LI X Y, SANG W C, et al. Process optimization and performance analysis of corn alcohol soluble protein membrane modified by high pressure wet heat method [J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(16): 207-212.
- [4] 孙宏霞, 杨春华, 刘琳琳, 等. 红外加热对大豆蛋白质湿热变性的影响[J]. 食品工业科技, 2017, 38(5): 196-198.
SUN H X, YANG C H, LIU L L, et al. Effect of infrared heating on damp-thermal denatureof soybean protein [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(5): 196-198.
- [5] 郗梓含, 雷桥, 高文婧, 等. 美拉德交联对乳清分离蛋白—酪蛋白酸钠—普鲁兰多糖薄膜阻隔性及抗氧化性的改性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(14): 70-76.
QIE Z H, LEI Q, GAO W J, et al. Modification of Maillard crosslinking on barrier and antioxidant properties of WPI-NaCas pullulan based edible films[J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(14): 70-76.
- [6] SUKAI P, ANONGJANYA P, BUNYAHWUTHAKUL N, et al. Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films[J]. Food Research International, 2018, 107(5): 528-535.
- [7] PANKAJ S K, BUENO-FERRER C, MISRA N N, et al. Characterization of dielectric barrier discharge atmospheric air cold plasma treated gelatin films[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2015, 6(1): 61-67.
- [8] HAN J H, FLORO J D. Casting antimicrobial packaging films and measuring their physical properties and antimicrobial activity[J]. J Plast Film Sheet, 1997, 13(4): 287-298.
- [9] GOUNGA M E, XU S Y, WANG Z. Whey protein isolate-based edible films as affected by protein concentration, glycerol ratio and pullulan addition in film formation[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 83(4): 521-530.
- [10] CARVALHO R A D, GROSSO C R F. Characterization of gelatin based films modified with transglutaminase, glyoxal and formaldehyde[J]. Food Hydrocolloids, 2004, 18(5): 717-726.
- [11] 高文婧, 雷桥, 吴浩, 等. 低温低功率等离子体处理对复合蛋白基薄膜结构性能的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(6): 103-109.
GAO W J, LEI Q, WU H, et al. Effect of low temperature and low power plasma treatment on structural properties of composite protein-based films[J]. Food and Fermentation Industry, 2022, 48(6): 103-109.
- [12] TAVARES L, SOUZA H K S, GONALVES M P, et al. Physico-chemical and microstructural properties of composite edible film obtained by complex coacervation between chitosan and whey proteinisolate[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 113: 106-111.
- [13] LAEMMLI U K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. Nature (Load), 1970, 227(5 259): 680-685.
- [14] 尹燕霞, 向本琼. “SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳”微课教案[J]. 高校生物学教学研究, 2020, 10(5): 3-5.
YIN Y X, XIANG B Q. "SDS-polyacrylamide gel electrophoresis" micro-course teaching plan [J]. Biology Teaching Research in Colleges and Universities, 2020, 10(5): 3-5.
- [15] TAVARES L, SOUZA H K S, GONALVES M P, et al. Physicochemical and microstructural properties of composite edible film obtained by complex coacervation between chitosan and whey protein isolate[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 113(8): 1-12.
- [16] GUCKIAN S, DWYER C, SULLIVAN M, et al. Properties of and mechanisms of protein interactions in films formed from different proportions of heated and unheated whey protein solutions[J]. European Food Research and Technology, 2006, 223(1): 91-95.
- [17] SCHMID M, KAINZ D M. Effect of thermally induced denaturation on molecular interaction-response relationships of whey protein isolate based films and coatings[J]. Progress in Organic Coatings, 2017, 104: 161-172.
- [18] FANG D L, DENG Z L, JUNG J, et al. Mushroom polysaccharides-incorporated cellulose nanofiber films with improved mechanical, moisture barrier, and antioxidant properties[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2017, 46: 166-169.
- [19] MOHAMMADI M, MIRABZADEH S, SHAHVALIZADEH R, et

- al. Development of novel active packaging films based on whey protein isolate incorporated with chitosan nanofiber and nano-formulated cinnamon oil[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 149: 11-20.
- [20] JAFARI H, PIROUZIFARD M K, KHALEDABAD M A, et al. Effect of chitin nanofiber on the morphological and physical properties of chitosan/silver nanoparticle bionanocomposite films [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 92: 461-466.
- [21] MA Q, ZHANG Y, CRITZER F, et al. Physical, mechanical, and antimicrobial properties of chitosan films with microemulsions of cinnamon bark oil and soybean oil[J]. Food Hydrocolloids, 2016, 52(2): 533-542.
- [22] ACOSTA S, ALBERTO M, AITE C, et al. Physical properties and stability of starch-gelatin based films as affected by the addition of esters of fatty acids[J]. Food Hydrocolloids, 2015, 49: 135-143.
- [23] YOO S R, KROCHTA J M. Whey protein-polysaccharide blended edible film formation and barrier, tensile, thermal and transparency properties[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2011, 91(14): 2 628-2 636.
- [24] BRINDLE L P, KROCHTA J M. Physical properties of whey protein-hydroxypropylmethylcellulose blend edible films [J]. Journal of Food Science, 2010, 73(9): E446-E454.
- [25] JAVIER O, MAYRA F V, PEDROZA I R, et al. Development and characterization of composite edible films based on whey protein isolate and mesquite gum[J]. Journal of Food Engineering, 2009, 92 (1): 56-62.
- [26] JI H, DONG S, HAN F, et al. Effects of dielectric barrier discharge (DBD) cold plasma treatment on physicochemical and functional properties of peanut protein[J]. Food & Bioprocess Technology, 2018, 11(2): 344-354.
- [27] GERMAN D B, BUSTI P A, VERDINI R, et al. Glycation of heat-treated β -lactoglobulin: Effects on foaming properties[J]. Food Research International, 2013, 54(1): 902-909.
- [28] CHEVALIER F, CHOBERT J M, POPINEAU Y, et al. Improvement of functional properties of β -Lg glycosylated through the Maillard-reaction is related to the nature of the sugar [J]. International Dairy Journal, 2001(3): 145-152.
- [29] MCKENZIE H A, RALSTON G B, SHAW D C. Location of sulfhydryl and disulfide groups in bovine-lactoglobulins and effects of urea[J]. Biochemistry, 1972, 11(24): 4 539-4 547.
- [30] 熊幼翎, 王耀松, 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.
- XIONG Y L, WANG Y S, CHEN J. Thermal and optical properties, water vapor permeability and digestibility of oxide-caffeic acid crosslinked whey protein film[J]. Food Science, 2012, 33(19): 133-137.

(上接第 2 页)

品行业 20 余年的应用实践,对保健功能声称管理模式的创新,即允许任何单位或者个人在开展相关研究的基础上,单独或联合提出 24 项保健食品功能声称以外的新功能建议,可推动保健食品新功能及产品研发,更好满足人民群众健康需求。

热点七:反式脂肪酸被“拉黑”——走出消费误区先要科学认知

解读专家:王兴国,江南大学食品学院教授

反式脂肪酸是不饱和脂肪酸中的一种,具有天然和加工两种来源。尽管长期过量摄入反式脂肪酸对健康有害,但中国居民膳食中摄入量水平较低,风险可控,消费者无需过度担忧。从全球范围来看,消除加工来源的反式脂肪酸是必然趋势,应通过不断加强科技创新,提升消费认知,保障人民健康。

热点八:“防猝死套餐”走红——别让智商税收割“脆皮年轻人”

解读专家:马冠生,北京大学公共卫生学院营养与食品卫生学系主任、教授

不健康的生活方式和过度运动是导致猝死的重要诱因。“防猝死套餐”中的营养物质具有一定的生理功能和健康效应,但是,并没有证据表明具有预防猝死的作用。保健食品不是药品,不能宣称具有疾病预防和治疗的作用。建议消费

者合理膳食,践行健康生活方式;提高健康素养。同时建议相关部门继续加强开展广泛、深入的科普宣传。

热点九:数字标签试点——让食品标签看着更方便

解读专家:李宁,中国食品科学技术学会副理事长、国家食品安全风险评估中心主任

数字标签是一种通过二维码等形式,展示食品标签信息的新方式。没有了标示版面的限制,消费者可以以数字化方式了解食品信息,满足不同消费者阅读食品标签的需求。行业应合力加速标签数字化的进程,迎着数字化创新发展的浪潮,让消费者接收到更清晰、全面的食品标签信息,最终将数字标签作为一种常态化的标签载体,在更多的领域得到应用和推广。

热点十:沙门氏菌——致病微生物需重点防范

解读专家:刘秀梅,中国食品科学技术学会名誉副理事长、中国疾病预防控制中心原食品安全首席专家

沙门氏菌是全球普遍关注的食源性致病菌,因污染肉、蛋、果蔬和乳制品等引起人的胃肠道疾病,腹泻严重可导致脱水甚至死亡。沙门氏菌主要来源于人和动物的肠道、水源和生产加工环境以及储运和加工过程的交叉污染。食品生产经营单位应执行良好卫生操作规范,加强过程控制。餐饮从业人员和消费者更要认真执行“食品安全五要点”,把好食品入口的最后关。

(中国食品科学技术学会秘书处 供稿)