

## 壳聚糖/玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒复合膜的制备及其性能

李双健, 邸清茹, 龚敏慧, 李思媛, 周剑忠, 范琳琳\*  
(江苏省农业科学院农产品加工研究所 南京 210014)

**摘要** 目的:开发一种负载玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒(体积分数 5%和 10%)作为增强剂和功能剂的壳聚糖/玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒复合膜,并研究玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒对薄膜的物理化学性质和结构属性的影响。结果:扫描电子显微镜(SEM)和 X 射线衍射(XRD)分析表明,玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒呈球形,粒径约为 193~487 nm,与薄膜基体具有良好的相容性,并填充了薄膜基体的空隙,显著提高了薄膜的力学性能,使断裂伸长率从 14.55%增到 42.86%,抗拉强度从 13.26 MPa 增到 36.86 MPa。此外,薄膜的抗氧化性能显著提升,DPPH 和 ABTS 自由基清除活性分别从 31.82%和 31.07% 提高到 84.05%和 79.17%。结论:玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒不仅可以提高壳聚糖膜的力学性能,而且通过负载玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒增强了薄膜的抗氧化性。

**关键词** 纳米颗粒; 花色苷; 生物聚合膜; 力学性能; 抗氧化活性

文章编号 1009-7848(2024)06-0213-10 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.06.019

食品包装材料在控制食品质量和确保食品安全方面发挥着重要作用。随着人们对环境问题的日益关注,可持续和环境友好的天然生物聚合物薄膜被开发为替代传统合成塑料的包装材料,如低密度聚乙烯、聚二偏氯乙烯、聚氯乙烯等<sup>[1]</sup>。一些天然高分子化合物,如明胶、淀粉、海藻酸钠、壳聚糖和魔芋葡甘聚糖成为生产可生物降解、无毒和良好成膜能力的包装薄膜的替代品<sup>[2-3]</sup>。壳聚糖(Chitosan)是一种主要从虾和蟹壳中提取的线性多糖,具有良好的成膜性、生物相容性和可降解性<sup>[4]</sup>。然而,壳聚糖膜的应用受限于其较弱的抗氧化性、机械性能和阻隔能力<sup>[5]</sup>。提高壳聚糖薄膜的物理性能和功能活性,对于开发绿色包装材料具有重要意义。

茶多酚<sup>[6]</sup>、姜黄素<sup>[7]</sup>和花色苷<sup>[8]</sup>等天然提取物被广泛研究并添加到壳聚糖膜中,使薄膜具有很强的抗氧化性及其它功能活性。花色苷作为一种天然酚类化合物,被证明具有强大的抗氧化和抗菌潜力<sup>[9]</sup>。花色苷还被作为一种有效的自由基清除剂

和抗氧化剂来抑制脂质过氧化。将花色苷作为抗氧化剂或防腐剂添加到包装薄膜中,有望延长肉类、奶酪和水果等易腐食品的保质期<sup>[10]</sup>。研究表明含花色苷的壳聚糖膜可有效减少奶酪品质下降和营养损失<sup>[11]</sup>。Merz 等<sup>[12]</sup>从姜黄果中提取花色苷,并将其与壳聚糖和聚乙烯醇通过流延法制备复合膜用来智能检测虾的新鲜度,可以观察到薄膜具有明显的显色效应。然而,花色苷的酚羟基结构很容易受热、pH 值、氧和光的影响,导致其活性减弱<sup>[9]</sup>。壳聚糖易受到体系 pH 值的影响,在酸性的环境下发生解离<sup>[13]</sup>。相反,花色苷在酸性环境(尤其在 pH 1~3)相对稳定,当花色苷和壳聚糖结合时,会受体系 pH 值条件等因素的影响导致活性降低。近年来,蛋白与花色苷结合形成纳米颗粒稳定花色苷的研究有很多<sup>[14]</sup>。研究表明,纳米颗粒具有独特的表面效应和量子尺寸效应,通过将功能因子包裹在纳米颗粒内部或吸附在纳米颗粒表面,可以提高生物活性成分的稳定性,使其活性最大化<sup>[15]</sup>。而且,纳米粒子已被证明可以提高薄膜的机械性能和阻隔性能,由于它具有小尺寸和大比表面积,因此可增强纳米填料与薄膜基质之间的反应<sup>[16]</sup>。又因其高基质/成分界面面积以及改进的控释和活性剂的稳定性而增强薄膜的物理化学和功能特性<sup>[17]</sup>。花色苷纳米颗粒的加入,有利于提高薄膜的抗氧化性、阻隔能力和力学性能。

玉米醇溶蛋白是一种公认的安全 (GRAS)蛋

收稿日期: 2023-06-09

基金项目: 江苏省现代农业(河蟹)产业技术体系质量与安全与加工创新团队项目(JATS[2023]406);江苏省农业自主创新资金项目[CX(22)2026];江苏省重点研发计划重点项目(BE2020387)

第一作者: 李双健,男,硕士

通信作者: 范琳琳 E-mail: fanlinlin@jaas.ac.cn

白,具有疏水特性。通过反溶剂沉淀技术形成的玉米醇溶蛋白微球,是递送亲水和疏水分子的理想结构形式<sup>[18-19]</sup>。玉米醇溶蛋白作为一种天然高分子材料,已成为营养缓释材料应用的热点<sup>[20-21]</sup>。玉米醇溶蛋白基纳米颗粒可以作为生物活性物质的载体,减少生物活性物质在薄膜制造和/或包装结构开发过程中的损失<sup>[22-23]</sup>。目前关于玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒的研究主要在两者相互作用方面,聚焦对于花色苷稳定性的研究,而将其应用于食品包装材料,尤其改性壳聚糖薄膜方面未见研究报道。

本文以蓝莓花色苷和玉米醇溶蛋白为主要材料,采用反溶剂沉淀法制备玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒,探究不同纳米颗粒添加量对壳聚糖复合膜阻隔、机械、热稳定性能的影响。用扫描电镜(SEM)、X-射线衍射仪(XRD)、差示量热扫描仪(DSC)对膜进行分析表征,研究复合膜的抗氧化性能,以期为纳米颗粒对壳聚糖基膜的改性研究和应用提供试验数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

壳聚糖(Chitosan,脱乙酰度 80%~95%),中国国药集团有限公司;玉米醇溶蛋白(Zein,纯度 $\geq$ 95%),上海源叶生物科技有限公司;蓝莓(采于南京白马种植基地);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS),上海麦克林生化科技有限公司;无水乙醇、醋酸、丙三醇,中国国药集团有限公司。

HJ-6A 磁力加热搅拌器,常州普天仪器制造有限公司;旋转蒸发器(RE-3000),上海亚荣生化仪器厂;磁力搅拌器(SN-MS-9D),上海尚普仪器设备有限公司;P5 紫外-可见分光光度计,上海美普达仪器有限公司;雷磁 ZD-2 自动电位滴定仪;扫描电子显微镜 EVO-LS 10,德国;D2 PHASER X 射线衍射仪,广州高测仪器有限公司;差示量热扫描仪 Q20,上海斯迈欧分析仪器有限公司;FTC 质构仪 TMS-Touch,美国 FTC 公司;接触角测定仪 DSA100S,深圳市海康测量设备有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 花色苷的提取 取新鲜的蓝莓将其粉碎

后,冷藏在 90%的酸化(体积分数 0.21% HCl)乙醇溶液中(料液比 1:10)24 h。将浸提 24 h 后的提取物在 40 °C 下减压旋转蒸发除去乙醇,将旋蒸后的浓缩液经 AB-8 大孔树脂柱进一步纯化,用蒸馏水洗涤除去杂质,用含体积分数 0.21% HCl 的 90%乙醇溶液洗脱,再将洗脱液浓缩,真空干燥,得到花色苷提取物粉末。经质谱分析提取花色苷中含量较多的花色苷单体为锦葵色素(54.87%),芍药色素(15.13%)和矢车菊素(14.22%)。

1.2.2 玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒的制备 玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒的制备参考 Li 等<sup>[24]</sup>的方法,稍加修改。将 2.0 g 玉米醇溶蛋白分散到 100 mL 70%乙醇溶液中,室温下,500 r/min 搅拌 3 h,放置过夜。在玉米醇溶蛋白溶液中加入蓝莓花色苷,其质量比为 1:0~1:3,搅拌充分后用 2 mol/L HCl 调整溶液 pH 值为 2。然后,在 1 000 r/min 搅拌条件下将上述复合溶液迅速倒入 2.5 倍体积的水溶液中继续搅拌 15 min。随后在 45 °C 下减压旋转蒸发除去乙醇和部分水溶液,得到 100 mL 左右的玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒悬浮液。添加不同花色苷比例(1:0.1~1:0.3)的纳米颗粒其花色苷负载率分别为 91.56%,92.86%和 91.90%。

1.2.3 复合膜的制备 称取 2.0 g 壳聚糖溶于 1%乙酸溶液中并于 65 °C 水浴搅拌 30 min 得到壳聚糖溶液(质量分数 2%)。并以 50 wt%甘油作为增塑剂加入到壳聚糖溶液中。在 750 r/min 下搅拌 15 min,在此期间将玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒悬浮液以体积分数 5%或 10%加入到壳聚糖溶液中。超声脱气 30 min 后,将均质溶液倒入到模具中,于恒温室干燥 36 h 后揭膜,置于干燥器平衡 48 h,备用。

### 1.2.4 复合膜结构表征

1.2.4.1 复合膜形貌特征 采用扫描电子显微镜(SEM)观察膜的表面形态。将薄膜贴在双面导电胶片上,并对样品进行喷金,检测电压为 3 kV。

1.2.4.2 复合膜 X-衍射测定 采用 X-射线衍射分析仪对复合膜晶体结构进行分析,以 4°/min 的速率在 5~80°的 2 $\theta$  范围内收集 XRD 图谱。

1.2.4.3 复合膜差示量热扫描测定 采用差示扫描量热法测定不同膜样品的热变性温度。称取

3.0~4.0 mg 膜样品加入铝托盘中密封,以空的密封托盘为空白对照。升温速率设定为 10 °C/min,升温范围为 30~180 °C。

### 1.2.5 复合膜性质表征

1.2.5.1 含水率、溶胀度、水溶性测定 含水量(WC)、溶胀度(SD)和水溶性(WS)的测定依据 Yao 等的方法<sup>[25]</sup>。剪裁薄膜(2 cm×2 cm),并进行称重记为  $m_0$ ,然后在干燥箱(105 °C)中干燥 24 h,然后称重记为  $m_1$ 。之后,将干燥后的薄膜浸入 30 mL 超纯水中 24 h(25 °C),称重记为  $m_2$ ,薄膜表面无残留水分,然后在 105 °C 下再次干燥 24 h,称重记为  $m_3$ 。WC、SD 和 WS 计算如公式(1)~(3):

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

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

$$\text{WS}(\%) = \frac{m_1 - m_3}{m_1} \times 100 \quad (3)$$

1.2.5.2 水蒸气透过率测定 水蒸气渗透率(WVP)是根据 Hua 等<sup>[4]</sup>的方法确定的。将每张薄膜密封在装有 30 g 无水硅胶(0% RH)的可渗透杯的顶部。将杯子放入装有蒸馏水的干燥器中,每 24 h 监测一次其质量,存放 7 h。WVP ( $\text{g} \cdot \text{mm} / (\text{m}^2 \cdot \text{h} \cdot \text{kPa})$ ) 由杯子质量的增加计算如下式(4):

$$\text{WVP} = \frac{\Delta m \times d}{A \times t \times \Delta P} \times 100 \quad (4)$$

式中: $\Delta m$  为杯的增重,g; $d$  为薄膜的厚度,mm; $t$  为存放时间,24 h; $A$  为渗透面积, $\text{m}^2$ ; $\Delta P$  为膜两侧的水蒸汽压力差,3.167 kPa。

1.2.5.3 厚度、抗张强度和断裂延伸率测定 薄膜的厚度通过螺旋测微计(IP64,日本三良,0.001 mm)在 8 个随机位置测量并取平均值。力学性能,包括拉伸强度(TS)和断裂伸长率(EB),通过拉伸装置的质构分析仪测量。将薄膜样品切成矩形条(6 cm×1 cm)并夹在夹具上,初始距离为 30 mm。测试以 0.5 mm/s 的速度进行,直到薄膜破裂。TS 和 EB 基于方程(5)和(6)计算:

$$\text{TS} = \frac{F}{A} \quad (5)$$

$$\text{EB}(\%) = \frac{L - L_0}{L_0} \times 100 \quad (6)$$

式中:TS 为抗拉伸强度,MPa; $F$  为轴向拉伸

力,N; $A$  为薄膜的横截面积, $\text{mm}^2$ ; $L$  为薄膜样品断裂时的长度,mm; $L_0$  为初始长度矩形条,mm。每个薄膜进行 6 次重复。

1.2.5.4 水接触角测定 水接触角(Water contact angle)样品的表面疏水性通过接触角分析仪测量。将薄膜条固定在载玻片上,并使用微型注射器将一滴 Milli-Q 水(2  $\mu\text{L}$ )滴在样品表面。然后使用高分辨率数码相机捕获液滴图像,计算薄膜表面不同位置的平均值。

1.2.5.5 抗氧化能力测定 DPPH 自由基清除测定是通过 Hosseini 等<sup>[26]</sup>的方法获得的。称取 0.5 g 薄膜并浸入 50 mL 50% (体积分数)乙醇中,并在 25 °C 下以 3 000 r/min 离心 30 min。然后将 2 mL 乙醇薄膜溶液添加到 2 mL DPPH(0.2 mmol/L)中并在黑暗中放置 30 min。测量在 517 nm 处吸光度,DPPH 清除活性测定按公式(7)计算:

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \frac{A_c - (A_s - A_b)}{A_c} \times 100 \quad (7)$$

ABTS 自由基阳离子通过在溶液中混合 7.4 mmol/L ABTS 和 2.45 mmol/L  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ,然后在黑暗中放置 12~16 h,用超纯水中稀释,使其在 734 nm 处的吸光度为  $0.700 \pm 0.001$ 。然后将 1 mL 乙醇薄膜溶液与 4 mL 稀释的  $\text{ABTS} \cdot +$  在黑暗中反应 6 min,测量其在 734 nm 处吸光度。ABTS 清除活性测定按公式(8)计算

$$\text{ABTS} \cdot + \text{自由基清除率}(\%) = \frac{A_c - (A_s - A_b)}{A_c} \times 100 \quad (8)$$

式中: $A_c$ 、 $A_s$  和  $A_b$  分别是对照组、样品测试组和样品空白组的吸光度。

## 1.3 数据处理

采用 Origin 2021 和 SPSS 26.0 软件分析试验数据,结果的差异性用单因素方差分析中的最小显著差异法检验, $P < 0.05$  为有显著性差异。所有试验重复 3 次,用平均值 $\pm$ 标准差表示结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 扫描电镜分析

采用 SEM 对纳米颗粒和薄膜的微观结构进行表征,可以反映出膜中层间排列的信息,并有利于更好地评价薄膜的性能。图 1 显示了玉米醇溶

蛋白-花色苷纳米颗粒和复合膜的表面形貌,纳米颗粒呈现球形,且粒径均小于 $1\ \mu\text{m}$ 。纯壳聚糖膜表面平整,没有观察到分层或裂纹。纳米颗粒的加入导致薄膜的表面出现了一些颗粒,这些颗粒大小不同。随着纳米颗粒中花色苷比例的增加,薄膜表面的团聚体也越明显,这可能归因于高浓度花

色苷纳米颗粒在聚合物薄膜基质中的不均匀分散。纳米粒子的团聚和不均匀分散与薄膜的机械性能和阻隔性能差有关。Zhang等<sup>[8]</sup>也发现过量洛神花花色苷会破坏壳聚糖和淀粉之间的有序排列并增加脆性。

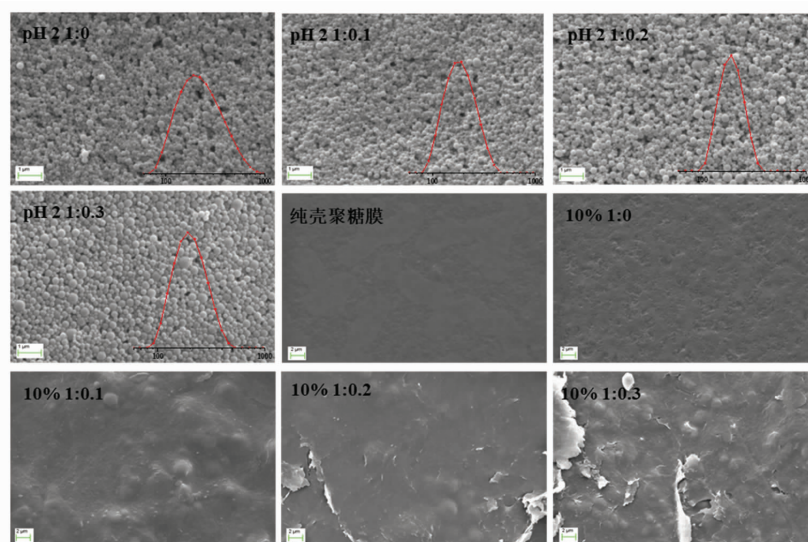


图1 玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒和壳聚糖/花色苷-玉米醇溶蛋白颗粒复合膜的扫描电镜图

Fig.1 SEM images of zein-anthocyanin nanoparticles and chitosan/anthocyanin-zein particle composite film

## 2.2 X-射线衍射(XRD)和差示量热扫描(DSC)分析

体系中各组分之间缺乏相互作用或只存在弱相互作用,将有各自的晶体区域,并且衍射光谱将与每个组分成正比。如果组分之间存在强相互作用,某些聚合物组的特征衍射峰就会消失<sup>[27]</sup>。如图2a所示,纯壳聚糖膜在 $30^\circ$ 附近出现了1个宽峰,其呈现典型的半结晶状态。由于壳聚糖和纳米颗粒之间的氢键相互作用的竞争效应限制了壳聚糖的分子内相互作用,因此添加纳米粒子的薄膜表现出更低的结晶度,从而产生了相对更加无定形的复合物。单独壳聚糖的结晶度为12.49%,而添加5%(1:0.1)纳米颗粒的薄膜显示出更宽的峰和更低的强度,其结晶度为7.15%。这是因为纳米颗粒已经分散到薄膜基质中,并与薄膜基质形成强烈的相互作用,从而提高了薄膜的均匀性,降低了薄膜的结晶度<sup>[28]</sup>。复合膜的衍射峰强度高于纯壳聚糖膜,这可能是因为壳聚糖和花色苷之间产生的氢键作用使膜形成了牢固的三维网络结

构<sup>[29]</sup>。

采用DSC评估的薄膜的热性能,结果如图2b所示。纯壳聚糖膜在 $122.1\ ^\circ\text{C}$ 附近表现出吸热峰。纳米颗粒的添加没有导致膜熔化温度明显升高。热焓变也可以反应样品的热稳定性,热焓变越高,热稳定性越好<sup>[30]</sup>。添加5%(1:0.2)纳米颗粒的热焓变为 $262.9\ \text{J/g}$ ,相比纯壳聚糖膜的热焓变值为 $196.1\ \text{J/g}$ 显著提高,这可能是因为添加纳米颗粒后壳聚糖与纳米颗粒之间形成了强烈的分子间作用力,需要更多的热能来解离。结合SEM结果可以看出,添加高浓度(10% 1:0.3)花色苷纳米颗粒,会影响壳聚糖复合膜表面的分布导致复合膜结构的不稳定,使得复合膜的熔融温度相比纯壳聚糖膜有一定程度的下降。由此可知,添加纳米颗粒在一定程度上会提高薄膜的热稳定性。

## 2.3 含水率、溶胀度、水溶性和水汽透过率分析

含水率、溶胀度和水汽透过率等指标可以用来评价薄膜的水敏特性,从而为薄膜在不同湿度环境下的实际应用提供依据。从图3a中可以看

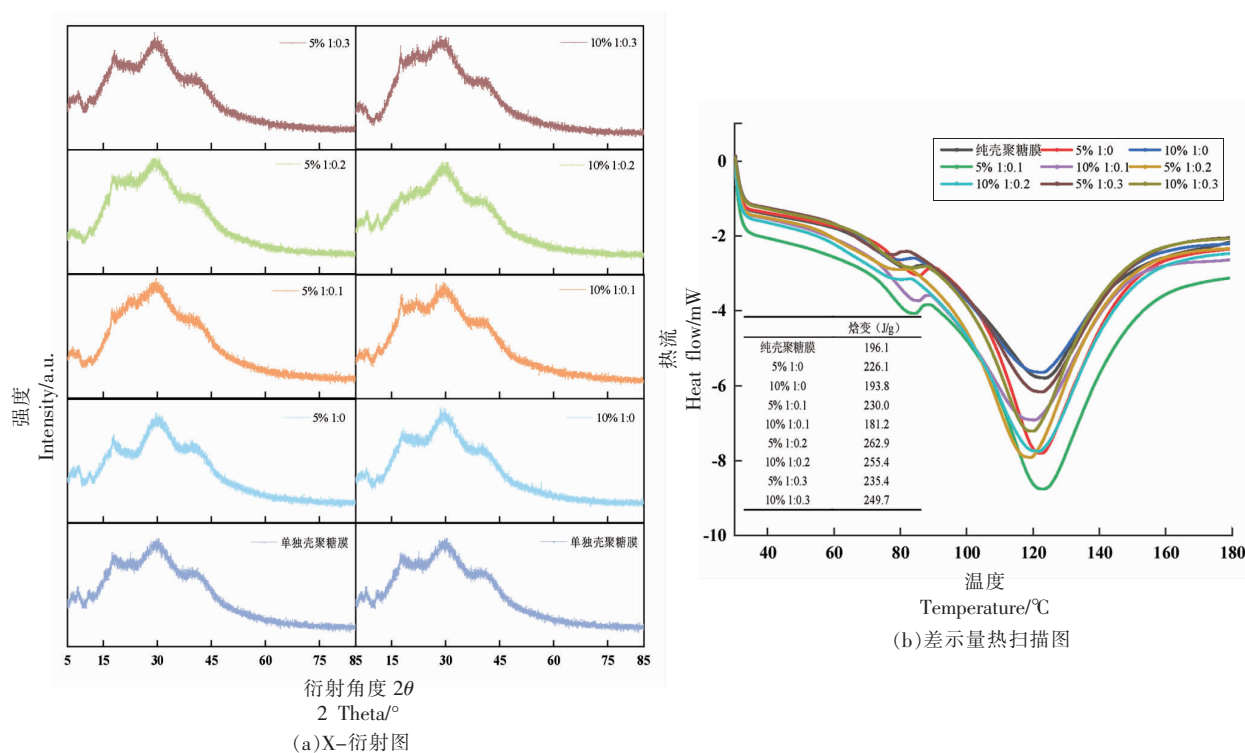


图 2 纯壳聚糖膜和壳聚糖/花色苷-玉米醇溶蛋白颗粒复合膜的 X-衍射图 (a) 和差示量热扫描图 (b)

Fig.2 X-ray diffraction pattern (a) and differential calorimetry scan pattern (b) of pure chitosan film and chitosan/anthocyanin-zein particle composite film

出, 添加花色苷纳米颗粒会导致膜的含水率和溶胀度下降, 这可能是因为纯壳聚糖膜的亲水特性导致其具有较高的含水率( $26.0\% \pm 1.1\%$ ), 而添加纳米颗粒的复合膜在一定程度上纳米颗粒中的花色苷的羟基会与水结合, 导致体系中与水分子的结合位点减少, 使其含水率下降, 这与扫描电镜和 XRD 的结果一致。Wang 等<sup>[1]</sup>的研究也发现明胶薄膜与负载花青素的纳米复合物结合会导致薄膜的含水率减少。

与纯壳聚糖膜相比, 纳米颗粒复合膜的水溶性明显降低, 最低为  $18.0\% \pm 0.70\%$  (5% 1:0.1)。主要是由于纳米颗粒与壳聚糖基质之间通过氢键作用, 占据壳聚糖分子的羟基, 阻断了水的结合, 导致了薄膜水溶性的降低。在食品包装中, 薄膜的水汽透过率反映了对环境中水蒸气的阻隔性能, 通常受环境条件、薄膜结构和生物聚合物性能的影响。如图 3b 所示, 纯壳聚糖膜的水蒸气透过率为  $0.65 \text{ g}\cdot\text{mm}/(\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{kPa})$ 。随着纳米颗粒的添加, 其水蒸气透过率降低, 可能与醇溶蛋白分子的疏水

部分之间的疏水键有关。此外, 花色苷纳米颗粒分布在薄膜中, 可能会产生一些团聚体, 使得水蒸气更难通过。

#### 2.4 厚度和力学性能分析

从图 4 中可见, 与纯壳聚糖膜相比, 添加纳米颗粒的薄膜厚度减少, 这可能是由于添加纳米颗粒后膜的含水率有所下降导致的。纯壳聚糖膜的拉伸强度为  $13.26 \text{ MPa}$ , 断裂延伸率为  $14.55\%$ 。纳米颗粒复合膜的机械强度明显高于纯壳聚糖膜, 其中, 添加量 5% (1:0.1) 纳米颗粒复合膜的力学性能显著提高到了  $36.86 \text{ MPa}$  和  $42.48\%$ 。这是因为纳米颗粒中的羟基形成氢键, 使壳聚糖与纳米颗粒之间的界面黏合力增强, 产生了更多的内聚结构, 使得机械强度增强。当添加高浓度花色苷 (10% 1:0.3) 纳米颗粒时, 具有较低的机械强度 ( $12.91 \text{ MPa} \pm 0.65 \text{ MPa}$  和  $10.28\% \pm 0.51\%$ ), 这归因于较高比例的纳米颗粒导致膜的微观结构变化, 纳米颗粒在膜基质中会形成团聚体, 限制聚合物链的运动, 破坏了壳聚糖膜的致密性, 降低了膜的

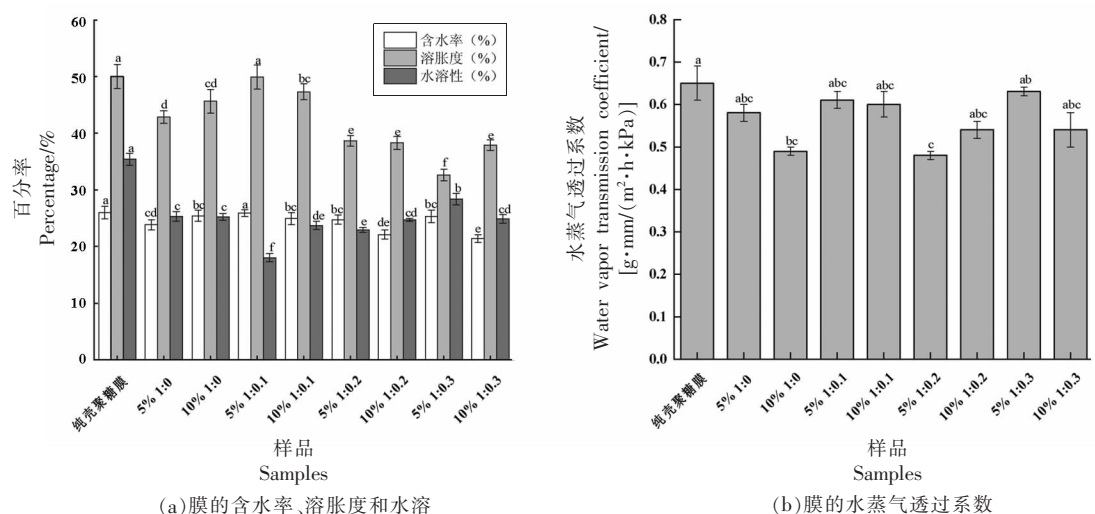


图3 纯壳聚糖膜和壳聚糖/花色苷-玉米醇溶蛋白颗粒复合膜的含水率、溶胀度、水溶性和水蒸气透过系数

Fig.3 Moisture content, swelling degree, water solubility and water vapor transmission coefficient of pure chitosan film and chitosan/anthocyanin-zein particle composite film

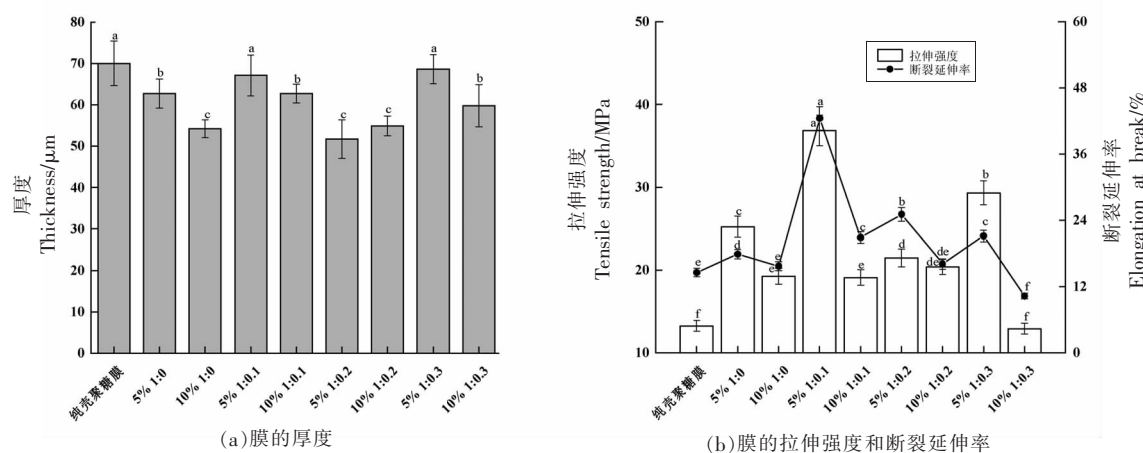


图4 纯壳聚糖膜和壳聚糖/花色苷-玉米醇溶蛋白颗粒复合膜的厚度、拉伸强度和断裂延伸率

Fig.4 Thickness, tensile strength and elongation at break of pure chitosan film and chitosan/anthocyanin-zein particle composite film

机械强度。

## 2.5 水接触角分析

水接触角(Water contact angle)是衡量薄膜表面润湿性的指标,它不仅与表面化学性质有关,还受薄膜表面微观结构(即粗糙度、孔隙率和孔径)的影响。从图5中可以看出,纯壳聚糖膜的水接触角为 $84.71^\circ$ ,添加纳米颗粒使复合膜的水接触角先下降后上升再下降,当添加5%(1:0.2)纳米颗粒的复合膜的水接触角到达最大的 $98.9^\circ$ 。结

合SEM结果可以看出,低浓度花色苷含量的复合膜存在部分孔隙结构,使得膜的表面润湿性有所增加,导致接触角值减小。壳聚糖分子链之间通过氢键交联成膜而封闭了部分亲水性基团,使得壳聚糖疏水基团的非极性残基暴露于表面,但是由于玉米醇溶蛋白分子的疏水相互作用和自组装聚集行为,使得其分子的亲水基团被迫面向外部,因此两者的结合作用导致膜的表面疏水性无明显变化<sup>[32]</sup>。

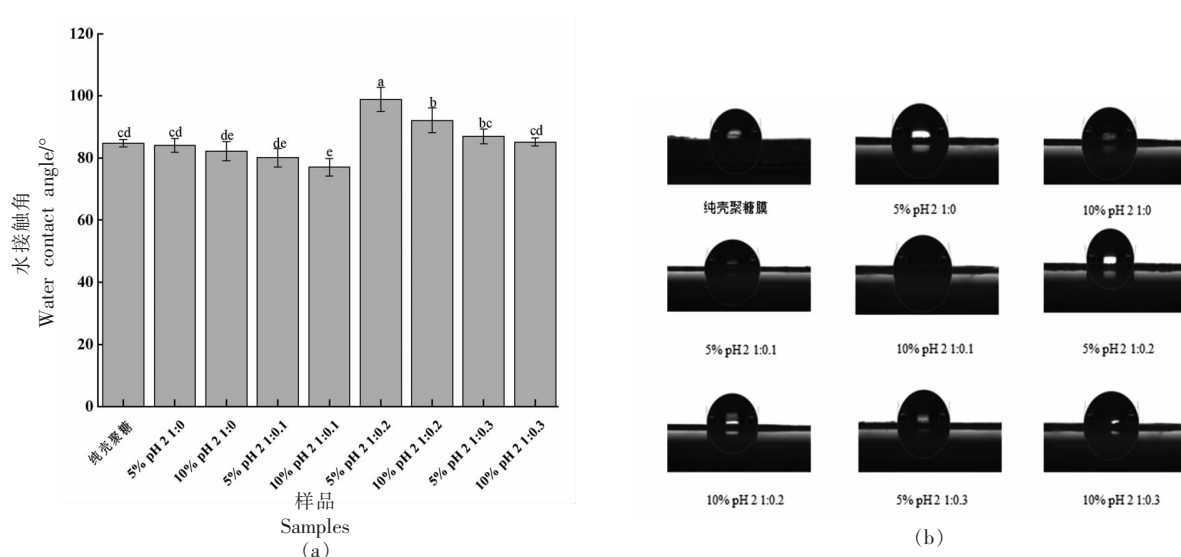


图 5 纯壳聚糖膜和壳聚糖/花色苷-玉米醇溶蛋白颗粒复合膜的接触角值

Fig.5 Contact angle values of pure chitosan film and chitosan/anthocyanin-zein particle composite film

## 2.6 抗氧化性能分析

膜抗氧化活性受各种因素的影响,例如活性剂的含量、微观结构、薄膜基质和薄膜成分之间的相互作用<sup>[33]</sup>。采用 DPPH 和 ABTS 自由基清除模型评价薄膜的抗氧化活性,结果如图 6 所示。在加入纳米颗粒后,复合膜的 DPPH 和 ABTS 自由基清除活性显著增加,抗氧化能力分别从 31.82%和 31.70%增加到 84.05%和 79.17%。这是由于花色

苷中大量的酚羟基赋予了纳米颗粒强的抗氧化性,其通过提供自由电子或氢原子来捕获自由基<sup>[34-35]</sup>,薄膜的抗氧化活性与纳米粒子中的花色苷浓度呈正相关,这是由于含有高浓度花色苷纳米颗粒能够提供更多氢原子,从而显示出更高的自由基清除率<sup>[36]</sup>。因此,纳米复合薄膜在实际应用中可以表现出长期的抗氧化能力,这种具有高抗氧化活性的纳米复合薄膜可用于食品包装以防止食品氧化。

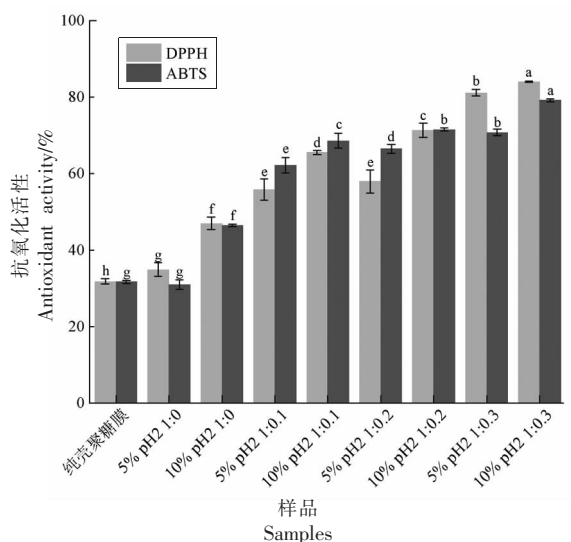


图 6 纯壳聚糖膜和壳聚糖/花色苷-玉米醇溶蛋白颗粒复合膜的抗氧化活性

Fig.6 Antioxidant activity of pure chitosan film and chitosan/anthocyanin-zein particle composite film

## 3 结论

本研究成功制备了含有玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒的壳聚糖基活性纳米复合膜。玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒采用反溶剂沉淀方法合成,呈球形。采用 SEM 和 XRD 分析证实了薄膜基质与掺入的纳米颗粒之间具有相容性。本文研究了不同花色苷比例的纳米粒子对膜的形态、热、阻隔、力学、抗氧化性能的影响,表明添加 5% (1:0.1) 的纳米颗粒可以提高膜的延伸率和拉伸强度,并使断裂伸长率从 14.55%到 42.86%,使抗拉强度从 13.26 增加到 36.86 MPa。添加纳米颗粒使得薄膜的水蒸气透过率有所下降。接触角结果表明,添加花色苷纳米颗粒在一定程度上提高了膜的疏水性。此外,在薄膜中添加 10% (1:0.3) 纳米颗粒, DPPH 和 ABTS 自由基清除活性分别从 31.82%和 31.07%提高到 84.05%和 79.17%。本研究证实

了含玉米醇溶蛋白-花色苷纳米颗粒的壳聚糖具有优异的力学性能,可作为潜在的食品包装材料,这对提高多功能活性复合膜在食品保鲜贮藏中的应用性能具有重要意义。

### 参 考 文 献

- [1] CHANG W, LIU F, SHARIF H R, et al. Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 90: 50–61.
- [2] ZHANG L M, YU D W, REGENSTEIN J M, et al. A comprehensive review on natural bioactive films with controlled release characteristics and their applications in foods and pharmaceuticals[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2021, 112: 690–707.
- [3] BI F Y, ZHANG X, BAI R Y, et al. Preparation and characterization of antioxidant and antimicrobial packaging films based on chitosan and proanthocyanidins[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 134(1): 11–19.
- [4] HUA L, DENG J Y, WANG Z M, et al. Improving the functionality of chitosan-based packaging films by crosslinking with nanoencapsulated clove essential oil[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 192(1): 627–634.
- [5] MEDINA E, CARO N, ABUGOCH L, et al. Chitosan thymol nanoparticles improve the antimicrobial effect and the water vapour barrier of chitosan-quinoa protein films[J]. *Journal of Food Engineering*, 2019, 240: 191–198.
- [6] WANG L Y, DONG Y, MEN H T, et al. Preparation and characterization of active films based on chitosan incorporated tea polyphenols[J]. *Food Hydrocolloids*, 2013, 32(1): 35–41.
- [7] PORNCHAI R, WARINPORN K, PENSAK J, et al. Characterization of chitosan film incorporated with curcumin extract[J]. *Polymers*, 2021, 13(6): 963.
- [8] ZHANG J J, ZOU X B, ZHAI X D, et al. Preparation of an intelligent pH film based on biodegradable polymers and roselle anthocyanins for monitoring pork freshness[J]. *Food Chemistry*, 2019, 272(30): 306–312.
- [9] CHEN K L, ZHANG H. Alginate/pectin aerogel microspheres for controlled release of proanthocyanidins[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 136(1): 936–943.
- [10] EFENBERGER-SZMECHTYK M, NOWAK A, CZYZOWSKA A. Plant extracts rich in polyphenols: Antibacterial agents and natural preservatives for meat and meat products[J]. *Critical Reviews Food Science and Nutrition*, 2021, 61(1): 149–178.
- [11] ZHANG L, ZHANG Z J, CHEN Y Z, et al. Chitosan and procyanidin composite films with high antioxidant activity and pH responsivity for cheese packaging[J]. *Food Chemistry*, 2021, 338(15): 128013.
- [12] MERZ B, CAPELLO C, LEANDRO G C, et al. A novel colorimetric indicator film based on chitosan, polyvinyl alcohol and anthocyanins from jambolan (*Syzygium cumini*) fruit for monitoring shrimp freshness[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 153(15): 625–632.
- [13] 马小强, 白卫滨, 陈嘉莉, 等. 花色苷递送系统研究进展[J]. *食品科学*, 2022, 43(7): 245–253.  
MA X Q, BAI W B, CHEN J L, et al. Progress in the delivery system for anthocyanins[J]. *Food Science*, 2022, 43(7): 245–253.
- [14] ZHAO X, ZHANG X D, TIE S S, et al. Facile synthesis of nano-nanocarriers from chitosan and pectin with improved stability and biocompatibility for anthocyanins delivery: An *in vitro* and *in vivo* study[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 109: 106114.
- [15] CHEN S, MCCLEMENTS D J, JIAN L, et al. Core-shell biopolymer nanoparticles for Co-delivery of curcumin and piperine: Sequential electrostatic deposition of hyaluronic acid and chitosan shells on the zein core[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2019, 11(41): 38103–38115.
- [16] WANG C X, GONG C, QIN Y, et al. Bioactive and functional biodegradable packaging films reinforced with nanoparticles [J]. *Journal of Food Engineering*, 2022, 312: 110752.
- [17] SOGUT E, SEYDIM A C. The effects of chitosan- and polycaprolactone-based bilayer films incorporated with grape seed extract and nanocellulose on the quality of chicken breast fillets[J]. *LWT – Food Science and Technology*, 2019, 101: 799–805.
- [18] SABRA S A, ELZOGHBY A O, SHEWEITA S A, et al. Self-assembled amphiphilic zein-lactoferrin micelles for tumor targeted co-delivery of rapamycin



- and wogonin to breast cancer[J]. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2018, 128: 156-169.
- [19] CHEN S, LI Q, MCCLEMENTS D J, et al. Co-delivery of curcumin and piperine in zein-carageenan core-shell nanoparticles: Formation, structure, stability and *in vitro* gastrointestinal digestion[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 99: 105334.
- [20] GAGLIARDI A, VOCI S, SALVATICI M C, et al. Brij-stabilized zein nanoparticles as potential drug carriers[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021, 201: 111647.
- [21] XIN S L, XIAO L, DONG X P, et al. Preparation of chitosan/curcumin nanoparticles based zein and potato starch composite films for *Schizothorax prenati* fillet preservation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 164(1): 211-221.
- [22] SOLTANZADEH M, PEIGHAMBARDoust S H, GHANBARZADEH B, et al. Active gelatin/cress seed gum-based films reinforced with chitosan nanoparticles encapsulating pomegranate peel extract: Preparation and characterization [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 129: 107620.
- [23] ZHOU L P, WANG Y. Physical and antimicrobial properties of zein and methyl cellulose composite films with plasticizers of oleic acid and polyethylene glycol[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 140: 110811.
- [24] LI S J, LI S S, GONG M H, et al. Development of Zein/tannic acid nanoparticles as antioxidants for oxidation inhibition of blackberry seed oil emulsions [J]. *Food Chemistry*, 2023, 403(1): 134236.
- [25] YAO S, WANG B J, WENG Y M. Preparation and characterization of mung bean starch edible films using citric acid as cross-linking agent[J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2022, 32: 100845.
- [26] HOSSEINI S F, GHADERI J, GÓMEZ-GUILLÉN M C. Tailoring physico-mechanical and antimicrobial/antioxidant properties of biopolymeric films by cinnamaldehyde-loaded chitosan nanoparticles and their application in packaging of fresh rainbow trout fillets [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 124: 107249.
- [27] HAN L F, CHIN P T, RUZNIZA M Z, et al. Effect of oxidation degrees of graphene oxide (GO) on the structure and physical properties of chitosan/GO composite films[J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2019, 21: 100373.
- [28] QIN Y, LIU Y P, ZHANG X, et al. Development of active and intelligent packaging by incorporating betalains from red pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) peel into starch/polyvinyl alcohol films[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 100: 105410.
- [29] WU Y, GENG F Y, CHANG P R, et al. Effect of agar on the microstructure and performance of potato starch film[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 76(2): 299-304.
- [30] 封晴霞, 王利强. 蓝莓花青素智能指示膜的制备及应用[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(2): 281-290.
- FENG Q X, WANG L Q. Preparation and application of blueberry anthocyanin intelligent indicator membrane [J]. *Journal of Chinese Institute Food Science and Technology*, 2022, 22(2): 281-290.
- [31] WANG S, XIA P, WANG S Z, et al. Packaging films formulated with gelatin and anthocyanins nanocomplexes: Physical properties, antioxidant activity and its application for olive oil protection[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 96: 617-624.
- [32] XIA C, WANG W B, WANG L, et al. Multilayer zein/gelatin films with tunable water barrier property and prolonged antioxidant activity[J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2019, 19: 76-85.
- [33] ZHANG L M, CHEN D Y, YU D W, et al. Modulating physicochemical, antimicrobial and release properties of chitosan/zein bilayer films with curcumin/nisin-loaded pectin nanoparticles[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 133: 107955.
- [34] XU X Q, LIU A M, HU S Y, et al. Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action[J]. *Food Chemistry*, 2021, 353(15): 129488.
- [35] 岳华岭, 廖红梅. 花色苷的特性及其在可食膜中的应用[J]. *中国果菜*, 2022, 42(5): 18-25.
- YUE H L, LIAO H M. Properties of anthocyanins and its application in edible Films[J]. *China Fruit & Vegetable*, 2022, 42(5): 18-25.
- [36] FERNÁNDEZ-MARÍN R, FERNANDES S C M, SÁNCHEZ M Á A, et al. Halochromic and antioxidant capacity of smart films of chitosan/chitin nanocrystals with curcuma oil and anthocyanins[J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 123: 107119.

## Preparation and Characterization of Chitosan/Zein–Anthocyanin Nanoparticles Composite Film

Li Shuangjian, Di Qingru, Gong Minhui, Li Siyuan, Zhou Jianzhong, Fan Linlin\*  
(*Institute of Agro-Product Processing, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014*)

**Abstract** Objective: This study aimed to develop a chitosan/zein–anthocyanin nanoparticle composite film loaded with zein–anthocyanin nanoparticles (volume fraction 5% and 10%) as enhancers and functional agents. The effects of zein–anthocyanin nanoparticles on the physicochemical and structural properties of films were investigated. Results: Scanning electron microscopy (SEM) and X-ray diffraction (XRD) analysis showed that the nanoparticles, which were spherical in shape and had a particle size of about 193–487 nm, had good compatibility with the film matrix and filled the void spaces in the film matrix, significantly improving the mechanical properties, making the elongation at break from 14.55% to 42.86%, tensile strength increased from 13.26 MPa to 36.86 MPa. In addition, the antioxidant properties of the films were also significantly improved, with the radical scavenging activities of DPPH and ABTS increased from 31.82% and 31.07% to 84.05% and 79.17%, respectively. Conclusion: Zein–anthocyanin nanoparticles can not only improve the mechanical properties of chitosan films, but also improve the antioxidant properties of the films by loading zein–anthocyanins nanoparticles.

**Keywords** nanoparticles; anthocyanins; biological polymerization film; mechanical properties; oxidation resistance