

植物单宁对酪蛋白膜的改性研究

邓霜琪, 廖晶晶, 廖崇森, 吴海柱, 代美欣, 周晓剑

(西南林业大学 云南省木材胶黏剂及胶合制品重点实验室, 650224 昆明)

摘要: **目的** 为研究不同单宁对酪蛋白膜的改性效果, 探究水解类(塔拉单宁)和缩合类(杨梅单宁)单宁在不同添加量(酪蛋白固含量的5%、10%和15%)条件下对酪蛋白膜性能的影响。**方法** 使用溶液浇铸法制备单宁改性酪蛋白膜, 对改性薄膜的水分含量、水溶性、水蒸气透过率、不透明度、紫外光屏蔽性、拉伸力学性能、热稳定性、形貌特征、抗氧化性能及化学结构进行表征。**结果** 塔拉单宁的添加量与改性酪蛋白膜的水分含量和水溶性呈正相关, 杨梅单宁的添加量与改性酪蛋白膜的含水率和水溶性呈负相关; 单宁改性后的酪蛋白膜不透明度值上升, 2种单宁均能降低酪蛋白膜的水蒸气透过率和紫外光透过率, 减缓酪蛋白膜的质量损失速率, 增强薄膜抗氧化性; 杨梅单宁有效提升了酪蛋白膜的拉伸力学性能、热稳定性及一定的抗氧化性, 杨梅单宁添加量为15%时, 改性酪蛋白膜性能最佳。**结论** 2种单宁都能赋予酪蛋白膜更优异的紫外光屏蔽性、水蒸气阻隔性和抗氧化性, 杨梅单宁对酪蛋白的交联改性效果优于塔拉单宁, 可有效提高酪蛋白的拉伸力学强度和热稳定性。单宁改性后的酪蛋白膜在活性包装领域上具有一定的应用潜力。

关键词: 塔拉单宁; 杨梅单宁; 酪蛋白膜; 改性研究

中图分类号: TB484.9; TS206. 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2023)01-0203-10

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2023.01.023

Modification of Casein-based Membrane with Plant Tannins

DENG Shuang-qi, LIAO Jing-jing, LIAO Dong-sen, WU Hai-zhu, DAI Mei-xin, ZHOU Xiao-jian

(Yunnan Provincial Key Laboratory of Wood Adhesives and Glued Products, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

ABSTRACT: The work aims to study the modification effects of different tannins on casein-based membranes and evaluate the effects of hydrolysable (Tara tannin) and condensed (Chinese bayberry) tannins of different contents (5%, 10% and 15%) on the properties of casein-based membranes. The casein-based membranes modified by tannins were prepared by the solution casting method. The moisture content, water solubility, water vapor permeability (WVP), opacity, ultraviolet (UV) shielding capacity, tensile property, thermal stability, morphology, antioxidant capacity and chemical structure of the modified membranes were characterized. A positive correlation between tannin content and moisture content as well as water solubility was found in membranes introduced with tara tannins, however, the opposite result was observed in those membranes incorporated with Chinese bayberry tannins. The opacity of casein-based membranes modified with tannins increased. The introduction of two tannins in casein-based membranes provided lower WVP and UV transmittance, decreased the weight loss rate and increased antioxidant capacity of resulting membranes compared with

收稿日期: 2022-07-18

基金项目: 国家自然科学基金(NSFC 31971595); 云南省“兴滇英才支持计划”青年人才; 高等学校学科创新引智计划资助(D21027)

作者简介: 邓霜琪(1998—), 女, 硕士生, 主攻生物质树脂。

通信作者: 周晓剑(1982—), 男, 博士后, 研究员, 主要研究方向为生物质树脂及胶黏剂。

native casein-based membrane. Chinese bayberry tannins effectively contributed to good tensile strength, thermal stability and antioxidant properties of casein-based membranes. Especially when the content of tannin increased to 15 wt.%, modified casein-based membranes had the best properties. Both the two plant tannins can provide casein-based membranes better UV shielding capacity, WVP and antioxidant capacity. Chinese bayberry tannin presented better cross-linking modification capacity in casein-based membranes compared with Tara tannin, yielding a better tensile strength and thermal stability of the resulting membranes. Tannin-modified casein-based membranes have application potential in active food packaging.

KEY WORDS: Tara tannin; Chinese bayberry tannin; casein-based membrane; modification

随着人们对生活环境污染问题的关注和安全意识的提高,着力开发和应用天然、可降解生物材料制备环保的绿色包装膜材料具有极其重要的意义。目前,脂类、多糖类、蛋白质类化合物制成的生物膜已成为包装行业内研究热点^[1],原因在于天然生物聚合材料可以减少或完全避免大部分人工合成聚合物包装膜的使用所带来的环境与健康危害,生物膜与现在所使用的塑料薄膜相比,安全性更高,易被人们所接受^[2]。

天然蛋白质来源广泛、可生物分解、污染小、无毒和可食用性成为食品包装膜的理想选择^[3-4]。在动物蛋白质中,酪蛋白以出色的水乳化能力以及极高的营养价值,成为制备食品包装膜的理想基质材料^[5]。蛋白质膜作为绿色包装材料具有安全且无污染的特点,在食品包装生产和对食物保鲜方面应用广阔,张巧苑^[6]将酪蛋白应用于草莓保鲜,研究发现覆酪蛋白的草莓,其蛋白质、可溶性糖、抗坏血酸含量下降幅度明显比空白对照组慢,由此可见,酪蛋白膜对草莓有较强的保鲜能力。纯酪蛋白膜的力学强度不足、水阻隔性和水蒸气透过率不理想等,为了提高酪蛋白膜的性能,对其进行物理或化学改性处理极有必要。在蛋白质膜中添加甲醛、乙二醛、戊二醛^[7-9]可以通过与蛋白质分子链产生交联从而提升膜的性能,但醛类物质对细胞有毒性,存在安全隐患,不适宜用于食品包装等方面^[10]。

单宁是广泛存在于植物体内、能与蛋白质形成复合物的植物多酚类物质,根据结构不同主要分为水解单宁和缩合单宁,前者主要为鞣酸或与鞣酸有生源关系的酚羧酸与多元醇结合组成的酯;后者主要为黄烷-3-醇结构单元缩合而成的多聚物^[11-12]。单宁的酚羟基结构可以通过氢键、疏水键等作用与蛋白质产生交联,形成大分子蛋白质-单宁复合物,降低蛋白质分子链的流动性,改变蛋白质的流变性能,因此在食品领域,可以通过添加单宁提高小麦面团的强度^[13]。单宁还是蛋白质类薄膜的天然交联剂,在蛋白膜成膜液中添加单宁,可以较好地改善蛋白膜的力学性能、热稳定性和水蒸气阻隔性能等。水解单宁和缩合单宁由于其结构和分子质量的差异,与蛋白质的结合能力和结合方式也有较大差异,如缩合单宁主要通过氢键、疏水键等非共价键,而水解单宁主要通过氢键与蛋白分子链

产生交联^[14]。Girard等^[14]对比缩合单宁与水解单宁对明胶膜的改性作用发现,分子量高聚合度高的缩合单宁有更多的羟基和疏水基团,可以更为有效地通过氢键和疏水键作用交联改性明胶膜。也有研究表明,在缩合单宁(杨梅单宁、黑荆树单宁)改性大豆蛋白膜的研究中^[15-16],单宁被氧化成醌,与蛋白分子链上的氨基通过席夫碱反应和迈克加成反应形成共价键。目前,单宁酸等水解单宁被较多地应用于蛋白膜的改性研究中,但来源于木材的单宁更具价格优势^[17]。在本课题组目前正在开展的研究中发现使用杨梅单宁可以有效改善酪蛋白膜的力学性能、水蒸气阻隔性能,并赋予酪蛋白较好的抗氧化性能。由于水解单宁和缩合单宁结构上的差异,文中通过对比研究考察来源于木材的塔拉单宁(水解类)和杨梅单宁(缩合类)对酪蛋白膜性能的影响,以期单宁改性蛋白膜在食品包装膜及功能性应用提供理论和实践依据。

1 实验

1.1 材料

主要材料:酪蛋白,化学纯,国药集团化学试剂有限公司;塔拉单宁,纯度为60%~70%,产地秘鲁;杨梅单宁,纯度为60%~70%,产地广西武鸣;氢氧化钠、丙三醇,均为分析纯,购自天津市风船化学试剂科技有限公司;DPPH(2,2-联苯基-1-苦基肼基),纯度为96%,来源于上海麦克林生化科技有限公司。

1.2 方法

纯酪蛋白膜的制备:称适量酪蛋白,加入蒸馏水,制备质量分数为6%的干酪素溶液,再使用2 mol/L NaOH溶液调干酪素溶液的pH值至11,磁力搅拌2 h至完全溶解,备用。取2.7 g丙三醇加入90 mL调好pH值的干酪素溶液中,搅拌5 min后倒入三颈烧瓶中,在80℃水浴中搅拌反应20 min。反应完成后量取45 mL成膜液均匀浇注在聚四氟乙烯模具上,自然干燥24 h后揭膜,放入密封袋中保存,并命名空白对照样品为CA。

单宁改性酪蛋白膜的制备:称量3份90 mL 6%的干酪素溶液,分别加入0.27、0.54、0.81 g杨梅单

宁(占比分别为固体干酪素质量的 5%、10%、15%), 取 2.7 g 丙三醇溶液加入到干酪素-单宁混合溶液中, 搅拌 5 min 后倒入三颈烧瓶中。将水浴锅温度设置为 80 °C, 待温度升至 80 °C, 恒温水浴搅拌 20 min。反应完成后量取 45 mL 成膜液均匀浇注在聚四氟乙烯模具上, 自然干燥 24 h 后揭膜, 放入密封袋中保存, 编号为 CAY5、CAY10、CAY15。塔拉单宁改性酪蛋白膜时, 制备方法同杨梅单宁改性酪蛋白膜, 分别编号为 CAT5、CAT10、CAT15。具体配方见表 1。

表 1 不同单宁改性酪蛋白膜配方
Tab.1 Formulation of casein-based films modified by different tannins

样品缩写	酪蛋白 溶液/mL	丙三醇 溶液/g	单宁/g
CAT5	90	2.7	0.27 (塔拉单宁)
CAT10	90	2.7	0.54 (塔拉单宁)
CAT15	90	2.7	0.81 (塔拉单宁)
CAY5	90	2.7	0.27 (杨梅单宁)
CAY10	90	2.7	0.54 (杨梅单宁)
CAY15	90	2.7	0.81 (杨梅单宁)

注: 所有样品将在室温下放入干燥皿中平衡含水率。

1.3 测试与表征

1.3.1 薄膜表面色差及厚度测定

借助 SC-80C 全自动色差计, 测量薄膜的红绿轴色品指数 a^* 、黄蓝轴色品指数 b^* 、明度 L^* 及色差 ΔE^* , 随机测量 5 次。

采用随机取样法在薄膜样品上随机选取 10 个点, 使用埃维特数显厚度仪(型号 BC801, 河南省邦特工量具有限公司)进行测量薄膜的厚度, 取其平均值。

1.3.2 水分含量及水溶性测定

薄膜制成 2 cm×2 cm 的样品, 初始质量计为 m_0 (g), 在 (103±2) °C 烘箱(型号 101, 北京市永光明医疗仪器有限公司)中干燥至恒重, 计为 m_1 (g)。每个样品平行测定 5 次, 取其平均值。根据薄膜质量损失计算水分含量 (MC), 见式 (1)。

$$M_C = \frac{m_0 - m_1}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

将 2 cm×2 cm 的薄膜样品放置于 105 °C 烘箱中干燥至恒重, 然后精确称量 (m_1), 将称量后的样品浸入盛有 50 mL 蒸馏水的培养皿中静置 24 h, 将蒸馏水溶液过滤后, 取出不溶物, 在 105 °C 下再次干燥至恒重 (m_2)。根据溶解前后的质量变化来计算蛋白膜的水溶性 (WS), 每组样品平行测试 5 次, 计算见式 (2)。

$$W_S = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.3 水蒸气透过率

薄膜的水蒸气透过率用测试杯法进行表征。称取 3 g 无水氯化钙放置于测试杯中, 制备表面积为 19.737 cm² 的圆形试样, 盖住烧杯口, 密封后放置于装有 1 L 蒸馏水的干燥器中, 每隔 12 h 将测试杯取出, 精确称量测试杯质量的变化, 通过式 (3) 计算水蒸气的透过率 (WVP)。

$$WVP = \frac{W \times x}{A \times \Delta p \times t} \quad (3)$$

式中: W 为水增加量; x 为薄膜厚度, mm; A 为膜面积, mm²; Δp 为水蒸气压差, Pa; t 为时间, s, 水蒸气压根据测试时的温度取值, 测试时的温度恒定为 23 °C。

1.3.4 力学性能测试

根据 GB/T 1040.3—2006 用万能力学试验机(型号 SUST 5569, 珠海市三思泰捷电气设备有限公司)测试薄膜的机械强度。裁剪 160 mm×20 mm 的长条试样, 测试条件: 测试间距为 50 mm, 拉伸速率为 50 mm/min; 测试环境: 温度为 23 °C, 相对湿度为 45%~55%。重复测 5 次, 用平均值表示测试结果, 最后得出薄膜的拉伸强度和薄膜断裂伸长率。

1.3.5 不透明度

薄膜的不透明度使用紫外分光光度计(型号 WFZUV-4802S, 珠海市三思泰捷电气设备有限公司)在 600 nm 扫描吸光度进行表征。薄膜样品规格为 4 cm×1 cm, 放进调试好的仪器里测量吸光度, 测定时样品紧贴比色皿一侧的内表面, 每一样品平行测量 3 次取平均值。不透明度 (OP) 通过式 (4) 计算。

$$O_p = \frac{A}{x} \quad (4)$$

式中: A 为薄膜在 600 nm 处的吸光度 (Abs); x 为薄膜厚度, mm。

1.3.6 紫外光屏蔽性

薄膜的抗紫外性采用紫外分光光度计(型号 UH3500, 日本三立)进行表征, 制备 1 cm×4 cm 的条形样品, 紧贴比色皿一侧, 置入仪器中扫描, 范围为 200~900 nm。根据紫外光谱数据, 绘制薄膜紫外透过率图。

1.3.7 热重分析(热稳定性)

称取 5~10 mg 薄膜碎片坩埚内, 使用热重分析仪(型号 TG209F1, 德国耐驰)进行测试, 检测时使用氮气 (N₂) 保护, 测试温度范为 30~600 °C, 升温速率为 10 °C/min。

1.3.8 形貌微观结构分析 (SEM 电镜)

将样品裁成 1 cm×4 cm 的条状, 使用液氮脆断薄膜, 并在横截面上喷金, 然后在加速电压为 20 kV 的条件下, 使用扫描电子显微镜 (SEM) (型号 Zeiss Sigma 300) 观察横截面形貌。

1.3.9 抗氧化活性

薄膜的抗氧化活性通过 DPPH 自由基清除能力进行。将 0.1 g 薄膜样品置于 10 mL 的蒸馏水中搅拌 30 min, 所得水溶液备用。取 4 mL 浓度为 0.15 $\mu\text{mol/L}$ 的 DPPH 乙醇溶液与 1 mL 制备好的水溶液避光静置反应 30 min。测量反应后的溶液在紫外分光光度计 517 nm 处的吸光度值, 重复 3 次试验取平均值。自由基清除率 (RSA) 通过式 (5) 计算。

$$R_{SA} = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100\% \quad (5)$$

式中: A_0 为 1 mL 蒸馏水加 4 mL DPPH 乙醇溶液的吸光度值 (Abs); A_1 为 1 mL 测试样品溶液加 4 mL DPPH 乙醇溶液的吸光度值 (Abs)。

1.3.10 傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析

薄膜的化学结构通过傅里叶红外光谱仪 (Thermo Scientific Nicolet IS50, 中国) 采用衰减全反射 (ATR) 法对样品进行红外光谱 (FTIR) 分析, 扫描波数范围为 600 ~ 4 000 cm^{-1} , 扫描次数 32 次, 分辨率为 4 cm^{-1} 。

2 结果与讨论

2.1 色差及厚度分析

如表 2 所示, 单宁的加入且随着单宁含量的增加使得酪蛋白膜明度 L^* 降低、红黄数 a^* 、蓝绿数 b^* 值升高, 这表示薄膜的颜色逐步加深, 呈更黑暗更红更黄的趋势, 总色差 ΔE^* 较大。如表 3 所示, 复合膜的厚度为 0.120 ~ 0.144 mm, 单宁的加入使成膜液浓度增加, 从而使单宁改性后薄膜的厚度有所增加, 这与其他物质复合膜的规律一致^[18], 薄膜厚度变化与单宁的使用量没有明显的正相关性。由表 3 可知, 杨梅单宁改性的酪蛋白膜厚度变化均大于塔拉单宁, 可能原因是杨梅单宁分子量、聚合度高, 可以更大程度地通过氢键、疏水键等交联作用与酪蛋白形成难溶于水的大分子复合物^[14], 交联程度比塔拉单宁改性酪蛋白膜高, 故蛋白质的聚集程度提升, 导致薄膜厚度增加^[19]。

2.2 水分含量及水溶性

图 1 为不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜的水分含量及水溶性。薄膜的水分含量取决于薄膜表面的亲水基团及内部微观结构, 反映了薄膜对环境水分的敏感程度^[20]。如图 1 所示, 随着塔拉单宁含量的增加, 复合膜含水率呈上升趋势, 而杨梅单宁改性酪蛋白膜的水分含量随单宁含量增加呈下降趋势, 可能原因是塔拉单宁与酪蛋白分子链的结合能力比杨梅单宁弱, 酪蛋白膜交联程度低, 导致塔拉单宁改性酪蛋白膜存在较多的羟基等亲水基团。水溶性考察薄膜在水环境中的完整性, 可以间接说明不同结构单宁对酪蛋白的交联改性程度。单宁改性后的酪蛋白膜水溶

性值都有不同程度下降, 说明单宁与酪蛋白通过交联作用, 形成较难溶于水的复合物。塔拉单宁改性酪蛋白膜的水溶性在添加量为 5% 时最低, 随后逐渐增加, 而杨梅单宁改性酪蛋白膜的水溶性在添加量为 10% 时最低, 15% 时水溶性值略有增加。说明塔拉单宁与酪蛋白结合力较弱, 单宁等可溶性物质遇水析出, 导致水溶性值增加, 这一现象与其他单宁改性蛋白膜的研究结果类似^[14,21]。

表 2 不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜的表面色差
Tab.2 Surface color difference of casein-based membranes modified by different types and content of tannins

样品	表面色差			
	L^*	a^*	b^*	ΔE^*
CA	69.04	2.30	14.09	70.50
CAT5	41.48	17.20	39.61	59.88
CAT10	34.39	15.44	38.68	54.01
CAT15	28.25	14.36	31.09	44.39
CAY5	38.91	15.46	26.39	49.49
CAY10	30.45	19.96	31.86	48.38
CAY15	19.58	18.01	21.87	34.44

表 3 不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜的厚度
Tab.3 Thickness of casein-based membranes modified by different types and content of tannins

样品	平均厚度/mm	样品	平均厚度/mm
CA	0.122±0.004	—	—
CAT5	0.128±0.028	CAY5	0.141±0.007
CAT10	0.133±0.009	CAY10	0.144±0.009
CAT15	0.120±0.015	CAY15	0.135±0.029

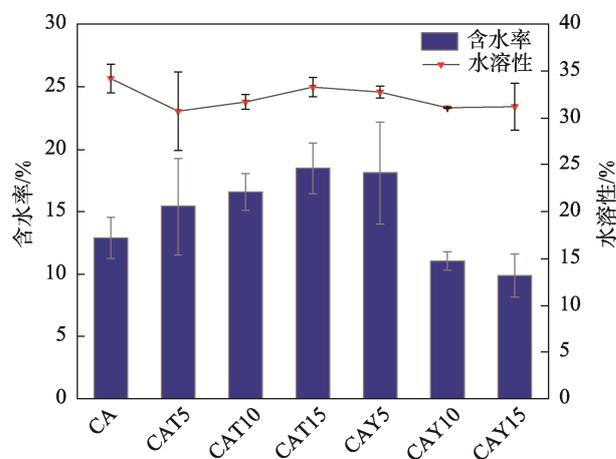


图 1 不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜的水分含量及水溶性

Fig.1 Water content and water solubility of casein-based membranes modified by different types and content of tannins

2.3 水蒸气透过率

用作包装或涂层的薄膜, 为了防止食品脱水, 其水蒸气透过率应尽可能低^[22]。图 2 为不同种类及添加量的单宁对酪蛋白膜水蒸气透过率的影响, 由图 2 可知, 添加了不同种类单宁的改性酪蛋白膜水蒸气透过率数值显著降低。添加 15% 的单宁时, 改性酪蛋白膜水蒸气透过率处于最低, 这是因为该单宁中含有较多的酚羟基与蛋白质形成氢键, 由此形成密集的立体网状结构, 降低了水分子通过网状的速度, 从而使水分子透过薄膜的扩散速率降低^[23]。另外一个原因是由于单宁的引入, 让薄膜因为交联产生的空隙得到了填补, 由此降低水蒸气透过率。综上所述, 单宁的引入增强了水分透过薄膜的曲折度, 降低了水分子的扩散速率, 从而降低了水蒸气透过率, 使单宁改性酪蛋白膜相比纯酪蛋白膜具有极佳的水阻隔性, 在包装领域表现出了极大的应用潜力。

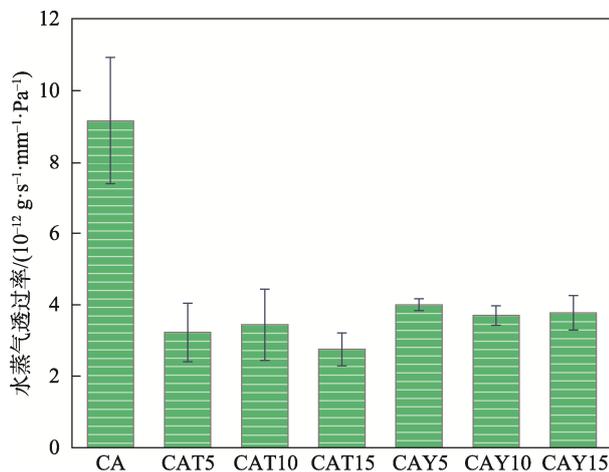


图 2 不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜的水蒸气透过率

Fig.2 Water vapor permeability of casein-based membranes modified by different types and content of tannins

2.4 不透明度分析

膜的光学特性在食品、药品、蔬果包装中尤其重要, 具有阻光性功能的薄膜能更好地满足保护药品药性、蔬果保鲜的储存要求。使用高阻光性包装的饼干, 保质期是使用半透明或透明包装材料包装饼干的 2 倍或 3 倍^[24]。图 3 表示不同种类的单宁对酪蛋白膜不透明度的影响, 对照组 CA 酪蛋白膜透明度较高, 呈淡黄色; 随着改性薄膜中单宁含量的增加, 改性酪蛋白膜的透光率均明显下降, 不透明度明显上升, 颜色也逐渐加深至红棕色, 较高的单宁含量会导致薄膜变色, 从而降低薄膜的透明度, 这与前人研究结果相互验证^[25]。在同等单宁添加量的条件下, 塔拉

单宁改性酪蛋白膜的不透明指数最高, 当塔拉单宁添加量为 15% 时, 不透明度高达 11.710 Abs/mm, 这一结果与膜体均匀性和表面粗糙度有关^[26], 这与 CAT15 表面粗糙相验证。值得一提的是尽管 CAY5 颜色变深, 但它的不透明度为 4.39 Abs/mm, 这与食品包装膜的商业适用标准聚乙烯膜的不透明度 4.26 Abs/mm 相接近^[27]。

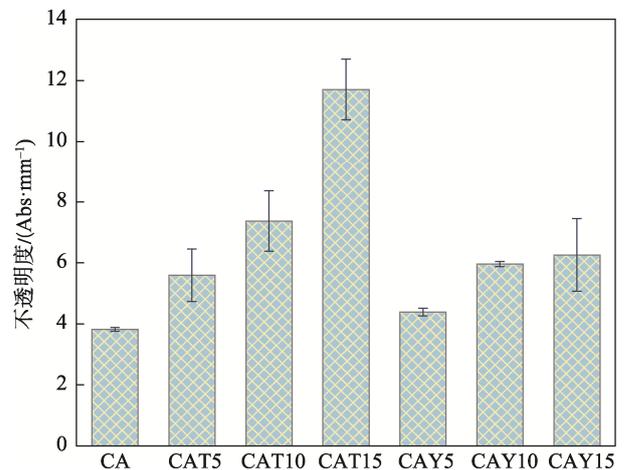


图 3 不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜不透明度

Fig.3 Opacity of casein-based membranes modified by different types and content of tannins

2.5 紫外光阻隔性能

图 4 为不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜的紫外光透过率图, 对照组 CA 薄膜在 200 ~ 400 nm 的波长下, 透光率为 1.76% ~ 13.29%, 这是由于酪蛋白中含有能吸收此区间波长的敏感基团酪氨酸及苯丙氨酸所致^[28]。2 种单宁改性酪蛋白膜在 UV-C (200 ~ 280 nm) 及 UV-B (280 ~ 320 nm) 下可以阻隔 100% 的紫外线, 在单宁添加量达到 10% 以上时对 UV-A (320 ~ 400 nm) 也可以达到完全阻隔的效果, 因此, 单宁改性后的酪蛋白膜具有较好的紫外光阻隔性能, 并且改性酪蛋白薄膜的抗紫外性能随着单宁含量增加而提升, 这和 2.4 节中单宁改性酪蛋白薄膜光线不容易透过, 表现出较弱的光透过性这一结论相互佐证。在添加量一定时, 塔拉单宁改性酪蛋白膜的紫外光阻隔性能优于杨梅单宁改性酪蛋白膜, 紫外线屏蔽性能得益于单宁中的芳香族单元和酚羟基^[29], 由于塔拉单宁与酪蛋白的交联作用低于杨梅单宁与酪蛋白的交联作用, 因此塔拉单宁改性酪蛋白膜中存在更多酚羟基, 酚羟基可以与酚环形成 p- π 共轭, 从而降低 π 的能量 $\rightarrow \pi^*$ 电子跃迁, 增强塔拉单宁改性酪蛋白膜的紫外光吸收能力^[30]。薄膜对紫外线的阻隔有助于食品保鲜、药品药性储存、防止包装材料老化褪色, 这也是生物质薄膜的重要研究方向^[31]。

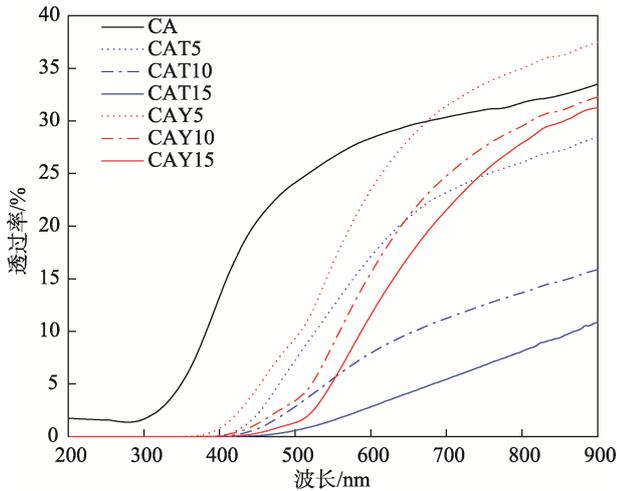


图4 不同种类的单宁含量对改性酪蛋白膜的紫外透光影响

Fig.4 Effects of different types and content of tannins on UV transmission of casein-based membranes

2.6 拉伸力学性能

图5表示不同种类单宁改性酪蛋白膜的拉伸力学强度,由图5可知,当添加量为15%时,塔拉单宁改性酪蛋白膜仅有1.367 MPa,低于CA膜(3.361 MPa),杨梅单宁组(CAY)样品具有优于CA及CAT优异的拉伸强度,杨梅单宁改性酪蛋白膜的断裂拉伸强度为7.174 MPa。图6显示不同种类的单宁改性酪蛋白膜的断裂伸长率,改性酪蛋白膜的断裂延伸率随着单宁的加入普遍呈减小的趋势,略微降低薄膜的韧性,而伸长率与加入单宁含量无明显规律。CA膜的断裂伸长率为142.6%,添加塔拉单宁的改性薄膜断裂伸长率为94.84%~95.48%,杨梅单宁改性酪蛋白薄膜断裂伸长率为131.27%~231.96%。由此看出,添加不同种类单宁及薄膜中单宁的含量对提升酪蛋白膜强度均有影响。样品中CAT组的拉伸强度、断裂伸长率均明显下降,添加塔拉单宁对酪蛋白膜的力学性能改性没有正向作用,考虑塔拉单宁与蛋白质反应在拉伸方向产生较多不均匀孔隙,降低了薄膜的强度及韧性,这在图8的电镜图像中得到证实。添加缩合类单宁的CAY组的断裂伸长率下降不大,这是由于缩合单宁酚羟基与酪蛋白相互作用得到改善。

在酪蛋白薄膜改性当中拉伸力学强度升高会导致断裂伸长率的降低^[19],故选择改性材料时应综合考虑,在提升酪蛋白膜力学强度的同时,也需兼顾材料的韧性。将2组单宁改性酪蛋白薄膜的拉伸力学强度和断裂拉伸强度对比后得出,添加杨梅单宁改性的酪蛋白膜-CAY组的拉伸强度明显提高,同时也具有良好的断裂伸长率,综合力学性能最佳。

2.7 热稳定性分析

采用热重分析法来表征单宁改性酪蛋白膜的热

稳定性,单宁添加量为15%时,改性酪蛋白薄膜力学性能、水蒸气透过率及抗紫外性能较为突出,因此应着重表征该条件下单宁改性酪蛋白膜的热稳定性。图7a为15%添加量的单宁改性酪蛋白膜的热质量损失(TGA)曲线;图7b为薄膜的质量损失速率与温度的关系(DTG)曲线。

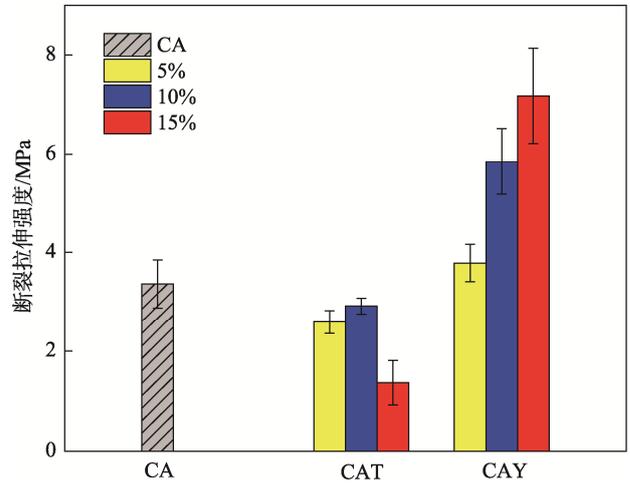


图5 不同种类的单宁改性酪蛋白膜的拉伸力学强度

Fig.5 Tensile strength of casein-based membranes modified by different types and content of tannins

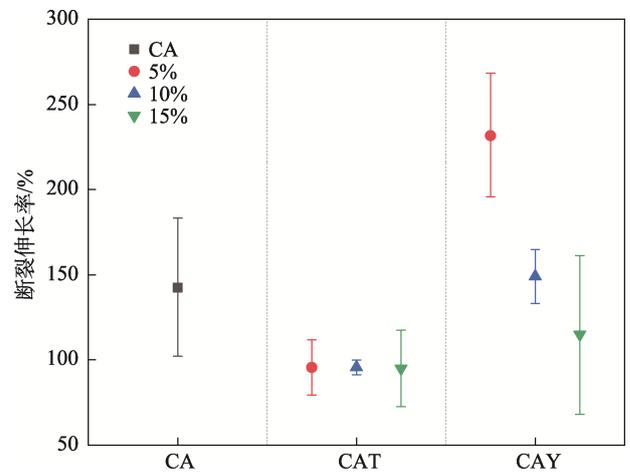


图6 不同种类的单宁改性酪蛋白膜的断裂伸长率

Fig.6 Elongation at break of casein-based membranes modified by different tannins

从图7a不同单宁改性酪蛋白复合膜的热重曲线中可以发现,薄膜的3个主要质量损失阶段:第1阶段质量损失温度为30~150℃,这一阶段的质量损失主要是由于薄膜中的水分挥发造成;第2阶段的质量损失温度在150~280℃内,这一阶段的质量损失主要是由于植物单宁羟基和单宁与蛋白间的共价键断裂分解;第3阶段在280~600℃,这主要是由于酪蛋白肽键的分解。植物单宁的加入可以提高蛋白膜的热稳定性,在相同温

度下, CAY15、CAT15 的质量损失均小于 CA 的。升温至 600 °C 时, CAY15 的质量损失小于 CA 及 CAT15 的。从图 7b 中可以看出, 在温度达 300 °C 以上, 单宁改性酪蛋白薄膜的最大质量损失率均小于 CA 的。这主要是因为单宁分子中含有大量的羟基, 羟基的存在使得与蛋白分子肽链上的肽键发生多点氢键结合, 并且酪蛋白侧链不带电荷的氨基与未解离的羧基也能与单宁分子羟基上的氧发生氢键结合。单宁分子的酚羟基作为给予体, 与肽链上羧基中的氧作为接受体形成氢键, 从而使得蛋白膜的结构变得致密, 耐热稳定性提升^[32], 因此, 综合观察得出 CAY15 的热稳定性最佳, 杨梅单宁的交联改性效果比塔拉单宁好。

2.8 单宁改性酪蛋白膜的微观分析

扫描电镜可以用于观察薄膜的微观特征。图 8 表示质量分数为 15% 的 2 种单宁改性酪蛋白膜在 1 000 和 2 000 的放大倍数下的脆断横截面扫描电镜照片。CA 组表面较为平滑, 脆断横截面仅有少量、细小的孔隙, 单宁改性酪蛋白薄膜的截面较为粗糙, 出现褶皱状截面, 这一现象是由于单宁与蛋白质以“手套-手”的模式结合形成聚合物^[33], 产生了交联结构, 脆断后则出现粗糙截面, 这与前人所观察的结果相一致^[34]。CAY15 的脆断截面微观结构比 CAT15 的致密, 产生的缺陷孔隙较小且数量较少, 这为 CAT15 的拉伸强度低于 CA 和 CAY15 的拉伸强度的结果提供了一种解释。

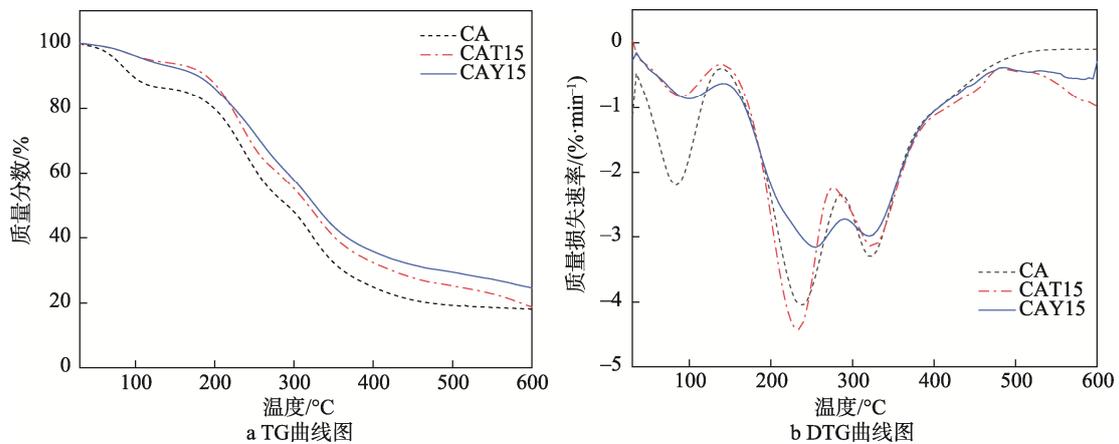


图 7 不同单宁改性酪蛋白膜的热稳定曲线图
Fig.7 Casein-based membranes modified by different tannins

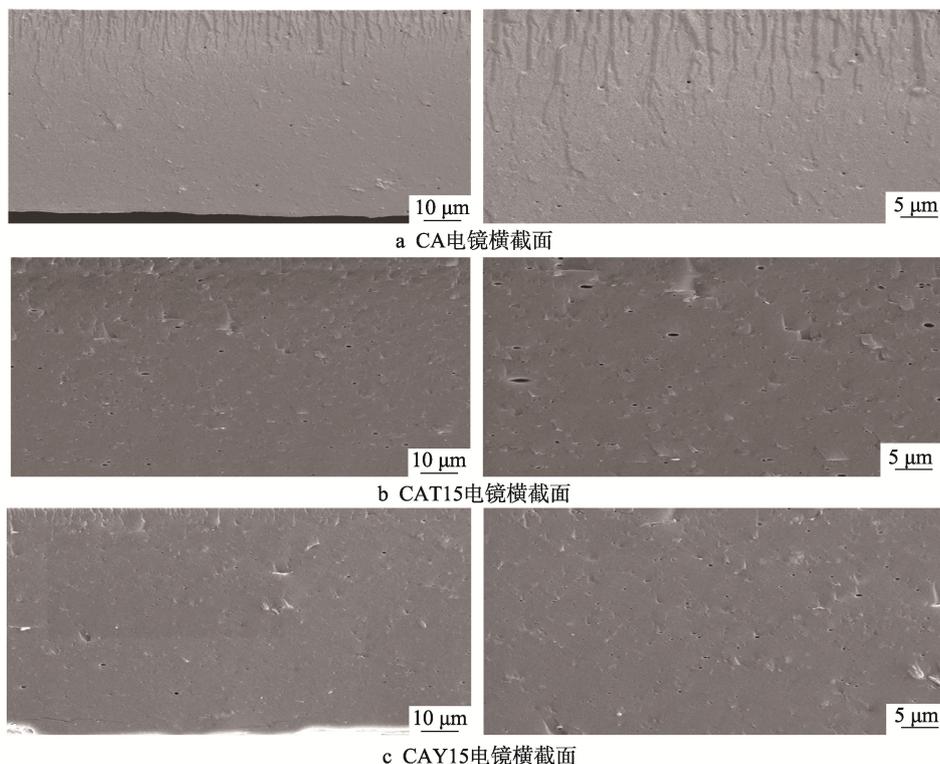


图 8 添加量为 15% 的 2 种单宁改性酪蛋白膜电镜横截面
Fig.8 SEM micrographs of fractured cross-sections for casein-based membrane modified by 2 kinds of tannins (15%)

2.9 单宁改性酪蛋白膜的抗氧化性能

DPPH 自由基转换成非自由基, 其褪色程度与接受电子数呈定量关系, 因此可通过吸光度的变化可得出自由基的清除率, 以此评价不同单宁改性酪蛋白薄膜的抗氧化性能^[35]。图 9 为不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜的 DPPH 自由基清除率, 由图 9 可知, 酪蛋白膜由于其肽链中存在抗氧化肽因此具备一定自由基清除能力^[36]。随着单宁添加量的增加, 薄膜自由基清除率提升, 尤其是塔拉单宁改性酪蛋白膜的自由基清除率较为高效。这可能是由于塔拉单宁与酪蛋白的连接力弱, 游离的塔拉单宁以填料的形式存在于薄膜中, 能够快速释放, 导致自由基清除效率飙升。杨梅单宁与酪蛋白通过多种形式进行交联, 分子连接紧密, 抗氧化性能弱于塔拉单宁改性酪蛋白薄膜, 这一结果可以与 2.6 节拉伸力学性能的结果相互印证。

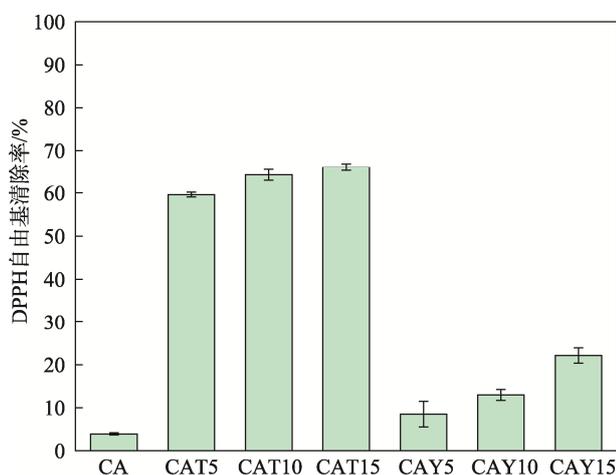


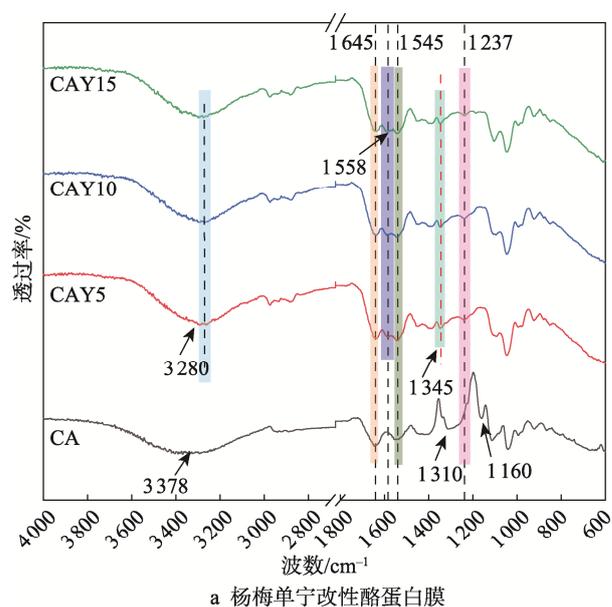
图 9 不同种类及添加量的单宁改性酪蛋白膜的 DPPH 自由基清除率

Fig.9 DPPH radical scavenging performance of casein-based membranes modified by different types and content of tannins

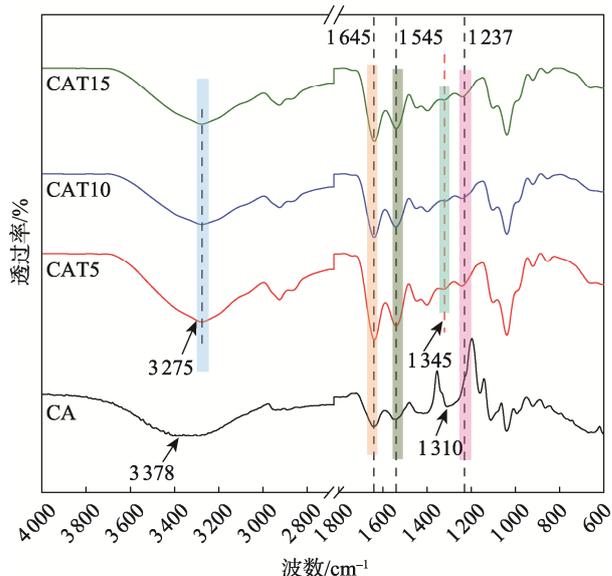
2.10 单宁改性酪蛋白膜的红外光谱分析

图 10 分别为不同添加量的塔拉单宁和杨梅单宁改性酪蛋白膜的傅里叶红外光谱图。酪蛋白膜 CA 中以 $3\ 378\ \text{cm}^{-1}$ 为中心的宽峰是 O—H 和 N—H 的伸缩振动特征峰, 该特征峰在 2 种单宁改性后的酪蛋白膜 CAT 和 CAY 分别偏移至 $3\ 275\ \text{cm}^{-1}$ 和 $3\ 280\ \text{cm}^{-1}$, 说明无论是塔拉单宁还是杨梅单宁和酪蛋白之间通过氢键作用形成了新的分子间作用力^[37]。酪蛋白特征峰中, $1\ 720\sim 1\ 600\ \text{cm}^{-1}$ 通常为酰胺 I 带, 是 C=O 的伸缩振动峰; 区间 $1\ 600\sim 1\ 480\ \text{cm}^{-1}$ 为酰胺 II 带, 为 N—H 弯曲振动峰; 酰胺 III 带通常在 $1\ 300\ \text{cm}^{-1}$ 附近, 为 N—H 的弯曲振动峰和 C—N 的伸缩振动峰^[38]。由图 10 可见, 2 种单宁改性后的酪蛋白在酰胺 I 带的特征峰没有明显变化, 主要对酰胺 II 带和酰胺 III 带的

特征峰产生影响, 如 CAT 在 $1\ 645\ \text{cm}^{-1}$ 特征峰强度增加, CAY 在 $1\ 558\ \text{cm}^{-1}$ 处出现新的特征峰; CA 在 $1\ 310\ \text{cm}^{-1}$ 处的特征峰消失, 在 CAT 和 CAY 谱图中出现 $1\ 237$ 和 $1\ 345\ \text{cm}^{-1}$ 特征峰, 这些特征峰的变化说明单宁影响了酪蛋白二级结构中的相互作用力^[39], 单宁通过非共价键(氢键、疏水键), 甚至共价键(单宁氧化与蛋白分子量中的氨基反应)与酪蛋白分子链形成交联结构, 增强了酪蛋白分子链间的作用力, 构建了更为稳定的膜结构。特别是杨梅单宁改性酪蛋白膜中出现的新特征峰, 说明杨梅单宁对酪蛋白膜分子链间的相互作用力更强, 由此也解释了为什么 CAY 具有更好的拉伸强度和热稳定性。



a 杨梅单宁改性酪蛋白膜



b 塔拉单宁改性酪蛋白膜

图 10 不同种类单宁改性酪蛋白膜红外光谱图

Fig.10 FTIR spectra of casein-based membranes modified by different tannins

3 结语

文中利用塔拉、杨梅 2 种植物单宁对酪蛋白膜进行改性, 并对薄膜性能进行了测试和表征, 添加了单宁改性的酪蛋白膜其遮光性能、紫外屏蔽能力、水蒸气阻隔能力、抗氧化性都明显增强。添加杨梅单宁的改性酪蛋白薄膜还具备更优异的拉伸力学性能及热稳定性, 杨梅单宁添加量为 15% 时, 改性酪蛋白膜材料表现出最优的拉伸力学性能、热稳定性、抗紫外能力和抗氧化性, 使其在食品保鲜和保存等方面有着广阔的市场前景。

参考文献:

- [1] 尹兴, 朱俊南, 陈林, 等. 可食性大豆分离蛋白膜的制备及其性能研究[J]. 包装工程, 2020, 41(23): 83-89. YIN Xing, ZHU Jun-nan, CHEN Lin, et al. Preparation and Properties of Edible Soy Protein Isolate Film[J]. Packaging Engineering, 2020, 41(23): 83-89.
- [2] WENG Wu-yin, ZHENG Hui-bin. Effect of Transglutaminase on Properties of Tilapia Scale Gelatin Films Incorporated with Soy Protein Isolate[J]. Food Chemistry, 2015, 169: 255-260.
- [3] 寻倩男, 雷桥, 包建强, 等. 明胶-酪蛋白酸钠可食性膜的包装性能研究[J]. 包装工程, 2013, 34(15): 40-45. XUN Qian-nan, LEI Qiao, BAO Jian-qiang, et al. Packaging Performance of Gelatin-Sodium Caseinate Edible Composite Film[J]. Packaging Engineering, 2013, 34(15): 40-45.
- [4] 王强, 彭林, 杜杰, 等. 醋酸对明胶-壳聚糖膜性质的影响及应用[J]. 包装工程, 2022, 43(3): 1-8. WANG Qiang, PENG Lin, DU Jie, et al. Effects of Acetic Acid on Properties of Gelatin-Chitosan Film and Its Application[J]. Packaging Engineering, 2022, 43(3): 1-8.
- [5] CHEVALIER E, ASSEZAT G, PROCHAZKA F, et al. Development and Characterization of a Novel Edible Extruded Sheet Based on Different Casein Sources and Influence of the Glycerol Concentration[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 75: 182-191.
- [6] 张巧苑. 可食性酪蛋白膜在食品保鲜中的应用[J]. 现代食品, 2017(19): 34-35. ZHANG Qiao-yuan. Application of Edible Casein Albuginea in Food Preservation[J]. Modern Food, 2017(19): 34-35.
- [7] LIU S, HUANG K, YU H, et al. Bioplastic Based on 1, 8-Octanediol-Plasticized Feather Keratin: A Material for Food Packaging and Biomedical Applications[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2018, 135(30): 46516.
- [8] MARQUIÉ C. Chemical Reactions in Cottonseed Protein Cross-Linking by Formaldehyde, Glutaraldehyde, and Glyoxal for the Formation of Protein Films with Enhanced Mechanical Properties[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(10): 4676-4681.
- [9] DURMAZ B U, AYTAC A. Preparation and Properties of Poly (Vinyl Alcohol)/Sodium Caseinate Blend Films Crosslinked with Glutaraldehyde and Glyoxal[J]. Journal of Polymer Engineering, 2021, 41(9): 808-817.
- [10] GHOSH A, ALI M A, DIAS G J. Effect of Cross-Linking on Microstructure and Physical Performance of Casein Protein[J]. Biomacromolecules, 2009, 10(7): 1681-1688.
- [11] VENTER P, PASCH H, VILLIERS A. Comprehensive Analysis of Tara Tannins by Reversed-Phase and Hydrophilic Interaction Chromatography Coupled to Ion Mobility and High-Resolution Mass Spectrometry[J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2019, 411(24): 6329-6341.
- [12] SUN Da-wang, ZHAO Zu-chun, WONG H, et al. Tannins and other Phenolics from Myrica Esculenta Bark[J]. Phytochemistry, 1988, 27(2): 579-583.
- [13] GIRARD A L, AWIKA J M. Effects of Edible Plant Polyphenols on Gluten Protein Functionality and Potential Applications of Polyphenol-Gluten Interactions[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2020, 19(4): 2164-2199.
- [14] GIRARD A L, TEFERRA T, AWIKA J M. Effects of Condensed vs Hydrolysable Tannins on Gluten Film Strength and Stability[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 36-43.
- [15] WANG L, LIU J, ZHANG W, et al. Biomimetic Soy Protein-Based Exterior-Use Films with Excellent UV-Blocking Performance from Catechol Derivative Acacia Mangium Tannin[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2021, 138(15): 50185.
- [16] LIAO Jing-jing, DENG Shuang-qi, ESSAWY H, et al. Investigation of Potential Use of Soybean Protein Isolate-Chinese Bayberry Tannin Extract Cross-Linked Films in Packaging Applications[J]. Materials (Basel, Switzerland), 2022, 15(15): 5260.
- [17] MOLINO S, CASANOVA N A, RUFÍAN H J Á, et al. Natural Tannin Wood Extracts as a Potential Food Ingredient in the Food Industry[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(10): 2836-2848.
- [18] GOMAA M, HIFNEY A F, FAWZY M A, et al. Use of Seaweed and Filamentous Fungus Derived Polysaccharides in the Development of Alginate-Chitosan Edible Films Containing Fucoidan: Study of Moisture Sorption, Polyphenol Release and Antioxidant Properties[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 239-247.
- [19] 穆凯宇, 杨昱姝, 刘佳欣, 等. 不同添加剂对酪蛋白可食膜理化性质的影响[J]. 中国食品学报, 2021,

- 21(10): 159-168.
- MU Kai-yu, YANG Yu-shu, LIU Jia-xin, et al. Effects of Different Additives on the Physicochemical Properties of Casein Edible Film[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(10): 159-168.
- [20] LIM M, KWON H, KIM D, et al. Highly-Enhanced Water Resistant and Oxygen Barrier Properties of Cross-Linked Poly(Vinyl Alcohol) Hybrid Films for Packaging Applications[J]. *Progress in Organic Coatings*, 2015, 85: 68-75.
- [21] EMMAMBUX M N, STADING M, TAYLOR J N. Sorghum Kafirin Film Property Modification with Hydrolysable and Condensed Tannins[J]. *Journal of Cereal Science*, 2004, 40(2): 127-135.
- [22] MA Xiao-fei, CHANG P R, YU Jiu-gao. Properties of Biodegradable Thermoplastic Pea Starch/Carboxymethyl Cellulose and Pea Starch/Microcrystalline Cellulose Composites[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 72(3): 369-375.
- [23] SONG X Z, ZHOU C J, FU F, et al. Effect of High-Pressure Homogenization on Particle Size and Film Properties of Soy Protein Isolate[J]. *Industrial Crops & Products*, 2013, 43: 538-544.
- [24] LU L X, XU F. Effect of Light-Barrier Property of Packaging Film on the Photo-Oxidation and Shelf Life of Cookies Based on Accelerated Tests[J]. *Packaging Technology and Science: An International Journal*, 2009, 22(2): 107-113.
- [25] SANTOS T M, SOUZA F M S M, MUNIZ C R, et al. Zein films with Unoxidized or Oxidized Tannic Acid[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(13): 4580-4587.
- [26] RODRIGUES D C, CUNHA A P, SILVA L M A, et al. Emulsion Films from Tamarind Kernel Xyloglucan and Sesame Seed Oil by Different Emulsification Techniques[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 77: 270-276.
- [27] GALUS S. Functional Properties of Soy Protein Isolate Edible Films as Affected by Rapeseed Oil Concentration[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 85: 233-241.
- [28] LI H, LIU B L, GAO L Z, et al. Studies on Bullfrog Skin Collagen[J]. *Food Chemistry*, 2004, 84(1): 65-69.
- [29] XING Qian-qiu, BUONO P, RUCH D, et al. Biodegradable UV-Blocking Films through Core-Shell Lignin-Melanin Nanoparticles in Poly(Butylene Adipate-Co-Terephthalate)[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2019, 7(4): 4147-4157.
- [30] LI J, JIANG S, WEI Y, et al. Facile Fabrication of Tough, Strong, and Biodegradable Soy Protein-Based Composite Films with Excellent UV-Blocking Performance[J]. *Composites Part B: Engineering*, 2021, 211: 108645.
- [31] 贾兆阳. 具有阻隔紫外线功能透明塑料材料在食品包装上的应用研究[J]. *包装工程*, 2006, 27(6): 31-33.
- JIA Zhao-yang. Application of Transparent UV Obstructing Plastic in Food-Packaging[J]. *Packaging Engineering*, 2006, 27(6): 31-33.
- [32] 邓依, 王维生, 刘文涛, 等. 天然植物单宁酸交联改性胶原膜[J]. *皮革科学与工程*, 2016, 26(6): 5-10.
- DENG Yi, WANG Wei-sheng, LIU Wen-tao, et al. Collagen Membrane Cross-Linked with a Natural Vegetable Agent, Tannic Acid[J]. *Leather Science and Engineering*, 2016, 26(6): 5-10.
- [33] HASLAM E. Plant Polyphenols: Vegetable Tannins Revisited[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1989: 10-11.
- [34] 张义. 不同交联剂对胶原蛋白可食膜性能的影响[D]. 天津: 天津科技大学, 2016: 28.
- ZHANG Yi. Effects of Different Crosslinking Agents on the Properties of Collagen Edible Films[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology, 2016: 28.
- [35] BARBOSA-PEREIRA L, AURREKOETXEA G P, ANGULO I, et al. Development of New Active Packaging Films Coated with Natural Phenolic Compounds to Improve the Oxidative Stability of Beef[J]. *Meat Science*, 2014, 97(2): 249-254.
- [36] CONWAY V, GAUTHIER S F, POULIOT Y. Antioxidant Activities of Buttermilk Proteins, Whey Proteins, and Their Enzymatic Hydrolysates[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(2): 364-372.
- [37] YAO Yi-jun, WANG Hong-ru, WANG Rui-rui, et al. Preparation and Characterization of Homogeneous and Enhanced Casein Protein-Based Composite Films via Incorporating Cellulose Microgel[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 1221.
- [38] DE MEUTTER J, GOORMAGHTIGH E. FTIR Imaging of Protein Microarrays for High Throughput Secondary Structure Determination[J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(8): 3733-3741.
- [39] WANG Qiong, LI Yin, SUN Fu-sheng, et al. Tannins Improve Dough Mixing Properties through Affecting Physicochemical and Structural Properties of Wheat Gluten Proteins[J]. *Food Research International*, 2015, 69(1): 64-71.