

DOI: 10.12161/j.issn.1005-6521.2025.03.001

负载百里香精油 Pickering 乳液的魔芋胶双层活性膜制备及其在三文鱼保鲜中的应用

侯英猛¹, 贾诗雨¹, 孙远达¹, 于德洋^{1,2*}, 王海涛^{1*}

(1. 大连工业大学 国家海洋食品工程技术研究中心, 辽宁 大连 116034; 2. 大连工业大学 食品学院 食品交叉科学研究院, 辽宁 大连 116034)

摘要: 多糖的可食用包装材料因其出色的可降解性而受到广泛关注。该文开发一种负载百里香精油 Pickering 乳液 (thyme essential oil Pickering emulsion, OPE) 的魔芋胶 (konjac gum, KGM) 基双层活性膜。该双层活性膜在明显提高 KGM 单层活性膜机械性能的同时, 成功实现百里香精油的单向释放, 延长精油的保留时间。此外, 通过测定双层活性膜的理化性质和抗菌活性, 发现双层活性膜具有良好的抗氧化、抗菌以及生物降解特性。将双层活性膜应用于三文鱼保鲜, 与商用保鲜膜相比, 双层活性膜成功延缓三文鱼在贮藏过程中的总挥发性盐基氮 (total volatile base nitrogen, TVB-N) 值和 pH 值的增加, 证明双层活性膜在食品保鲜中应用的潜力。

关键词: 食品保鲜; 双层活性膜; 百里香精油; 单向释放; 生物降解

Preparation of Konjac Gum Bilayer Active Film Loaded with Thyme Essential Oil Pickering Emulsion and Its Application in Salmon Preservation

HOU Yingmeng¹, JIA Shiyu¹, SUN Yuanda¹, YU Deyang^{1,2*}, WANG Haitao^{1*}

(1. National Engineering Research Center of Seafood, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China; 2. Academy of Food Interdisciplinary Science, School of Food Science and Technology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China)

Abstract: Edible packaging materials based on polysaccharides have gained widespread attention due to their excellent degradability. This paper developed a bilayer active film based on konjac gum (KGM) loaded with thyme essential oil Pickering emulsion (OPE). The bilayer active film significantly improved the mechanical properties of KGM single-layer active films and also successfully achieved unidirectional release of thyme essential oil, thereby prolonging its retention time of the essential oil. Furthermore, the physicochemical properties and antibacterial activity of the bilayer active film were measured, revealing its excellent antioxidant, antibacterial, and biodegradation properties. When applied to salmon preservation, the bilayer active film was found to successfully delay the increase in total volatile base nitrogen (TVB-N) and pH values of the salmon during storage compared to commercial cling film. These findings highlighted the potential application of bilayer active films in food preservation.

Key words: food preservation; bilayer active film; thyme essential oil; unidirectional release; biodegradable

引文格式:

侯英猛, 贾诗雨, 孙远达, 等. 负载百里香精油 Pickering 乳液的魔芋胶双层活性膜制备及其在三文鱼保鲜中的应用[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(3): 1-8.

HOU Yingmeng, JIA Shiyu, SUN Yuanda, et al. Preparation of Konjac Gum Bilayer Active Film Loaded with Thyme Essential Oil Pickering Emulsion and Its Application in Salmon Preservation[J]. Food Research and Development, 2025, 46(3): 1-8.

近年来, 由于全球消费者生活品质的显著提升, 对石油基塑料制品的依赖性不断增强, 不仅加剧了石油

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD2100603); 大连市青年科技之星项目 (2022RQ046)

作者简介: 侯英猛 (1999—), 男 (汉), 硕士, 研究方向: 水产品保鲜技术的研发与应用。

*通信作者: 于德洋, 男, 讲师, 研究方向: 食品品质控制; 王海涛, 男, 副教授, 研究方向: 基于食品结构设计的食品品质控制。

资源的消耗,也对生态环境造成了严重破坏;同时,根据联合国粮农组织和世界卫生组织统计,全球每年约有6亿人因食用受到细菌、病毒、寄生虫和化学物质污染的食物而患病,其中有42万人因此死亡。因此,环境友好型的抗菌活性包装材料受到研究者的广泛关注^[1]。目前活性食品包装材料中常用的成膜基质主要有多糖、蛋白质以及脂质3种材料。魔芋胶(konjac gum, KGM)是从魔芋块茎中提取出的天然多糖,因其天然丰度高,且具有良好的相容性、可生物降解性、优异的成膜性和安全无毒等特性而备受关注,被视为开发功能性活性膜的良好材料^[2]。

由于魔芋胶不具备抗氧化、抗菌、抗紫外等生物活性,因此选择加入具有抗氧化、抗菌性能的活性物质来改善薄膜的抗氧化、抗菌活性^[3]。近年来,百里香精油因其出色的广谱抑菌作用和抗氧化性能而受到广泛关注,然而由于亲水性多糖和疏水性精油的亲疏水性差异,精油在多糖膜中的稳定性较差。采用 Pickering 乳化技术包封精油可以使精油更好地分散在膜中^[4]。此外,由于精油的易挥发性,精油在膜的干燥或保鲜过程中可能会出现极大的损失,且精油乳液的加入也可能会破坏薄膜的致密连续结构,降低薄膜的机械强度。然而,通过为单层活性膜增加致密保护层构建双层活性膜体系,可以改善活性膜的机械性能。Zhang 等^[5]的研究表明,多层薄膜体系可以延长精油在膜中的保留时间,提高膜的机械强度以及屏障作用。

三文鱼因其良好的口感,且富含多不饱和脂肪酸和必需氨基酸等营养物质而备受消费者青睐^[6]。然而三文鱼在贮藏过程中,其丰富的不饱和脂肪酸以及游离氨基酸极易受到内源性酶、氧气、微生物的影响,从而导致三文鱼发生脂质氧化变色以及被假单胞菌、副溶血弧菌等细菌污染^[7]。为延长三文鱼的货架期,研究人员开发了气调保鲜技术、辐照保鲜技术、生物活性膜保鲜等一系列方法,其中生物活性膜保鲜具有环境友好、功能可订制和便于应用等优点,成为备受瞩目的新型三文鱼保鲜方式之一。

因此,本研究采用乳化技术制备负载百里香精油(thyme essential oil, TEO)的 Pickering 乳液(thyme essential oil Pickering emulsion, OPE),并将其加入 KGM 成膜液中制备 KGM 双层活性膜,并用于三文鱼的保鲜,旨在探究百里香精油 Pickering 乳液对 KGM 双层活性膜机械性能、含水率、抗氧化、抗菌等理化性质的影响以及薄膜对三文鱼保质期的改善情况,以期改善 KGM 双层活性膜的研究提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

魔芋胶(黏度 $\geq 15\ 000\ \text{MPa}\cdot\text{s}$):上海阿拉丁生化科

技股份有限公司;大豆分离蛋白(soy protein isolate, SPI)(纯度 $\geq 90\%$)、百里香精油(百里香酚含量 $>40\%$):上海源叶生物科技有限公司;溴化钠(溴化钠含量 $\geq 99\%$)、次氯酸钠(有效氯 $\geq 8\%$):天津市大茂化学试剂厂;2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸[2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS]、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH):上海麦克林生化科技股份有限公司;胰蛋白酶大豆琼脂、LB 营养琼脂:青岛海博生物技术有限公司;金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*):大连工业大学国家海洋食品工程技术研究中心实验室。

1.2 仪器与设备

高速分散机(D-4):德国 Micra 公司;纳米粒度仪(DT-1202):美国分散技术公司;荧光倒置显微镜(Ti-s):日本 Nikon 公司;测色仪(UltraScan Pro):美国 HunterLab 公司;质构仪(TA.XT.plus):英国 Stable Micro Systems 公司;紫外-可见分光光度计(UV-2100B):上海元析仪器有限公司;生化培养箱(LRH-250S):康恒仪器有限公司;pH 计(PHS-3C):上海仪电科学仪器股份有限公司;数字千分尺(211-101K):东莞市景有模具五金有限公司。

1.3 Pickering 乳液的制备与表征

参考文献[8]的方法并稍作修改,将大豆分离蛋白溶于水中得到 5% 的 SPI 溶液,将 TEO 与 SPI 溶液以体积比 1:1 混合后用高速分散机在 12 000 r/min 下均质 3 min,得到百里香精油 Pickering 乳液。

通过纳米粒度仪测定 Pickering 乳液的粒度分布、Zeta 电位以及聚合物分散性指数(polymer dispersity index, PDI),Pickering 乳液浓度为 1 mg/mL,平行测定 3 次,取平均值^[9]。通过荧光倒置显微镜观察 Pickering 乳液的微观结构。

1.4 薄膜的制备

采用流延法制备魔芋胶/精油 Pickering 乳液(konjac gum/oil Pickering emulsion, KGM/OPE)双层和单层活性膜。首先将魔芋胶溶于去离子水中,常温搅拌 24 h 得到均匀溶液,在得到的溶液中加入 30% (基于膜基质)甘油作增塑剂,均匀搅拌 30 min,得到 1% 的魔芋胶成膜溶液。

单层活性膜的制备:将上述制得的 Pickering 乳液按 2%、3%、4% (体积分数)加入 30 mL 魔芋胶成膜液中,搅拌 2 h 后,将上述混合物倒入直径为 90 mm 的塑料培养皿中,在 37 °C 下干燥 12 h。将干燥后的薄膜从培养皿表面剥离得到 KGM/OPE 单层活性膜,将其分别命名为 SK2、SK3、SK4。同时制备不添加乳液的单层活性膜,命名为 SK0。

双层活性膜的制备:首先将 30 mL 魔芋胶成膜液倒入 90 mm 培养皿中做第 1 层膜,在 37 °C 下干燥 6 h

至还有一定黏度时倒入上述制备的 KGM/OPE 乳液成膜液制备第 2 层,在 37 °C 下干燥 12 h。将干燥后的薄膜从培养皿表面剥离得到 KGM/OPE 双层活性膜,将其分别命名为 DK2、DK3、DK4,同时制备不添加乳液的双层活性膜,命名为 DK0。

1.5 KGM/OPE 薄膜的表征

1.5.1 薄膜的厚度和颜色

用数字千分尺测量所制备薄膜的平均厚度。参考文献[10]的方法,每个薄膜均随机选取 5 个测试点测量厚度,数字千分尺分辨率为 0.001 mm。

参考文献[11]的方法,通过测色仪测定活性薄膜的颜色值(L^* 值、 a^* 值和 b^* 值)和总色差(ΔE)。测量前,先用白色标准板对仪器进行校准,然后对薄膜样品进行测定。总色差(ΔE)计算公式如下。

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

式中: ΔL 、 Δa 、 Δb 分别为对照膜(DK0)与测试膜各颜色值的差值。

1.5.2 薄膜的机械性能

通过质构仪测量薄膜的抗拉强度(tensile strength, TS)和断裂伸长率(elongation at break, EAB)。参考文献[12]的方法,将薄膜裁成矩形试样条(15 mm×30 mm),测试时力臂初始间距为 15 mm,测试中速率为 30 mm/min。每个薄膜样品进行 3 次平行测定。

1.5.3 薄膜的含水率(moisture content, MC)和水溶性(water solubility, WS)

薄膜含水率(MC)和水溶性(WS)测定方法参考文献[13],首先将薄膜样品裁切成 30 mm×30 mm 的正方形并称重以确定膜的初始质量 M_0 (g),之后在 105 °C 下干燥 24 h,称重记为 M_1 (g)。薄膜含水率(C ,%)计算公式如下。

$$C = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100$$

将干燥后的样品(M_1 ,g)浸入装有 20 mL 去离子水的烧杯中浸泡 24 h,取出膜的未溶解部分并在 105 °C 下干燥 24 h 后,称重记为 M_2 (g)。薄膜水溶性(S ,%)计算公式如下。

$$S = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

1.5.4 薄膜的释放特性

参考文献[14]的方法。将切好的薄膜样品(1 cm×2 cm)浸入 50 mL 食品模拟物溶液中。以特定的时间间隔(10、20、40、60、120、240 h)收集 2 mL 溶液,使用紫外-可见分光光度计在 274 nm 波长下测量 TEO 吸光度,测完后立即将其倒回模拟溶液中。重复测量 3 次。根据相应的标准曲线($y=0.114 6x+0.061 7$, $R^2=0.982 7$)计算 TEO 的含量,并根据以下公式计算 TEO 的释放率(F ,%)。

$$F = \frac{M_t}{M} \times 100$$

式中: M_t 为 t 时间 TEO 的释放量,μL; M 为达到平衡时 TEO 的释放量,μL。

1.5.5 薄膜的抗氧化活性

参考文献[15]的方法,通过 DPPH 自由基和 ABTS⁺ 自由基清除率来评估薄膜的抗氧化活性。

DPPH 自由基清除率:首先配制 40 mg/L 的 DPPH 乙醇溶液,取 0.05 g 薄膜样品置于 5 mL DPPH 乙醇溶液中,避光反应 1 h,在 517 nm 波长下测定吸光度。

ABTS⁺自由基清除率:将 7.4 mmol/L 的 ABTS 溶液和 2.6 mmol/L 的过硫酸钾溶液等体积混合,避光静置 12~16 h 后备用。使用无水乙醇稀释 ABTS 工作液(在 30 °C 下, $A_{734}=0.70\pm 0.02$),取 0.05 g 薄膜样品置于 5 mL ABTS 工作液中,避光反应 30 min,在 734 nm 波长下测定吸光度。

自由基清除率(R ,%)的计算公式如下。

$$R = \frac{A_2 - A_1}{A_2} \times 100$$

式中: A_1 为浸泡薄膜溶液的吸光度; A_2 为空白溶液的吸光度。

1.5.6 薄膜的抗菌活性

通过圆盘扩散法测试薄膜对金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性)和大肠杆菌(革兰氏阴性)的抗菌活性。参考文献[16]的方法,将薄膜切成直径为 6 mm 的圆形薄膜。将 100 μL 浓度为 10^7 CFU/mL 的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌悬浮液分别均匀涂布在胰蛋白胨大豆琼脂和 LB 营养琼脂上,再将切割好的薄膜样品放置在涂有细菌溶液的培养基上。在 37 °C 生化培养箱中培养 24 h。每个薄膜样品做 3 个平行,取平均值。

1.5.7 薄膜的生物降解性

薄膜的生物降解试验参考文献[17]的方法,将薄膜样品埋于户外土壤约 50 mm 深处,分别在第 0、3、7、15 天时在户外拍下薄膜的数字照片。

1.6 薄膜在三文鱼保鲜中的应用

1.6.1 总挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVB-N)值的测定

取 10 g 三文鱼样品,用 90 mL 去离子水匀浆,不时振摇,使试样在样液中分散均匀,浸渍 30 min 后过滤得到滤液。根据 GB 5009.228—2016《食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定》^[30]中的微量扩散法测定三文鱼肉的 TVB-N 值,结果以 mg/100 g 表示。

1.6.2 pH 值的测定

将制备的薄膜用于三文鱼保鲜试验,参考文献[18]的方法,取 10 g 鱼样,用 90 mL 去离子水匀浆,室温静置 30 min,使用 pH 计测量上清液的 pH 值。

1.7 统计分析

通过 SPSS 20.0 软件进行数据的方差分析(analy-

sis of variance, ANOVA), 置信水平为 95% 的 Tukey 检验用于确定处理间的统计学差异。结果以平均值±标准差表示。

2 结果与分析

2.1 Pickering 乳液的表征

图 1 为 Pickering 乳液的光学显微镜图。

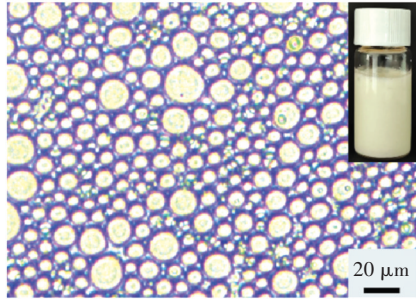


图 1 Pickering 乳液的显微结构和数字图像

Fig.1 Microstructures and digital image of Pickering emulsion

由图 1 可知,乳液滴大小相对均匀,分散性良好。对于测得的 Pickering 乳液的粒径电位而言,其平均粒径为 21.64 μm,电位为 -47.03 mV, PDI 为 0.695 9。较低的电位说明该乳液具有良好的稳定性,较小的 PDI 说明乳液中液滴的尺寸分布较窄。综上,该 Pickering 乳液具有良好的稳定性且粒径分布均匀。

2.2 双层活性膜的颜色

薄膜的颜色如表 1 所示。双层活性膜的数字图像见图 2。

表 1 薄膜的颜色
Table 1 Color of the films

薄膜	L^* 值	a^* 值	b^* 值	ΔE
DK0	94.84±0.06 ^a	-0.16±0.01 ^a	0.75±0.03 ^c	-
DK2	93.28±0.20 ^b	-0.42±0.05 ^b	1.36±0.17 ^b	1.74±0.11 ^c
DK3	92.46±0.09 ^c	-0.44±0.02 ^b	1.63±0.01 ^b	2.56±0.08 ^b
DK4	92.23±0.08 ^c	-0.61±0.06 ^c	2.34±0.18 ^a	3.10±0.07 ^a

注:-表示没有色差。同列不同小写字母表示存在显著性差异, $P<0.05$ 。



图 2 双层活性膜的数字图像

Fig.2 Digital images of the bilayer active films

由表 1 可知,百里香精油 Pickering 乳液对薄膜的颜色变化有显著影响,随着百里香精油 Pickering 乳液含量的增加,双层活性膜 ΔE 、 b^* 值增大, L^* 值和 a^* 值减小,这表明随着乳液浓度的增加,双层活性膜逐渐偏

黄、偏暗,这可能主要与 TEO 的颜色有关^[19]。双层活性膜的颜色参数变化与其数字图像(图 2)结果一致。

2.3 薄膜的机械性能

双层活性膜和单层活性膜的厚度和机械性能如表 2 所示。

表 2 薄膜厚度及机械性能

Table 2 Thickness and mechanical properties of the films

薄膜	厚度/ μm	TS/MPa	EAB/%
DK0	101.33±7.31 ^c	23.70±2.09 ^a	66.61±5.80 ^a
DK2	168.33±0.88 ^{bc}	10.40±0.49 ^b	35.47±1.09 ^b
DK3	185.00±2.08 ^b	8.19±0.08 ^{bc}	22.58±1.66 ^c
DK4	214.33±17.13 ^a	6.45±0.88 ^c	17.61±1.50 ^c
SK0	53.67±6.39 ^c	12.27±0.95 ^A	52.29±8.84 ^A
SK2	90.00±2.65 ^B	6.13±0.38 ^B	49.68±3.68 ^A
SK3	117.00±2.52 ^A	4.80±0.33 ^B	46.82±1.23 ^A
SK4	-	-	-

注:-表示几乎不成膜。同列不同小写字母表示不同双层活性膜存在显著性差异, $P<0.05$;同列不同大写字母表示不同单层活性膜存在显著性差异, $P<0.05$ 。

由表 2 可知,随着 Pickering 乳液含量的增加,双层活性膜和单层活性膜的厚度均呈增大趋势,此外双层活性膜的厚度大于单层活性膜。对于双层活性膜和单层活性膜而言,加入 Pickering 乳液均导致了 TS 和 EAB 的降低,其中双层活性膜的 TS 从 DK0 的 23.70 MPa 逐渐降低至 DK4 的 6.45 MPa,双层活性膜的 EAB 从 DK0 的 66.61% 逐渐降低至 DK4 的 17.61%,单层活性膜的 TS 从 SK0 的 12.27 MPa 逐渐降低至 SK3 的 4.80 MPa,单层活性膜的 EAB 从 SK0 的 52.29% 逐渐降低至 SK3 的 46.82%,这可能是由于 Pickering 乳液的加入破坏了薄膜的致密连续性结构,进而导致 TS 和 EAB 的降低^[20]。然而与单层活性膜相比,加入相同乳液含量双层活性膜的 TS 优于单层活性膜。如双层活性膜 DK0、DK2、DK3、DK4 的 TS 分别为 23.70、10.40、8.19、6.45 MPa,单层活性膜 SK0、SK2、SK3 的 TS 分别为 12.27、6.13、4.80 MPa,单层活性膜 SK4 几乎没有机械强度。由此可见,与单层活性膜相比,双层活性膜由于多了一层致密的保护层,因此具有更好的机械强度。

2.4 薄膜的含水率和水溶性

薄膜的含水率和水溶性如表 3 所示。

表 3 薄膜含水率和水溶性

Table 3 Moisture content and water solubility of the films

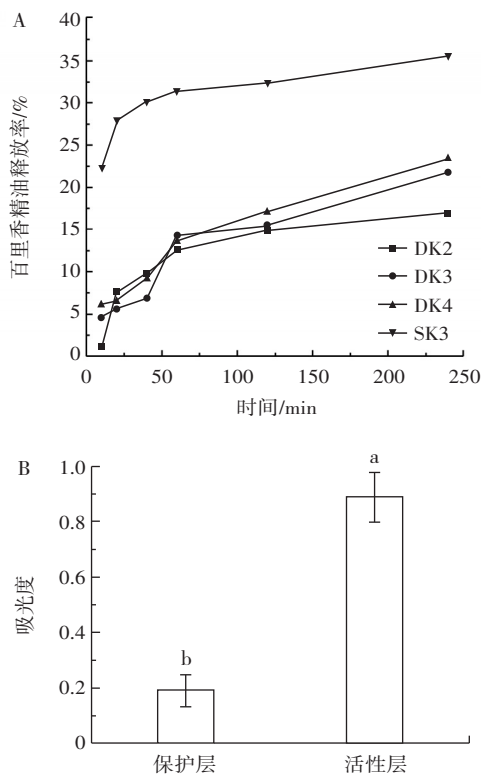
薄膜	含水率/%	水溶性/%
DK0	28.59±2.94 ^a	96.47±0.10 ^a
DK2	21.44±2.51 ^b	80.12±10.94 ^b
DK3	19.62±2.86 ^b	67.43±2.09 ^{bc}
DK4	17.86±4.55 ^b	59.56±7.96 ^c

注:同列不同小写字母表示存在显著性差异, $P<0.05$ 。

由表3可知,薄膜的含水率和水溶性随着 Pickering 乳液含量的增加均明显降低,对于薄膜的含水率而言,DK0的含水率(28.59%)最高,DK2、DK3、DK4的含水率随着 Pickering 乳液含量的增加逐渐降低,分别为21.44%、19.62%、17.86%,对于薄膜的水溶性而言,DK0的水溶性(96.47%)最高,DK2、DK3、DK4的水溶性随着 Pickering 乳液含量的增加逐渐降低,分别为80.12%、67.43%、59.56%,这一结果可能归因于百里香精油 Pickering 乳液的疏水性液滴与魔芋胶之间的相互作用取代了魔芋胶与水之间的相互作用^[21]。这表明添加精油 Pickering 乳液在一定程度上改善了多糖膜的疏水性。

2.5 薄膜的释放特性

在精油乳液活性膜中精油的释放特性是薄膜的一个重要物理特性。薄膜的释放特性结果见图3。



A. 双层活性膜和单层活性膜 SK3 在 95% 乙醇中的精油释放曲线;
B. 双层活性膜 DK3 的保护层和活性层在 95% 乙醇中的精油释放量。不同小写字母表示存在显著性差异, $P < 0.05$ 。

图3 薄膜的释放特性

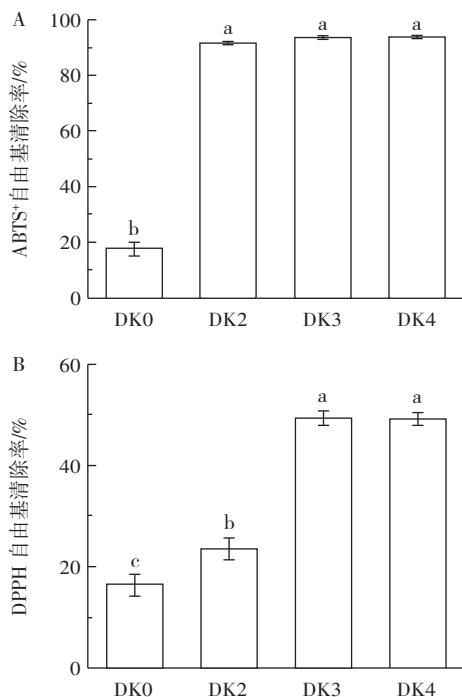
Fig.3 Release properties of films

从图3A可以看出,双层活性膜 DK2、DK3、DK4 和单层活性膜 SK3 在常温条件下的脂肪模拟物(95%乙醇)中的 TEO 释放曲线均呈上升趋势。对于负载不同 TEO 浓度的双层活性膜而言,其释放曲线没有明显区别,表明 Pickering 乳液含量对薄膜中精油的释放速率没有明显影响^[22]。然而,对于 TEO 浓度均为 1.5%

的双层活性膜 DK3 和单层活性膜 SK3 而言,其释放曲线差异明显;单层活性膜 SK3 的释放曲线明显高于双层活性膜 DK3,这可能归因于双层活性膜具有一层保护层,可以有效阻挡精油的释放^[23]。图3B进一步证明了双层活性膜 DK3 具有单向释放作用,将双层活性膜 DK3 的保护层和活性层分别浸入 95% 乙醇溶液中 1 h 后发现,保护层浸出的精油吸光度(0.189)显著低于从活性层浸出的精油吸光度(0.885),这表明双层活性膜可以实现单向释放^[24]。

2.6 薄膜的抗氧化活性

通过测定薄膜对 DPPH 自由基、ABTS⁺ 自由基清除率来评估薄膜的抗氧化活性,结果见图4。



A. ABTS⁺ 自由基清除率; B. DPPH 自由基清除率。不同小写字母表示存在显著性差异, $P < 0.05$ 。

图4 双层活性膜的抗氧化活性结果

Fig.4 Results of antioxidant activity of bilayer active films

由图4A可知,DK0对ABTS⁺自由基的清除率为17.39%,随着 Pickering 乳液含量的增加,DK2、DK3、DK4对ABTS⁺自由基的清除率依次增大至91.50%、93.60%、93.60%。由图4B可知,与DK0相比,负载精油 Pickering 乳液的薄膜对DPPH自由基清除率整体显著增大,活性膜对DPPH自由基清除率从16.43%显著增大至49.39%。由此可见,负载百里香精油 Pickering 乳液的双层活性膜表现出良好的抗氧化活性,并且活性膜的抗氧化活性与薄膜中的精油浓度整体呈正相关^[16]。

2.7 薄膜的抗菌活性

通过薄膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈试验探讨薄膜的抗菌活性,薄膜抗菌活性结果见表4,

双层活性膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抑菌效果的数字图像见图5。

表4 薄膜抗菌活性
Table 4 Antibacterial activity of the films

薄膜	抑菌圈直径/mm	
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌
DK0	-	-
DK2	19.7±0.2 ^b	-
DK3	22.3±0.2 ^b	-
DK4	32.0±0.2 ^a	8.0±0.5

注:-表示该活性膜对此菌没有明显抑菌圈。同列不同小写字母表示存在显著性差异, $P<0.05$ 。

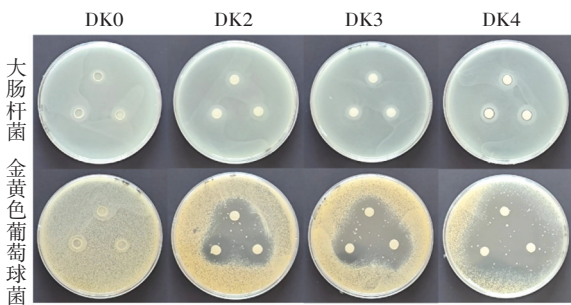


图5 双层活性膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抑菌效果的数字图像

Fig.5 Digital images of antibacterial effectiveness of bilayer active films against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

由图5可知,添加了 Pickering 乳液的活性膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均表现出一定的抗菌活性。

然而,该活性薄膜对金黄色葡萄球菌的抗菌活性明显优于大肠杆菌,这与已有的报道结果一致,这可能是由于精油活性物质主要作用于细胞膜,通过改变细胞膜的通透性而杀死细菌^[22],而革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌)是单层活性膜,革兰氏阴性菌(大肠杆菌)具有双层活性膜,其特有的脂多糖外膜将会阻止疏水性精油扩散到细菌的细胞膜上^[25],从而阻碍了精油对大肠杆菌的抑制效果。从表4可以看出,当TEO浓度为1.0%和1.5%时,DK2、DK3对大肠杆菌几乎没有抑菌圈,而对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径分别为19.7、22.3 mm,当TEO浓度为2.0%时,DK4对大肠杆菌出现较为明显的抑菌圈(8.0 mm),对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径则增大至32.0 mm。上述结果表明活性膜对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均具有良好的抑制作用,证明其在食品保鲜领域具有潜在的应用潜力。

2.8 薄膜的降解特性

活性薄膜的可生物降解特性对环境的可持续发展也极为重要。双层活性膜和聚乙烯膜在土壤环境中的生物降解图像见图6。

由图6可知,随着时间的延长,天然活性膜DK0在第15天时几乎被完全降解,这主要归因于土壤中的小型动物和真菌的降解作用^[1]。而负载了百里香精油 Pickering 乳液的活性膜DK2、DK3、DK4因精油对细菌、真菌等微生物的抑制作用而出现了降解时间延长的现象,然而聚乙烯(polyethylene, PE)膜在15 d后依然保持着原有的结构而不被降解,证明了双层活性膜具有优异的生物降解性能。

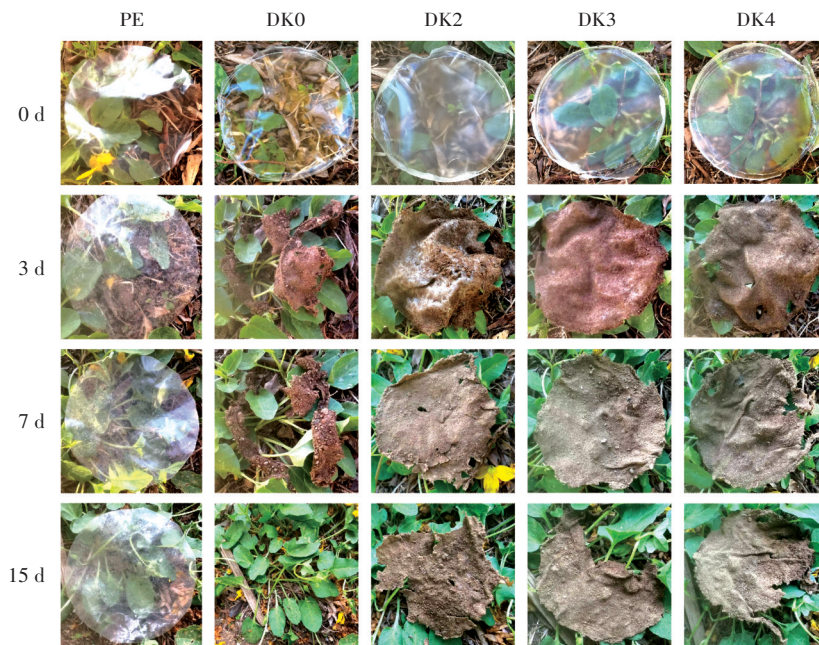


图6 双层活性膜和聚乙烯膜在土壤环境中的生物降解图像

Fig.6 Biodegradability tests of bilayer active films and polyethylene film in natural soil environment

2.9 三文鱼 TVB-N 值的变化

动物性水产品在储藏过程中易受内源性酶和微生物等的影响导致其发生腐败,这主要是由于酶和细菌会分解鱼肉中的蛋白质和脂肪等,从而产生挥发性的含氮化合物^[26],所以通常将总挥发性盐基氮的含量变化作为鱼肉产品腐败的标志之一。一般来说,若用 TVB-N 值划分三文鱼的新鲜度等级,可分为一级新鲜(≤ 15 mg/100 g)、二级新鲜(15~25 mg/100 g)、三级新鲜(25~30 mg/100 g)以及变质(≥ 30 mg/100 g)^[27]。图 7 为三文鱼在 4 °C 条件下储存 9 d 的 TVB-N 值变化情况。

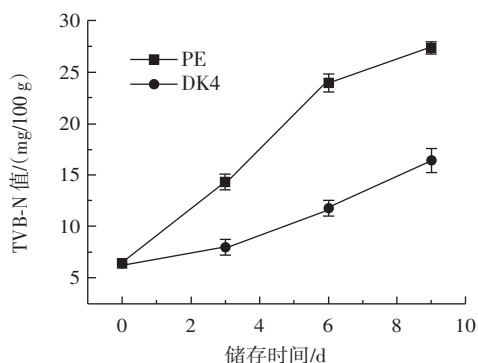


图 7 双层活性膜 DK4 和聚乙烯(PE)膜包装的三文鱼在 4 °C 冷藏过程中 TVB-N 值的变化

Fig.7 Changes in TVB-N of salmon packaged by bilayer active film DK4 and polyethylene (PE) film during refrigerated storage at 4 °C

由图 7 可知,两组三文鱼样品的 TVB-N 值都随储存时间的延长而增大。对于 DK4 包裹的三文鱼样品而言,其在 6 d 之前的 TVB-N 值均低于 15 mg/100 g,而 PE 膜包裹的三文鱼样品在第 6 天时的 TVB-N 值达到了 23.94 mg/100 g,远高于 DK4 包裹的三文鱼样品的 TVB-N 值,当储存时间达到第 9 天时,PE 膜包裹的三文鱼样品的 TVB-N 值为 27.30 mg/100 g,DK4 包裹的三文鱼样品的 TVB-N 值为 16.38 mg/100 g。综上,DK4 活性膜的保鲜效果比 PE 膜的保鲜效果好,这表明负载 TEO 的活性膜可以有效抑制三文鱼中微生物对蛋白质、脂肪等的降解作用,这与已有研究的结果一致^[28]。

2.10 三文鱼的 pH 值变化

pH 值也是评估鱼肉新鲜度的指标之一。图 8 为三文鱼在 4 °C 下储存 12 d 的 pH 值变化情况。

由图 8 可知,两个包装组的三文鱼样品在储存期间的 pH 值均升高,这可能归因于三文鱼中蛋白质、脂肪等被微生物分解产生挥发性含氮化合物^[29]。此外,与 DK4 包裹的三文鱼样品的 pH 值相比,PE 膜包裹的三文鱼样品的 pH 值上升趋势更快,这表明负载 TEO 的活性膜可以有效抑制鱼肉产品中微生物对蛋白质的降解作用^[6]。

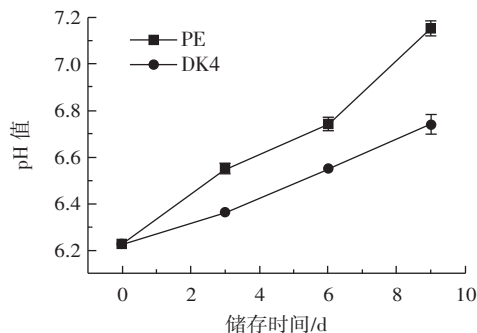


图 8 双层活性膜 DK4 和聚乙烯(PE)膜包装的三文鱼在 4 °C 冷藏过程中 pH 值的变化

Fig.8 Changes in pH value of salmon packaged by bilayer active film DK4 and polyethylene (PE) film during refrigerated storage at 4 °C

3 结论

本研究成功制备了负载百里香精油 Pickering 乳液的魔芋胶基双层活性膜,并将其应用于三文鱼的保鲜中。与单层活性膜相比,双层活性膜具有更好的机械性能,并且能够实现精油的单向释放。此外,由于百里香精油 Pickering 乳液的加入,双层活性膜获得了良好的抗氧化、抗菌性能,并且薄膜的耐水性也得到提高。与石油基塑料薄膜相比,该双层活性膜具有良好的生物降解特性。贮藏试验表明,双层活性膜 DK4 能够有效减缓 TVB-N 值的增加,成功延长三文鱼的货架期。本研究为双层生物活性膜保鲜技术在生鲜水产品保鲜中的应用奠定了良好的研究基础。

参考文献:

- [1] XIA J F, SUN X Y, JIA P, et al. Multifunctional sustainable films of bacterial cellulose nanocrystal-based, three-phase Pickering nano-emulsions: A promising active food packaging for cheese[J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 466: 143295.
- [2] XU J T, HE M X, WEI C P, et al. Konjac glucomannan films with Pickering emulsion stabilized by TEMPO-oxidized chitin nanocrystal for active food packaging[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 139: 108539.
- [3] ZIMET P, MOMBRÚ Á W, MOMBRÚ D, et al. Physico-chemical and antilisterial properties of nisin-incorporated chitosan/carboxymethyl chitosan films[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 219: 334-343.
- [4] BARKHORDARI M R, FATHI M. Production and characterization of chitin nanocrystals from prawn shell and their application for stabilization of Pickering emulsions[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 338-345.
- [5] ZHANG B, LIU Y, WANG H H, et al. Characterization of seaweed polysaccharide-based bilayer films containing essential oils with antibacterial activity[J]. LWT-Food Science and Technology, 2021, 150: 111961.
- [6] 宋颖, 王雅妮, 杨峻乙, 等. 三明治型魔芋葡聚糖/海藻酸钠/魔芋葡聚糖复合保鲜涂膜对三文鱼鱼片蛋白氧化的影响[J]. 食品科学, 2023, 44(3): 201-208.

- SONG Ying, WANG Yani, YANG Junyi, et al. Effect of sandwich-type konjac glucan/sodium alginate/konjac glucan composite coatings on protein oxidation in salmon fillets[J]. Food Science, 2023, 44(3): 201-208.
- [7] CHEN H M, ZHOU Q, HUANG L J, et al. Curcumin-mediated photodynamic treatment extends the shelf life of salmon (*Salmo salar*) sashimi during chilled storage: Comparisons of preservation effects with five natural preservatives[J]. Food Research International, 2023, 173: 113325.
- [8] YU S J, HU S M, ZHU Y Z, et al. Pickering emulsions stabilized by soybean protein isolate/chitosan hydrochloride complex and their applications in essential oil delivery[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 250: 126146.
- [9] SHEN Y, NI Z J, THAKUR K, et al. Preparation and characterization of clove essential oil loaded nanoemulsion and Pickering emulsion activated pullulan-gelatin based edible film[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 181: 528-539.
- [10] LUANGAPAI F, IWAMOTO S. Influence of blending and layer-by-layer assembly methods on chitosan-gelatin composite films enriched with curcumin nanoemulsion[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 249: 126061.
- [11] SHEN Y P, ZHOU J W, YANG C Y, et al. Preparation and characterization of oregano essential oil-loaded *Dioscorea zingiberensis* starch film with antioxidant and antibacterial activity and its application in chicken preservation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 212: 20-30.
- [12] ZHANG L H, ZHANG M, MUJUMDAR A S, et al. Novel multilayer chitosan/emulsion-loaded syringic acid grafted apple pectin film with sustained control release for active food packaging[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 142: 108823.
- [13] ZENG Z, YANG Y J, TU Q, et al. Preparation and characterization of carboxymethyl chitosan/pullulan composite film incorporated with eugenol and its application in the preservation of chilled meat[J]. Meat Science, 2023, 198: 109085.
- [14] DONG J L, YU D W, ZHANG L M, et al. Chitosan/alginate dialdehyde trilayer films with cinnamaldehyde nanoemulsions for grass carp preservation[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 147: 109413.
- [15] FASIHI H, NOSHIRVANI N, HASHEMI M, et al. Antioxidant and antimicrobial properties of carbohydrate-based films enriched with cinnamon essential oil by Pickering emulsion method[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2019, 19: 147-154.
- [16] LIU Z, LIN D H, SHEN R, et al. Konjac glucomannan-based edible films loaded with thyme essential oil: Physical properties and antioxidant-antibacterial activities[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2021, 29: 100700.
- [17] MU R J, BU N T, YUAN Y, et al. Development of chitosan/konjac glucomannan/tragacanth gum tri-layer food packaging films incorporated with tannic acid and ϵ -polylysine based on mussel-inspired strategy[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 242: 125100.
- [18] GUO X, WANG X R, WEI Y B, et al. Preparation and properties of films loaded with cellulose nanocrystals stabilized *Thymus vulgaris* essential oil Pickering emulsion based on modified tapioca starch/polyvinyl alcohol[J]. Food Chemistry, 2024, 435: 137597.
- [19] BANGAR S P, WHITESIDE W S, DUNNO K D, et al. Fabrication and characterization of active nanocomposite films loaded with cellulose nanocrystals stabilized Pickering emulsion of clove bud oil[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 224: 1576-1587.
- [20] HAN Y Y, YU M, WANG L J. Physical and antimicrobial properties of sodium alginate/carboxymethyl cellulose films incorporated with cinnamon essential oil[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2018, 15: 35-42.
- [21] BU N T, HUANG L Y, CAO G Y, et al. Konjac glucomannan/pullulan films incorporated with cellulose nanofibrils-stabilized tea tree essential oil Pickering emulsions[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2022, 650: 129553.
- [22] ZHANG X H, LIU D H, JIN T Z, et al. Preparation and characterization of gellan gum-chitosan polyelectrolyte complex films with the incorporation of thyme essential oil nanoemulsion[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 114: 106570.
- [23] VALENCIA-SULLCA C, VARGAS M, ATARÉS L, et al. Thermoplastic cassava starch-chitosan bilayer films containing essential oils[J]. Food Hydrocolloids, 2018, 75: 107-115.
- [24] WANG L, YUAN M Y, SUN E Z, et al. Antibacterial food packaging capable of sustained and unidirectional release carvacrol/thymol nanoemulsions for pork preservation[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 145: 109169.
- [25] LIU Z, LIN D H, LI N, et al. Characterization of konjac glucomannan-based active films loaded with thyme essential oil: Effects of loading approaches[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 124: 107330.
- [26] CHEN J W, LI Y X, WANG Y F, et al. Active polylactic acid/tilapia fish gelatin-sodium alginate bilayer films: Application in preservation of Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2022, 33: 100915.
- [27] 石吉勇, 李文亭, 邹小波, 等. 基于近红外光谱特征的三文鱼品质多指标快速检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2019, 39(7): 2244-2249.
- SHI Jiyong, LI Wenting, ZOU Xiaobo, et al. Multi-index rapid detection of salmon quality based on near-infrared spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2019, 39(7): 2244-2249.
- [28] WU J L, SONG G J, HUANG R Y, et al. Fish gelatin films incorporated with cinnamaldehyde and its sulfobutyl ether- β -cyclodextrin inclusion complex and their application in fish preservation[J]. Food Chemistry, 2023, 418: 135871.
- [29] LIN B, ZHANG X J, OU D P, et al. Characterization of anglerfish gelatin/polyvinyl alcohol film and its application in preservation of small yellow croaker (*Larimichthys polyactis*)[J]. Journal of Food Engineering, 2023, 357: 111641.
- [30] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中挥发性盐基氮的测定: GB 5009.228—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standard Determination of volatile basic nitrogen in food: GB 5009.228—2016[S]. Beijing: Standards Press of China, 2017.