

基于酪氨酸酶交联的豌豆蛋白-绿原酸-壳聚糖复合膜的构建及相关品质分析

倪乙丹, 周泉城, 李娅婕, 郭婷婷, 白海媚, 韩钦硕, 盛桂华*

(山东理工大学农业工程与食品科学学院, 山东 淄博 255000)

摘要: 以豌豆蛋白 (pea protein, PP) 为成膜基质, 壳聚糖 (chitosan, CS) 为改善成膜性材料, 绿原酸 (chlorogenic acid, CA) 为功能性成分, 酪氨酸酶 (tyrosinase, Tyr) 为PP、CS和CA的交联剂, 以甘油为增塑剂制备PP-CA-CS复合膜, 测定PP-CA-CS复合膜物理指标以及微观结构表征, 旨在探究PP与CS比例、CA添加量与Tyr添加量对PP-CA-CS复合膜结构及性能的影响, 研究其组分间的作用机制。结果表明, 添加CA后PP-CA-CS复合膜抗氧化性和机械性能有显著提高, 并且在Tyr催化条件下, CA可与PP和CS进行共价交联, 随着CA和Tyr的添加, 交联度和力学性能得到进一步改善。当PP与CS比例为1:1、CA添加量为20 mmol/L、Tyr添加量为18 U/mL时, PP-CA-CS复合膜的机械性能、抗氧化性能、水蒸气阻隔性能表现最优。此时膜的抗拉强度为130.78 MPa, 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除率为69.05%, 改善后的PP-CA-CS复合膜与空白膜相比, 机械性能增强了2.6倍, 抗氧化性能提高了2.2倍, 水蒸气透过率降低了8%。扫描电子显微镜测定结果表明, PP-CA-CS复合膜具有光滑、致密性好的特点, 从而具有较优的水蒸气阻隔性能, 并且通过红外光谱的分析, 在成膜过程中没有产生新的官能团。本研究为新型食品包装领域开拓了新的研究思路, 为可食用膜的开发提供了数据支持和理论支撑。

关键词: 豌豆蛋白; 绿原酸; 壳聚糖; 酪氨酸酶; 可食用膜

Construction and Characterization of Pea Protein-Chlorogenic Acid-Chitosan Composite Film Based on Tyrosinase Crosslinking

NI Yidan, ZHOU Quancheng, LI Yajie, GUO Tingting, BAI Haimei, HAN Qinshuo, SHENG Guihua*

(College of Agricultural Engineering and Food Science, Shandong University of Technology, Zibo 255000, China)

Abstract: A composite film was developed using pea protein (PP) as the film-forming substrate, chitosan (CS) as the film-modifying material, chlorogenic acid (CA) as the functional component, tyrosinase (Tyr) as the crosslinking agent, and glycerol as the plasticizer. The physical parameters and microstructure of the PP-CA-CS film were determined. The aim was to explore the effects of PP-to-CS ratio and the concentrations of CA and Tyr on the structure and properties of the composite film and to study the interaction between its components. The results showed that the antioxidant potential and mechanical properties of the composite film were significantly improved after the addition of CA, and Tyr catalyzed the covalent crosslinking of CA with PP and CS. With the addition of CA and Tyr, the cross-linking degree and mechanical properties were improved. At a PP-to-CS ratio of 1:1, at 20 mmol/L CA concentration and at 18 U/mL Tyr concentration, the composite film had the best mechanical properties, antioxidant properties and water vapor barrier properties. In addition, the tensile strength of the film was 130.78 MPa, the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity was 69.05%. Compared with pure PP-CS film, the mechanical properties of the PP-CA-CS composite film were increased by 3.6 times, the antioxidant potential was increased by 3.2 times, and the water vapor permeability was decreased by 8%. The results of scanning electron microscopy (SEM) showed that the PP-CA-CS composite film was smooth and compact, so it had high

收稿日期: 2024-04-01

基金项目: 山东省重点研发计划项目 (2019GNC106084);

山东理工大学招远工业技术研究院创新研究基金项目 (9101-2212401; 9101-220193);

2022年山东省专业学位研究生教学案例库建设项目 (4053-221033)

第一作者简介: 倪乙丹 (2000—) (ORCID: 0009-0007-4951-8272), 女, 硕士研究生, 研究方向为功能性食品。

E-mail: 473243090@qq.com

*通信作者简介: 盛桂华 (1976—) (ORCID: 0000-0003-8765-7758), 女, 高级实验师, 博士, 研究方向为功能性食品。

E-mail: sgh76@126.com

water vapor barrier performance. No new functional groups were generated in the film formation process as demonstrated by infrared spectral analysis. Therefore, this study provides a new idea for researchers in the field of new food packaging, and offers data and theoretical support for the development of edible films.

Keywords: pea protein; chlorogenic acid; chitosan; tyrosinase; edible films

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240401-008

中图分类号: TS206.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 21-0271-09

引文格式:

倪乙丹, 周泉城, 李娅婕, 等. 基于酪氨酸酶交联的豌豆蛋白-绿原酸-壳聚糖复合膜的构建及相关品质分析[J]. 食品科学, 2024, 45(21): 271-279. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240401-008. <http://www.spkx.net.cn>

NI Yidan, ZHOU Quancheng, LI Yajie, et al. Construction and characterization of pea protein-chlorogenic acid-chitosan composite film based on tyrosinase crosslinking[J]. Food Science, 2024, 45(21): 271-279. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240401-008. <http://www.spkx.net.cn>

随着社会节奏逐渐加快, 高分子材料合成塑料年产量达到2亿 t, 塑料为一种特殊的高分子材料, 至少要200年才能降解^[1-3], 这使得白色污染成为了普遍现象, 环保问题也成为国际关注的焦点^[4], 因此, 研发和生产环保可降解的可食用膜近年来被研究者们所关注。可食用膜是一种用不同可食用生物聚合物如蛋白质、多糖和脂类为成膜基质, 形成的具有一定阻隔能力和机械性能的薄膜^[5-6], 同时为增加其柔韧性并降低脆性, 通常使用甘油、山梨糖醇等作为增塑剂^[7-8]。可食用膜的材料来源广泛, 并且可以加入各种天然功能性物质, 使膜的功能特性更加丰富^[9-10]。豌豆蛋白(pea protein, PP)因其良好的生物相容性与较高的营养价值, 常作为可食用膜的成膜基质进行研究^[11]。然而, 单一材料制备而成的可食用蛋白膜存在高刚度、低延展性与较差的疏水性等缺点, 实际应用受到限制。壳聚糖(chitosan, CS)具有良好的阻气性能和抗菌性能, 因此成为一种潜在的可食用膜成分并备受关注^[12]。所以, 在以PP为成膜基质的基础上, 添加CS对PP进行交联, 以改善其成膜性能, 以期增加复合膜的抗菌性能、机械性能、阻气性能等。绿原酸(chlorogenic acid, CA)作为一种功能性成分, 是金银花、枇杷叶、杜仲等的主要活性成分之一, 国内外的研究发现CA具有抗菌、抗炎、抗氧化和免疫调节等多种药理活性^[13-15], 有学者曾将其用于瓜、果、蔬菜的长期保鲜并取得了显著效果^[16]。有研究表明, 向CS中添加酚酸类物质不仅能够增强CS膜的机械性能与水蒸气阻隔性能, 还可以提高薄膜的抗氧化性能^[17]。酪氨酸酶(tyrosinase, Tyr)广泛存在于动植物中, 能催化单酚类和多酚类氧化为醌类, 醌类不稳定, 可与蛋白质的氨基和巯基反应, 形成蛋白质-多酚接枝产物, 在低分子量酚类成分作为桥接剂的情况下有效地交联蛋白质, 此外, 在Tyr的催化下, 多酚不仅可以与蛋白质交联, 还可以与含氨基多糖交联^[18]。

综上, 本研究以PP为基材、CS为改善成膜性材料、CA为功能性成分, 构建绿色环保的可食用膜, 并且探究PP与CS比例、CA添加量和Tyr添加量对PP-CA-CS复合膜结构及性能的影响。通过Tyr交联蛋白、多糖与多酚, 使CA接枝至PP与CS结构中, 随后采用溶液共混法制得PP-CA-CS复合膜, 并通过分析微观结构、红外、游离巯基、二硫键、机械性能、抗氧化性能、水蒸气透过率等指标, 揭示Tyr交联蛋白、多酚和多糖的作用机理, 提高PP的产品附加价值, 并且为PP在可食用膜领域的发展产生积极作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

PP(以豌豆为原料经干法制备成PP, 蛋白纯度≥75%) 烟台双塔食品股份有限公司; CS(相对分子质量200 000, 脱乙酰度90%)、CA(相对分子质量354.30, 纯度≥98%)、甘油 上海爱纯生物科技有限公司; Tyr(1 100 U/mg) 合肥博美生物科技有限公司; 其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

CS-820色度计 北京康光光学仪器有限公司; UV759CRT扫描型紫外-可见分光光度计 上海佑科仪器公司; Nicolet5700型傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)仪 美国热电尼高力仪器公司; Quanta 250型场发射环境扫描电子显微镜 美国FEI公司; DHG-9245A恒温恒湿箱 上海一恒科学仪器有限公司; Q2000差示扫描量热仪 美国TA公司; TA-XT质构仪 北京微讯超技仪器技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 PP-CA-CS复合膜的制备

PP-CA-CS复合膜的制备参考Wang Qiankun等^[18]的方法稍作改动。首先, 将PP分散于去离子水中, 将CS分散

在1%的醋酸溶液中,加热搅拌至完全溶解。为探讨蛋白与多糖浓度比、CA添加量和Tyr添加量对膜性能的影响,将PP和CS溶液以不同体积比混合,使得最终的总溶液中PP和CS的总体积分数为3%,然后在PP和CS分散液中加入CA和Tyr并且加入1%的甘油作为增塑剂,充分搅拌。之后,将得到的溶液在80℃水浴锅中加热15 min使酶失活,最后在4 000 r/min条件下离心10 min。取42 mL膜液于13 cm×13 cm培养皿中,置于温度35℃、相对湿度45%的恒温恒湿箱中烘干,干燥后置于相对湿度50%、温度25℃的调节柜中保存,以保证水平平衡之后测量各种性能。复合膜溶液配方如下所示:

1) PP与CS比例为变量:膜液中PP与CS的总体积分数为3%,PP与CS比例分别为3:0、0:3、1:1、1:2、2:1,CA浓度为20 mmol/L,Tyr添加量为18 U/mL。

2) CA添加量为变量:膜液中PP与CS的总体积分数为3%,PP与CS比例为1:1,CA浓度分别为0、10、15、20、25、30 mmol/L,Tyr添加量为18 U/mL。

3) Tyr添加量为变量:膜液中PP与CS的总体积分数为3%,PP与CS比例为1:1,CA浓度为20 mmol/L,Tyr添加量为0、9、18、36、54、72 U/mL。

经过反复实验得出,PP与CS比例为3:0时膜液成膜性较差,Tyr添加量为54 U/mL和72 U/mL时PP-CA-CS复合膜呈凝胶状,以上3组膜无法测定后续指标。

实验中所有复合膜统称为PP-CA-CS复合膜,PP:CS比例为1:1,CA添加量为0 mmol/L,Tyr添加量为0 U/mL的复合膜为空白对照膜,简称为空白膜;PP:CS比例为0:3的简称为3% CS膜,PP:CS比例为1:1的复合膜简称为PP:CS 1:1膜,1:2的为PP:CS 1:2膜,2:1的为PP:CS 2:1膜;CA添加量为变量的膜统称为CA膜,不同添加量(0、10、15、25、30 mmol/L)的分别简称为CA-0膜、CA-10膜、CA-15膜、CA-25膜、CA-30膜;Tyr添加量为变量的复合膜统称为Tyr膜,不同添加量(0、9、36 U/mL)的分别简称为Tyr-0膜、Tyr-9膜、Tyr-36膜。

1.3.2 PP-CA-CS复合膜厚度测定

根据GB/T 6672—2001《塑料薄膜和薄片厚度测定 机械测量法》测定薄膜厚度。使用螺旋测微器测量薄膜上任意5个点,使用平均值确定薄膜的厚度。

1.3.3 PP-CA-CS复合膜光学性质测定

采用色度仪测定薄膜的光学性质,并以该仪器提供的标准白板($L=99.98$ 、 $a=-0.04$ 、 $b=-0.02$)为背景,将薄膜固定在透射测量位置,测量其颜色参数,并用相机记录复合膜颜色,通过评价颜色参数 L^* (亮度)、 a^* (绿色/红色)和 b^* (蓝色/黄色)确定薄膜的颜色。每组测量5次,实验结果用平均值表示。总色差 ΔE 由式(1)计算:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (1)$$

1.3.4 PP-CA-CS复合膜机械性能测定

将可食用膜切割成尺寸为20 mm×60 mm的矩形片,在5 g的触发力、20 mm的初始拉伸距离和3.0 mm/s的拉伸速度下测试薄膜的机械特性。使用数字千分尺厚度计(精度0.001 mm)在测试薄膜样品区域中的10个随机位置测量薄膜厚度。分别根据式(2)、(3)计算膜的抗拉强度和断裂伸长率^[19]:

$$\text{抗拉强度/MPa} = \frac{F \times 10^3}{a \times b} \quad (2)$$

式中: F 表示薄膜在断裂时能够承受的最大应力/N; a 表示薄膜的厚度/ μm ; b 表示薄膜的宽度/mm。

$$\text{断裂伸长率/\%} = \frac{L - L_0}{L_0} \times 100 \quad (3)$$

式中: L 表示断裂时达到的薄膜样品的长度/mm; L_0 表示初始长度/mm。

1.3.5 PP-CA-CS复合膜抗氧化性能测定

采用Lin Derong等^[20]的1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)自由基法,稍作修改。将20 mg膜置于5 mL甲醇中,在25℃保存12 h。将DPPH溶于甲醇形成DPPH自由基溶液,质量浓度为0.025 g/L。取200 μL 膜提取物与5 mL DPPH自由基溶液混合,常温避光保存30 min,测定其在517 nm处的吸光度。DPPH自由基清除率计算公式为:

$$\text{DPPH自由基清除率/\%} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (4)$$

式中: A_0 为DPPH自由基溶液在517 nm处的吸光度; A_1 为含样品的DPPH自由基溶液在517 nm处的吸光度。

1.3.6 PP-CA-CS复合膜水蒸气渗透性测定

薄膜的水蒸气渗透性采用杯形测量法^[21],稍作修改。将膜(直径30 mm)密封在含有10 mL去离子水的玻璃测试杯(直径20 mm、深度75 mm)上。将杯子置于25℃、50%相对湿度的培养箱中,每隔6 h记录杯子的质量变化,持续2 d。按照式(5)计算水蒸气透过率:

$$\text{水蒸气透过率/(g/(Pa} \cdot \text{s} \cdot \text{m))} = \frac{m \times d}{A \times t \times \Delta P} \quad (5)$$

式中: m 为称量杯质量增加量/g; d 为膜厚度/mm; t 为渗透时间/s; A 为膜有效接触面积/ m^2 ; ΔP 为膜在25℃两侧的蒸汽压差/kPa。

1.3.7 PP-CA-CS复合膜含水率测定

复合膜的含水率测定参考Lee等^[22]描述的方法略加修改。称量薄膜样品(2 cm×2 cm)的初始质量,记为 M_1 。随后在65℃烘箱中干燥直至恒质量,称量干燥后的膜质量,记为 M_2 。含水率计算为干燥过程中质量损失的百分比。按式(6)计算含水率^[23]:

$$\text{含水率/\%} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \quad (6)$$

1.3.8 PP-CA-CS复合膜巯基和二硫键含量的测定

参考嵇威等^[24]的方法并稍作修改。Tris-Gly（甘氨酸）缓冲液：8 mol/L尿素、0.086 mol/L Tris、0.09 mol/L Gly、0.004 mol/L乙二胺四乙酸（ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA）。

巯基含量测定：将PP-CA-CS复合膜液冻干后溶于Tris-Gly缓冲液，配为7.50 mg/mL蛋白溶液。取1 mL上述溶液，加入4 mL Tris-Gly缓冲液与Ellman试剂，暗处反应10 min，412 nm处测定吸光度（ $A_{412\text{ nm}}$ ），按照式（7）计算游离巯基含量：

$$\text{游离巯基（总巯基）含量/（}\mu\text{mol/g）} = \frac{73.53 \times A_{412\text{ nm}}}{C} \quad (7)$$

式中：C为样品蛋白质量浓度/（mg/mL）。

总巯基含量测定：取1 mL上述蛋白溶液，加入0.05 mL β -巯基乙醇与Tris-Gly缓冲液，反应1 h后加入10 mL三氯乙酸溶液（0.734 mol/L），振荡混匀。充分反应1 h后，3 500×g离心15 min，收集沉淀，加入10 mL Tris-Gly缓冲液，振荡溶解沉淀，取4 mL该溶液，加入0.04 mL Ellman试剂，暗处反应10 min后于412 nm处测定吸光度（ $A_{412\text{ nm}}$ ），按照式（7）计算总巯基含量，然后根据式（8）计算二硫键含量：

$$\text{二硫键含量/（}\mu\text{mol/g）} = \frac{\text{总巯基含量}-\text{游离巯基含量}}{2} \quad (8)$$

1.3.9 扫描电子显微镜观察形貌

采用扫描电子显微镜在加速电压5.0 kV、放大1 000倍条件下观察薄膜的表面和截面微观结构。

1.3.10 FTIR测定

使用配备衰减全反射附件的FTIR仪对以空气光谱为背景的膜进行红外光谱扫描，分析膜组分之间的相互作用。在4 000~400 cm^{-1} 波数范围内进行32次扫描，分辨率设置为4 cm^{-1} 。

1.3.11 热稳定性测定

热稳定性采用差示扫描量热法（differential scanning calorimetry, DSC）测定。将膜切成2.0~3.0 mg的小片，密封在铝坩埚中，并以空密封铝坩埚为对照。加热温度范围25~150 $^{\circ}\text{C}$ ；升温速率15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ； N_2 流速为20 mL/min。根据仪器分析软件计算各样品分解温度^[25]。

1.4 数据统计分析

每个实验重复3次，结果表示为 $\bar{x} \pm s$ 。SPSS 19.0分析实验数据，Origin 8.5作图。

2 结果与分析

2.1 PP-CA-CS复合膜的色差及厚度

各复合膜的颜色参数见表1，实物图见图1。3% CS复合膜的 L^* 值低于空白膜，表明3% CS复合膜的颜色更

深，浑浊度更高。同时，随着多酚含量增加，复合膜颜色变深，膜变暗，且CA-0复合膜 L^* 值与空白膜无显著差别，当添加CA后复合膜 L^* 值显著降低，这表明PP-CA-CS复合膜的颜色变化是由CA引起的；并且随着Tyr含量升高，复合膜颜色逐渐变浅，但相对于空白膜不透明值较高。从色差上分析，PP:CS 1:1膜色差较空白组最大，颜色较深，虽然深色会影响消费者的接受度，但它在感光性食品中发挥了很好的作用，PP-CA-CS复合膜的防紫外线性能是由于蛋白质的芳香氨基酸对紫外线的吸收，这有利于光敏性食品的保存^[26]。

表1 复合膜厚度及颜色分析

Table 1 Analysis of thickness and color of composite films					
样品	厚度/mm	L^*	a^*	b^*	ΔE
空白膜	0.068±0.004 ^{def}	46.82±1.28 ^a	40.25±2.37 ^c	-40.74±1.05 ^{cd}	0
3% CS膜	0.097±0.003 ^a	35.57±1.66 ^b	37.53±3.22 ^c	-27.78±3.55 ^a	58.70±4.53 ^{ab}
PP:CS 1:2膜	0.056±0.002 ^d	26.60±2.63 ^{cd}	86.46±3.15 ^a	-87.75±2.24 ^f	66.98±2.73 ^a
PP:CS 1:1膜	0.042±0.001 ^b	33.41±2.92 ^b	87.00±3.01 ^a	-85.87±4.14 ^f	68.40±4.75 ^a
PP:CS 2:1膜	0.057±0.002 ^e	16.65±2.61 ^f	84.47±25.32 ^{ab}	-48.68±10.25 ^{de}	61.71±4.66 ^{ab}
CA-0膜	0.085±0.005 ^b	47.79±1.73 ^a	32.19±1.93 ^c	-29.54±2.16 ^{ab}	13.89±2.91 ^c
CA-10膜	0.077±0.002 ^{bcd}	23.98±3.11 ^{de}	75.30±2.95 ^{ab}	-37.44±2.75 ^{abc}	45.00±9.34 ^{cd}
CA-15膜	0.063±0.001 ^{ef}	20.94±5.23 ^f	73.54±4.42 ^{ab}	-40.17±5.93 ^{bcd}	32.99±15.73 ^d
CA-25膜	0.073±0.003 ^{cde}	24.03±1.34 ^{de}	74.66±3.87 ^{ab}	-37.01±2.07 ^{abc}	41.49±3.73 ^{cd}
CA-30膜	0.081±0.005 ^{bc}	21.37±2.27 ^f	84.01±8.15 ^{ab}	-40.66±7.31 ^{cd}	51.21±8.09 ^{bc}
Tyr-0膜	0.062±0.019 ^{ef}	25.41±2.42 ^{de}	67.33±8.70 ^b	-33.72±9.25 ^{abc}	36.65±3.65 ^d
Tyr-9膜	0.073±0.003 ^{cde}	29.37±1.26 ^e	71.88±3.08 ^{ab}	-57.49±1.62 ^c	39.84±3.39 ^{cd}
Tyr-36膜	0.064±0.004 ^{ef}	34.62±0.69 ^b	81.03±13.27 ^{ab}	-68.90±8.55 ^f	52.19±8.43 ^{bc}

注：同列小写字母不同表示差异显著（ $P<0.05$ ）。

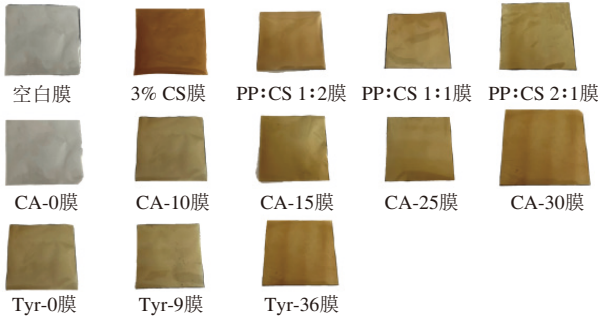


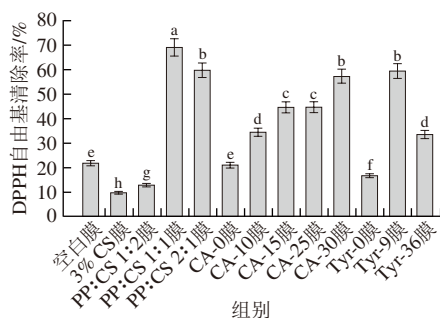
图1 各复合膜实物图

Fig. 1 Pictures of composite films

如表1所示，PP-CA-CS复合膜厚度范围为0.042~0.097 mm，其中3% CS膜的厚度（0.097 mm）显著大于空白膜（0.068 mm）。PP与CS以不同比例混合的复合膜厚度均低于空白膜和3% CS膜，这可能与PP和CS组分在体系中的分散有关。随着CA添加量的增加，PP与CA交联程度逐渐增加，内部结构逐渐紧密，复合膜厚度降低，并且当CA添加量为20 mmol/L时复合膜最薄。同时，Tyr添加量达到18 U/mL时，膜的厚度显著降低为0.042 mm，当添加量继续增加时，膜的厚度又有所增加，这可能是由于过度交联导致膜内局部聚集和厚度分布不均匀^[27]。

2.2 PP-CA-CS复合膜的抗氧化活性

如图2所示,所有复合膜均具有清除DPPH自由基活性。3% CS膜固有的抗氧化活性归因于CS结构中羟基和氨基的存在,但抗氧化活性有限^[27-28]。相较于3% CS复合膜,空白膜抗氧化活性提高,可能是由于PP中的肽具有抗氧化作用,但抗氧化活性较低。随着膜中CS含量的增加,抗氧化活性先上升后降低。此外,复合膜的抗氧化性能与CA的添加量有关,研究表明,酚类化合物可以显著提高膜的抗氧化活性^[29]。随着CA浓度的升高,复合膜抗氧化活性显著提升,且在CA 20 mmol/L时, DPPH自由基清除率最高,为69.05%,与空白膜相比提高了2.2倍,这表明PP和CS体系的抗氧化能力显著增强是由CA引起的,但当CA添加量继续增加到25 mmol/L时,抗氧化能力下降,这可能是由于多酚含量增加,复合膜液明显变黏稠,导致成膜液中CA分布不均匀,在后续离心过程中一部分CA被沉淀,未起到抗氧化作用。同时,当Tyr添加量达到18 U/mL时,复合膜抗氧化活性达到最高,但是当Tyr添加量继续增加,复合膜的抗氧化活性降低,可能是因为过量的Tyr催化下PP与CA进行交联从而使膜液变黏稠,从而限制了CA的流动,导致复合膜抗氧化活性降低。



小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$), 图4、5同。

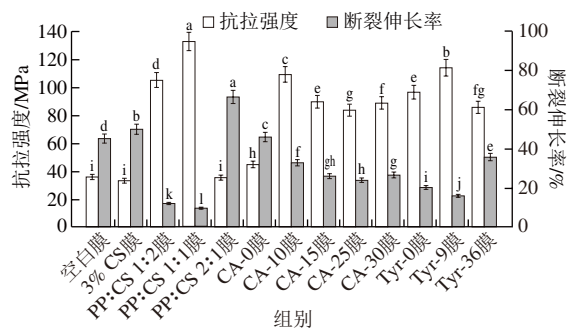
图2 复合膜DPPH自由基清除率

Fig. 2 DPPH radical scavenging capacity of composite films

2.3 PP-CA-CS复合膜的机械性能

机械性能与成膜基质组分的分子间和分子内相互作用有关^[30]。图3反映了不同CS、CA和Tyr浓度下PP-CA-CS复合膜的机械性能,成膜基质中组分浓度和类型的差异都会影响复合膜基质之间的相互作用,从而影响复合膜内部结构^[31]。当PP与CS比例为1:1时,抗拉强度最大,这是因为在Tyr的催化下,CA与PP和CS的交联程度显著提高,CS比例继续增加,复合膜抗拉强度降低,这与Wang Qiankun等^[18]研究结果一致。当CA添加量为20 mmol/L时,抗拉强度达到最高。添加CA后,反应体系中活性基团数量增加,促进了CA与PP和CS之间的交联,从而提高了膜的抗拉强度,此外,多酚类化合物因为存在多个酚羟基,能够与蛋白质的羰基形成氢键或共

价键,从而提高薄膜的抗拉强度,此外,有研究表明,酚酸类化合物的羟基也可以与CS分子中的羟基或氨基产生氢键作用,从而减小膜的自由体积与分子迁移率,形成更为致密的网状结构^[32]。例如,在CS-明胶复合薄膜中加入阿魏酸,由于薄膜组分之间的共价交联,薄膜的抗拉强度显著提高^[33]。随着酶浓度的增加,膜的力学性能得到改善。当酶添加量从0 U/mL增加到36 U/mL时,PP-CA-CS复合膜的抗拉强度呈先升高后降低的趋势,且当Tyr添加量为18 U/mL时复合膜抗拉强度最高,为130.78 MPa,当酶浓度进一步提高,复合膜的抗拉强度降低,这是因为酶活性的提高促进了催化反应过程中水的生成,而水的生成弥补了交联阻碍分子链运动的缺陷,进一步促进了膜基质的运动,提高了膜的断裂伸长率,从而降低了抗拉强度^[18]。PP-CA-CS复合膜的断裂伸长率与复合膜抗拉强度呈反比,当抗拉强度提高时,PP-CA-CS复合膜断裂伸长率降低。综上,PP与CS比例1:1、CA添加量20 mmol/L、Tyr添加量18 U/mL为最佳,且与空白膜相比,PP:CS 1:1膜机械性能增强了2.6倍。



同一指标小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图3 复合膜机械性能

Fig. 3 Mechanical properties of composite films

2.4 PP-CA-CS复合膜的水蒸气透过率

进一步研究不同PP与CS比例、CA添加量和Tyr添加量对PP-CA-CS复合膜水蒸气渗透性的影响,结果如图4所示。复合膜的水蒸气透过率随着CS含量的增加呈先降低后升高的趋势,这是由于加入的CS的量逐渐增多,与PP结合的CS数量越来越多,PP与CS结合形成致密的网格结构,从而导致水蒸气透过率的降低,但是当浓度过大时,复合膜液中的结构过于松散,使水分子更加容易通过复合膜;同时,膜的水蒸气透过率随CA含量的增加呈先上升后下降的趋势,CA-10膜中CA含量较少,复合膜中各组分交联不足,水蒸气透过率持续上升,但随着CA含量的增加,复合膜水蒸气透过率下降,这可能是因为CA中较多的羟基促进了其与PP和CS分子的氢键结合,使水蒸气透过率下降,但过量的CA也增加了体系中的亲水性基团,从而削弱了水蒸气阻隔作用^[34]。先前的研究

也报道了类似的结果^[35-36]。此外,随着Tyr浓度的增加,水蒸气透过率先下降后上升,这是由于经过Tyr处理后PP与CA之间共价交联,导致PP-CA网络结构相对紧密,但过量的Tyr处理后CA中较多的亲水性基团也暴露出来^[37],从而增大了复合膜的水蒸气透过率,综合以上分析,PP:CS 1:1膜水蒸气透过率最低,为 $2.57\times 10^{-16}\text{ g}/(\text{Pa}\cdot\text{s}\cdot\text{m})$,相比于空白膜降低了8%。

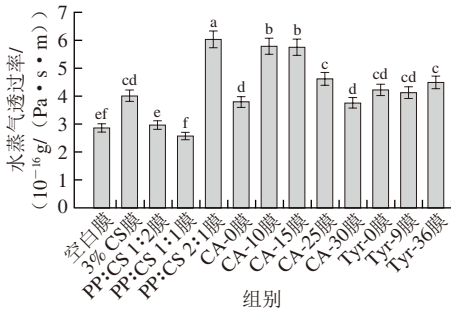


图4 复合膜的水蒸气透过率
Fig. 4 Water vapor transmittance of composite films

2.5 PP-CA-CS复合膜的含水率

水分含量是评价包装材料优劣的重要指标,在可食用性薄膜中,水分含量不仅对薄膜本身的柔韧性和耐久性有重要影响,而且也是影响食品货架期长短的重要因素,膜中的含水率与其水分吸收能力相关^[29]。

图5为各复合膜水分含量,PP-CA-CS复合膜的含水率随着PP与CS比例的升高呈先降低后升高的趋势,当CA添加量为0 mmol/L时复合膜含水率最高,随着CA添加,复合膜的含水率降低,并且复合膜的含水率与Tyr的添加量也呈负相关,可能的原因为加入CA后,同时在酶的催化下,PP的紧密结构打开,内部疏水基团如一CH₃等基团暴露并交联,不能通过氢键吸附水分,导致含水率下降^[38]。

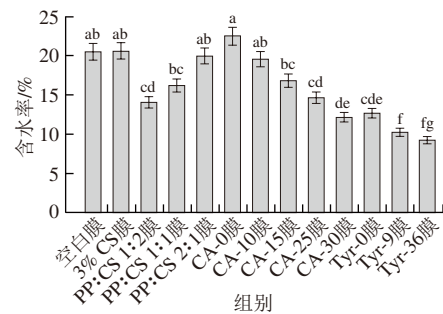


图5 复合膜含水率
Fig. 5 Water content of composite films

2.6 PP-CA-CS复合膜的游离巯基和二硫键含量

二硫键和巯基之间的转变是一个动态过程,游离巯基的变化可以反映蛋白质三级构象的变化^[39]。巯基交联反应生成的二硫键稳定性极高,因此可以增强蛋白质的

结构稳定性。根据图6可知,游离巯基随着CS含量的降低而升高,二硫键呈降低的趋势。并且与添加CA的样品相比,当CA添加量为0 mmol/L时,游离巯基含量最低,二硫键含量最高,因此可以说明多酚对巯基和二硫键有着显著影响,随着CA的增加,游离巯基增加,二硫键减少,这是由于大多数巯基基团在蛋白质天然形态下被认为是隐藏在疏水核心内,因此不呈现为游离状态,而且经过多酚与蛋白的交联反应,蛋白质的折叠结构发生变化,这种变化可能影响巯基之间的相互作用,从而导致游离巯基数量增加和二硫键数量的减少,这与Shi Ruijie等^[40]所报道的结果一致,且随着Tyr的增加,游离巯基与二硫键均呈下降趋势。

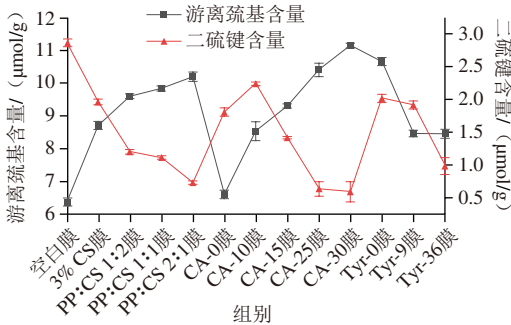
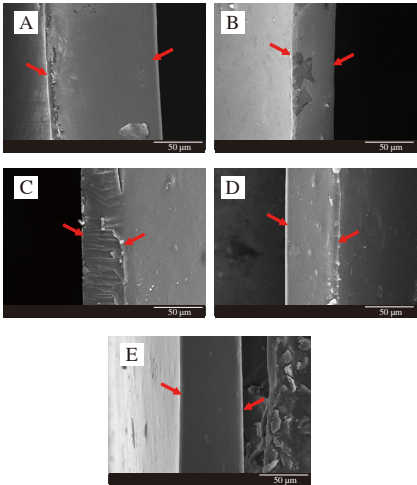


图6 不同复合膜游离巯基、二硫键变化
Fig. 6 Changes in free sulfhydryl and disulfide bonds in different composite films

2.7 PP-CA-CS复合膜的微观形貌分析



A. 3% CS膜; B. 空白膜; C. CA-0膜; D. Tyr-0膜; E. PP:CS 1:1膜。
图7 PP-CA-CS膜截面形貌分析
Fig. 7 Cross-sectional morphology of PP-CA-CS film

图7A为3% CS膜,横截面不平整且有裂缝,这也解释了水蒸气透过率较大的原因。图7B为空白膜,内部结构也较为粗糙,瑕疵较为明显,这是由于空白膜中没有

加入CA与Tyr, 单纯PP与CS交联程度较低, 结构分散。此外, 图7C为CA-0膜横截面, 截面粗糙, 颗粒状物质较多且有凸起, 这可能是由于一部分酶并未进行交联反应而残留在复合膜中。图7D为Tyr-0膜截面, 同样出现颗粒状物质, 也是由于CA与PP交联程度较低, 剩余未起到交联作用的CA残留在复合膜中。PP:CS 1:1膜截面光滑紧致(图7E), 从断面规则紧密的结构可以看出4种高分子相溶性较好, 复合膜内部结构较为规整, 更加致密紧实, 可能有利于提高复合膜的性能^[41], 这也进一步说明了PP-CA-CS阻碍了水分子透过膜基质^[39], 从而提高了PP-CA-CS复合膜的阻水性。

2.8 PP-CA-CS复合膜的FTIR分析

蛋白质的FTIR包括 $1\ 700\sim 1\ 600\text{ cm}^{-1}$ 的酰胺I区(主要是C=O拉伸振动)和 $1\ 600\sim 1\ 500\text{ cm}^{-1}$ 处的酰胺II区(N—H弯曲和C—N拉伸模式), 在 $2\ 923\text{ cm}^{-1}$ 处为一CH₂—基团的吸收峰, $1\ 410\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰与羧酸酯基团相关, $1\ 151\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰为糖苷键的C—O—H键拉伸振动, 在 659 cm^{-1} 处出现的特征峰为吡喃环振动^[42]。由图8可知, 6种复合膜峰形基本相同。空白膜样品在 $3\ 295\text{ cm}^{-1}$ 附近有较强吸收峰, 为一OH伸缩振动吸收峰, 各复合膜在该特征峰位置向高波方向移动, 主要是因为—OH的拉伸振动, 说明CS中的氨基与CA中的羟基发生反应, 从而形成分子间交联。随着PP与CS比例降低, 酰胺I波段($1\ 651.27\text{ cm}^{-1}$)和酰胺II波段($1\ 558.47\text{ cm}^{-1}$)吸收峰位置向低波方向移动, 表明PP和CS的相互作用和构象发生了变化, Tyr和CA催化反应后, PP:CS 1:1复合膜在 $1\ 651.27\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 558.47\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰移至 $1\ 633.39\text{ cm}^{-1}$ 和 $1\ 558.51\text{ cm}^{-1}$ 处, 其在酰胺I区和酰胺II区的特征峰主要是由C=O键的拉伸振动和N—H弯曲振动引起的, 这些结果表明PP中的氨基酸残基在酶催化下与CA发生了强烈的相互作用, 同样, PP:CS 1:1复合膜在 $3\ 295.51$ 、 $1\ 410.45$ 、 $1\ 151.30\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰移至 $3\ 357.27$ 、 $1\ 410.37$ 、 $1\ 152.68\text{ cm}^{-1}$ 处, 特征峰移动主要是由于O—H、N—H的弯曲振动和C—H的拉伸振动, 说明CS中的氨基与CA中的羟基发生反应, 形成分子间交联。这些结果表明, CA和Tyr添加量的增加也影响了PP-CS的相互作用。上述结果与Wang Qiankun等^[18]研究结果一致。

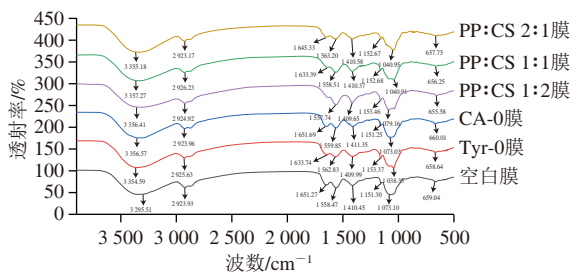


图8 PP-CA-CS复合膜红外光谱图

Fig. 8 Infrared spectra of PP-CA-CS composite films

2.9 PP-CA-CS复合膜的DSC分析

图9为各复合膜的DSC曲线图, 空白膜、CA-0膜均出现了两个熔融峰, 第1个峰为水分的蒸发及PP的变性峰, 第2个峰为CS的降解峰, 其余3组复合膜均加入了CA, 均在 $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ 附近出现了一个熔融峰, 其中未添加Tyr组复合膜的熔融峰变性温度后移, 这是由于CA过量时, 未起到交联作用的CA可能起到增塑的作用^[18], 从而减少了大分子相互作用, 导致膜网微观结构被破坏。在添加Tyr之后, 熔融峰变性温度下降, 说明该复合膜的热稳定性下降, 原因是在Tyr的催化下, 多酚物质被Tyr氧化成醌并且在高温下发生了热降解^[18]。

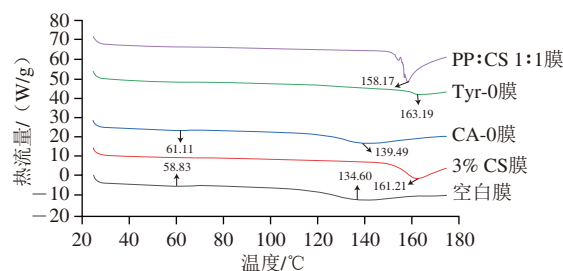


图9 PP-CA-CS复合膜的DSC曲线

Fig. 9 DSC curves of PP-CA-CS composite film

3 结论

酶法交联PP、CA和CS改善了复合膜性能, 添加Tyr和CA后的PP-CA-CS复合膜的结构更加致密, 水蒸气透过率显著降低, 由DSC曲线可知, PP-CA-CS复合膜的热稳定性有所降低, 通过DPPH自由基清除率分析, PP-CA-CS复合膜的抗氧化性能有显著提高, 通过红外光谱分析, 发现加入Tyr并未引起蛋白质主要二级结构的显著变化, 但游离巯基含量的变化说明蛋白质分子内部三级结构发生改变, 表明蛋白质分子内部构象发生变化, 这种变化进一步改善了PP-CA-CS复合膜的性能。此外, 当PP与CS比例为1:1、CA添加量为 20 mmol/L 、Tyr添加量为 18 U/mL 时, PP-CA-CS复合膜的机械性能、抗氧化性能、水蒸气阻隔性能表现最优, 此时膜的抗拉强度为 130.78 MPa , DPPH自由基清除率为 69.05% , 改善后的PP-CA-CS复合膜与空白组相比, 机械性能增强了2.6倍, 抗氧化性能提高了2.2倍, 水蒸气透过率降低了8%, 即有更高的抗拉强度、抗氧化性能和水蒸气阻隔作用, 这有助于提高被包裹物品的新鲜度, 延长保质期, 可以有效防止物品氧化腐烂。综上, 本研究为植物蛋白质基可食用膜的研发提供了新的思路, 并为开发新型可食用膜体系提供了数据支撑和理论支持。

参考文献:

- [1] 苏玲, 任世学, 方桂珍. 戊二醛交联碱木质素/聚乙烯醇膜的制备及其光学性能[J]. 生物化学工程, 2013, 47(3): 1-5. DOI:10.3969/j.issn.1673-5854.2013.03.001.
- [2] 陈新, 邵正中, 黄郁芳, 等. 不同交联剂含量对戊二醛交联壳聚糖膜结构与性能影响的研究[J]. 化学学报, 2000, 58(12): 1654-1659. DOI:10.3321/j.issn: 0567-7351.2000.12.029.
- [3] 林海莉, 曹静, 李艳. 戊二醛交联明胶膜的制备与性能研究[J]. 化学工程与装备, 2010(6): 56-58. DOI:10.3969/j.issn.1003-0735.2010.06.020.
- [4] 刘桂超, 龙门, 宋野, 等. 纳米蒙脱土含量对聚乙烯醇基纳米复合膜包装性能的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(14): 216-222. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201414042.
- [5] RIBEIRO-SANTOS R, ANDRADE M, DE MELO N R, et al. Use of essential oils in active food packaging: recent advances and future trends[J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 61: 132-140. DOI:10.1016/j.tifs.2016.11.021.
- [6] 梁月. 麝香草酚和香芹酚对高温花生蛋白膜性能影响的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2020: 72-73. DOI:10.27327/d.cnki.gshnu.2020.000290.
- [7] LIN D R, ZHENG Y, WANG X, et al. Study on physicochemical properties, antioxidant and antimicrobial activity of okara soluble dietary fiber/sodium carboxymethyl cellulose/thyme essential oil active edible composite films incorporated with pectin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165: 1241-1249. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.005.
- [8] 王莹, 刘晶晶, 张飞飞, 等. 乳清蛋白成膜条件及其应用[J]. 中国食品学报, 2021, 21(1): 172-179. DOI:10.16429/j.1009-7848.2021.01.021.
- [9] MENZEL C. Improvement of starch films for food packaging through a three-principle approach: antioxidants, cross-linking and reinforcement[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 250: 116828. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116828.
- [10] OBIRO W C, SINHA RAY S, EMMAMBUX M N. V-amylose structural characteristics, methods of preparation, significance, and potential applications[J]. Food Reviews International, 2012, 28(4): 412-438. DOI:10.1080/87559129.2012.660718.
- [11] 刘树萍, 彭秀文, 张佳美, 等. 蛋白/植物精油基复合膜的形成机制及在食品保鲜上的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2023, 44(22): 342-351. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2022110029.
- [12] YOUNES I, HAJJI S, FRACHET V, et al. Chitin extraction from shrimp shell using enzymatic treatment. antitumor, antioxidant and antimicrobial activities of chitosan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 69: 489-498. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2014.06.013.
- [13] FLORENTINO G I B, LIMA D A S, SANTOS M M F, et al. Characterization of a new food packaging material based on fish by-product proteins and passion fruit pectin[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2022, 33: 100920. DOI:10.1016/j.fpsl.2022.100920.
- [14] NAVEED M, HEJAZI V, ABBAS M, et al. Chlorogenic acid (CGA): a pharmacological review and call for further research[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018, 97: 67-74. DOI:10.1016/j.biopha.2017.10.064.
- [15] BAGDAS D, GUL Z, MEADE J A, et al. Pharmacologic overview of chlorogenic acid and its metabolites in chronic pain and inflammation[J]. Current Neuropharmacology, 2020, 18(3): 216-228. DOI:10.2174/1570159X17666191021111809.
- [16] 王轩, 包飞, 陈旭. 蒲公英中绿原酸酶法提取工艺及其对圣女果保鲜效果研究[J]. 农产品加工, 2019(20): 39-43; 46. DOI:10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2019.10.047.
- [17] WANG Y Y, DU H J, XIE M H, et al. Characterization of the physical properties and biological activity of chitosan films grafted with gallic acid and caffeic acid: a comparison study[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2019, 22: 100401. DOI:10.1016/j.fpsl.2019.100401.
- [18] WANG Q K, CHEN W Z, MA C C, et al. Enzymatic synthesis of sodium caseinate-EGCG-carboxymethyl chitosan ternary film: structure, physical properties, antioxidant and antibacterial properties[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 222: 509-520. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.09.138.
- [19] 刘飞. 茶多酚-壳聚糖纳米粒明胶复合膜的制备及抗氧化应用特性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017: 38-45.
- [20] LIN D R, ZHENG Y, WANG X, et al. Study on physicochemical properties, antioxidant and antimicrobial activity of okara soluble dietary fiber/sodium carboxymethyl cellulose/thyme essential oil active edible composite films incorporated with pectin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165: 1241-1249. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.10.005.
- [21] ROY S, RHIM J W. Carrageenan-based antimicrobial bionanocomposite films incorporated with ZnO nanoparticles stabilized by melanin[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 90: 500-507. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.12.056.
- [22] LEE T K, KANG I J, KIM B, et al. Experimental pretreatment with chlorogenic acid prevents transient ischemia-induced cognitive decline and neuronal damage in the hippocampus through anti-oxidative and anti-inflammatory effects[J]. Molecules, 2020, 25(16): 3578. DOI:10.3390/molecules25163578.
- [23] CHEN H Z, ZHANG M, BHANDARI B, et al. Novel pH-sensitive films containing curcumin and anthocyanins to monitor fish freshness[J]. Food Hydrocolloids, 2020, 100: 105438. DOI:10.1016/j.foodhyd.2019.105438.
- [24] 嵇威, 刘军, 杨进洁, 等. 动态高压微射流环境中豌豆白蛋白-绿原酸复合物的相互作用[J]. 食品科学, 2023, 44(6): 74-81. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20220511-141.
- [25] WANG Z, HU S F, WANG H Y. Scale-up preparation and characterization of collagen/sodium alginate blend films[J]. Journal of Food Quality, 2017, 2017: 4954259. DOI:10.1155/2017/4954259.
- [26] CHILLO S, FLORES S, MASTROMATTEO M, et al. Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 88(2): 159-168. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2008.02.002.
- [27] LI H H, GAO X C, WANG Y, et al. Comparison of chitosan/starch composite film properties before and after cross-linking[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 52: 275-279. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2012.10.016.
- [28] HOLAPPA J, HJÁLMARSDÓTTIR M, MÁSSON M, et al. Antimicrobial activity of chitosan *N*-betainates[J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 65(1): 114-118. DOI:10.1016/j.carbpol.2005.11.041.
- [29] MAQSOOD S, BENJAKUL S, ABUSHELAIBI A, et al. Phenolic compounds and plant phenolic extracts as natural antioxidants in prevention of lipid oxidation in seafood: a detailed review[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014, 13(6): 1125-1140. DOI:10.1111/1541-4337.12106.
- [30] CHEN W Z, MA S B, WANG Q K, et al. Fortification of edible films with bioactive agents: a review of their formation, properties, and application in food preservation[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(18): 5029-5055. DOI:10.1080/10408398.2021.1881435.
- [31] WANG Q K, CHEN W Z, ZHU W X, et al. A review of multilayer and composite films and coatings for active biodegradable packaging[J]. NPJ Science of Food, 2022, 6(1): 18. DOI:10.1038/s41538-022-00132-8.

- [32] 陈佳佳, 郝逗逗, 梅凯, 等. 绿原酸接枝壳聚糖的合成及其体外抗氧化活性评价[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(5): 2603-2607.
- [33] BENBETTAÏEB N, KARBOWIAK T, BRACHAIS C H, et al. Coupling tyrosol, quercetin or ferulic acid and electron beam irradiation to cross-link chitosan-gelatin films: a structure-function approach[J]. European Polymer Journal, 2015, 67: 113-127. DOI:10.1016/j.eurpolymj.2015.03.060.
- [34] LIANG J, YAN H, ZHANG J Y, et al. Preparation and characterization of antioxidant edible chitosan films incorporated with epigallocatechin gallate nanocapsules[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 171: 300-306. DOI:10.1016/j.carbpol.2017.04.081.
- [35] BASCH C Y, JAGUS R J, FLORES S K. Physical and antimicrobial properties of tapioca starch-HPMC edible films incorporated with nisin and/or potassium sorbate[J]. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(9): 2419-2428. DOI:10.1007/s11947-012-0860-3.
- [36] SUN X X, WANG Z, KADOUH H, et al. The antimicrobial, mechanical, physical and structural properties of chitosan-gallic acid films[J]. LWT-Food Science and Technology, 2014, 57(1): 83-89. DOI:10.1016/j.lwt.2013.11.037.
- [37] VILLALOBOS R, HERNÁNDEZ-MUÑOZ P, CHIRALT A. Effect of surfactants on water sorption and barrier properties of hydroxypropyl methylcellulose films[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(4): 502-509. DOI:10.1016/j.foodhyd.2005.04.006.
- [38] CHENG J J, CUI L Q. Effects of high-intensity ultrasound on the structural, optical, mechanical and physicochemical properties of pea protein isolate-based edible film[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2021, 80: 105809. DOI:10.1016/j.ultsonch.2021.105809.
- [39] ZHAO Z K, MU T H, ZHANG M, et al. Effects of high hydrostatic pressure and microbial transglutaminase treatment on structure and gelation properties of sweet potato protein[J]. LWT-Food Science and Technology, 2019, 115: 108436. DOI:10.1016/j.lwt.2019.108436.
- [40] SHI R J, LI T, LI M, et al. Consequences of dynamic high-pressure homogenization pretreatment on the physicochemical and functional characteristics of citric acid-treated whey protein isolate[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 136: 110303. DOI:10.1016/j.lwt.2020.110303.
- [41] SHAHBAZI M, RAJABZADEH G, AHMADI S J. Characterization of nanocomposite film based on chitosan intercalated in clay platelets by electron beam irradiation[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157: 226-235. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.09.018.
- [42] SUBAŞI B G, JAHROMI M, CASANOVA F, et al. Effect of moderate electric field on structural and thermo-physical properties of sunflower protein and sodium caseinate[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2021, 67: 102593. DOI:10.1016/j.ifset.2020.102593.