



陈玉芹,李仲佰,姚敏,等. 明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液的制备及其抑菌效果研究[J]. 轻工学报, 2021,36(4):9-17.

CHEN Y Q, LI Z B, YAO M, et al. Study on the preparation of gelatin-chitosan-cinnamon essential oil natural film coating and its antibacterial effect[J]. Journal of Light Industry, 2021,36(4):9-17. DOI:10.12187/2021.04.002

中图分类号:TS201.2 文献标识码:A 文章编号:2096-1553(2021)04-0009-09

明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液的制备及其抑菌效果研究

Study on the preparation of gelatin-chitosan-cinnamon essential oil natural film coating and its antibacterial effect

陈玉芹¹,李仲佰²,姚敏³,张芸⁴,朱秋劲¹,杨清丹⁵

CHEN Yuqin¹, LI Zhongbai², YAO Min³, ZHANG Yun⁴, ZHU Qiu jin¹, YANG Qingdan⁵

1. 贵州大学 酿酒与食品工程学院, 贵州 贵阳 550025;
2. 盘州市农业农村局, 贵州 盘州 561601;
3. 贵州省种畜禽种质测定中心, 贵州 贵阳 550001;
4. 贵州省畜禽遗传资源管理站, 贵州 贵阳 550001;
5. 贵州杨老奶食品有限公司, 贵州 盘州 561601

1. School of Liquor and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China;
2. Pan Zhou Agricultural Bureau, Panzhou 561601, China;
3. Guizhou Province Breeding Livestock and Poultry Germplasm Testing Center, Guiyang 550001, China;
4. Guizhou Livestock and Poultry Genetic Resources Management Station, Guiyang 550001, China;
5. Guizhou Yang Lao Nai Food Co., Ltd., Panzhou 561601, China

关键词:

明胶;壳聚糖;肉桂精油;天然涂膜液;抑菌效果

Key words:

gelatin; chitosan; cinnamon essential oil; natural film coating; antibacterial effect

摘要:采用自组装法制备明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液,以天然涂膜液的粒径及其对肉桂精油的包埋率为指标,在单因素试验的基础上,利用正交试验确定制备天然涂膜液的最佳工艺,并采用抑菌圈法研究该天然涂膜液的抑菌效果。结果表明,制备天然涂膜液的最佳工艺为明胶质量浓度 6 mg/mL,壳聚糖质量浓度 3 mg/mL,肉桂精油质量浓度 3 mg/mL,乳化剂质量浓度 3 mg/mL,并调节溶液 pH 值至 4.5,转速 800 r/min,搅拌时间 30 min;在此工艺条件下,天然涂膜液的粒径为(236.54±18.32) nm,对肉桂精油的包埋率为(46.78±2.61)%;天然涂膜液处理组的抑菌效果均优于壳聚糖组和明胶-壳聚糖组,说明肉桂精油的添加可提高明胶-壳聚糖涂膜液的抑菌效果。

收稿日期:2021-03-04

基金项目:贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2019]2374);贵州省高层次创新型人才培养项目(黔科合平台人才[2017]5788);贵州省生态特色肉制品科技创新人才团队项目(黔科合平台人才[2020]5004);贵州省研究生科研基金项目(黔教合 YJSCXJH[2020]077)

作者简介:陈玉芹(1996—),女,贵州省铜仁市人,贵州大学硕士研究生,主要研究方向为食品安全检测与控制。

通信作者:朱秋劲(1969—),男,贵州省惠水县人,贵州大学教授,博士,博士生导师,主要研究方向为食品营养与安全、畜产品加工。

Abstract: The gelatin-chitosan-cinnamon essential oil natural coating solution was prepared by the self-assembly method, and the particle size of the natural coating solution and its encapsulation rate of cinnamon essential oil were used as indicators. On the basis of single factor test, orthogonal test was used to determine the optimal process for preparing natural coating solution. The antibacterial effect of the natural coating solution by the antibacterial circle method was studied. The results showed that the optimal process for the preparation of gelatin-chitosan-cinnamon essential oil natural coating solution was gelatin mass concentration of 6 mg/mL, chitosan mass concentration of 3 mg/mL, cinnamon essential oil mass concentration of 3 mg/mL, emulsifier mass concentration of 3 mg/mL, adjusting the pH of the solution to 4.5, rotating speed of 800 r/min, stirring time of 30 min. The particle size of natural coating solution was (236.54 ± 18.32) nm, and the encapsulation rate of cinnamon essential oil was $(46.78 \pm 2.61)\%$. And the antibacterial effect of the natural coating solution treatment group was better than that of the chitosan and gelatin-chitosan groups. The addition of cinnamon essential oil could improve the inhibition effect of gelatin-chitosan coating solution.

0 引言

天然涂膜在食品保鲜领域中具有独特的优势,它可以改变表面微气调的环境,有效阻止汁液流失和隔绝外界微生物,从而达到防腐保鲜的目的^[1].明胶指由多种氨基酸组成的具有蛋白质结构的大分子物质,是浅黄、透明、无味的胶质,具有可降解成膜的能力,可用于食品的涂膜或包装^[2].明胶涂膜或包装主要作为水、氧气、光的屏障,防止食品脱水及脂质氧化,而添加各种活性物质可进一步提高其对食品的保护能力^[3].壳聚糖通常是通过几丁质的碱性水解(部分脱乙酰)得到的可生物降解多糖,具有无毒、无味、可生物降解、广谱抑菌等特性^[4].壳聚糖具有很强的水合能力及良好的成膜性能,能吸收细菌生长所需的营养物质,是制备抗菌涂料的良好选择^[5].明胶和壳聚糖都是亲水性物质,具有良好的亲和力和相容性,可以通过分子交联形成可生物降解的生物膜^[6].S. F. Hosseini等^[7]研究证实,明胶与壳聚糖混合物的形成主要依靠基团之间的静电相互作用及氢键作用.

肉桂精油是从肉桂干燥树皮、树叶中提取的挥发油,具有浓烈的芳香及辛辣气味,作为一种食品添加剂或调味剂,应用广泛,美国食品药品监督管理局将其列为安全食物成分^[8-9].大量研究中记载^[10],肉桂精油具有较强的抗菌活

性,可有效抑制各种微生物(如大肠杆菌、金黄色葡萄球菌等),常作为天然食品防腐保鲜剂广泛应用于食品行业.然而,精油普遍存在水溶性较差、易挥发、香气强烈等特点,使其在食品行业中的应用受到极大限制.为了保留精油的抗菌活性,以及降低其对食品感官品质的影响,制备一种负载精油的运载体系十分必要^[11].已有研究表明^[12],肉桂精油可被生物活性包装材料包埋,且能提高、延长其抗菌效果.

基于此,本研究拟以明胶与壳聚糖混合物为运载体系,添加具有抗菌效果的肉桂精油,制备具有抗菌保鲜效果的天然涂膜液,采用单因素试验与正交试验优化其制备工艺,并进一步通过抑菌圈法确定该天然涂膜液的抑菌效果,以期制得可用于传统发酵火腿生产过程的涂膜保鲜液,改善火腿发酵过程中存在的脂质过氧化、微生物生长严重等问题.

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

壳聚糖(分析纯)(脱乙酰度95%,黏度200~400 mPa·s)、肉桂精油(食品级)、脂肪醇-聚氧乙烯醚(AEO-9,乳化剂,分析纯),上海麦克林生化科技有限公司产;明胶(食品级),天津市科密欧化学试剂有限公司产;金黄色葡萄球菌、普通变形菌、液化沙雷氏菌,购于中国工

业微生物菌种保藏管理中心;LB 肉汤培养基、营养琼脂培养基、PCA 平板计数琼脂培养基、MSA 培养基,上海博微生物科技有限公司产。实验所用其他常规试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

便携式 pH 计,梅特勒-托利多国际有限公司产;TGL-15B 型高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂产;DELSA Nano C 型 Zeta 电位及纳米粒径分析仪,美国贝克曼库尔特有限公司产;Spectra Max 190 型酶标仪、HJ-2B 型恒温测速磁力搅拌器,常州市金坛友联仪器研究所产;HH-3 型电热恒温水浴锅、DHP-9162B 型电热恒温培养箱,江苏科析仪器有限公司产。

1.3 实验方法

1.3.1 明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液的制备

参考张力^[13]丁香酚纳米微粒的制备工艺,并对 S. B. Bao 等^[6]制备负载茶多酚壳聚糖纳米粒的明胶膜制备工艺进行改进,利用自组合法制备明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液。具体制备流程如下。

1) 精确称取一定量的壳聚糖粉末和增塑剂甘油,于 45 °C 恒温水浴锅中溶解于体积分数为 1% 的醋酸溶液中,制得质量浓度为 3 mg/mL 的壳聚糖溶液,室温下置于转速为 800 r/min 的磁力搅拌器搅拌过夜,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,备用。

2) 精确称取一定量的明胶粉末和增塑剂甘油,于 45 °C 恒温水浴锅中溶解于超纯水中,制得质量浓度为 6 mg/mL 的明胶溶液,室温下置于转速为 800 r/min 的磁力搅拌器搅拌 30 min,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,备用。

3) 分别准确量取一定体积上述两种溶液,用注射器将明胶溶液缓慢滴入装有壳聚糖溶液的烧杯中,放入转子,室温下置于转速为 800 r/min 的磁力搅拌器搅拌 30 min,即形成明胶-壳聚糖混合物,调节体系 pH 值至 4.5,继续搅拌

30 min,备用。

4) 精确称取一定量的肉桂精油、三聚磷酸钠及 AEO-9 置于装有超纯水的烧杯中,放入转子,室温下置于转速为 800 r/min 的磁力搅拌器搅拌 30 min,即得质量浓度为 3 mg/mL 的肉桂精油溶液,备用。

5) 精确吸取一定量的肉桂精油溶液,缓慢滴入未调 pH 值的明胶-壳聚糖混合物中,放入转子,室温下置于转速为 800 r/min 的磁力搅拌器搅拌 30 min 后,调节溶液 pH 值至 4.5,继续搅拌 30 min,即得明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液。

1.3.2 肉桂精油标准曲线的绘制

参考文献 [14] 绘制肉桂精油的标准曲线。精确称取肉桂精油 23 mg,用体积分数为 95% 的乙醇定容于 10 mL 容量瓶中,摇匀,得质量浓度为 2.3 mg/mL 的肉桂精油溶液。分别精确量取上述溶液 10 μL、20 μL、30 μL、40 μL、50 μL,用 $V(2 \text{ mol/L HCl}) : V(95\% \text{ 乙醇}) = 2 : 1$ 的混合溶液定容于 10 mL 容量瓶中。以 $V(2 \text{ mol/L HCl}) : V(95\% \text{ 乙醇}) = 2 : 1$ 的混合溶液为空白对照,在 275 nm 波长处测其吸光度,以肉桂精油质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制肉桂精油在此溶液体系下的标准曲线,得出肉桂精油标准曲线的回归方程为 $y = 3.2391x + 0.0643$, $R^2 = 0.9931$ 。

1.3.3 肉桂精油包埋率的检测

参考文献 [14] 检测明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液对肉桂精油的包埋率。精确吸取 10 mL 涂膜液于 10 KDa 的超滤离心管中,于 12 000 r/min、4 °C 条件下离心 30 min,未被包埋的肉桂精油离心出外部离心管,取截留的肉桂精油微粒,并加入等体积的 2 mol/L HCl 溶液破碎,用体积分数为 95% 的乙醇溶液定容于 10 mL 容量瓶中。以不加精油的明胶-壳聚糖混合物用相同方法制备得空白对照,在 275 nm 波长处测其吸光度。包埋率的计算公式如下:

$$\text{包埋率} = \frac{(m_1 - m_2)}{m_1} \times 100\%$$

式中, m_1 为加入肉桂精油总质量/g; m_2 为游离的肉桂精油质量/g.

1.3.4 天然涂膜液粒径的检测 使用 Zeta 电位及纳米粒径分析仪检测明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液的粒径. 每个分析样品一式三份进行平行实验, 结果取平均值.

1.3.5 天然涂膜液制备的优化 通过单因素试验, 研究明胶质量浓度 (2 mg/mL、4 mg/mL、6 mg/mL、8 mg/mL、10 mg/mL)、壳聚糖质量浓度 (2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL、5 mg/mL、6 mg/mL)、肉桂精油质量浓度 (1 mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL、5 mg/mL)、乳化剂质量浓度 (1 mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL、5 mg/mL)、交联时间 (10 min、20 min、30 min、40 min、50 min)、搅拌转速 (600 r/min、700 r/min、800 r/min、900 r/min、1000 r/min) 和体系 pH 值 (4.0、4.5、5.0、5.5、6.0) 对涂膜液粒径及其对肉桂精油包埋率的影响.

在单因素试验基础上, 选择壳聚糖质量浓度 (A)、明胶质量浓度 (B)、肉桂精油质量浓度 (C)、乳化剂质量浓度 (D) 4 个主要因素进行正交试验. 正交试验因素与水平见表 1. 正交试验结果基于加权评分法进行分析, 包埋率评分权重 60%, 粒径评分权重 40%.

表 1 正交试验因素水平表

Table 1 The factors and levels table of orthogonal experiment mg/mL

水平	因素			
	A	B	C	D
-1	3	4	2	2
0	4	6	3	3
1	5	8	4	4

1.3.6 抑菌效果的研究 采用抑菌圈法^[15]测定明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液对金黄色葡萄球菌、普通变形菌及液化沙雷氏菌 3 种腐败菌的抑菌效果. 将指示菌菌液用冷却至

40~50 °C 的 LB 半固体培养基稀释至 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL, 倒平板; 待培养基凝固后, 放入灭菌的牛津杯, 往牛津杯中注入 200 μ L 天然涂膜液, 于 37 °C 培养箱中静置培养 24 h, 观察并测量抑菌圈大小. 每个样品进行 3 次平行实验, 结果取平均值.

1.3.7 数据处理方法 采用 SPSS 26 软件进行数据分析, 取置信度为 95% 水平测验方法进行显著性比较, 并采用 Origin 2019 软件绘制曲线.

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果分析

涂膜液的粒径及其包埋率与所使用的技术, 以及与所使用的包埋材料和被包埋的物体有关^[12]. 6 种单因素对天然涂膜液粒径及肉桂精油包埋率的影响如图 1 所示.

2.1.1 明胶质量浓度 由图 1 a) 可以看出, 当涂膜液体系中明胶质量浓度过低时, 不能满足壳聚糖分子与明胶分子进行交联的最低要求^[16], 使得体系对肉桂精油的包埋率较低. 明胶分子与壳聚糖分子间发生规则性的静电作用, 并且与肉桂精油分子发生有效的相互作用, 通过分子间的非共价键作用对其进行包埋^[17]. 当明胶质量浓度为 6 mg/mL 时, 对肉桂精油的包埋率达到最大值 42.65%, 且与其他明胶质量浓度均具有显著差异 ($P < 0.05$), 此时体系粒径为 227.17 nm. 涂膜液体系中的明胶质量浓度继续增加, 除与壳聚糖分子发生规则性的静电相互作用外, 明胶分子间的相互作用力形成的网状结构导致体系的黏度增大, 使得体系不稳定, 从而导致对肉桂精油的包埋率降低. 因此, 选择明胶质量浓度为 6 mg/mL 作为后续正交试验的正交点.

2.1.2 壳聚糖质量浓度 由图 1 b) 可以看出, 涂膜液的粒径随壳聚糖质量浓度的增加逐渐增大, 这可能是因为涂膜液体系中壳聚糖分子增

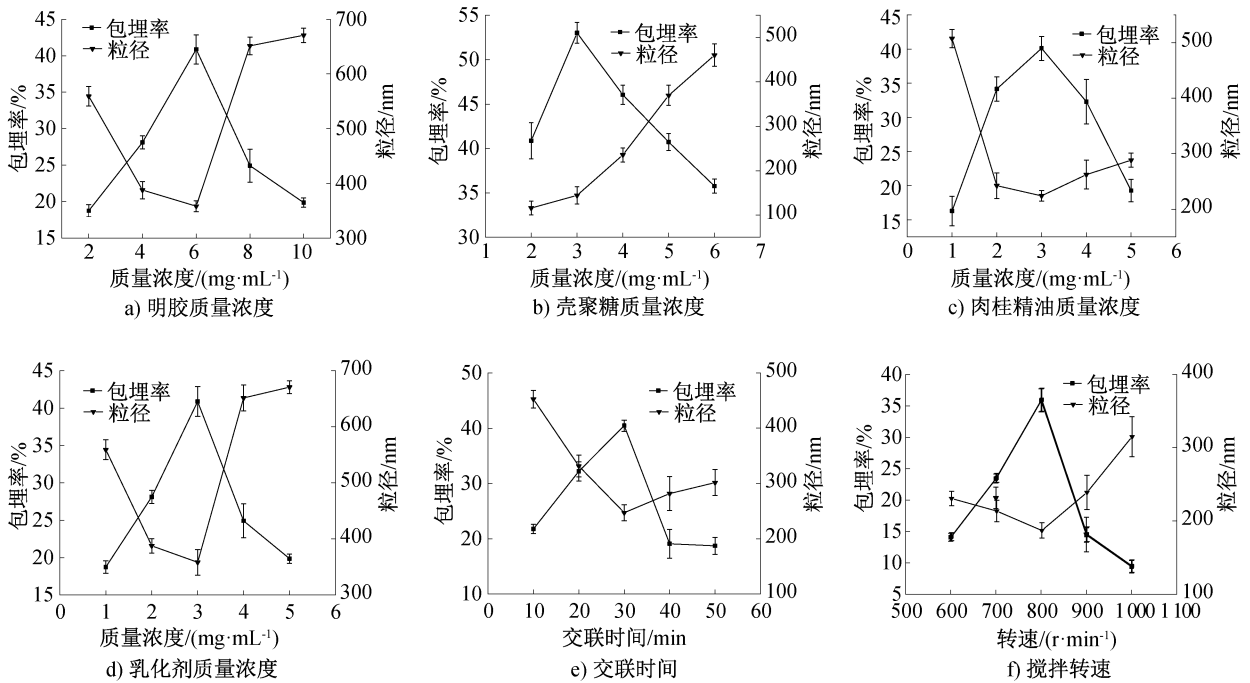


图1 6种单因素对天然涂膜液粒径及肉桂精油包埋率的影响

Fig. 1 The effect of six single factors on the particle size of natural film coating and embedding rate of cinnamon essential oil

多,只能与有限的明胶分子交联,两者之间存在一对一、一对多的结合方式,导致体系的粒径逐渐增大^[18].当壳聚糖的质量浓度为2 mg/mL时,涂膜液体系中的壳聚糖分子含量较少,除3种物质之间的相互作用对肉桂精油起包埋作用外,明胶作为一种已被广泛应用的壁材材料也会包埋一部分的肉桂精油^[19-20].涂膜液体系中的壳聚糖分子增多,在酸性条件下被质子化带正电荷,在涂膜液体系平衡的范围内与明胶相互作用包埋肉桂精油分子,使得体系对肉桂精油的包埋率增大^[13].当壳聚糖质量浓度为3 mg/mL时,包埋率达到最大值53.01%,与其他壳聚糖质量浓度的包埋率均有显著差异($P < 0.05$).壳聚糖质量浓度继续增大,体系对肉桂精油的包埋率又开始下降,这是因为涂膜液体系中的壳聚糖分子增加,使得体系的黏度增加,阻碍了体系内分子自由运动进行交联,导致包埋率降低.因此,选择壳聚糖质量浓度为3 mg/mL作为后续正交试验的正交点.

2.1.3 肉桂精油质量浓度 由图1c)可以看

出,肉桂精油的质量浓度对涂膜液粒径及其自身被包埋率均有较明显的影响.向涂膜液体系中加入少量的肉桂精油,此时肉桂精油的质量浓度较低,未能与明胶、壳聚糖分子进行理想的相互作用,而是通过弱相互作用附着在明胶分子表面^[21],高速离心使得肉桂精油分子被分离,导致在低质量浓度时体系对肉桂精油的包埋率较低而粒径偏大.当体系中肉桂精油分子量增多时,体系中明胶、壳聚糖与肉桂精油三者配比达到最佳,此时溶液体系开始出现淡蓝色乳光,且伴随着体系粒径的减小及包埋率的增大.在肉桂精油为3 mg/mL时,包埋率达到最大值40.11%,体系粒径为224.06 nm,并与其他肉桂精油质量浓度均有显著差异($P < 0.05$).肉桂精油质量浓度继续增加,超过三者之间的最佳配比时,过量的肉桂精油分子影响肉桂精油与明胶分子之间的交联,明胶自身的网络结构被破坏,导致肉桂精油小分子从明胶/壳聚糖复合结构中流出,使得包埋率降低及体系粒径增

大^[22]. 因此,选择肉桂精油质量浓度为 3 mg/mL 作为后续正交试验的正交点.

2.1.4 乳化剂质量浓度 精油是一种不饱和的小分子混合物,在水相中通过外界剪切力被分散,而乳化剂分散于油相与水相界面,可对精油液滴进行包覆^[23]. 由图 1d) 可以看出,乳化剂质量浓度较低时,乳化剂在精油液滴表面较少,使其不能被完全乳化. 当涂膜液体系乳化剂的质量浓度为 3 mg/mL 时,体系粒径达到最小值 358.27 nm,对肉桂精油的包埋率达到最大值 40.88%,与其他乳化剂质量浓度均具有显著差异 ($P < 0.05$). 这可能是因为此时乳化剂质量浓度刚好能将肉桂精油完全乳化成极微小的液滴,从而被明胶/壳聚糖分子通过静电作用进行包埋. 若乳化剂质量浓度继续增加,此时体系中乳化剂分子增多,除与肉桂精油发生乳化作用外,还会与溶液中的一些杂质发生反应,导致溶液体系趋于白色,使得体系粒径增大,对肉桂精油的包埋率降低. 因此,选择乳化剂质量浓度为 3 mg/mL 作为后续正交试验的正交点.

2.1.5 交联时间 由图 1e) 可以看出,涂膜液体系反应需要一定的时间过程,较短的时间不能使明胶、壳聚糖与肉桂精油分子之间发生交联反应^[24]. 随着交联时间的延长,体系中的分子进行充分交联,在交联时间为 30 min 时,体系粒径达到最小值 247.10 nm,对肉桂精油的包埋率达到最大值 40.47% ($P < 0.05$),且稳定性良好. 随涂膜液体系交联时间的延长,体系粒径逐渐变大,包埋率逐渐降低,这可能是因为长时间的磁力搅拌导致明胶与壳聚糖分子之间的体系黏度降低,对肉桂精油的包埋效果下降,分子间的交联反应过度,导致体系内的颗粒形状不规则,分散性不好^[25]. 因此,确定交联时间 30 min 为该单因素制备天然涂膜液的最优条件.

2.1.6 搅拌转速 由图 1f) 可以看出,当肉桂精油乳液滴加到明胶/壳聚糖体系中时,由于搅

拌转速过低不能立即充分分散,造成体系中局部肉桂精油及明胶/壳聚糖质量浓度过高,不能发生有效交联反应,导致粒径偏大而包埋率偏小 ($P < 0.05$). 当搅拌转速达到 800 r/min 时,体系的粒径达到最小值 186.03 nm,包埋率达到最大值 35.87%. 当搅拌转速继续增大时,过高转速形成的剪切力破坏了分子的内部结构,使得部分化学基团不能发生有效相互作用,出现分子凝聚,导致对肉桂精油包埋率降低、涂膜液的粒径增大. 因此,确定搅拌转速 800 r/min 为该单因素制备天然涂膜液的最优条件.

2.1.7 pH 值 壳聚糖是一种碱性多糖,在中性或碱性条件下不溶解,其质子化程度与溶液的 pH 值密切相关^[26]. 因此,溶液的粒径及其对肉桂精油的包埋均受体系 pH 值的影响^[27]. pH 值对天然涂膜液粒径及肉桂精油包埋率的影响见表 2. 由表 2 可知,当 pH 值小于 4.5 时,溶液粒径和包埋率均随 pH 值的增大而增大;当 pH 值大于 5.0 时,体系开始出现白色絮状物,并且出现明显的分层现象. 这是因为当 pH 值较高时,对体系分子间的交联反应有不利的影响. 因此,确定 pH 值 4.5 为该单因素制备天然涂膜液的最优条件.

2.2 正交试验结果分析

天然涂膜液的正交试验结果见表 3. 由表 3 可知,4 个因素对天然涂膜液影响的主次顺序依次为明胶质量浓度、壳聚糖质量浓度、肉桂精油质量浓度、乳化剂质量浓度. 最佳制备工艺的加权分数为 92.56 分,制备明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液的最优组合为 $A_1B_2C_2D_2$,因此,制备明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液的最佳工艺为:壳聚糖质量浓度 3 mg/mL,明胶质量浓度 6 mg/mL,肉桂精油质量浓度 3 mg/mL,乳化剂质量浓度 3 mg/mL,并调节体系 pH 值至 4.5,转速 800 r/min,搅拌时间 30 min.

2.3 验证实验结果分析

按上述最佳工艺制备明胶-壳聚糖-肉桂

精油天然涂膜液,测得该天然涂膜液的粒径及其对肉桂精油的包埋率分别为(236.54±18.32) nm和(46.78±2.61)%. 这表明明胶-壳聚糖与肉桂精油中的化合物表现出良好的相互作用. Q. Wang等^[4]的研究也得到类似结果:明胶-壳聚糖与具有抗菌效果的丁香酚、牛至精油之间具有良好的相互作用,对其包埋率可达到50%左右.

2.4 天然涂膜液的抑菌实验结果分析

不同处理组对3种腐败菌的抑菌效果见表4,其中对照组未添加肉桂精油. 未添加肉桂精油的处理组对3种腐败菌均具有一定的抑菌效果,这可能与壳聚糖本身是一种具有广谱抑菌性的多糖有关^[28]. 添加肉桂精油的处理组对3

表2 pH值对天然涂膜液粒径及肉桂精油包埋率的影响

Table 2 The effect of pH value on particle size of natural film coating and embedding rate of cinnamon essential oil

pH值	粒径及包埋率
4.0	粒径 107.7 nm, 包埋率 29.05%
4.5	粒径 222.7 nm, 包埋率 43.87%
5.0	溶液体系出现少许白色絮状物
5.5	溶液体系出现白色絮状物, 分层
6.0	溶液体系出现较多絮状物, 分层

种腐败菌的抑菌效果均显著增加($P<0.05$). 精油作为具有抗菌效果的添加剂,已被广泛应用于蔬菜、水果、肉制品及乳制品中^[29]. 本研究结果表明,明胶-壳聚糖可以对精油进行有效包埋,从而提高天然涂膜液的抑菌效果.

3 结论

本文采用自组装法制备明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液,以天然涂膜液的粒径及其对肉桂精油的包埋率为衡量指标,在单因素试验的基础上,通过正交试验得到天然涂膜液的最佳制备工艺为壳聚糖质量浓度3 mg/mL,明胶质量浓度6 mg/mL,肉桂精油质量浓度3 mg/mL,乳化剂质量浓度3 mg/mL,且调节体系pH值至4.5,转速800 r/min,搅拌时间30 min. 在此最佳工艺条件下,天然涂膜液的粒径为(236.54±18.32) nm,对肉桂精油的包埋率为(46.78±2.61)%. 采用抑菌圈法研究明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液对金黄色葡萄球菌、普通变形菌及液化沙雷氏菌3种腐败菌的抑菌效果发现,该天然涂膜液对普通变形菌、液化沙雷氏菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为(13.19±0.32) mm、

表3 正交试验结果

Table 3 The results of orthogonal experiment

试验号	A/ (mg·mL ⁻¹)	B/ (mg·mL ⁻¹)	C/ (mg·mL ⁻¹)	D/ (mg·mL ⁻¹)	包埋率/%	粒径/nm	包埋率 得分/分	粒径得 分/分	加权分 数/分
1	-1	-1	-1	-1					
2	-1	0	0	0	48.27*	296.23*	100.00	81.41	92.56*
3	-1	1	1	1	40.57	324.57*	73.86	74.30	74.04
4	0	-1	0	1	40.42	245.43	73.61	98.22	83.45
5	0	0	1	-1	46.77*	285.07*	85.18	84.60	84.95*
6	0	1	-1	0	38.20*	325.43*	60.00	74.11	65.64*
7	1	-1	1	0	39.85	259.23*	72.58	93.03	80.76
8	1	0	-1	1	46.25*	305.67*	84.23	78.90	82.10*
9	1	1	0	-1	38.71*	347.30*	70.50	60.00	66.30*
k_1	83.79	82.99	77.5	78.67					
k_2	80.12	86.53	80.77	79.86					
k_3	74.28	68.66	79.91	79.65					
R	9.51	14.33	3.27	1.19					
排序因素 主次顺序	2	1	3	4					
优水平	A_1	B_2	C_2	D_2					
最优组合	$A_1B_2C_2D_2$								

注:*表示该组合差异显著($P<0.05$).

表4 不同处理组对3种腐败菌的抑菌效果

Table 4 Antibacterial effect on three spoilage bacteria in different treatment groups mm

处理组	抑菌圈直径		
	普通变形菌	液化沙雷氏菌	金黄色葡萄球菌
对照	0	0	0
壳聚糖	8.12±0.65 ^{bc}	11.29±0.43 ^c	11.84±0.77 ^{bc}
明胶-壳聚糖	9.09±1.44 ^b	11.96±0.73 ^b	12.28±0.24 ^b
明胶-壳聚糖-肉桂精油	13.19±0.32 ^a	14.04±0.07 ^a	14.89±0.45 ^a

注:不同肩标字母表示差异显著($P<0.05$)。

(14.04±0.07) mm 和(14.89±0.45) mm, 抑菌效果均优于壳聚糖组和明胶-壳聚糖组, 即肉桂精油的添加提高了明胶-壳聚糖涂膜液的抑菌效果。本研究制备得到的具有良好抑菌效果的明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液, 为其作为涂层材料应用于传统发酵火腿的发酵过程提供了参考。

参考文献:

- [1] 林倩, 卢笑雨, 王雪, 等. 天然抑菌膜的分类及研究进展[J]. 农产品加工, 2019(23): 80.
- [2] 刘小杰, 齐鲁, 白立峰, 等. 改性明胶膜的制备及其力学性能探讨[J]. 天津工业大学学报, 2006, 25(2): 19.
- [3] 胡熠, 唐艳, 周伟, 等. 可食性明胶复合膜及其在食品包装上的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2017, 38(20): 341.
- [4] WANG Q, ZHANG L, DING W. Eugenol nanocapsules embedded with gelatin-chitosan for chilled pork preservation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 158: 837.
- [5] CAGRI A, USTUNOL Z, RYSER E T. Antimicrobial edible films and coatings[J]. Journal of Food Protection, 2004, 67(4): 833.
- [6] BAO S B, XU S Y, WANG Z. Antioxidant activity and properties of gelatin films incorporated with tea polyphenol-loaded chitosan nanoparticles[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2009, 89(15): 2692.
- [7] HOSSEINI S F, MASOU R, ZANDI M, et al.

Preparation and functional properties of fish gelatin-chitosan blend edible films [J]. Food Chemistry, 2013, 136(3/4): 1490.

- [8] 李荣, 路冠茹, 姜子涛, 等. 肉桂精油抗氧化性能及清除自由基能力的研究[J]. 食品科技, 2010, 35(2): 166.
- [9] 罗宁宁. 壳聚糖-肉桂精油可食性膜的制备、性能及应用研究[D]. 上海: 上海应用技术学院, 2016.
- [10] WANG J G, LI Y Z, GAO Y F, et al. Cinnamon oil-loaded composite emulsion hydrogels with antibacterial activity prepared using concentrated emulsion templates[J]. Industrial Crops and Products, 2018, 112: 281.
- [11] DONSI F, SESSA M, FERRARI G. Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods[J]. Journal of Biotechnology, 2010, 150: 67.
- [12] OLIVERIA X L, GUSTAVO S W, BACHEGA R G, et al. Chitosan packaging functionalized with Cinnamodendron dinisii essential oil loaded zein: a proposal for meat conservation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 169: 183.
- [13] 张力. 自组装法制备丁香酚纳米微粒及其在冷鲜肉保鲜中的应用[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2017.
- [14] 全国芬. 肉桂精油壳聚糖纳米粒的制备及在冷却肉保藏中的应用研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2014.
- [15] 胡彦新, 李清, 王英, 等. 传统发酵食品中产细菌素乳酸菌的筛选与鉴定[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(1): 276.
- [16] 王丽媛, 李红艳, 刘天红, 等. 明胶-壳聚糖可食膜的制备及性能表征[J]. 保鲜与加工, 2016, 16(5): 10.
- [17] SIONKOWSKA A, WISNIEWSKI M, SKOPINSKA J, et al. Molecular interactions in collagen and chitosan blends[J]. Biomaterial, 2004, 25(5): 795.

- [18] CHUANG C Y, DON T M, CHIU W Y. Preparation of environmental-responsive chitosan-based nanoparticles by self-assembly method [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2011, 84(2): 765.
- [19] ZOU T, PERCIVAL S S, CHENG Q, et al. Preparation, characterization, and induction of cell apoptosis of cocoa procyanidins-gelatin-chitosan nanoparticles [J]. *European Journal of Pharmaceutics Biopharmaceutics*, 2012, 82(1): 36.
- [20] 胡颖. 温敏型抑菌乳液凝胶的制备及其在冷鲜肉贮藏中的应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.
- [21] 王旭歌. 壳聚糖包覆精油纳米胶囊的制备及在冷鲜肉中的应用研究[D]. 上海: 上海应用技术学院, 2015.
- [22] 曲凤华, 栗美献, 陈微, 等. 壳聚糖微球及壳聚糖-明胶复合物微球的制备及缓释性能研究[J]. *化工科技*, 2012(3): 43.
- [23] 高美玲, 汪东风, 杨伟, 等. 离子交联壳聚糖/海藻酸钠可降解复合膜的研究[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2011, 41(10): 61.
- [24] GE J, YUE P X, CHI J P, et al. Formation and stability of anthocyanins-loaded nanocomplexes prepared with chitosan hydrochloride and carboxymethyl chitosan [J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 74: 23.
- [25] LAN D, HUANG Y, CAI X X, et al. Impact of pH, ionic strength and chitosan charge density on chitosan/casein complexation and phase behavior [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 208: 133.
- [26] YE J S, WANG S Y, LAN W J, et al. Preparation and properties of polylactic acid-tea polyphenol-chitosan composite membranes [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 117: 632.
- [27] BURT S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 94(3): 223.