

刘琛,靖函之,黄渊,等.肌原纤维蛋白-壳聚糖可食性膜的制备工艺优化及结构表征[J].华中农业大学学报,2021,40(3):256-263.

DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.03.029

肌原纤维蛋白-壳聚糖可食性膜的制备 工艺优化及结构表征

刘琛,靖函之,黄渊,熊善柏,刘茹,杜红英

华中农业大学食品科学技术学院/国家大宗淡水鱼加工技术研发分中心(武汉),武汉 430070

摘要 为开发可生物降解的食品包装材料,以草鱼肌原纤维蛋白与壳聚糖为成膜原料制备可食性膜。以干燥温度、甘油含量、肌原纤维蛋白与壳聚糖体积配比为单因素,分别探究其对可食性膜厚度、机械性能(抗拉强度、断裂伸长率)、水蒸气透过性、溶解度以及色度的影响。在单因素优化结果的基础上,通过响应面 Box-Behnken 进行试验设计,研究各因素之间的交互作用。结果显示:3个因素均可对复合膜综合性能产生影响;肌原纤维蛋白/壳聚糖可食性膜的最佳制备工艺参数为:干燥温度 55℃、甘油质量分数 1.6%、成膜材料(肌原纤维蛋白:壳聚糖)体积配比 4.3:3.7,优化后的复合膜抗拉强度为 6.21 MPa,断裂伸长率为 68.67%,水蒸气透过性为 1.43×10^{-11} g/(m·s·Pa)。通过水接触角测定并采用 X 射线衍射仪与扫描电镜对可食膜进行结构表征,结果表明,肌原纤维蛋白与壳聚糖分子相容性良好并克服了单一组分机械强度差及亲水性高的缺点。

关键词 草鱼;肌原纤维蛋白;壳聚糖;可食性膜;复合蛋白膜;结构表征;水蒸气透过性;生物聚合物;生物降解膜

中图分类号 TS 254.1; TS 206.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2021)03-0256-08

近年来,化学合成的塑料薄膜在食品包装中的应用增长迅速,但由于其难降解,会导致“白色污染”等严重的环境问题^[1]。因此,寻求可生物降解的食品包装材料是目前研究的热点之一。生物聚合物由于具有防止香气成分损失、水分流失、氧气渗透、可食用与可生物降解等优点,逐渐可替代合成包装材料^[2-3]。

与多糖和脂质膜相比,蛋白膜具有更广泛的功能特性。我国水产资源丰富,具有良好的开发应用前景,来自淡水鱼的肌原纤维蛋白(FMP)是制备可食性蛋白膜的良好原料之一。草鱼是我国养殖产量较大的淡水鱼,是提取肌原纤维蛋白的较好来源。然而蛋白膜在潮湿环境中机械性能相对较差限制了其应用^[4],因此,需要通过对蛋白质改性以提高其机械性能与阻隔性能。利用壳聚糖(CS)与蛋白质混合增强薄膜的性能是当前蛋白质改性的有效方法之一^[5]。壳聚糖具有良好的成膜性、生物相容性、生物降解性、无毒、抗氧化性、抗菌性等优点,可制备成机械性能优良且具有功能特性的薄膜^[6-8]。壳聚糖能

改善蛋白膜的性能,杨艳玲^[9]将壳聚糖与胶原蛋白共混制备复合膜,结果表明随着壳聚糖含量的增加,共混材料的黏度逐渐减小,吸水率逐渐增加,共混膜的玻璃化转变温度比胶原蛋白和壳聚糖的都低,断面脆性较大;王耀松等^[10]将壳聚糖与乳清蛋白共混制备复合膜,结果表明壳聚糖在一定程度上改善了单一膜的性能。利用鱼肌原纤维蛋白来源的可食用膜包装水产品不会影响贮藏样品的风味特性,且复合膜水蒸气透过性低,保鲜作用较好并可生物降解。目前有关鱼肌原纤维蛋白制备可食性膜的研究报道较少。因此,本研究以肌原纤维蛋白和壳聚糖共混制备可食性膜,并通过单因素试验及响应面试验方法优化得到膜制备的最佳工艺条件,为肌原纤维蛋白基的可食性膜的研发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

草鱼,每尾体质量 2~3 kg,购自华中农业大学农贸市场。

收稿日期:2020-09-15

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31772047);中央高校基本科研业务费专项(2662019PY031)

刘琛,E-mail:592717440@qq.com

通信作者:杜红英,E-mail:hydu@mail.hzau.edu.cn

壳聚糖(分子质量 30 ku,脱乙酰度 $\geq 85\%$),上海晶纯试剂有限公司;磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、乙酸、甘油,以上试剂均为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

1750 型紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;Avanti J-26 XP 高速冷冻离心机,美国 Beckman Coulter 公司;HR7625 食品调理机,中国飞利浦家用电器有限公司;PB-10 Sartorius 标准型 pH 计,德国赛多利斯股份有限公司;岛津 X 射线衍射仪,岛津国际贸易(上海)有限公司;JSM-6390LV 扫描显微镜系统,日本 NTC 公司。

1.3 肌原纤维蛋白的提取

参考 Fan 等^[11]的方法提取草鱼肌原纤维蛋白,用 Lowry 法测定肌原纤维蛋白含量。

1.4 肌原纤维蛋白-壳聚糖复合膜的制备

参考 Nuanmano 等^[12]的方法并略作修改,用蒸馏水将提取的肌原纤维蛋白稀释至 2%,用 1 mol/L HCl 调节 pH 值至 3.0,3 000 r/min 离心 10 min,收集上清液。使用甘油作为增塑剂,室温下搅拌 30 min。将所得的溶液与 2%壳聚糖溶液混合,得到肌原纤维蛋白/壳聚糖复合膜成膜溶液。取 40 mL 成膜溶液倒入培养皿中,烘箱中干燥 16 h,揭膜即得肌原纤维蛋白/壳聚糖复合膜。

此外,各取 40 mL 2%肌原纤维蛋白和 2%壳聚糖,在工艺优化后的条件下,分别制备肌原纤维蛋白膜、壳聚糖膜与肌原纤维蛋白-壳聚糖复合膜,再进行性能测定。

1.5 单因素试验

1)干燥温度的影响。固定甘油质量分数 1.5%,成膜材料的肌原纤维蛋白和壳聚糖溶液的体积配比 4:4,改变干燥温度(30、40、50、60、70℃),按照本文“1.4 节”的方法制备复合膜,对膜进行性能测定。

2)甘油含量的影响。固定温度 50℃,成膜材料的肌原纤维蛋白和壳聚糖溶液的体积配比 4:4,改变甘油含量(0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%),按照本文“1.4 节”的方法制备复合膜,对膜进行性能测定。

3)成膜材料配比的影响。固定温度 50℃,甘油质量分数 1.5%,改变成膜材料的肌原纤维蛋白和壳聚糖溶液的体积配比(6:2、5:3、4:4、3:5、

2:6),按照本文“1.4 节”的方法制备复合膜,对膜进行性能测定。

1.6 响应面试验设计

在单因素试验的基础上,选择抗拉强度(Y_1)、断裂伸长率(Y_2)和水蒸气透过性(Y_3)为响应值,以温度(X_1)、甘油含量(X_2)和成膜材料配比(X_3)作为自变量,设计 3 因素 3 水平的响应面试验,因素水平设计见表 1。

表 1 响应面试验因素水平设计
Table 1 Response surface design experimental factor level and coding

水平 Level	X_1 温度/℃ Temperature	X_2 甘油/% Glycerin	X_3 肌原纤维蛋白: 壳聚糖 (V/V) MP:CS
-1	40	1.0	5:3
0	50	1.5	4:4
1	60	2.0	3:5

1.7 厚度的测定

采用接触法测定复合膜的厚度,用数显千分尺在复合膜表面四角各取 1 点,中央取 1 点,共 5 个点测定膜厚度,取平均值,单位为 mm,膜厚用于衡量复合膜的其他性能。

1.8 机械性能的测定

将薄膜裁剪成 50 mm×20 mm 矩形样品,置于温度 25℃、相对湿度 50%的恒温恒湿箱内平衡 12 h,测定其抗拉强度(TS)和断裂伸长率(EB),设定探头测定速率与初始夹距长度分别为 2.00 mm/s 和 30 mm,重复 3 次,取平均值^[13]。

1.9 水蒸气透过性的测定

根据 GB 1037—1988《塑料薄膜和片材透水蒸气性试验方法杯式法》测定水蒸气透过系数,单位为 g/(m·s·Pa),测定 3 组数据,取平均值。

1.10 溶解度的测定

将薄膜裁剪成 4 cm×4 cm 的矩形样品,105℃干燥 24 h,得到初始干物质质量 W_i 。将烘干至恒质量后的薄膜浸入 50 mL 蒸馏水中。充分吸附 24 h 后,过滤剩余部分的薄膜。将这些部分干燥至恒质量 W_f 。

1.11 色度与透光率的测定

用色差计对膜的色度进行测定,记录色差计显示的 L 值、 a 值和 b 值。其中, L 值代表白度,指样品的透明情况; a 值为正代表样品偏红,为负代表样品偏绿; b 值为正代表样品偏黄,为负代表样品偏

蓝。取膜的不同位置进行测定,每个样品取 7 个位置进行测定,计算其平均值。

膜的透光率利用紫外-分光光度计测量复合膜在 600 nm 处的吸光度,每个样品重复 5 次。

1.12 水接触角的测定

膜的表面疏水性在室温下通过 VCA optima XE 接触角测量仪测量水接触角。将 5 μ L 的蒸馏水滴到薄膜表面,并使用测角仪自动计算接触角。每个样品进行 5 次测量并取平均值。

1.13 X 射线衍射光谱测定

使用 X 射线衍射仪在 40 kV 的电压和 100 mA 的电流下记录样品的 XRD 图。扫描速率为 5 $^{\circ}$ /min,扫描范围从 10 $^{\circ}$ ~35 $^{\circ}$ [14]。

1.14 扫描电子显微镜表面形态观察

膜的微观结构采用扫描电子显微镜观察,加速

电压为 10 kV,取 1 cm $\times$ 1 cm 表面平整均匀的薄膜用于扫描电镜的观察[15]。

1.15 数据分析及处理

采用 Excel 软件进行数据统计,应用 Origin 2018 软件作图,结果以“平均值 $\pm$ 标准差”表示,在 $\alpha=0.05$ 水平进行显著性差异分析。

2 结果与分析

2.1 干燥温度对复合膜性能的影响

如表 2 所示,随着干燥温度的升高,复合膜的厚度有所降低,抗拉强度逐渐增加,断裂伸长率降低,水蒸气透过率和溶解度均降低。此外,干燥温度对复合膜的色泽有一定影响,如表 3 所示,随着温度的升高,复合膜的 L 值降低且透光率降低,表明薄膜颜色变暗, a 值和 b 值的增加表明膜的颜色趋于更

表 2 不同干燥温度条件下复合膜性能
Table 2 Film properties at different temperature

温度/ $^{\circ}$ C Temperature	厚度/ μ m Thickness	抗拉强度/Mpa Tensile strength	断裂伸长率/% Elongation at break	水蒸气透过性/ (g/(m $\cdot$ s $\cdot$ Pa)) Water vapor permeability	溶解度/% Solubility	透光率/% Transmittance
30	75.24 $\pm$ 5.40a	4.95 $\pm$ 0.15e	78.02 $\pm$ 1.58a	2.66 $\pm$ 0.08a	22.29 $\pm$ 0.70a	76.03 $\pm$ 0.66a
40	71.32 $\pm$ 3.50b	5.83 $\pm$ 0.15d	72.17 $\pm$ 3.51b	2.21 $\pm$ 0.17b	19.87 $\pm$ 1.40b	74.03 $\pm$ 0.55b
50	69.67 $\pm$ 5.10b	6.44 $\pm$ 0.07c	65.54 $\pm$ 2.93c	1.65 $\pm$ 0.06c	17.85 $\pm$ 1.20c	72.06 $\pm$ 0.57c
60	69.32 $\pm$ 4.40b	7.21 $\pm$ 0.12b	56.37 $\pm$ 3.31d	1.31 $\pm$ 0.06d	16.86 $\pm$ 1.20d	69.6 $\pm$ 1.50d
70	67.56 $\pm$ 5.60c	8.68 $\pm$ 0.40a	40.95 $\pm$ 2.92e	1.21 $\pm$ 0.08e	15.11 $\pm$ 0.70e	68.7 $\pm$ 0.70de

注:同列不同字母表示显著性差异($P<0.05$)。下同。Note: The different letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$). The same as below.

表 3 干燥温度对复合膜色度的影响
Table 3 Effects of temperature on the color of the composite films

温度/ $^{\circ}$ C Temperature	L 值 L value	a 值 a value	b 值 b value
30	94.19 $\pm$ 0.04a	1.04 $\pm$ 0.02a	6.25 $\pm$ 0.28d
40	93.80 $\pm$ 0.45a	1.37 $\pm$ 0.02b	9.08 $\pm$ 0.40c
50	92.56 $\pm$ 0.19b	1.82 $\pm$ 0.03c	10.19 $\pm$ 1.08b
60	91.68 $\pm$ 0.57c	2.18 $\pm$ 0.04d	11.41 $\pm$ 0.07a
70	91.12 $\pm$ 0.17c	2.35 $\pm$ 0.04e	12.43 $\pm$ 0.51a

红和更黄。综上所述,干燥温度为 50 $^{\circ}$ C 时,复合膜综合性能最佳。

2.2 甘油含量对复合膜性能的影响

如表 4 所示,随着甘油含量的增加,复合膜的厚度略有增加,抗拉强度降低,断裂伸长率增加,水蒸

气透过性和溶解度均增加。如表 5 所示,甘油含量对复合膜的色泽和透光率几乎没有影响,这是由于甘油本身无色透明且具有良好的相容性。综上所述,甘油质量分数为 1.5% 时,复合膜综合性能最佳。

表 4 不同甘油含量下的复合膜性能

Table 4 Film properties at different glycerin concentrations

甘油/% Glycerin	厚度/ μm Thickness	抗拉强度/ MPa Tensile strength	断裂伸长率/% Elongation at break	水蒸气透过性/ ($\text{g}/(\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa})$) Water vapor permeability	溶解度/% Solubility	透光率/% Transmittance
0.5	66.64 $\pm$ 4.80c	8.06 $\pm$ 0.16a	42.94 $\pm$ 2.23e	2.22 $\pm$ 0.07b	15.21 $\pm$ 1.20d	71.17 $\pm$ 0.34a
1.0	67.49 $\pm$ 4.40c	7.22 $\pm$ 0.10b	53.49 $\pm$ 1.84d	1.93 $\pm$ 0.05c	16.24 $\pm$ 1.80d	71.59 $\pm$ 0.40a
1.5	69.67 $\pm$ 5.10b	6.53 $\pm$ 0.12c	69.17 $\pm$ 1.06c	1.66 $\pm$ 0.01d	17.85 $\pm$ 1.20c	72.06 $\pm$ 0.57a
2.0	71.43 $\pm$ 3.40ab	5.61 $\pm$ 0.20d	83.75 $\pm$ 3.34b	2.23 $\pm$ 0.05b	19.13 $\pm$ 1.40b	72.34 $\pm$ 1.40a
2.5	72.31 $\pm$ 6.20a	4.72 $\pm$ 0.15e	95.41 $\pm$ 3.83a	2.51 $\pm$ 0.08a	21.83 $\pm$ 1.70a	72.46 $\pm$ 0.70a

表 5 甘油含量对复合膜色度的影响

Table 5 The effect of glycerin concentration on the color of composite films

甘油/% Glycerin	L 值 L value	a 值 a value	b 值 b value
0.5	93.19 $\pm$ 0.48a	1.22 $\pm$ 0.15a	8.54 $\pm$ 0.66b
1.0	92.53 $\pm$ 0.17ab	1.63 $\pm$ 0.21b	9.80 $\pm$ 0.37ab
1.5	92.89 $\pm$ 0.42ab	1.50 $\pm$ 0.06ab	10.80 $\pm$ 0.37ab
2.0	93.27 $\pm$ 0.15a	1.46 $\pm$ 0.16ab	11.15 $\pm$ 0.69a
2.5	93.30 $\pm$ 0.37a	1.57 $\pm$ 0.16b	11.82 $\pm$ 2.74a

2.3 成膜材料对比对复合膜性能的影响

复合膜的性能与基质的类别和含量密切相关。如表 6 所示,随着壳聚糖占比的增加,复合膜厚度增加,抗拉强度处于先上升后略微下降的趋势,而断裂伸长率逐渐降低。当 FMP : CS 为 4 : 4 时,薄膜的

抗拉强度最大,水蒸气透过性呈先降低后升高趋势,溶解度增加。如表 7 所示,随着成膜材料配比中壳聚糖占比的增加, L 值越低,表明薄膜变暗, a 值和 b 值的增加表明膜的颜色明显更红和更黄。这可能是由于壳聚糖溶液的颜色偏黄,所以随着壳聚糖溶液

表 6 成膜材料不同配比下的复合膜性能

Table 6 Film properties under different ratios of film-forming materials

成膜材料配比 (V/V) Film-forming material ratio	厚度/ μm Thickness	抗拉强度/ MPa Tensile strength	断裂伸长率/% Elongation at break	水蒸气透过性/ ($\text{g}/(\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa})$) Water vapor permeability	溶解度/% Solubility	透光率/% Transmittance
6 : 2	55.12 $\pm$ 3.90e	2.85 $\pm$ 0.19d	97.65 $\pm$ 3.93a	2.22 $\pm$ 0.10b	11.25 $\pm$ 0.50e	76.15 $\pm$ 1.36a
5 : 3	61.45 $\pm$ 3.50d	4.91 $\pm$ 0.31c	85.58 $\pm$ 6.72b	1.92 $\pm$ 0.06c	13.16 $\pm$ 0.40d	74.25 $\pm$ 1.36b
4 : 4	69.67 $\pm$ 5.10c	6.49 $\pm$ 0.24a	69.45 $\pm$ 1.67c	1.63 $\pm$ 0.10d	17.85 $\pm$ 1.20c	72.06 $\pm$ 0.57c
3 : 5	74.42 $\pm$ 6.70b	6.21 $\pm$ 0.06ab	53.91 $\pm$ 7.4d	2.13 $\pm$ 0.08b	19.06 $\pm$ 0.90b	68.24 $\pm$ 0.70d
2 : 6	78.45 $\pm$ 7.50a	6.05 $\pm$ 0.09b	38.63 $\pm$ 5.05e	2.72 $\pm$ 0.08a	22.52 $\pm$ 1.20a	65.14 $\pm$ 1.40e

表 7 成膜材料不同对比对复合膜色度的影响

Table 7 Effect of films-forming material ratio on color of composite films

成膜材料配比(V/V) Film-forming material ratio	L 值 L value	a 值 a value	b 值 b value
6 : 2	93.64 $\pm$ 0.27a	1.61 $\pm$ 0.06a	9.64 $\pm$ 0.26c
5 : 3	93.29 $\pm$ 0.21a	1.60 $\pm$ 0.11a	9.35 $\pm$ 0.69c
4 : 4	92.56 $\pm$ 0.19b	1.82 $\pm$ 0.03b	10.80 $\pm$ 0.37c
3 : 5	91.38 $\pm$ 0.62c	2.25 $\pm$ 0.12c	15.33 $\pm$ 1.29b
2 : 6	89.94 $\pm$ 0.15d	2.49 $\pm$ 0.14d	18.46 $\pm$ 1.17a

的增多,薄膜颜色明显改变。这一变化与薄膜透光率降低的表现相一致。综上所述,肌原纤维蛋白和壳聚糖体积比为 4 : 4 时,最适宜制备复合膜。

2.4 响应面试验设计与结果

由单因素试验结果分析可知,成膜材料配比 (FMP : CS)、甘油含量、干燥温度对可食膜的机械性能、水蒸气透过性均有显著影响,故以温度(X_1)、甘油含量(X_2)、成膜材料配比(X_3)为试验因素,以抗拉强度(Y_1)、断裂伸长率(Y_2)、水蒸气透过性(Y_3)为响应值,建立响应面优化试验,试验结果见表 8。

表 8 响应面试验设计及结果
Table 8 Variance analysis of response surface test

序号	$X_1/^\circ\text{C}$	$X_2/\%$	$X_3/(\text{V/V})$	Y_1/MPa	$Y_2/\%$	$Y_3/(\text{g}/(\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa}))$
1	50.00	1.00	5 : 3	5.349 5	72.957	2.434 8
2	50.00	1.50	4 : 4	6.318 5	67.143	1.677 5
3	40.00	1.50	5 : 3	4.348 0	87.308	2.440 0
4	50.00	1.50	4 : 4	6.343 0	68.823	1.686 5
5	50.00	1.50	4 : 4	6.417 0	70.173	1.665 6
6	60.00	1.50	5 : 3	5.909 5	67.368	1.463 4
7	40.00	2.00	4 : 4	5.071 5	83.102	2.650 6
8	40.00	1.50	3 : 5	6.027 5	63.907	2.669 2
9	50.00	2.00	5 : 3	4.513 5	89.152	2.640 9
10	50.00	1.00	3 : 5	5.973 0	46.588	2.757 8
11	50.00	1.50	4 : 4	6.397 0	68.023	1.655 6
12	50.00	2.00	3 : 5	5.578 5	71.086	2.865 1
13	60.00	1.00	4 : 4	6.905 5	46.840	1.570 9
14	40.00	1.00	4 : 4	5.874 5	65.390	2.584 5
15	60.00	2.00	4 : 4	5.946 5	71.055	1.703 1
16	60.00	1.50	3 : 5	5.904 5	45.790	1.733 1
17	50.00	1.50	4 : 4	6.218 5	69.143	1.687 5

利用 Design-Expert 软件对表 8 中的试验数据进行回归拟合,建立回归模型与显著性分析,获得复合膜的 3 个性能指标的回归方程,如表 9 所示。

由表 9 可见,3 个响应值的回归模型均极显著 ($P<0.000\ 1$),且 3 个模型的失拟项均大于 0.05,这表

明 3 个模型失拟项不显著,能较好地描述试验结果。3 个回归模型的决定系数 R^2 分别为 0.988 2、0.995 1、0.999 3,这表明该模型拟合度较好,同时,这 3 个模型均具有较低的离散系数($\text{CV}=1.91\%、1.96\%、0.98\%$),说明整个试验具有较好的精确度和可靠性。

表 9 各因素对肌原纤维蛋白-壳聚糖复合膜性能影响的最佳拟合方程表
Table 9 The best fitting equations for the influence of various factors on the performance of myofibrillar protein/chitosan composite films

拟合方程 Fitting equation	F 值 F value	P 值 P value	失拟项 Lack of fit	R^2	$\text{CV}/\%$
$Y_1 = -2.6013 - 0.0172X_1 + 4.0232X_2 + 3.3543X_3 - 7.8000 \times 10^{-3}X_1X_2 + 0.0421X_1X_3 - 0.2208X_2X_3 - 9.7775 \times 10^{-4}X_1^2 - 1.1661X_2^2 - 0.6937X_3^2$	64.99	$<0.000\ 1$	0.132 7	0.988 2	1.91
$Y_2 = -33.4177 + 1.7947X_1 + 10.2759X_2 + 16.5567X_3 + 0.3252X_1X_2 - 0.0456X_1X_3 - 4.1518X_2X_3 - 0.0296X_1^2 + 3.5763X_2^2 + 0.3908X_3^2$	156.93	$<0.000\ 1$	0.283 0	0.995 1	1.96
$Y_3 = 15.2719 + 0.0234X_1 - 6.5406X_2 - 3.9509X_3 + 3.3015 \times 10^{-3}X_1X_2 - 1.0125 \times 10^{-3}X_1X_3 + 0.0494X_2X_3 - 7.2771 \times 10^{-4}X_1^2 + 2.1020X_2^2 + 0.4746X_3^2$	1 107.10	$<0.000\ 1$	0.108 8	0.999 3	0.98

采用 Design-Expert 软件,得出最佳的制膜工艺为:温度为 55.24 $^\circ\text{C}$ 、甘油含量为 1.63%、成膜材料配比为 4.33 : 3.67,此时通过模型预测可食膜的抗拉强度为 6.26 MPa,断裂伸长率为 69.79%,水蒸气透过性为 $1.46 \times 10^{-11} \text{ g}/(\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa})$ 。为了保证进一步试验结果的准确性,对预测结果进行了验证,为了便于实际操作,取温度 55 $^\circ\text{C}$,甘油质量分数 1.6%,成膜材料配比 4.3 : 3.7,此条件下对预测结果进行验证。验证试验结果为:抗拉强度 6.21 MPa,抗拉强度为 68.67%,水蒸气透过性为 $1.43 \times 10^{-11} \text{ g}/(\text{m}\cdot\text{s}\cdot\text{Pa})$ 。与预测结果相近,说明试验结果可用。

2.7 水接触角

在食品包装中,润湿性是较为常见的特性,可进行水接触角测定以衡量薄膜的亲水/疏水性。如图 1 所示,所有薄膜的接触角均小于 90°,表明这 3 种薄膜均有一定的亲水性。CS 膜的接触角最低,这表明 CS 膜的亲水性最高,FMP/CS 复合膜的接触角高于 CS 膜,这表明 FMP/CS 复合后能在一定程度

上降低CS膜的高亲水性,从而对水蒸汽阻隔性起到改善作用。

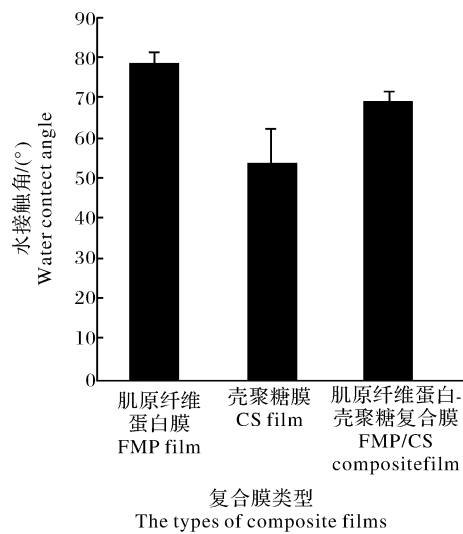


图1 不同类型薄膜的水接触角

Fig.1 Water contact angle of different types of films

2.6 X射线衍射分析

为了对FMP膜、CS膜与FMP/CS复合膜的晶体结构进行初步探究,进行了X射线衍射分析。如图2所示,FMP膜在 $2\theta = 10^\circ$ 与 $2\theta = 21^\circ$ 出现衍射峰,CS具有无定形的结构,在 $2\theta = 21^\circ$ 左右处有较宽

的单峰出现。FMP/CS复合膜在 $2\theta = 21^\circ$ 出现衍射峰,且衍射峰强度最低,与FMP膜相比, $2\theta = 10^\circ$ 处的峰消失,这是与分子间氢键以及复合膜的有序结构形成有关,表明FMP与CS成膜基材的混溶性良好。

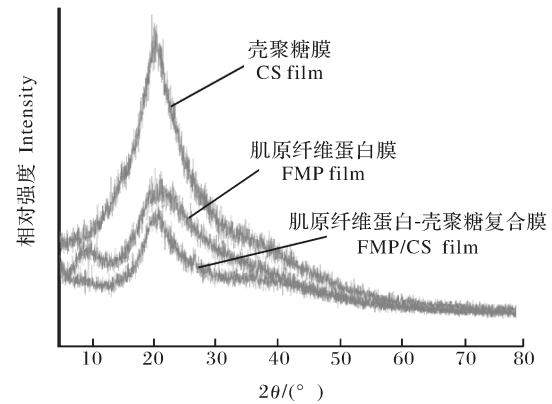
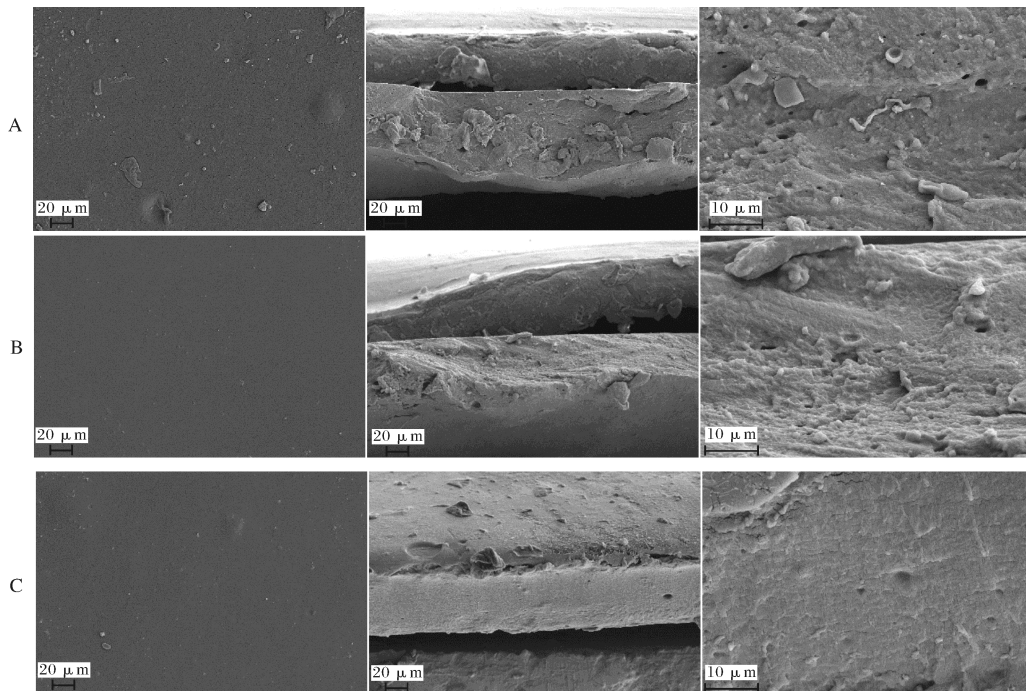


图2 不同类型薄膜的X射线衍射图

Fig.2 X-ray diffraction patterns of different types of films

2.7 扫描电子显微镜下复合膜形态结构分析

薄膜的内部微观结构取决于不同薄膜组分的相容性与相互作用,这会直接影响薄膜的机械性能与阻隔性能。图3显示了3种薄膜的表面与截面形态图。从表面形态图可以看出,FMP薄膜表面有少



1.FMP膜; B.CS膜; C.FMP/CS复合膜。A. Myofibrillar protein film; B. Chitosan film; C. Myofibrillar protein/chitosan composite film.

图3 不同类型薄膜的表面和截面的扫描电镜图

Fig.3 SEM images of the surface and cross-section of different types of films

许“突起”,整体相对光滑;CS膜与FMP/CS膜表面均光滑均匀,没有孔或裂纹,这表明薄膜均形成了有序基质,肌原纤维蛋白、壳聚糖、甘油三者间的相容性良好。从截面形态图可以看出,FMP截面有些许小孔,结合水接触角与水蒸气透过性的结果来看,虽然FMP膜的亲水性较低,薄膜却仍然有着较高的水蒸气透过性,这可能由于薄膜内部小孔的存在,促进了水分子的扩散。FMP/CS复合膜的横截面较致密,几乎没有小孔,这可能是由于肌原纤维蛋白与壳聚糖分子的氢键相互作用有关。

3 讨论

以草鱼肌原纤维蛋白-壳聚糖为成膜基质,甘油为增塑剂制备复合膜,通过响应面试验优化方法得到了具有良好机械性能与水蒸气阻隔性能薄膜的最佳工艺配方。结果表明,干燥温度、甘油含量、肌原纤维蛋白与壳聚糖配比均对复合膜性能影响显著,不同条件间的交互作用对复合膜的性能有着显著影响。

当干燥温度较低时,水分蒸发速率较慢,干燥所需时间较长,导致复合膜基质形成非晶区,促进了分子内部重排和亲水基团的残留^[16],聚合物网络会吸收更多的水并溶胀,复合膜厚度增加。此外,水分会起到一定的增塑作用,从而使得复合膜的抗拉强度较低。相反,较高的温度有利于氨基酸基团舒展,并产生了更开放的结构,提高了肌原纤维蛋白与壳聚糖分子的运动速率,促进了蛋白质与壳聚糖分子之间的交联,使得膜结构趋于致密,刚性增强,断裂伸长率降低。水蒸气透过性和水分含量密切相关,一般而言,水分含量越多,水蒸气透过性越大。由于温度升高可以促进肌原纤维蛋白与壳聚糖分子之间的美拉德反应,使水溶性与透光率降低且随着温度的升高,水分活度逐渐趋于美拉德反应的最适水分活度。此外,随着美拉德反应程度的增大,使可食性膜的颜色加深,这一变化与透光率降低的原因相一致。

由于甘油是亲水性小分子,可以在大分子网络中起到填充作用,随着甘油含量的增加,膜的水蒸气透过性呈现先减少后增大的趋势。高含量的甘油破坏了分子链之间的相互作用,这导致分子链间距增加并形成较松散的网络,使肌原纤维蛋白-壳聚糖基质中引入了更多的自由体积,导致了复合膜变厚且增加了薄膜的透湿性。此外,薄膜溶解度显著增大,透光率几乎不变。这可能是由于甘油是亲水性分子,过多的甘油会从薄膜内部溢出。

成膜基质对薄膜机械性能的影响可能是壳聚糖和肌原纤维蛋白的结合位点有限,壳聚糖占比增加到一定程度时,二者的结合趋向饱和,使抗拉强度增大,壳聚糖占比继续增加时,抗拉强度并未明显增加,这可能是壳聚糖含量过多,复合膜的厚度有所增加,且作用位点并未增加,使二者无法充分结合。而断裂伸长率的降低是由于随着壳聚糖含量的增加分子间的作用力由壳聚糖主导。综上所述,复合膜很好地改善单一肌原纤维蛋白膜机械性能差的缺点。此外,当肌原纤维蛋白分子较多时,多余的分子以游离的形式存在,水蒸气透过性较高,当二者比例合适时,2种分子充分结合,填充在各自的网络结构中,使得复合膜结构紧密。

此外,水接触角、X射线衍射图与扫描电镜图结果均表明,肌原纤维蛋白分子与壳聚糖分子混合后可以改善可食性膜亲水性高的劣势,且肌原纤维蛋白分子与壳聚糖分子间的相容性良好。

参考文献 References

- [1] MUSCAT D, ADHIKARI B, ADHIKARI R, et al. Comparative study of film forming behaviour of low and high amylose starches using glycerol and xylitol as plasticizers[J]. Journal of food engineering, 2012, 109(2): 189-201.
- [2] PERSIN Z, STANA-KLEINSCHKE K, FOSTER T J, et al. Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: the EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care[J]. Carbohydrate polymers, 2011, 84(1): 22-32.
- [3] HOMEZ-JARA A, DAZA L D, AGUIRRE D M, et al. Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures[J]. International journal of biological macromolecules, 2018, 113: 1233-1240.
- [4] 张慧芸, 吴静娟, 段续. 添加多酚对鲤鱼肌原纤维蛋白结构及膜性能的影响[J]. 食品科学, 2016, 37(5): 35-40. ZHANG H Y, WU J J, DUAN X. Effect of polyphenolic compounds on protein structure and film properties of common carp myofibrillar protein[J]. Food science, 2016, 37(5): 35-40 (in Chinese with English abstract).
- [5] MUJTABA M, MORSI R E, KERCH G, et al. Current advancements in chitosan-based film production for food technology: a review[J]. International journal of biological macromolecules, 2019, 121: 889-904.
- [6] VILELA C, PINTO R J B, COELHO J, et al. Bioactive chitosan/ellagic acid films with UV-light protection for active food packaging[J]. Food hydrocolloids, 2017, 73: 120-128.
- [7] USMAN A, ZIA K M, ZUBER M, et al. Chitin and chitosan based polyurethanes: a review of recent advances and prospective biomedical applications[J]. International journal of biologi-

- cal macromolecules, 2016, 86: 630-645.
- [8] HAMED I, ÖZOGUL F, REGENSTEIN J M. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): a review[J]. Trends in food science & technology, 2016, 48: 40-50.
- [9] 杨艳玲. 胶原蛋白/壳聚糖共混材料的制备及性能研究[J]. 化工时刊, 2017, 31(5): 1-4. YANG Y L. Preparation and properties study of collagen/chitosan blend materials[J]. Chemical industry times, 2017, 31(5): 1-4 (in Chinese with English abstract).
- [10] 王耀松, 赵黎明, 吴艳清. 壳聚糖/乳清蛋白复合可食性膜的物理性能研究[J]. 食品与机械, 2015, 31(6): 7-10, 78. WANG Y S, ZHAO L M, WU Y Q. Physical properties of edible composite films based on chitosan and whey protein isolate[J]. Food and machinery, 2015, 31(6): 7-10, 78 (in Chinese with English abstract).
- [11] FAN M C, HU T, ZHAO S M, et al. Gel characteristics and microstructure of fish myofibrillar protein/cassava starch composites[J]. Food chemistry, 2017, 218: 221-230.
- [12] NUANMANO S, PRODPRAN T, BENJAKUL S. Potential use of gelatin hydrolysate as plasticizer in fish myofibrillar protein films[J]. Food hydrocolloids, 2015, 47: 61-68.
- [13] YANG K, DANG H, LIU L, et al. Effect of syringic acid incorporation on the physical, mechanical, structural and antibacterial properties of chitosan film for quail eggs preservation[J]. International journal of biological macromolecules, 2019, 141: 876-884.
- [14] HAN Y Y, YU M, WANG L J. Preparation and characterization of antioxidant soy protein isolate films incorporating licorice residue extract[J]. Food hydrocolloids, 2018, 75: 13-21.
- [15] SILVA K S, FONSECA T M R, AMADO L R, et al. Physicochemical and microstructural properties of whey protein isolate-based films with addition of pectin[J]. Food packaging and shelf life, 2018, 16: 122-128.
- [16] JARA A K H, DAZA L D, AGUIRRE D M, et al. Characterization of chitosan edible films obtained with various polymer concentrations and drying temperatures[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 113: 1233-1240.

Preparation process optimization and structure characterization of myofibrillar protein/chitosan edible film

LIU Chen, JING Hanzhi, HUANG Yuan, XIONG Shanbai, LIU Ru, DU Hongying

*College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University/
National R&D Branch Center for Conventional Freshwater Fish Processing (Wuhan),
Wuhan 430070, China*

Abstract Grass carp myofibrillar protein and chitosan were used as film forming materials to prepare edible film. Taking the drying temperature, the concentration of the glycerol, the ratio of myofibrillar protein and chitosan as single factors, the effects were explored on the edible film thickness, mechanical properties (tensile strength, elongation at break), water vapor permeability, solubility and chromaticity. The response surface Box-Behnken analysis was designed to study the interaction between the factors according to the results of single factor experiments. The results showed that the optimum technological conditions were as follows: drying temperature 55 °C, glycerin content 1.6%, film forming material ratio (myofibrillar protein : chitosan) 4.3 : 3.7 (V/V). The optimized composite membrane tensile strength is 6.21 MPa, elongation at break is 68.67%, water vapor permeability is 1.43×10^{-11} g/(m · s · Pa). The edible film was characterized by water contact angle, X-ray diffraction and scanning electron microscopy. The results showed that the myofibrillar protein had good molecular compatibility with chitosan and overcame the disadvantages of poor mechanical strength and high hydrophilicity of single component. The results could provide a new idea for the study of edible membrane and expand the application range of low-value fish protein.

Keywords grass carp; myofibrillar protein; chitosan; edible film; composite protein film; structure characterization; water vapor permeability; biopolymer; biodegradation film

(责任编辑:赵琳琳)