

无机纳米粒子增强大豆蛋白膜功能特性的比较

胡婧瑶¹, 李丹², 王明月¹, 王思琪¹, 张婉慧¹, 张嘉欣¹, 王喜泉², 郑环宇^{1,2*}

(1. 东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

(2. 黑龙江省绿色食品科学研究院, 国家大豆工程技术研究中心, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要: 大豆分离蛋白作为完全可降解性的生物聚合物, 无抗菌性、机械性能及阻隔性能差限制了其在包装领域中的应用, 该研究通过将纳米 ZnO 和纳米 TiO₂ 分别加入大豆分离蛋白 (Soy Protein Isolate, SPI) 中制备 SPI/纳米 ZnO 复合膜和 SPI/纳米 TiO₂ 复合膜, 并对复合膜的包装特性进行比较, 确定一种更有利于提升大豆分离蛋白基薄膜相关性能的纳米材料。分析结果表明: 纳米 ZnO 在 SPI 膜液中的分散性优于纳米 TiO₂ 在 SPI 膜液中的分散性, 纳米 ZnO 和大豆蛋白的相容性更好, 且成膜后能更好的发挥协同作用, SPI/纳米 ZnO 复合膜较 SPI/纳米 TiO₂ 复合膜的机械性能、阻隔性能和抗菌性能更为突出 ($P<0.05$)。纳米 ZnO 和大豆蛋白以 3% 的质量比制备复合膜时, SPI/纳米 ZnO (SZ3) 复合膜相比较于 SPI 膜, 拉伸强度从 6.64 MPa 升至 18.33 MPa, 水蒸气透过率从 $20.63\times 10^{-2} \text{ g}\cdot\text{mm}/(\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa})$ 降至 $2.94\times 10^{-2} \text{ g}\cdot\text{mm}/(\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa})$, 氧气透过率从 $3.32\times 10^{-5} \text{ g}\cdot\text{m}/(\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{kPa})$ 降至 $1.54\times 10^{-5} \text{ g}\cdot\text{m}/(\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{kPa})$ 。此外, 复合膜对大肠杆菌和短小芽孢杆菌表现出优异的抗菌性能, 抑菌性随着纳米粒子的添加呈上升趋势, 在活性包装应用中具有极大潜力。以上研究结果将为大豆蛋白基薄膜的未来应用提供理论参考。

关键词: 大豆蛋白膜; 纳米 ZnO; 纳米 TiO₂; 机械性能; 抗菌性能

文章编号: 1673-9078(2023)10-244-252

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.10.1350

Comparison of the Functional Properties of Soy Protein Isolate Films Enhanced by Inorganic Nanoparticles

HU Jingyao¹, LI Dan², WANG Mingyue¹, WANG Siqi¹, ZHANG Wanhui¹, ZHANG Jiaxin¹, WANG Xiquan², ZHENG Huanyu^{1,2*}

(1. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China) (2. Heilongjiang Academy of Green Food Science, National Research Center of Soybean Engineering and Technology, Harbin 150030, China)

Abstract: Soybean protein isolate (SPI) is a biodegradable biopolymer. However, its application in the packaging industry has been limited by its lack of antibacterial properties, poor mechanical performances, and deficient barrier properties. SPI/nano-ZnO (SZ) and SPI/nano-TiO₂ (ST) composite films were prepared herein by the addition of different amounts of nano-ZnO and nano-TiO₂ to SPI. Furthermore, various packaging properties of the composite films were compared to identify the nanomaterial more conducive to enhancing the properties of SPI films. The results showed that the dispersity of nano-ZnO in the SPI film solution was superior to that of nano-TiO₂. Moreover, Nano-ZnO exhibits better compatibility with SPI and superior synergistic effects. The mechanical performance, barrier properties, and antibacterial properties of SZ composite films were also superior to those of their ST counterparts ($P<0.05$). Compared to the SPI film, the SZ3 composite film, containing 3% ZnO, showed a higher tensile strength. More specifically, tensile strength increased from 6.64 MPa to 18.33 MPa. Meanwhile, the water vapor permeability (WVP) decreased from 20.63×10^{-2} to $2.94\times 10^{-2} \text{ g}\cdot\text{mm}/(\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa})$, and the oxygen permeability (OP) reduced from 3.32×10^{-5} to $1.54\times 10^{-5} \text{ g}\cdot\text{m}/(\text{m}^2\cdot\text{d}\cdot\text{kPa})$. In addition, the composite films exhibited excellent antibacterial performance against

引文格式:

胡婧瑶, 李丹, 王明月, 等. 无机纳米粒子增强大豆蛋白膜功能特性的比较[J]. 现代食品科技, 2023, 39(10): 244-252

HU Jingyao, LI Dan, WANG Mingyue, et al. Comparison of the functional properties of soy protein isolate films enhanced by inorganic nanoparticles [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(10): 244-252

收稿日期: 2022-10-25

基金项目: 黑龙江省“百千万”工程科技重大专项课题 (2021ZX12B04-04); 黑龙江省省属科研院所科研业务费项目 (CZKYF2022-1-B009)

作者简介: 胡婧瑶 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 粮食、油脂及植物蛋白工程, E-mail: hujingyao@163.com

通讯作者: 郑环宇 (1975-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 大豆蛋白及油脂精深加工, E-mail: zhenghuanyu1@163.com

Escherichia coli and *Bacillus cereus*, with a more pronounced effect observed as the nanoparticle concentration increased. Thus, both films demonstrated considerable potential in the application of active packaging. Collectively, these results provide a theoretical reference for the improved application of SPI films.

Key words: SPI film; nano-ZnO; nano-TiO₂; mechanical properties; antibacterial properties

在国家“双碳”行动的积极倡导下,绿色、低碳的生物活性材料的研究开发成为研究领域的重中之重。作为某些传统塑料的潜在替代品,生物质聚合物例如蛋白质、碳水化合物和脂类,已经受到了广泛的关注,在食品领域中,蛋白质作为最丰富的生物原料之一,具有无毒性 and 生物降解性等优点,可以将它们用作生物活性包装的基础原材料^[1]。其中,大豆分离蛋白由于其优异的成膜能力、低成本、生物来源广泛而被用于研究制造可食用和环境无害的膜和涂层^[2,3],但其抗拉强度低、延伸率较差且易导致细菌滋生,致使其应用受到严重影响。因此需要对大豆分离蛋白薄膜进行改性,以适应不同的用途。

随着纳米技术领域的快速发展,无机纳米粒子逐渐成为不同领域中常用的抗菌材料之一,尤其是食品包装领域。研究发现,无机纳米粒子如纳米 TiO₂、Ag、ZnO、Cu、Au 等对包括食源性病原体在内的大量微生物具有一定的抗菌活性,被认为是合适的化学抗菌剂的替代品^[4]。且随着目前人们对于在包装材料寻找和制造新的和低成本抗菌材料兴趣的增加,这些纳米颗粒由于其较高的抗菌能力而成为食品包装应用中的新型材料。纳米 ZnO 在食品工业中被认为是安全的食品添加剂^[5],王飞杰等^[6]发现聚乳酸-纳米 ZnO 薄膜具有较强的疏水性且能有效抑制食源性微生物的侵扰;Rahim 等^[7]发现通过添加纳米 ZnO 可以改善明胶基薄膜的机械性能、阻隔性能和热性能。同时,纳米 TiO₂ 也是一种性能稳定的金属氧化物纳米颗粒,是目前研究最为活跃的无机纳米材料之一,刘成龙等^[8-10]发现将其应用于包装材料具有优异的生物相容性和抗菌性能。并且纳米 ZnO 和纳米 TiO₂ 都能够改善大豆分离蛋白基薄膜的机械性能、透氧性和透水性以及具备一定的抗菌性能^[5,11],然而,纳米 ZnO 和纳米 TiO₂ 改性大豆分离蛋白基薄膜抑制短小芽孢杆菌等腐败细菌的研究以及在高湿度环境下透水性和透氧性的研究仍存在研究空白。因此,本研究针对这两种纳米粒子在改善大豆分离蛋白薄膜性能方向进行对比性研究,在同种制备条件下,以大豆分离蛋白为主要膜基质、甘油为增塑剂,分散处理后的纳米 TiO₂、纳 ZnO 为改性剂制备了两类分散性、稳定性良好的大豆分离蛋白复合薄膜,通过对膜液稳定性、薄膜结构、机械性能、光学性能和阻隔性能的比较,尤其是抗菌性能(一种

食源性微生物和一种腐败菌)的比较,筛选出一种更适用于改善大豆分离蛋白基薄膜性能的材料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要仪器设备

SB25-12 DTD 型超声波细胞破碎仪,宁波新芝生物科技股份有限公司;电热鼓风干燥箱,上海新苗医疗器械制造有限公司;BSC-250 型恒温恒湿培养箱,上海博迅实业有限公司;Nano ZS90 型马尔文激光粒度仪,英国马尔文仪器有限公司;螺旋测微器,爱丽丝电子科技有限公司;TA.XT Plus C 型质构仪,英国 Stable Micro System 公司;UV 2600 型紫外可见分光光度计,岛津仪器(苏州)有限公司;CM-3600d 型色度计,日本柯尼卡美能达感光公司;Nicolet is50 型傅里叶变换红外光谱仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;S-3400 N 型扫描电子显微镜,日本日立公司;雷磁 PHS 3C 型 pH 计,上海精科仪器有限公司;HJ 6B 型数显多头磁力加热搅拌器,金坛区西城新瑞仪器厂。

1.1.2 试剂和材料

大豆蛋白(SPI,纯度≥90%),山东禹王集团有限公司;纳米 ZnO (30 nm),上海麦克林生化科技有限公司,纯度 99.9%;纳米 TiO₂ (40 nm),上海麦克林生化科技有限公司,纯度 99.8%;大肠杆菌(CMCC(B)44102)、短小芽孢杆菌(CMCC(B)63501),北京生物保藏中心;LB 肉汤,营养琼脂,北京奥博星生物技术有限责任公司;本研究涉及的试剂为分析级试剂。

1.2 实验方法

1.2.1 SPI、SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜膜液的制备

膜液的制备如下:首先,将纳米 ZnO (1%、2%、3%、4%, m/m) 和纳米 TiO₂ (1%、2%、3%、4%, m/m) 添加到烧杯中的去离子水中,并进行超声分散。再将 4 g 的大豆分离蛋白和 1.2 g 甘油添加到上述纳米粒子分散液和无纳米粒子的烧杯(对照)中,并在 60 °C 下以恒定速度搅拌 60 min,并分别标记为 SZ1、SZ2、SZ3、SZ4; ST1、ST2、ST3、ST4; SPI。对悬浮液进

行静置以去除气泡。最后,将 15 mL 的成膜溶液倒入平整的塑料皿中,并在 60 °C 下干燥 3 h。在进一步测定之前,将薄膜从塑料皿中取出,并置于 25 °C 和 50% RH 的控制条件下 2 d。

1.2.2 膜液的粒径电位测定

使用动态光散射装置测量样品的粒径、电位和粒径分布指数 PDI。

1.2.3 膜的扫描电镜分析

使用扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscope, SEM) 在 15 kV 加速电压、50 pA 电流和 10 000 倍放大率下观察薄膜样品的表面微观结构。

1.2.4 膜的红外光谱分析

利用一体化衰减全反射检测模块,设置波数范围为 4 000~400 cm^{-1} ,以 4 cm^{-1} 的分辨率记录光谱,平均扫描 32 次。

1.2.5 膜的机械性能分析

膜的厚度用螺旋测微器 (灵敏度 0.001 mm) 在 5 个随机位置测量,取平均值,单位: mm。并将每片膜被切成 500×100 mm 的长方形片,测定薄膜的抗拉伸强度 (Tensile Strength, TS) 和断裂伸长率 (Elongation, E)。薄膜固定的初始抓地力分离 50 mm,并以 5 mm/s 的交叉速度拉伸。TS 为失效前在薄膜上的最大载荷除以样品的横截面面积。E 被定义为试样长度相对于初始长度的变化。计算公式如下:

$$TS = \frac{F}{L \times W} \quad (1)$$

式中:

TS——膜的拉伸强度, MPa;

F——最大拉力, N;

L——膜的厚度, mm;

W——膜的宽度, mm。

$$E = \frac{L_1}{L_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

E——膜的断裂伸长率, %;

L_0 ——膜拉伸前的有效长度, mm;

L_1 ——膜断裂时拉伸的长度, mm。

1.2.6 膜的光学性能分析

参考前人^[12]的方法,测量膜的 L^* , a^* , b^* 和 ΔE 值。并在 200~800 nm 的宽波长范围内测量薄膜样品的透光率,扫描速度为 120 nm/min。

1.2.7 膜的阻隔性能分析

在称量瓶中加入 1.5 g 无水 CaCl_2 ,以保持称量瓶内相对湿度为 0%。每个称量瓶都是用薄膜密封。然后将称量瓶放入恒温恒湿培养箱,设置温度为 25 °C,

湿度为 83% RH,每隔 24 h 称重一次,测定薄膜的水蒸气透过率 (Water Vapor Permeability, WVP)。在温度为 25 °C、湿度为 50% RH 的条件下,锥形瓶中加入 1 mL 亚油酸,涂膜密封,测定薄膜的氧气透过率 (Oxygen Permeability, OP)。WVP 和 OP 根据以下公式计算:

$$WVP = \frac{m \times L}{t \times A \times P} \quad (3)$$

式中:

WVP——水蒸气透过率;

m——水蒸气透过率的权重, g;

L——薄膜厚度, mm;

A——薄膜的面积, m^2 ;

t——测试的周期, d;

P——膜两侧的部分水汽压差, kPa。

$$OP = \frac{OTR \times D}{P} \quad (4)$$

式中:

OP——氧气透过率, $10^{-5} \text{g} \cdot \text{m}/(\text{m}^2 \cdot \text{d} \cdot \text{kPa})$;

OTR——氧气透过系数, $\text{g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$;

P——被测薄膜两侧的蒸汽压差, kPa;

D——薄膜的平均厚度, m。

1.2.8 膜的抗菌性分析

利用大肠杆菌和短小芽孢杆菌,采用平板活菌计数法在模拟体系中评价复合膜的抗菌活性。测试菌在 37 °C 营养肉汤中无菌培养 24 h,膜样品用紫外线照射 20 min 进行杀菌。将 500 mg 无菌膜样品与 50 mL 稀释的菌液 (浓度为 $10^6 \sim 10^7 \text{CFU/mL}$ 混合,在 37 °C 条件下振荡 (150 r/min) 培养 24 h, SPI 膜组作为阴性对照。为了观察抑菌效果,在 0~24 h 培养过程中,隔固定时间取样并用无菌生理盐水梯度稀释 10 倍,涂在营养琼脂平板上,37 °C 下培养 24 h,通过计算培养皿上的菌落数来评估复合膜的抗菌性能。

1.3 数据统计与分析

所有实验均经行三次,通过 SPSS 26.0 统计软件对测得的数据进行方差分析,显著性差异水平为 $P < 0.05$,采用 Origin 2021 软件作图。

2 结果与讨论

2.1 膜液粒径电位

动态光散射装置是测定溶液稳定性最常用的方法之一^[13]。如表 1 所示,不同膜液中颗粒尺寸分布指数 (PDI) 值都相对较小,这表明溶液中颗粒分布范围

集中。SPI/TiO₂ 复合膜和 SPI/ZnO 复合膜膜液的电位高于 30 mV, 使得溶液表面斥力较高, 有利于保持溶液具有较高的稳定性。电位越大说明颗粒间的静电斥力增强, 阻止进一步的聚集体形成。膜液的稳定性除了取决于大豆蛋白与纳米颗粒之间静电力作用还取决于空间位阻作用^[14]。根据 Wheeler 等^[15]的研究发现, 蛋白质可以吸附在纳米颗粒的表面产生空间位阻层, 提高溶液的稳定性。综上所述, 在静电力作用和空间位阻作用力的共同作用下, 使得 SPI/TiO₂ 复合膜和 SPI/ZnO 复合膜膜液形成了均一、稳定的体系。

表 1 SPI 薄膜、SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜膜液的粒径、电位和 PDI

Table 1 Particle size, zeta potential and PDI of SPI film, SPI/TiO₂ and SPI/ZnO composite film solution

样品	粒径/nm	电位	PDI
SPI	253.30±4.76 ^f	-30.73±0.45 ^b	0.40±0.02 ^{ab}
ST1	536.30±4.27 ^c	-27.23±2.06 ^a	0.41±0.03 ^{ab}
ST2	572.20±1.94 ^b	-30.57±1.10 ^b	0.37±0.06 ^{bc}
ST3	623.57±4.49 ^a	-31.70±0.70 ^{bc}	0.31±0.02 ^c
ST4	645.93±5.89 ^a	-35.07±0.47 ^d	0.35±0.01 ^{bc}
SZ1	204.47±0.92 ^g	-33.30±0.79 ^c	0.41±0.01 ^a
SZ2	270.23±8.51 ^f	-32.13±0.31 ^{bc}	0.37±0.01 ^{ab}
SZ3	300.87±7.22 ^e	-31.50±0.37 ^b	0.38±0.05 ^{ab}
SZ4	389.90±6.39 ^d	-33.27±0.55 ^c	0.33±0.02 ^{bc}

注: 表中数值用平均值±标准差表示, 同一列不同字母表示具有差异显著性 ($P<0.05$)。下表同。

不同膜液的粒径如表 1 所示, 随着纳米 TiO₂ 含量的增加 (ST1~ST4), 粒径尺寸增大, 说明纳米颗粒含量对膜液粒径大小有显著影响, 纳米 TiO₂ 表面能极大易造成团聚, 含量越大, 越容易引起团聚, 粒径越大。SPI 的粒径大小为 253.30 nm, 加入纳米 ZnO 后, SZ1 粒径大小显著小于 SPI, 该结果与 Li 等^[16]的研究一致。随着纳米 ZnO 的增多 (SZ2~SZ4), 粒径从 270.23 nm 逐渐增大到 389.90 nm, 可能是因为纳米 ZnO 表面能较高, 促进团聚从而导致粒径变大^[17]。

2.2 膜的扫描电镜分析

扫描电子显微镜可以揭示聚合物共混物中纳米颗粒的分散状态以及界面相的状态^[18]。图 3 中显示 SPI 膜具有光滑致密的结构, 说明大豆分离蛋白和甘油的混合物是均匀的, 这与王海霞^[19]所研究的大豆分离蛋白膜的扫描电子显微镜照片一致。SPI/ZnO 复合薄膜连续光滑, 无裂隙或脱落, 只有 SZ4 薄膜出现了略微明显的聚集体, 说明大豆分离蛋白与纳米 ZnO 具有良好的相容性, 纳米 ZnO 几乎均匀地分散在薄膜中。而 SPI/TiO₂ 复合薄膜中, ST2 和 ST3 薄膜表面都略微出现了聚集体, ST4 薄膜表面具有较大的团聚体且出现了由于相偏析而形成的表面气泡, 这可能也是导致 ST4 薄膜机械性能比 ST1~ST3 薄膜差的最主要原因。均匀、致密的表观结构更有利于消费者的接受, 便于后期在食品包装中的应用, 因此, SPI/ZnO 复合薄膜较 SPI/TiO₂ 复合薄膜是更为理想的食品包装材料。

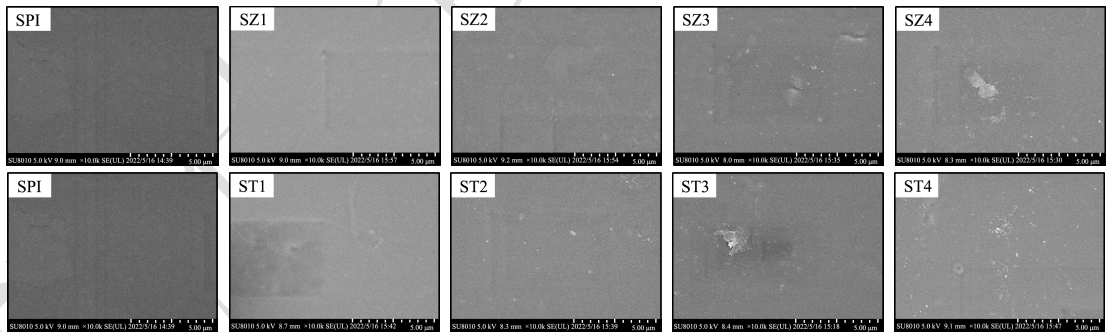


图 1 SPI 薄膜、SPI/TiO₂ 复合和 SPI/ZnO 复合的扫描电子显微镜图
Fig.1 SEM of SPI film, SPI/TiO₂ and SPI/ZnO composite films

2.3 膜的红外光谱分析

红外光谱可以用来确定生物聚合物的官能团以及它们之间可能的分子间相互作用^[20]。图 2 分别为 SPI 膜和 SPI/ZnO 复合薄膜和 SPI/TiO₂ 复合薄膜的红外光谱图 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT-IR)。SPI 基薄膜的 FT-IR 谱主要分为两大类: 第一大类是由氨基和羧基等活性基团导致的特征吸收带, 在 3 278 cm⁻¹ (酰胺 a 带) 表示 N-H 拉伸振动与氢键耦合导致的宽

峰, 和在 2 980 cm⁻¹ (酰胺 b 带) 附近由 CH 和 NH³⁺ 的不对称拉伸引起的峰^[21]。第二大类则归属蛋白质的二级结构并探讨其内部氢键结合的主要吸收峰情况的是 C=O 在 1 626 cm⁻¹ (酰胺 I)、N-H 在 1 536 cm⁻¹ (酰胺 II) 和 C-N 在 1 233 cm⁻¹ (酰胺 III) 的拉伸振动以及约 1 396 cm⁻¹ 处 COO⁻ 弯曲的存在^[22]。与 SPI 薄膜相比, SPI/TiO₂ 复合薄膜在 3 278 cm⁻¹ 处的吸收峰变弱, SPI/ZnO 复合薄膜在 3 278 cm⁻¹ 处的吸收峰变强, 这是由于有机相与无机相之间的界面相互作用的影响, 即

纳米粒子在复合膜中并非只有静电相互作用，而是通过其表面的羟基与无定形区域大豆蛋白肽链侧链上氮原子发生了配位键和氢键的作用，影响了-OH 和-NH 伸缩振动的频率。宋贤良等^[23]也有研究结果表明，纳米 TiO₂ 颗粒不是简单地分散在大豆分离蛋白中，而是通过配位键和氢键与大豆分离蛋白链相互作用。同理，1 626、1 536、1 396 和 1 233 cm⁻¹ 处的谱带强度也呈现相同的变化，表明 SPI/ZnO 复合薄膜中纳米粒子与大豆分离蛋白的交联密度比 SPI/TiO₂ 复合薄膜更强。同时，位于约 1 037 cm⁻¹ 的吸收峰是薄膜分子之间的氢键，氢键形成使峰强，谱带变宽，对比图 2a 和 2b，说明 SPI/ZnO 复合薄膜比 SPI/TiO₂ 复合薄膜形成的氢键更多，进一步印证了纳米 ZnO 和 SPI 具有更好的相容性。

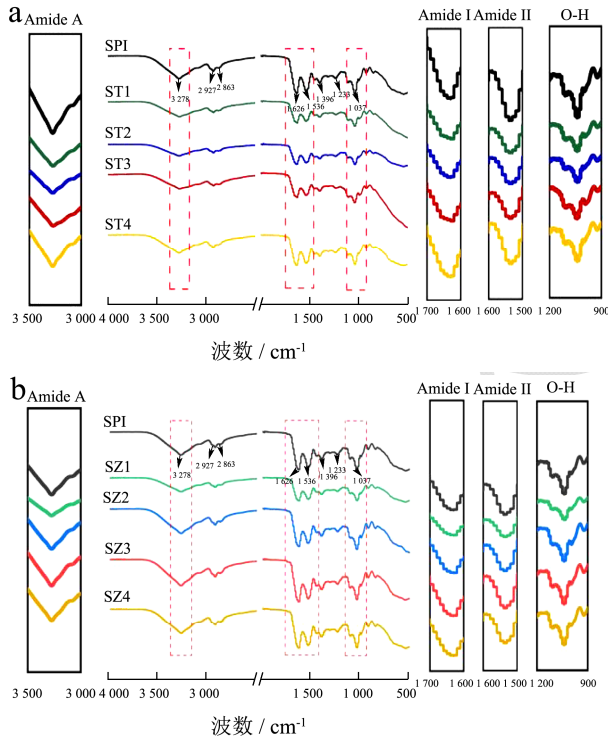


图 2 SPI 薄膜、SPI/TiO₂复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜的红外光谱图

Fig.2 FT-IR of SPI film, SPI/TiO₂ and SPI/ZnO composite films

2.4 膜的机械性能

聚合物薄膜的机械性能主要取决于膜的形态结构、聚合物链分子间和分子内相互作用的分布和密度^[17,24,25]。如表 2 所示，SPI/ZnO 复合膜的厚度随纳米 ZnO 的增加先减小后逐渐增加，SZ1 薄膜的厚度 0.09 mm 最小，观察 SEM 图像表明 SZ1 膜界面相状态稳定，无纳米颗粒聚集，这可能是由于纳米 ZnO 填充了大豆分离蛋白的空隙，使得密度上升。SPI 薄膜的拉伸强度 (TS) 和断裂伸长率 (E) 分别为 6.64 MPa

和 10.86%，与冉锐敏等^[18]的研究一致。SPI/ZnO 复合膜的 TS 随着纳米 ZnO 的增加而增加，SZ3 薄膜的 TS 是 SPI 薄膜的三倍，达到 18.33 MPa，这可能是纳米 ZnO 与 SPI 基体之间形成氢键且键与键之间结合较强的原因^[5,26]。而且在 SPI 薄膜中加入纳米 ZnO 后，断裂伸长率 E 从 18.11%逐渐下降到 9.28%，这是因为纳米 ZnO 本身是晶体结构，随着添加量的增多结晶度提高，所以导致断裂伸长率下降。而 SPI/TiO₂ 复合薄膜抗拉伸强度虽有较大明显的改善，如 ST2 薄膜的 TS 达到 17.76 MPa，但由于纳米 TiO₂ 的粒径比纳米 ZnO 大，易造成团聚，当纳米 TiO₂ 添加量过多时 (ST3、ST4)，纳米粒子二次团聚使其抗拉伸强度降低。因此，通过对比发现，纳米 ZnO 作为基质中的有效填料，且具有较大的表面积，与基质建立了强烈的界面相互作用，使得大豆分离蛋白基薄膜具有更好的机械性能。

表 2 SPI 薄膜、SPI/TiO₂复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜的厚度和机械性能

Table 2 Thickness and mechanical properties of SPI film, SPI/TiO ₂ and SPI/ZnO composite films			
样品	厚度/mm	断裂伸长率(E)/%	抗拉伸强度(TS)/MPa
SPI	0.13±0.04 ^{ab}	10.86±2.45 ^b	6.64±2.24 ^s
ST1	0.13±0.03 ^{abc}	9.58±2.01 ^b	15.09±5.17 ^c
ST2	0.13±0.02 ^{abc}	9.99±2.04 ^b	17.76±2.18 ^a
ST3	0.14±0.03 ^a	9.10±1.09 ^b	12.41±0.68 ^{de}
ST4	0.15±0.023 ^a	8.40±1.79 ^b	10.79±0.96 ^{ef}
SZ1	0.09±0.03 ^d	18.11±24.03 ^a	13.44±4.02 ^{cd}
SZ2	0.11±0.02 ^{bc}	11.75±4.91 ^{ab}	14.88±2.07 ^{bc}
SZ3	0.12±0.02 ^{abc}	10.13±2.89 ^b	18.33±2.74 ^f
SZ4	0.14±0.06 ^a	9.28±4.78 ^b	16.18±1.75 ^{ab}

2.5 膜的阻隔性能

对于生物聚合物薄膜而言，其透水性和透氧性是两项重要的性能，受聚合物结构中的路径弯曲、分散性、物质添加量等因素的影响^[27,28]。从表 3 中可以看出，相较于 SPI 膜，SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜的 WVP 都有所下降，说明添加纳米 ZnO 和纳米 TiO₂ 都能够降低大豆蛋白基薄膜在高湿度环境下的透水性，这是因为两种纳米粒子能够与蛋白质形成较为稳定的氢键，因此复合膜的致密性提高，透水性下降^[3,5,11]。当纳米 TiO₂ 和纳米 ZnO 用量较低时，可以在大豆分离蛋白的无定形区域分散均匀，并与大豆分离蛋白肽链侧链产生相互作用，使水分子在膜中的渗透路径延长，增强了复合膜的阻水性能；当用量过高时，纳米粒子的二次团聚现象增强，使复合膜的致密性变差，因而 WVP 上升。而通过对比两种不同复

合薄膜的 WVP 发现, SPI/ZnO 复合薄膜阻水性能更优异, 这可能是由于纳米 ZnO 作为无机相分散均匀, 且更容易在 SPI 基体中发生氢键和静电力等分子相互作用, 从而改善阻水性能。

表 3 SPI 膜、SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜的 WVP 和 OP

样品	WVP/[10 ⁻² g·mm/(m ² ·h·kPa)]	OP/[10 ⁻⁵ g·m/(m ² ·d·kPa)]
SPI	20.63±0.50 ^a	3.32±0.06 ^d
ST1	5.53±0.12 ^c	9.80±0.42 ^c
ST2	2.96±0.10 ^d	10.24±0.21 ^c
ST3	7.13±0.17 ^b	11.17±0.37 ^b
ST4	7.57±0.12 ^b	12.10±0.21 ^a
SZ1	4.90±0.39 ^c	2.73±0.10 ^c
SZ2	4.64±0.39 ^c	2.17±0.06 ^d
SZ3	2.94±0.07 ^d	1.54±0.22 ^e
SZ4	5.79±0.21 ^b	3.90±0.07 ^a

SPI 薄膜、SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜的 OP 如表 3 所示, 由于蛋白质分子排列比较疏松, 因此膜的阻氧性较差, 氧气分子易于通过。SPI/TiO₂ 复合薄膜的 OP 随纳米 TiO₂ 含量的增加, 一直在增大, 这是由于纳米 TiO₂ 为 SPI 膜表面提供了介孔结构, 其次因为纳米 TiO₂ 含量增加, 产生了二次团聚现象 (图 1)。而相较于 SPI/TiO₂ 复合薄膜而言, SPI/ZnO 复合薄膜的阻氧性更好, 证明在该成膜条件下, 纳米 ZnO 能更好地与有机相相结合, 使形成的复合膜致密均匀。

2.6 膜的光学性能

表 4 SPI 膜、SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜的颜色特征

样品	L*	a*	b*	ΔE
SPI	96.60±0.99 ^a	-3.00±0.45 ^{cd}	8.57±4.22 ^d	9.85±4.25 ^c
ST1	90.67±1.50 ^b	-2.24±0.52 ^{bc}	27.62±3.91 ^{ab}	18.41±1.51 ^a
ST2	91.13±1.47 ^b	-2.16±0.71 ^b	30.69±2.85 ^a	18.15±2.67 ^a
ST3	89.61±1.03 ^b	-0.56±1.26 ^a	29.92±4.58 ^a	17.32±1.83 ^a
ST4	94.16±1.28 ^a	-1.95±0.96 ^b	23.94±3.80 ^{bc}	18.45±1.35 ^a
SZ1	95.15±1.40 ^a	-3.53±0.78 ^d	12.09±7.91 ^d	11.37±2.91 ^{bd}
SZ2	94.07±2.01 ^a	-3.72±0.19 ^d	13.90±4.37 ^d	12.55±1.65 ^b
SZ3	95.69±2.30 ^a	-3.39±0.22 ^d	11.01±3.06 ^d	11.22±1.92 ^{bd}
SZ4	89.52±5.66 ^b	-2.56±1.27 ^{bc}	20.95±8.65 ^c	16.30±3.79 ^a

光学性能是生物聚合物薄膜的一个重要特性, 因为薄膜暴露在光下可能会导致营养物质降解的反应。此外, 包装必须可以作为光屏障, 延迟食品的光降解^[29]。

从表 4 可以看出, SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜都具有很高的 L* 值 (85~100), 表明两种复合薄膜都具有良好的光反射性能, 可以保护对光氧化敏感的食物, 减缓食物营养价值的流失^[29]。a* 值在 -0.50~-4, 说明了薄膜的红绿差别非常小甚至没有明显的对比。b* 值在 8~35, 说明薄膜呈亚麻白色至黄色。两种复合薄膜的 ΔE 值与 SPI 薄膜的差异显著, 这一结果可能是由纳米粒子呈瓷白色造成的。

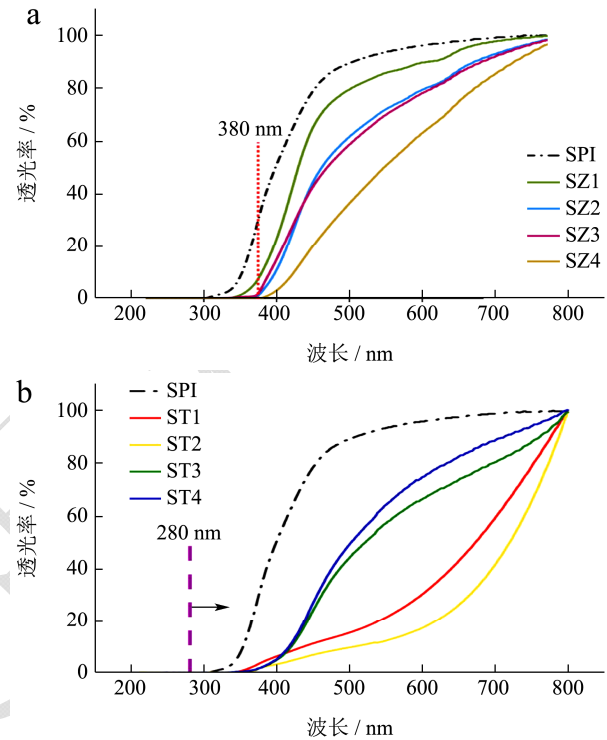


图 3 SPI 薄膜、SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜的透光率

Fig.3 Transmittance of SPI film, SPI/TiO₂ and SPI/ZnO composite films

纳米粒子的紫外屏蔽性能是最大的开发点之一, 无机纳米粒子是目前常用的紫外线吸收剂, 将其引入到大豆蛋白基薄膜中不仅能够吸收和屏蔽紫外光, 还能大大提高膜的其他性能^[30]。图 3 中分别显示了 SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜在紫外及可见光范围内的光透射性能。在 200~300 nm 的紫外光范围内, 所有薄膜都有很高的光障 (透光率 < 10%)。SPI 薄膜在 300~800 nm 的可见光范围内, 对于光的透射逐渐增加, 最终达到约 99%。而对于 SPI/TiO₂ 复合薄膜来说, 如图 3a 所示, 在 300~600 nm 的透光率依然具有很高的光障 (< 20%)。这种现象可能是由于锐钛型纳米 TiO₂ 的禁带宽度为 3.0 eV, 其对紫外光的吸收能力较强, 且因为纳米 TiO₂ 具有大的比表面积和高折射率使其扩散反射光的能力增强^[31]。而相比于 ST3 和 ST4 薄膜, ST1 和 ST2 薄膜可见光透过率低是因为纳米 TiO₂ 粒子在无团聚状态下, 蛋白质 C、N 元素与

TiO₂ 掺杂导致禁带宽度变窄^[32]。而对于 SPI/ZnO 复合薄膜, 如图 3b 所示, 在波长为 380 nm 附近都出现了较为陡峭的吸收边, 这是由于价电子跃迁至导带成为自由电子引起的近带边吸收所致^[33]。综上分析, 两种薄膜都是较为理想的光屏障薄膜。

2.7 膜的抗菌性能分析

本研究选择了两种比较有代表性的微生物: 大肠杆菌和短小芽孢杆菌, 通过时间抑菌曲线来评价不同大豆分离蛋白基薄膜在食品包装中的抗菌活性。如图 4 所示。SPI 膜作为阴性对照不表现出抗菌活性, SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜对两种细菌均表现出明显的抗菌活性, 与以前的报道一致^[34-37]。而对于同一种细菌, SPI/ZnO 复合薄膜的抑菌能力强于 SPI/TiO₂ 复合薄膜的抑菌能力, 以短小芽孢杆菌为例 (见图 4a 和 4c), 经 ST4 薄膜作用的短小芽孢杆菌总数降至 0 需要 12 h, 而 SZ4 作用的菌落总数降至 0 仅需 8 h。SPI/TiO₂ 复合薄膜的抗菌活性主要是由于纳米 TiO₂ 具有不规则和锐利的形貌以及纳米 TiO₂ 极性面上的氧空位, 纳米 TiO₂ 上锋利的边缘有助于穿透细菌细胞壁, 而氧的空缺可以产生活性氧 (ROS) 来杀死细菌^[38]。而含有纳米 ZnO 的 SPI/ZnO 复合薄膜的抗菌性主要是因为纳米 ZnO 颗粒很小, 这使得它们很容易穿透细菌膜, 增强了它们的杀菌活性; 纳米 ZnO 也会释放出 Zn²⁺ 穿透细菌的细胞壁, 与细胞质的成分发生反应, 或者抑制 DNA 的复制和蛋白质合成, 从而阻碍细菌的生长并且杀死细菌; 此外, 纳米 ZnO 颗粒还会产生 ROS, 如 H₂O₂、O₂²⁻、OH⁻、O²⁻ 和单线态氧, 它们会破坏细菌的细胞膜, 杀死细菌^[39]。而通过观察纳米粒子添加量对同一细菌的作用 (以 SPI/ZnO 复合薄膜对大肠杆菌杀菌曲线为例, 见图 4b), 在相同时间点内, SPI/ZnO 复合薄膜中纳米粒子的含量越高, 大肠杆菌越快受到抑制, 因此可以说明, 纳米粒子的抑菌作用有明显的浓度依赖性; 对于同一 SPI/ZnO 复合薄膜来说, 相互作用时间越长, 细菌死亡率越高, 这又说明了抑菌作用有明显的时间依赖性。而对于不同细菌 (以 SPI/ZnO 复合薄膜作用下的大肠杆菌和短小芽孢杆菌为例, 见图 4a 和图 4b), 由于不同细菌对纳米粒子的耐受性不同, 可以明显看出, 相对于大肠杆菌 (革兰氏阴性菌), 短小芽孢杆菌 (革兰氏阳性菌) 更容易被 SPI/ZnO 薄膜所抑制, 即菌落总数降至相同的水平时, 短小芽孢杆菌所用时间更短, 表明纳米 ZnO 对大肠杆菌的作用比短小芽孢杆菌有更强的时间依赖性; 而这种差异也可能与细胞壁结构有关, 革兰氏阳性细菌的细胞壁由一层较厚但单一的肽聚糖层构成,

这使得纳米粒子更容易进入细胞。

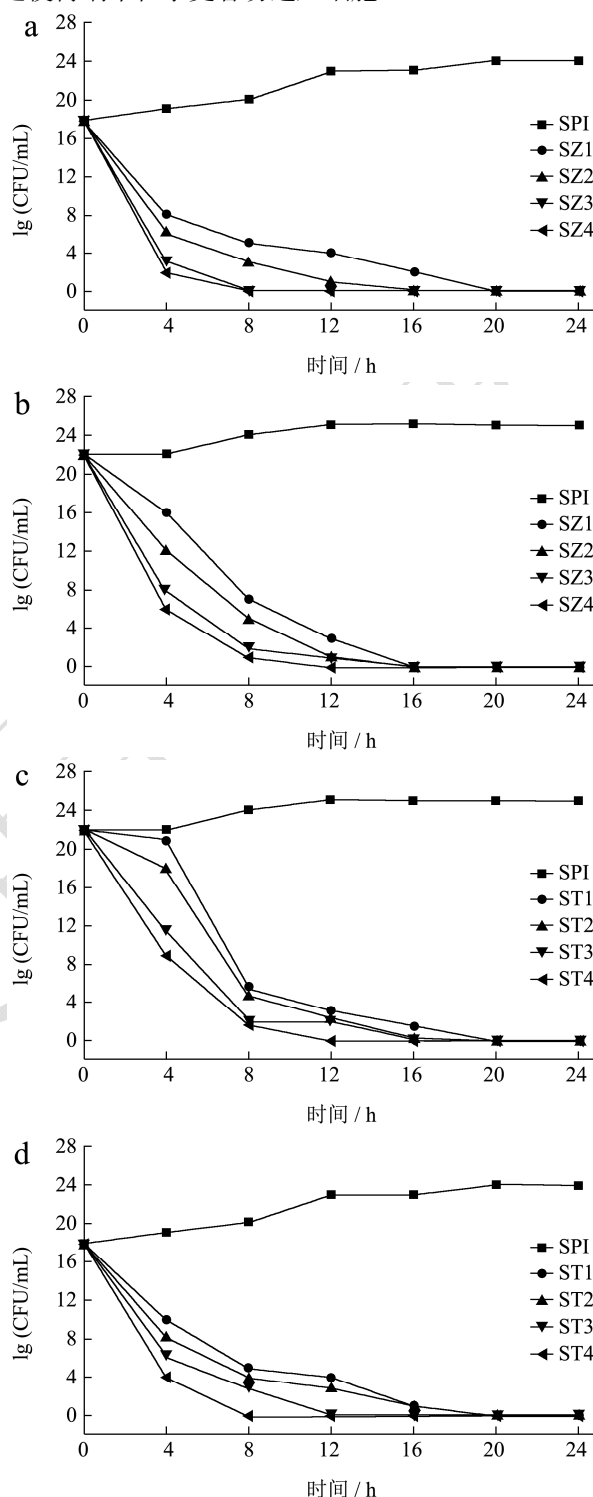


图4 SPI 薄膜、SPI/TiO₂ 复合薄膜和 SPI/ZnO 复合薄膜对大肠杆菌和短小芽孢杆菌的抑菌作用

Fig.4 Antibacterial of SPI film, SPI/TiO₂ and SPI/ZnO composite film on *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*

3 结论

本研究在同样的制备条件和浓度条件下, 将纳米 ZnO 和纳米 TiO₂ 两种纳米粒子作为改性剂分别与大

豆分离蛋白结合制成薄膜材料。结果表明:与 SPI 薄膜相比较, SZ3 薄膜的抗拉伸强度上升了 175%, 高湿度条件下水蒸气透过率降低了 85%, 氧气透过率降低了 53%, 能够快速有效地抑制短小芽孢杆菌和大肠杆菌的生长。而相比较于 SPI/TiO₂ 复合薄膜, SPI/ZnO 复合薄膜不仅具有更优异的机械性能和阻隔性能, 在抵抗腐败菌的性能方面表现更佳。综上, 纳米 ZnO 在提高大豆分离蛋白基活性薄膜的功能特性方面比纳米 TiO₂ 显示出更大的应用潜力。然而, 目前大豆分离蛋白基薄膜针对腐败菌的抑菌研究还比较少且相关的抑菌机制还有待深入研究。本研究为制备良好性能的大豆蛋白基薄膜提供了理论支撑, 为提高大豆分离蛋白基薄膜的综合性能, 扩大其应用范围提供了新思路。

参考文献

- [1] 李新欣,陈复生,张强,等.蛋白质基可食用膜的研究进展[J].食品工业,2021,42(6):386-389.
- [2] 崔月婷,郑环宇,高春蕾,等.大豆分离蛋白膜阻湿性优化及其在微波食品中的应用[J].中国粮油学报,2018,33(9):48-54.
- [3] Hadidi M, Jafarzadeh S, Forough M, et al. Plant protein-based food packaging films; recent advances in fabrication, characterization, and applications [J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 120: 154-173.
- [4] Hoseinnejad M, Jafari S M, Katouzian I, et al. Inorganic and metal nanoparticles and their antimicrobial activity in food packaging applications [J]. Critical Reviews in Microbiology, 2018, 44(2): 161-181.
- [5] Tang S, Wang Z, Li W, et al. Ecofriendly and biodegradable soybean protein isolate films incorporated with ZnO nanoparticles for food packaging [J]. ACS Applied Bio Materials, 2019, 2(5): 2202-2207.
- [6] 王飞杰,王利强,张新昌.聚乳酸-纳米氧化锌复合疏水抗菌食品包装膜的制备及其在鲜肉保鲜中的应用[J].中国食品学报,2022,22(5):228-238.
- [7] Shahvalizadeh R, Ahmadi R, Davandeh I, et al. Antimicrobial bio-nanocomposite films based on gelatin, tragacanth, and zinc oxide nanoparticles microstructural, mechanical, thermo-physical, and barrier properties [J]. Food Chemistry, 2021, 354: 1-11.
- [8] Xiao F H, Wang J, Wang D G, et al. Influence of TiO₂ nanoparticles on the performance and inner structure of zein/eugenol films [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2022, 31: 100782.
- [9] 刘成龙.改性大豆分离蛋白活性膜的制备及缓释规律研究[D].济南:齐鲁工业大学,2021.
- [10] 金蓓,周小松,许旋,等.超声与光催化作用对大豆蛋白/TiO₂ 复合膜抗菌特性的影响[J].现代食品科技,2017,33(5):220-227.
- [11] 刘媛媛,徐丽娜,张韩,等.改性纳米 TiO₂-大豆分离蛋白抑菌保鲜膜的制备及其性能[J].食品科学,2018,39(14):302-310.
- [12] 冯永莉,胡海玥,汤辉煌,等.燕麦分离蛋白对大豆蛋白膜性能改善的研究[J].食品科技,2022,47(2):82-90.
- [13] Le Khoa Hai, Minh Dac-Binh Nguyen, Lam Dai Tran, et al. A novel antimicrobial ZnO nanoparticles-added polysaccharide edible coating for the preservation of postharvest avocado under ambient conditions [J]. Progress in Organic Coatings, 2021, 158: 106339.
- [14] 张笑.纳米二氧化钛溶液分散性及光催化性能研究[D].武汉:华中科技大学,2019.
- [15] Wheeler K E, Chetwynd A J, Fahy K M, et al. Environmental dimensions of the protein corona [J]. Nature Nanotechnology, 2021, 16(6): 617-629.
- [16] Li X, Ren Z, Wang R, et al. Characterization and antibacterial activity of edible films based on carboxymethyl cellulose, *Dioscorea opposita* mucilage, glycerol and ZnO nanoparticles [J]. Food Chemistry, 2021, 349: 129208.
- [17] Yang Z, Luo L, Fan F, et al. Preparation and characterization of soy protein isolate/SiO₂ nanocomposite films and their walnut oil microcapsules [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2021, 138(29): e50695.
- [18] 冉锐敏,王璐瑶,何宾宾,等.纳米氧化锌/葡萄皮红改性大豆分离蛋白膜的制备与性能研究[J].农业工程学报,2021,37(14):294-301.
- [19] 王海霞.大豆分离蛋白可食性包装膜的共混改性研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2018.
- [20] Marangoni Júnior L, Rodrigues P R, Silva R G, et al. Sustainable packaging films composed of sodium alginate and hydrolyzed collagen: preparation and characterization [J]. Food and Bioprocess Technology, 2021, 14(12): 2336-2346.
- [21] Li J J, Li X N, Zhang F D, et al. Facile design of tough, strong, and UV-shielding soy protein-based composite films [J]. Industrial Crops and Products, 2021, 166: 113474.
- [22] 赵晓彤,徐丽娜,张宏,等.超声辅助提高大豆蛋白纳米复合膜包装性能及其保鲜应用[J].食品科学,2020,41(19):230-237.
- [23] 宋贤良,周家华,朱翠华,等.大豆蛋白纳米二氧化钛复合膜的制备及性能研究[J].现代化工,2007,12:40-41,43.
- [24] Paulraj Kanmani, Jong-Whan Rhim. Properties and characterization of bionanocomposite films prepared with various biopolymers and ZnO nanoparticles [J].

- Carbohydrate Polymers, 2014, 106: 190-199.
- [25] Mohammadi, Hamid, Kamkar, et al. Nanocomposite films based on CMC, okra mucilage and ZnO nanoparticles: Physico mechanical and antibacterial properties [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 181: 351-357.
- [26] Liu Y, Xu L, Li R, et al. Preparation and characterization of soy protein isolate films incorporating modified nano-TiO₂ [J]. International Journal of Food Engineering, 2019, 15(7): 20180278.
- [27] Agrawal N, Munjal S, Ansari Mohd Z, et al. Superhydrophobic palmitic acid modified ZnO nanoparticles [J]. Ceramics International, 2017, 43(16): 14271-14276.
- [28] Azizi-lalabadi M, Alizadeh-sani M, Divband B, et al. Nanocomposite films consisting of functional nanoparticles (TiO₂ and ZnO) embedded in 4A-zeolite and mixed polymer matrices (gelatin and polyvinyl alcohol) [J]. Food Research International, 2020, 137: 109716.
- [29] Shankar S, Wang L F, Rhim J W. Incorporation of zinc oxide nanoparticles improved the mechanical, water vapor barrier, UV-light barrier, and antibacterial properties of PLA-based nanocomposite films [J]. Materials Science & Engineering C, 2018, 93: 289-298.
- [30] Zhang W, Rhim J-W. Titanium dioxide (TiO₂) for the manufacture of multifunctional active food packaging films [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2022, 31: 100806.
- [31] Salama H E, Abdel Aziz M S. Optimized carboxymethyl cellulose and guanidinylated chitosan enriched with titanium oxide nanoparticles of improved UV-barrier properties for the active packaging of green bell pepper [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165(Pt A): 1187-1197.
- [32] 雷蕾.基于蛋白质基底氧化物半导体薄膜材料生长及利用研究[D].长春:吉林建筑大学,2020.
- [33] Chen G, Liu H. Electrospun cellulose nanofiber reinforced soybean protein isolate composite film [J]. Journal of Applied Polymer Science, 2008, 110(2): 641-646.
- [34] 李毅铭,王荣民,张芯荣,等.具有抗菌功能的可降解复合包装材料的制备[J].现代盐化工,2021,48(1):32-34,43.
- [35] Tripathi J, Ambolika R, Gupta S, et al. Preparation and characterization of methylated guar gum based nano-composite films [J]. Food Hydrocolloids, 2022: 124: 107312.
- [36] Kaewklin P, Siripatrawan U, Suwanagul A, et al. Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 523-529.
- [37] Kadam D M, Thunga M, Srinivasan G, et al. Effect of TiO₂ nanoparticles on thermo-mechanical properties of cast zein protein films [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2017, 13: 35-43.
- [38] Salarbashi D, Tafaghodi M, Bazzaz B S F. Soluble soybean polysaccharide/TiO₂ bionanocomposite film for food application [J]. Carbohydrate Polymer, 2018, 186: 384-393.
- [39] Zhou R, Cui D J, Zhao Q, et al. Effective control of microbial spoilage in soybeans by water-soluble ZnO nanoparticles [J]. Food Chemistry, 2022, 388: 132994.