

魔芋葡甘聚糖基活性纳米复合膜的 构建及性能研究

颜吉强^{1*}, 高红豆², 徐晓薇², 郑盛璇², 潘少雄³, 李建平⁴

[1. 福建农林大学计算机与信息学院, 福州 350000; 2. 福建农林大学食品科学学院, 福州 350000; 3. 福建南安乐玉农林开发有限公司, 泉州 362324; 4. 蜡笔小新(福建)食品工业有限公司, 泉州 362216]

摘要: 目的 对魔芋葡甘聚糖(konjac glucomannan, KGM)薄膜进行改良。**方法** 以KGM为基质, 棉花纤维素纳米晶须(cellulose nanocrystals, CNC)作为增强剂, 马尾藻多酚(phlorotannins from *Sargassum*, PS)为抗菌抗氧化剂, 通过物理性能、自由基清除能力和抗菌性检测, 筛选KGM/CNC/PS活性纳米复合膜包装材料。该包装材料运用在鲜猪肉保鲜上时, 以菌落总数(total bacterial count, TBC)、总挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVB-N)、硫代巴比妥酸反应物(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)、pH等指标判断鲜猪肉腐败变质程度。**结果** 当质量比KGM:CNC:PS=100:9:9.81(KCP-9)时, KGM/CNC/PS活性纳米复合膜的热稳定性、力学性能、水蒸气阻隔性能相对其他比例的复合膜显著提高, KGM:CNC:PS=100:9:18.53(KCP-17)时, 抗氧化和抗菌性能最佳, 后者运用在鲜猪肉上时, TBC、TVB-N、TBARS、pH等指标明显优于对照组中不使用任何保鲜剂的猪肉, 可延缓鲜猪肉腐败变质速度, 延长其货架期。**结论** 当KGM:CNC:PS=100:9:18.53(KCP-17)时, KGM/CNC/PS活性纳米复合膜包装材料具有良好的抗氧化和抗菌性, 在食品保鲜领域具有潜在的应用前景, 本研究可为提高食品包装材料机械性能、抗菌性和抗氧化能力研究提供参考。

关键词: 魔芋葡甘聚糖; 纤维素纳米晶须; 马尾藻多酚; 活性纳米复合薄膜; 抗菌性; 抗氧化活性; 鲜猪肉保鲜

Construction and properties of konjac glucomannan-based active nanocomposite membranes

YAN Ji-Qiang^{1*}, GAO Hong-Dou², XU Xiao-Wei², ZHENG Sheng-Xuan²,
PAN Shao-Xiong³, LI Jian-Ping⁴

[1. College of Computer and Information, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China;
2. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China;
3. Fujian Nan'an Leyu Agriculture and Forestry Development Co., Quanzhou 362324, China;
4. Labixiaoxin (Fujian) Foods Industrial Co., Quanzhou 362216, China]

ABSTRACT: Objective To improve the characteristics properties of konjac glucomannan (KGM) film.
Methods KGM/CNC/PS active nanocomposite membrane was constructed with KGM as the matrix, cellulose nanocrystals (CNC) as the enhancer and phlorotannins from *Sargassum* (PS) as the antibacterial and antioxidant agent. KGM/CNC/PS active nanocomposite membrane packaging materials were screened through physical

基金项目: 福建省自然科学基金项目(2022J02021、2020J01132)

Fund: Supported by the Natural Science Foundation of Fujian Province (2022J02021, 2020J01132)

*通信作者: 颜吉强, 博士, 讲师, 主要研究方向为生物信息学与食品科学。E-mail: 87968123@qq.com

*Corresponding author: YAN Ji-Qiang, Ph.D, Lecturer, Fujian Agriculture and Forestry University, No.15, Shangxiadian Road, Cangshan District, Fuzhou 350000, China. E-mail: 87968123@qq.com

properties, free radical scavenging ability and antibacterial activity, which was used to package fresh pork, and the rotting rate of fresh pork was determined by the total bacterial count (TBC), total volatile base nitrogen (TVB-N), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), pH and others. **Results** When the mass ratio of KGM:CNC:PS=100:9:9.81 (KCP-9), comparing with other proportionscomposite films, the active nanocomposite membrane was significantly improved of the thermal stability, mechanical properties, water vapor barrier properties. When the mass ratio of KGM:CNC:PS=100:9:18.53 (KCP-17), the active nanocomposite membrane had a higher antioxidant and antibacterial properties. The film was applied to fresh pork, TBC, TVB-N, TBARS, pH and others were significantly better than pork without any preservative in the control group. It determined that KGM/CNC/PS active nanocomposite membrane could delay the deterioration rate and extend its shelf life of fresh pork. **Conclusion** When the mass ratio of KGM:CNC:PS=100:9:18.53 (KCP-17), the prepared KGM/CNC/PS active nanocomposite membrane have good antioxidant and antibacterial properties, and it has potential application prospects in the field of food preservation. This study provides a reference for improving the mechanical properties, antibacterial and antioxidant capacity of food packaging materials.

KEY WORDS: konjac glucomannan; cellulose nanocrystals; phlorotannins from *Sargassum*; active nanocomposite film; antibacterial property; antioxidant activity; pork preservation

0 引言

魔芋葡甘聚糖(konjac glucomannan, KGM)是一种可溶性半纤维素^[1], 其结构特殊, 具有凝胶性、增稠性、成膜性、易降解、生物相容性好等优点^[2], 是一种安全性很高的食品添加剂^[3]。KGM 薄膜是一种可降解包装薄膜材料, 但 KGM 包装材料易溶于水、机械性能、阻隔性能、抗菌及抗氧化活性差。针对这些问题, 目前改善 KGM 薄膜性能的方法主要有添加纳米颗粒、抗氧化抗菌剂和天然交联剂等^[4-6]。研究发现, 纤维素纳米晶须(cellulose nanocrystals, CNC)能改善膜的物理、机械和气体阻隔等性能^[7]。目前已作为增强剂用于多种复合材料。研究发现质量比 CNC:KGM=0.8:1.5 时能增加 CNC/KGM 凝胶的弹性、紧密性和稳定性^[8]。另外, 马尾藻多酚(phlorotannins from *Sargassum*, PS)具有抗氧化、抗菌抗病毒、抗肿瘤、抗凝血等多种作用^[9-10], 在医药行业应用较多, 而在膜制备方面相对较少。有研究发现, 在海藻酸钠/聚环氧乙烷复合静电纺丝膜中添加 PS 后, 可抑制微生物生长, 有效延长鸡肉的货架期^[9]。因此, 将 PS 运用在膜制备及抑制肉类微生物生长具有可行性。目前, 抗菌型可食性涂膜已有应用^[11], 但单一性能的可食性涂膜越来越不能满足人们对食品保鲜的需求, 其中包含抗菌及抗氧化活性的可食性涂膜及其在食品中的保鲜应用受到了人们的广泛关注。

然而, 将可食性薄膜应用在冷鲜肉保鲜方面的研究相对较少。肉类由于水分活度高、蛋白质含量高、游离氨基酸含量相对较高, 故而易受到微生物侵染^[12-13]。目前, 肉类物理保鲜方法主要有: 辐射保鲜技术、超高压技术、包装技术、冰温冷藏技术等^[14]。其中, 可食性膜作为天然活性物质的载体, 由蛋白质、脂类、多糖组成, 可为肉制品增加色香味以及各种功能性, 可延长肉制品保质期, 又不

会对环境造成负担^[15]。FAN 等^[16]通过对鳕鱼鱼肉的感官特性、菌落总数(total bacterial count, TBC)、pH、总挥发性盐基氮(total volatile base nitrogen, TVB-N)和硫代巴比妥酸(thiobarbituric acid reactive substances, TBARS)分析, 证实了壳聚糖涂层可以保持鱼肉品质, 并且在冷藏过程中可延长其保质期。RODRIGUEZ-CARPENA 等^[17]研究了生猪肉饼的 TBARS 的变化, 表明牛油果副产品可作为冷冻贮藏中肉饼颜色恶化、脂质和蛋白质氧化的抑制剂。

本研究以植物提取多糖 KGM 作为基质开发新型食品包装薄膜, 通过添加 CNC 和 PS 制备 KGM/CNC/PS 纳米复合薄膜, 并将 KGM/CNC/PS 纳米复合薄膜应用于鲜猪肉保鲜, 以期减缓鲜猪肉的腐败速度, 为可食性复合包装膜在食品保鲜应用中提供理论支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜猪肉购于福建福州市仓山区淮安菜市场。

魔芋葡甘聚糖(纯度 95%, 湖北一致魔芋生物科技有限公司); 棉花纤维素纳米晶须(纯度 100%, 桂林奇宏科技有限公司); 马尾藻多酚(纯度 80%, 西安优硕生物科技有限公司); 氧化镁、硼酸、盐酸、生理盐水、2-硫代巴比妥酸、三氯乙酸、丙三醇、无水氯化钙(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 琼脂培养基(生物试剂, 广东环凯微生物科技有限公司); 金黄色葡萄球菌(ATCC25923)、大肠杆菌(ATCC25922)(青岛霍普生物科技有限公司); 平板计数琼脂(plate count agar)(生物试剂, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司); 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)(纯度 96%, 上海麦克林生化科技公司)。

1.2 仪器与设备

PL402-C 电子分析天平(感量 0.01 g, 赛多斯科学仪器有限公司); RW20 电动搅拌器(德国 IKA 公司); TDL-50 高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂); HH-4 数显恒温水浴锅(常州诺基仪器有限公司); KQ 系列超声波清洗器(上海楚柏实验室设备有限公司); S4800 场发射扫描电镜(日本日立有限公司); Nicolet iS5 傅里叶红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技公司); MCR301 Rheoplus 流变仪(奥地利安东帕有限公司); SDT Q600 同步热分析仪(美国 TA 公司); AXS D8 X 射线衍射仪(德国布鲁克公司); WDW-5 微机控制电子万能拉伸试验机(长春新特试验机有限公司); Kjeltec 凯氏定氮仪(丹麦 FOSS 公司); GIPP-09 拍打式无菌均质机(上海继谱电子科技有限公司); PHS-3C 便携式 pH 酸度计(美国赛默飞世尔科技公司); UV-2600 紫外分光光度计(日本津岛公司); MC-4L92 冷藏冰箱(美的集团股份有限公司); LS-100HJ 立式高压灭菌锅(济南博鑫生物技术有限公司); T 10 basic ULTRA-TURRAX 均质机(德国 IKA 公司); WSC-3B 便携式精密色差仪(上海仪电物理光学仪器有限公司); DH360AS 恒温培养箱(上海笃特科学仪器有限公司)。

1.3 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜的制备

KGM/CNC 制备: 将 0.03、0.06、0.09、0.12、0.15 g 的 CNC 分别溶入 100 mL 超纯水中, 分别标记为 KC-3、KC-6、KC-9、KC-12、KC-15, 将 CNC 溶液进行 60 W 超声分散 10 min, 10000 r/min 均质 3 min。加入 1 g KGM 粉末, 60°C 水浴条件下, 400 r/min 搅拌 2 h, 搅拌 1.5 h 时加入 100 mg 丙三醇。将 30 mL 膜溶液流延在直径为 9 cm 的培养皿上, 45°C 干燥 12 h, 25°C, 相对湿度 50% 条件下平衡 3 d, 通过物理特性筛选最佳 KGM/CNC 配比进行后续实验。

KGM/CNC/PS 制备: KC-9 混合液水浴结束后降温至大于室温(26°C)且小于 45°C。将 0 g (0%)、5.45 g (5%)、9.81 g (9%)、14.17 g (13%) 和 18.53 g (17%) 的 PS 溶于 5 mL 去离子水中, 分别标记为 KCP-0、KCP-5、KCP-9、KCP-13 和 KCP-17。随后将 PS 溶液加入到 KC-9 溶液中 400 r/min 搅拌 1 h。0.5 h 时加入 100 mg 丙三醇, 最后, 将 30 mL 膜溶液流延在直径为 9 cm 的培养皿上, 45°C 干燥 12 h, 25°C, 相对湿度 50% 条件下平衡 3 d。

1.4 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜性能测定

1.4.1 流变测定

流变性能采用 MCR301 Rheoplus 流变仪, PP50 探头进行测试, 测试时探头与平板间隙为 1 mm, 剪切速率为 0.1~100 s⁻¹, 温度为 25°C。

1.4.2 傅里叶红外光谱测定

傅里叶红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 测定光谱范围为 4000~400 cm⁻¹, 衰减全反射(attenuated total reflection, ATR) 检测, CNC 冻干粉与 KBr 混合, 检测分辨率为 4 cm⁻¹, 32 次/样。

1.4.3 冷场发射扫描电子显微镜测定

采用扫描电子显微镜(scanning electron microscopy, SEM) 拍摄薄膜截面形貌。前处理: 将薄膜用液氮脆断获取断裂面, 随后将断裂面进行喷金处理。

1.4.4 热稳定性测定

利用 SDT Q600 同步热分析仪在氮气环境中分析薄膜的热性能。样品的热重分析(thermogravimetric analysis, TGA) 温度范围在 30~600°C, 加热速率为 10°C/min, 样品 3 mg。

1.4.5 机械性能测定

采用微机控制电子万能拉伸试验机对样品的断裂伸长率(percentage of breaking elongation, EB, %) 和拉伸强度(tensile strength, TS, MPa) 进行测试。薄膜样品大小为 50 mm × 10 mm, 受测面积 10 mm × 30 mm, 取 5 个点测量厚度, 拉伸速度参数为 2 mm/min。分别按照公式(1) 和(2) 计算样品的 TS 和 EB:

$$TS = F / (W \times T) \quad (1)$$

$$EB = (L - L_0) / L_0 \times 100 \quad (2)$$

式中: F 为最大拉伸应力(N); W 为样品初始界面宽度(mm); T 为样品初始界面厚度(mm); L 为样品被拉伸断裂时的长度(mm); L_0 为样品初始长度(mm)。

1.4.6 水蒸气透过率测定

用重力法测定薄膜的透气性。取 3 g, 105°C 下干燥 12 h 的无水氯化钙放入 40 mm × 25 mm 称量杯, 用样品封住杯口, 受试面仅杯口位置。测定于相对湿度 75% 的室温下进行, 测试面积为 12.56 cm²。每隔 1 h 称量一次, 直至样品的重量差趋于相等。水蒸气透过率 [water vapor permeability, WVP, g · mm/(m² · d · kPa)] 按照公式(3) 计算:

$$WVP = \frac{\Delta W / (A \times \Delta t)}{\Delta P} \times Q \quad (3)$$

式中: ΔW 为称量杯的增重量(g); A 为受测膜面积(m²); Δt 为时间间隔(d); ΔP 为膜两侧的水蒸气气压差(kPa); Q 为膜厚(mm)。

1.4.7 DPPH 自由基清除率测定

参考 SIRIPATRAWAN 等^[18] 的方法做一些修改。将 20 mg 样品和 5 mL 蒸馏水混合, 浸泡 3 h, 将膜浸泡溶液 5000 r/min 离心 10 min。取 1 mL 上清液与 4 mL DPPH (0.12 mmol/L 酒精溶解) 溶液混合, 黑暗条件下静置 1 h, 517 nm 处测试吸光度。样品 DPPH 自由基清除率(%) 按照公式(4) 计算:

$$DPPH \text{ 自由基清除率} = (1 - A_1 / A_0) \times 100 \quad (4)$$

式中: A_1 为样品的吸光度; A_0 为对照组的吸光度。

1.4.8 抗菌性能测定

采用圆盘扩散法^[19] 测定薄膜的抗菌能力。将样品制成直径 10 mm 圆片, 置含有 100 μL 大肠杆菌或金黄色葡萄球菌培养皿上, 37°C 恒温培养箱中培养 20 h。

1.5 KGM/CNC/PS 纳米复合薄膜在鲜猪肉保鲜上的应用

将新鲜精瘦猪肉剔除筋膜, 切成 20 g 左右长方体小块。随机分成 3 组进行保鲜处理。(1) 对照组, 不使用任何保鲜剂; (2) 用 KCP-0 膜包裹不留缝隙; (3) 用 KCP-17 膜包裹

不留缝隙。以上 3 组处理后均采用自封袋封装, 4°C 贮藏, 每隔 2 d 取一次样测定各项指标。

1.6 猪肉指标测定

1.6.1 菌落总数的测定

按照 GB 4789. 2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》进行肉样菌落总数测定。

1.6.2 TVB-N 含量测定

按照 GB 5009.228—2016《食品国家安全标准 食品中挥发性盐基氮的测定》中自动凯氏定氮仪法测定 TVB-N。

1.6.3 TBARS 含量测定

参考谢菁^[20]的方法稍作修改。取 5 g 肉样捣碎, 加入 25 mL 7.5% 的三氯乙酸溶液, 均质, 静置 1 h, 随后 5000 r/min 离心 10 min。取 5 mL 上清液与等量 0.02 mol/L 硫代巴比妥酸加入具塞玻璃管中, 沸水加热 30 min。室温冷却后加入 5 mL 三氯甲烷摇匀, 静置分层, 取上层液体在波长 532 和 600 nm 处测试吸光度。TBARS (mg/kg) 按照公式(5)计算。

$$\text{TBARS} = \frac{A_{532} - A_{600}}{155} \times \frac{1}{10} \times 72.6 \times 100 \quad (5)$$

1.6.4 pH 测定

取 5 g 肉样捣碎, 加 100 mL 蒸馏水均质, 静置 30 min 后取上清液进行 pH 测定。

1.6.5 汁液流失率测定

肉样包裹前称量并记录初始重量; 取样时擦拭肉样表面流失液后再次称量, 并按照公式(6)计算肉样的汁液流失率(%):

$$\text{汁液流失率} = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100 \quad (6)$$

式中: W_1 为样品初始质量(g); W_2 为样品进行贮藏后的质量(g)。

1.6.6 色度测定

使用便携式精密色差仪进行色度测定, 取肉样固定位置测定, 每个样品随机取 5 个点。

1.7 数据处理

以上数据的获取均不低于 3 次重复实验, 采用完全随机设计的方差分析方法, 使用 SPSS 25.0 及 Origin 9.1 分析数据及制图。所有样本均值之间的差值采用邓肯多范围检验, 当 $P < 0.05$ 为具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 KGM/CNC/PS 纳米复合薄膜性能结果

2.1.1 流变特性

KGM/CNC/PS 膜溶液的黏度和剪切速率关系如图 1 所示, 黏度趋势变化随剪切速率呈先升后降, 最后趋于平缓的变化趋势, 具备典型的假塑性流体特征^[21], 可能是剪切速率增加会对分子链结构造成破坏, 从而降低了膜的黏度^[22]。PS 浓度小于 13% 时, KGM/CNC/PS 膜溶液黏度随 PS 浓度的增加而上升; PS 浓度达到 17% 时, 膜溶液黏度下降。因为低浓度 PS 会与 KGM 和 CNC 分子间产生相互作用, 产生稳定氢键, 形成复杂空间结构, 使膜溶液的黏度上升^[23]。但 PS 浓度过高时阻碍了分子间氢键形成, 使膜溶液黏度下降。

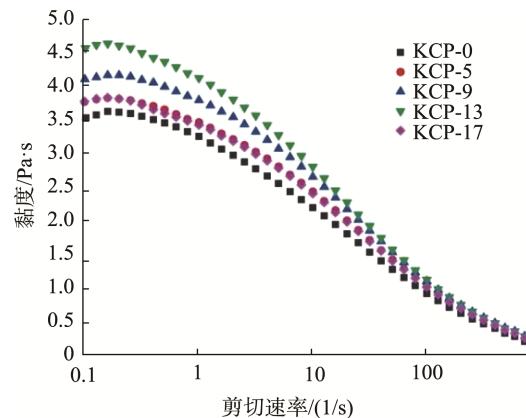


图 1 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜溶液的流变特性

Fig.1 Rheological properties of KGM/CNC/PSactive nanocomposite film-forming solution

2.1.2 红外光谱

样品的 FT-IR 显示(图 2), 3332 cm⁻¹ 处出现 O-H 伸缩振动特征峰; 2884 cm⁻¹ 处出现 C-H 伸缩振动特征峰; 1641 cm⁻¹ 处出现分子内氢键特征峰; 1373 和 1019 cm⁻¹ 表示 C-O 伸缩振动; 873 cm⁻¹ 对应于甘露糖单位伸展振动^[24-25]。添加 PS 的 FT-IR 中, 3384、2919 和 1694 cm⁻¹ 处的峰值分别是 O-H、C-H 及 C=O 的伸缩振动; 1627 和 1519 cm⁻¹ 为苯骨架 C=C 振动^[26]。1627、1367 和 1239 cm⁻¹ 处特征峰是由 PS 芳香醚伸缩振动产生^[9]。PS 在 1080 cm⁻¹ 处特征峰没有出现, 表明 PS 与 KGM/CNC 间存在分子间相互作用^[27]。未添加 PS 与添加 PS 的 KGM/CNC 膜的 FT-IR 趋势变化相似; 这些结果表明 PS 与 KGM/CNC 膜之间无共价键形成, 仅存在氢键, 随着 PS 含量的增加, 游离 O-H 数量增加, 3500 到 3000 cm⁻¹ 范围内的特征峰振幅会逐渐变宽。当 PS 含量达到 17% 时, 游离 O-H 过多, 峰值变高。说明 KGM/CNC 膜对 PS 具有较高的相容性。

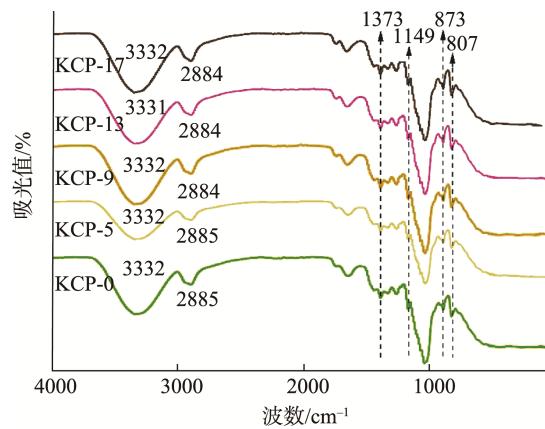


图 2 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜 FT-IR

Fig.2 FT-IR spectra of KGM/CNC/PS active nanocomposite films

2.1.3 冷场发射扫描电子显微镜

如图 3 所示, KGM/CNC 膜断口形貌均匀, 有细小裂纹。KCP-5 和 KCP-9 截面较 KCP-0 膜更致密、平滑, 说明 PS 在

KGM/CNC 膜中分散均匀且分子间相互作用较强^[27], 表明 PS 与 KGM 和 CNC 具有较高的相容性^[28], 但 KCP-13 和 KCP-17 膜粗糙, 出现不规则突起。可能是过量的 PS 在 KGM/CNC 薄膜中分布不均, 出现团聚现象^[29], LIANG 等^[23]进行茶多酚对 KGM/果胶薄膜性能影响的研究也有类似的现象。

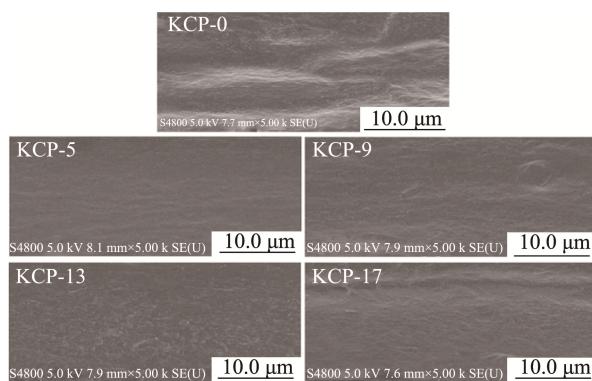


图 3 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜的横截面扫描电镜
Fig.3 SEM images of cross-sections and photograph of KGM/CNC/PS active nanocomposite films

2.1.4 热稳定性

如图 4 所示, 30~600°C 范围内, 样品经历两个分解阶段。第一阶段(100°C 以下)是与膜亲水性基团连接的水分子蒸发。此时 KCP-0 膜的失重率为 10.3%, 高于 KCP-5 (9.15%)和其他含 PS 组, 是因为 PS 降低了 KGM/CNC 聚合物自由亲水基团数量, 提高了膜的持水性^[30]。第二阶段, 所有的薄膜在 175~353°C 之间出现了明显的质量损失。KCP-0 薄膜的失重率为 55.94%; 然而 KCP-13 薄膜失重率为 54.93%, 主要是 PS 和 KGM/CNC 膜基质间出现分子相互作用有关, 此时分子链断裂、薄膜热分解, 但 PS 带有的酚羟基使 KGM 和 CNC 间产生了强烈的氢键相互作用, 提高了薄膜结构的稳定性^[31~32]。KCP-17 组由于 PS 浓度过高时, “团聚”现象出现, 分子间缠结降低, 热稳定性降低^[33]。

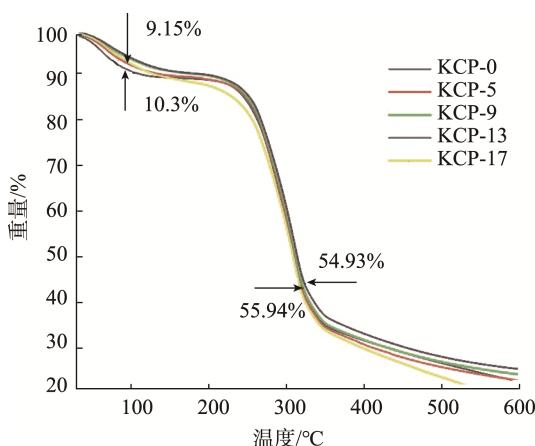
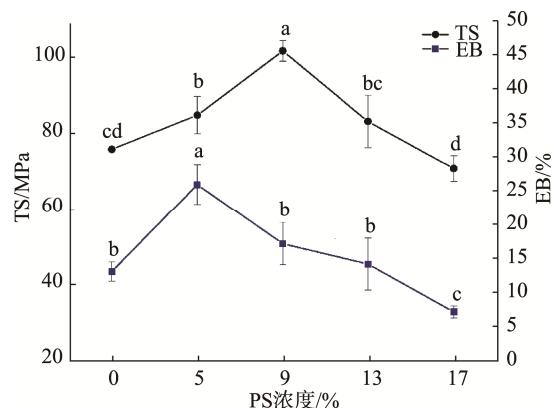


图 4 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜的 TGA 曲线
Fig.4 TGA curves for KGM/CNC/PS active nanocomposite films

2.1.5 机械性能

机械性能是评价食品包装材料的重要指标。如图 5 所示, 从 TS 和 EB 两个方面评估薄膜的抗断裂和柔韧性。PS 浓度对 KGM/CNC/PS 膜 TS 和 EB 存在显著影响($P<0.05$)。随 PS 浓度增加, KGM/CNC 膜的 TS 值由(76.09±0.046) MPa 增加到(101.90±2.68) MPa, 与 KCP-0 相比, KCP-9 膜的 TS 增加了 33.9%, 可能是 PS 在薄膜基质中均匀分布, 形成了更紧密的网络结构^[34]。PS 浓度大于 9% 时, TS 显著下降($P<0.05$), 可能是过多 PS 发生“团聚”阻碍了分子间稳定连接^[35]。另外, KCP-5 提高了膜的 EB, 可能是 PS 用量过少, 导致薄膜内分子特异性相互作用不足, 增强了薄膜网络结构的柔韧性。PS 浓度大于 5% 时对 KGM/CNC 膜的 EB 无明显改善; KCP-17 膜的 EB 值低于 KCP-0 膜, 可能是分子链的抗塑化和共价键作用降低了分子链的迁移率, 这些结果在其他酚类化合物对多糖基复合薄膜的机械性能影响的研究上也有发现^[36]。



注: 不同小写字母表示不同 PS 浓度之间具有显著性差异,
 $P<0.05$, 下同。

图 5 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜的机械性能
Fig.5 Mechanical properties of KGM/CNC/PS active nanocomposite films

2.1.6 WVP

PS 的添加浓度对 KGM/CNC/PS 膜阻水性能的影响如图 6 所示。当 PS 浓度不高于 9% 时, KGM/CNC/PS 膜 WVP 值从 3.96 下降到 2.30 g·mm/(m²·d·kPa), 可能是 PS 与 KGM 和 CNC 的分子间相互作用有关^[31]。PS 通过氢键与 KGM/CNC 膜相互作用, 形成更加致密的膜结构, 减少了 KGM/CNC 膜亲水键^[32]。PS 浓度大于 9% 时, 膜的亲水性变强。PS 浓度达到 13% 或 17% 时, PS 分布不均, 降低了薄膜结构的紧密性, 导致 WVP 上升; 此外, PS 是亲水化合物, 具有更多的自由氧氢键, 会增加水分子的亲和力^[37]。因此 PS 含量过高时, 阻水性能降低。

2.1.7 抗氧化活性

自由基产生是食品氧化变质的主要原因, 具有抗氧化功能的食品包装膜在食品保鲜领域发挥着重要作用。KGM/CNC/PS 膜的 DPPH 自由基清除率如图 7 所示。DPPH 自由基清除率与 PS 含量呈正相关。KCP-0 膜自由基清除率较低为 3.18%, KCP-17 膜对 DPPH 自由基的清除能力为 82.1%,

约为 KCP-0 的 25.8 倍。结果显示, 添加 PS 后, 膜抗氧化能力显著增强($P<0.05$), 因为 PS 中存在的间苯三酚具有很强的抗氧化活性^[38], 加入到 KGM/CNC 中会增加膜抗氧化能力。

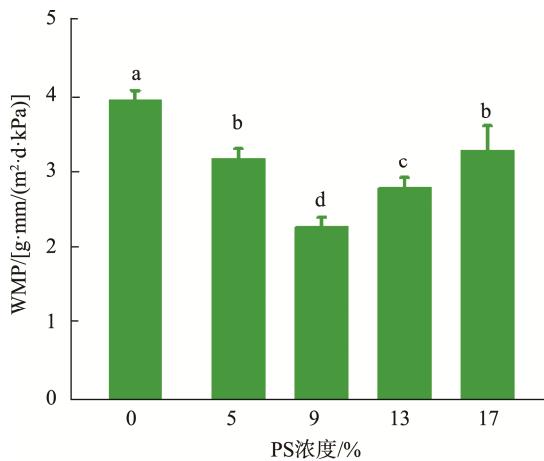


图 6 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜的 WVP

Fig.6 WVP of KGM/CNC/PS active nanocomposite films

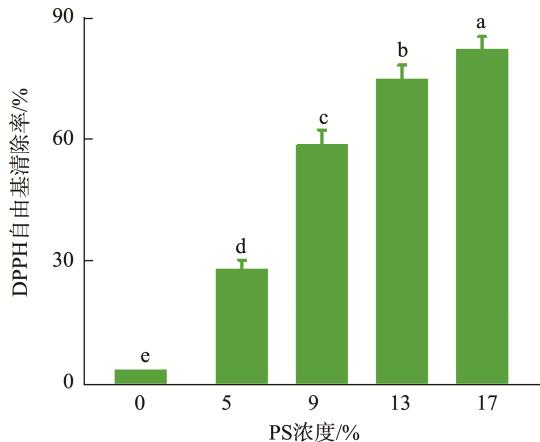
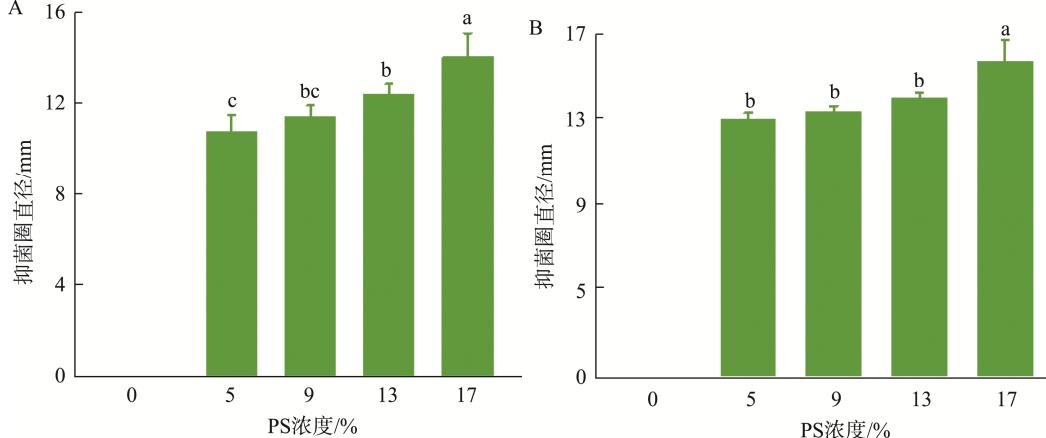


图 7 KGM/CNC/PS 生物活性纳米复合膜的抗氧化活性

Fig.7 Antioxidant properties of KGM/CNC/PS bioactive nanocomposite films



注: A 为复合膜对大肠杆菌的抑菌圈直径; B 为复合膜对金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径。

图 8 KGM/CNC/PS 生物活性纳米复合膜的抗菌性能

Fig.8 Antimicrobial properties of KGM/CNC/PS bioactive nanocomposite films

2.1.8 抗菌性能

研究发现, 藻类中的酚类化合物通过影响微生物代谢, 可扰乱微生物细胞形态, 达到抗菌作用^[39]。有研究通过添加褐藻多酚提高了苦瓜多糖纳米纤维、海藻酸钠和聚(环氧乙烷)共混纳米纤维的抗菌性能^[9,35]。本研究对含有不同浓度 PS 的 KGM/CNC/PS 膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌能力进行测定(图 8)。结果发现, KCP-0 膜对两种菌株均无抑制作用, 随 PS 浓度增加, KGM/CNC/PS 膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果增强, 可知, PS 浓度为 17% 时, 抑菌效果最好。

2.2 KGM/CNC/PS 纳米复合薄膜对鲜猪肉的保鲜效果

2.2.1 TBC

微生物是引起猪肉腐败的重要原因, 国家安全鲜肉标准规定 TBC 超过 $6 \lg \text{CFU/g}$ 时猪肉即可判定为腐败。如图 9 所示, 初始 TBC 为 $(3.88 \pm 0.22) \lg \text{CFU/g}$, 与对照组相比, KCP-17 处理组 TBC 增幅较小。对照组在第 6 d 达到 $(6.28 \pm 0.30) \lg \text{CFU/g}$, 鲜猪肉开始腐败; 而 KCP-17 处理组第 6 d 仅为 $(4.67 \pm 0.21) \lg \text{CFU/g}$, 第 12 d 达到 $(6.33 \pm 0.14) \lg \text{CFU/g}$ 开始腐败变质。这说明 KCP-17 能有效延缓鲜猪肉的腐败变质速度, 起到保鲜作用。

2.2.2 TVB-N

贮藏过程中内源酶及微生物的作用会导致猪肉蛋白质降解, 产生挥发性氨和胺(二甲胺、三甲胺等)等含 N 碱性化合物^[40]。通过 TVB-N 可判定蛋白质分解程度^[41]。GB 5009.228—2016 规定, TVB-N 值达到 $15 \text{ mg}/100 \text{ g}$ 为判断猪肉变质的划分点。如图 10 所示, 随贮藏时间延长, TVB-N 值呈上升趋势, 整个贮藏过程中对照组 TVB-N 值均显著高于 KCP-17 组($P<0.05$)。新鲜猪肉 TVB-N 初始值为 $(6.14 \pm 0.55) \text{ mg}/100 \text{ g}$, 贮藏前 3 d 内 TVB-N 值增长缓慢, 第 6 d 腐败速度明显加快。对照组 TVB-N 值第 6 d 已达到 $(18.11 \pm 0.80) \text{ mg}/100 \text{ g}$, 开始腐败变质; KCP-17 组 12 d 达到 $(15.43 \pm 0.16) \text{ mg}/100 \text{ g}$, 开始变质。这得益于 PS 对微生物的抑制作用, 减缓了其对蛋白质的分解。

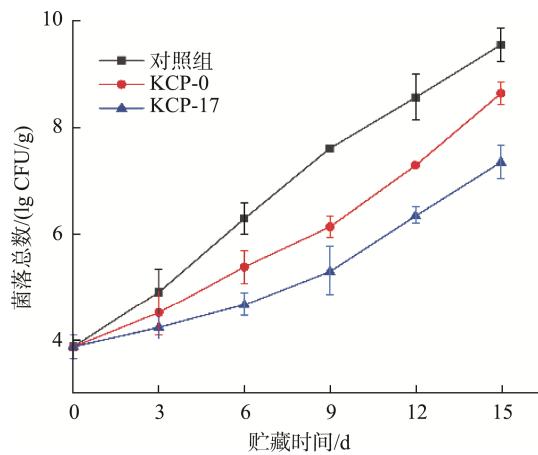


图 9 贮藏期间猪肉菌落总数的变化

Fig.9 Changes of total number of bacteria in pork during storage

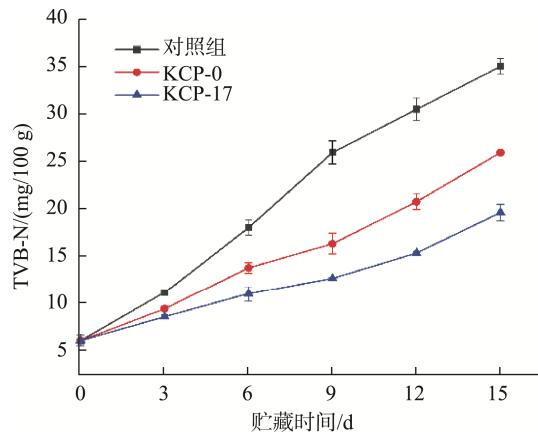


图 10 贮藏期间猪肉 TVB-N 值的变化

Fig.10 Changes of TVB-N value of pork during storage

2.2.3 TBARS

鲜猪肉含丰富的不饱和脂肪酸, 易发生氧化反应产生有毒物质及异味^[42]。TBARS 是评价脂质氧化的重要指标。如图 11 所示, 各组鲜猪肉的 TBARS 均随贮藏时间延长而升高, 与 TBC 和 TVB-N 值变化趋势相似。对照组在贮藏期间内的 TBARS 值明显高于其他组($P<0.05$), 猪肉的初始 TBARS 值为(0.17±0.01) mg/kg。第 9 d 时对照组 TBARS 值达到(0.51±0.02) mg/kg, 超过判定脂肪变质的阈值(0.5 mg/kg)^[43], 而 KCP-17 处理组 TBARS 值 15 d 时达到(0.50±0.02) mg/kg。说明薄膜中负载 PS 可降低鲜猪肉脂肪氧化速度, 提高贮藏期间猪肉的品质。

2.2.4 pH

蛋白质分解过程中碱性增强, pH 升高。研究发现, 鲜猪肉初始 pH 为 5.58, 贮藏过程中, 猪肉 pH 总体呈上升趋势, 这与谢菁^[20]的研究结果一致。在贮藏的整个周期, pH 呈现总体上升的趋势。但在贮藏第 6 d 时猪肉进入僵直阶段, 糖原无氧糖酵解产生乳酸, pH 下降, 后期 pH 升高, 则是腐败引起。图 12 显示, KCP-17 处理组 pH 变化范围在 5.58 至 5.87±0.02, 对照组 pH 变化范围在 5.58 至 6.25±0.06, 且

同一贮藏期间 KCP-17 处理组 pH 一直低于对照组, 也验证了上述 TVB-N 值的结果, 表明 KGM/CNC/PS 膜对猪肉蛋白质分解的抑制作用。

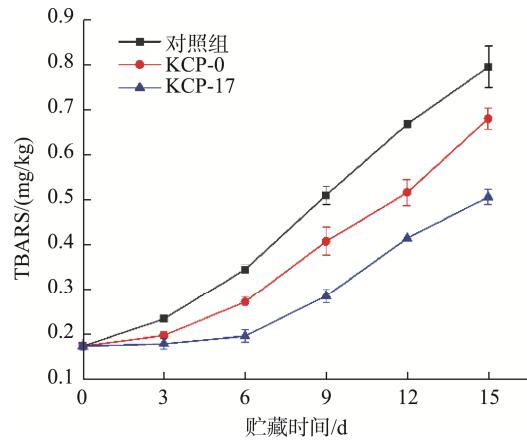


图 11 贮藏期间猪肉 TBARS 值的变化

Fig.11 Changes of TBARS value of pork during storage

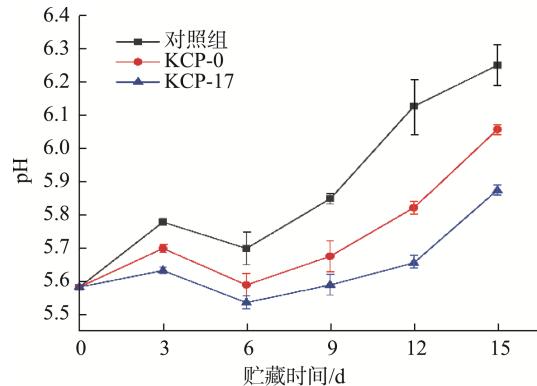


图 12 贮藏期间猪肉 pH 的变化

Fig.12 Changes of pH of pork during storage

2.2.5 汁液流失率

蛋白质降解会导致肉组织持水能力下降, 降低猪肉的食用价值。由图 13 可知, 猪肉汁液流失率与贮藏时间呈正相关。贮藏期间, KCP-17 组汁液流失率显著低于对照组($P<0.05$), 15 d 时, 对照组汁液流失率为(10.36±0.3)%, KCP-17 组汁液流失率为(7.66±0.31)%。归因于负载 PS 的薄膜可抑制微生物腐败及脂质氧化, 减少蛋白质降解, 降低细胞膜透性, 进而降低汁液流失率^[44]。表明, KGM/CNC/PS 膜的应用在一定程度上降低了猪肉细胞膜的损伤。

2.2.6 a^*

研究表明, 贮藏过程中, 氧化和微生物侵染会使猪肉红度值下降^[45]。如图 14 所示, 贮藏期间, a^* 整体呈下降趋势。6 d 时, a^* 回升, 此时主要是肌红蛋白与包装环境中残留的氧气反应产生氧合肌红蛋白^[46]。15 d 时, 对照组、KCP-0 组、KCP-17 组 a^* 较初始值分别下降了 1.55、1.10 和 0.99。对照组 a^* 变化范围较 KCP-17 组大, 说明经 KGM/

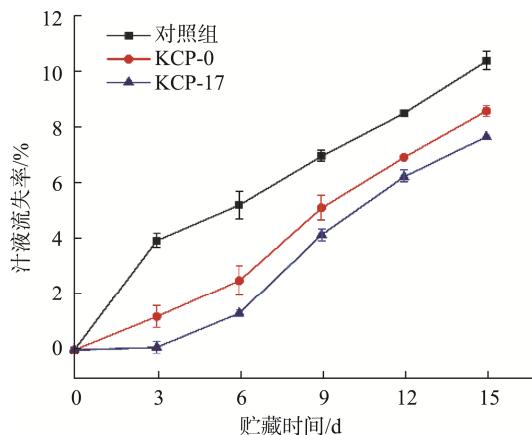


图 13 贮藏期间猪肉汁液流失率的变化
Fig.13 Changes in juice loss rate of pork during storage

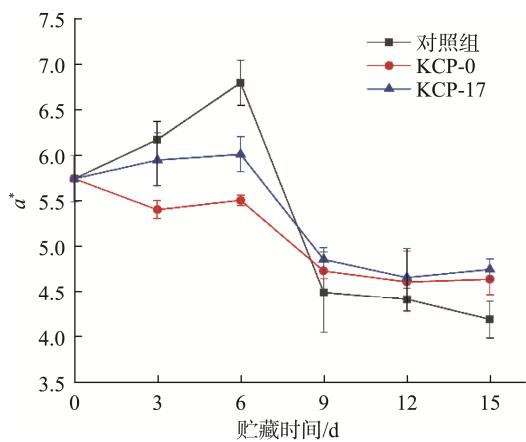


图 14 贮藏期间猪肉 a^* 的变化
Fig.14 Changes of a^* of pork during storage

CNC/PS 膜处理后可维持鲜猪肉的红度值，延缓肌红蛋白氧化，维持鲜猪肉的品质。其中，PS 作为酚类物质，不仅能抑制微生物繁殖，还是氢供体，能减少自由基链式反应，降低肌红蛋白氧化^[47]。

3 结 论

本研究以 KGM 为基质，CNC 作为增强剂，PS 作为抗菌抗氧化剂，构建 KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜，通过热稳定性、力学性能、水蒸气阻隔性能、抗氧化和抗菌性能作为筛选指标筛选出最佳组，发现当质量比 KGM:CNC:PS=100:9:9.81 (KCP-9) 时，KGM/CNC/PS 活性纳米复合膜的热稳定性、力学性能、水蒸气阻隔性能显著提高，而质量比 KGM:CNC:PS=100:9:18.53 (KCP-17) 时，抗氧化和抗菌性能更强，鲜猪肉 TBC、TVB-N、TBARS、pH、汁液流失率及 a^* 指标结果明显优于 KCP-0，这说明 KCP-17 对延缓鲜猪肉腐败效果更好。为该膜应用在其他农产品提供了新思路。

参考文献

- [1] LI JW, MA JW, CHEN SJ, et al. Characterization of calcium alginate/deacetylated konjac glucomannan blend films prepared by Ca^{2+}

- crosslinking and deacetylation [J]. Food Hydrocolloid, 2018, 82: 363–369.
- [2] WU CH, PENG SH, WEN CR, et al. Structural characterization and properties of konjac glucomannan/curdlan blend films [J]. Carbohydr Polym, 2012, 89(2): 497–503.
- [3] GOMEZ B, MIGUEZ B, YANEZ R, et al. Manufacture and properties of glucomannans and glucomanno-oligosaccharides derived from konjac and other sources [J]. J Agric Food Chem, 2017, 65(10): 2019–2031.
- [4] LEUANGSUKRERK M, PHUOKSAKUL T, TANANUWONG K, et al. Properties of konjac glucomannan-whey protein isolate blend films [J]. LWT-Food Sci Technol, 2014, 59(1): 94–100.
- [5] SUN JS, JIANG HX, WU HB, et al. Multifunctional bionanocomposite films based on konjac glucomannan/chitosan with nano-ZnO and mulberry anthocyanin extract for active food packaging [J]. Food Hydrocolloid, 2020, 107: 105942.
- [6] MIR SA, DAR BN, WANIAA AA, et al. Effect of plant extracts on the techno-functional properties of biodegradable packaging films [J]. Trends Food Sci Technol, 2018, 80: 141–154.
- [7] PANDI N, SONAWANE SH, KISHORE KA. Synthesis of cellulose nanocrystals (CNCs) from cotton using ultrasound-assisted acid hydrolysis [J]. Ultrasonics Sonochem, 2021, 70: 105353.
- [8] 宁芊, 郭永辉, 吴春华, 等. 羧基化纤维素纳米晶须对魔芋葡甘聚糖复合凝胶性能的影响[J]. 食品科学技术学报, 2020, 38(4): 87–93.
- NING Q, GUO YH, WU CH, et al. Effect of carboxyl cellulose nanocrystalline on properties of konjac glucomannan composite hydrogel [J]. J Food Sci Technol, 2020, 38(4): 87–93.
- [9] SURENDHIRAN D, CUI HY, LIN L. Encapsulation of phlorotannin in alginate/PEO blended nanofibers to preserve chicken meat from *Salmonella* contaminations [J]. Food Packag Shelf Life, 2019, 21: 100346.
- [10] NEGARA BFSP, SOHN JH, KIM JS, et al. Effects of phlorotannins on organisms: Focus on the safety, toxicity, and availability of phlorotannins [J]. Foods, 2021, 10(2): 452.
- [11] 戴卿印, 周鑫, 黄茜, 等. 大豆分离蛋白-壳聚糖可食用性抗菌膜的制备与性能评价[J]. 粮食与油脂, 2022, (6): 35.
- DAI QY, ZHOU X, HUANG X, et al. Preparation and performance evaluation of soybean protein-isolate-chitosan edible antibacterial film [J]. Cere Oils, 2022, (6): 35.
- [12] DUAN J, CHERIAN G, ZHAO Y. Quality enhancement in fresh and frozen lingcod (*Ophiodon elongatus*) fillets by employment of fish oil incorporated chitosan coatings [J]. Food Chem, 2010, 119(2): 524–532.
- [13] JEYASEKARAN G, GANESAN P, ANANDARAJ R, et al. Quantitative and qualitative studies on the bacteriological quality of Indian white shrimp (*Penaeus indicus*) stored in dry ice [J]. Food Microbiol, 2006, 23(6): 526–533.
- [14] 付云云, 崔钊伟, 杨玉峰. 冷鲜肉保鲜技术研究进展[J]. 肉类工业, 2021, (8): 36–41.
- FU YY, CUI ZW, YANG YF. Research progress on preservation technology of chilled meat [J]. Meat Ind, 2021, (8): 36–41.
- [15] 赵娅英, 史巧, 王馨蕊, 等. 可食用膜在肉及肉制品保质中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(19): 411–417.
- ZHAO YY, SHI Q, WANG XR, et al. Research progress of edible film in meat and meat products [J]. Sci Technol Food Ind, 2021, 42(19): 411–417.
- [16] FAN WJ, SUN JX, CHEN YC, et al. Effects of chitosan coating on quality and shelf life of silver carp during frozen storage [J]. Food Chem, 2009, 115(1): 66–70.
- [17] RODRIGUEZ-CARPENA JG, MORCUENDE D, ESTEVEZ M. Avocado by-products as inhibitors of color deterioration and lipid and protein oxidation in raw porcine patties subjected to chilled storage [J]. Meat Sci, 2011, 89(2): 166–173.
- [18] SIRIPATRAWAN U, HARTE BR. Physical properties and antioxidant

- activity of an active film from chitosan incorporated with green tea extract [J]. *Food Hydrocolloid*, 2010, 24(8): 770–775.
- [19] EVANGELHO JA, DANNENBERG GDS, BIDUSKI B, et al. Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil [J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 222: 114981.
- [20] 谢菁. 冷鲜猪肉复合保鲜包装技术的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- XIE J. Research on composite packaging technology of chilled pork [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [21] MIRI NE, ABDELOUANDI K, BARAKAT A, et al. Bio-nanocomposite films reinforced with cellulose nanocrystals: Rheology of film-forming solutions, transparency, water vapor barrier and tensile properties of films [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 129: 156–167.
- [22] LIU Z, LIN DH, LOPEZ-SANCHEZ P, et al. Characterizations of bacterial cellulose nanofibers reinforced edible films based on konjac glucomannan [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 145: 634–645.
- [23] LIANG TQ, SUN GH, CAO LL, et al. A pH and NH₃ sensing intelligent film based on *Artemisia sphaerocephala* Krasch gum and red cabbage anthocyanins anchored by carboxymethyl cellulose sodium added as a host complex [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 87: 858–868.
- [24] ZHANG H, ZHAO Y. Preparation, characterization and evaluation of tea polyphenol-Zn complex loaded β -chitosan nanoparticles [J]. *Food Hydrocolloid*, 2015, 48: 260–273.
- [25] FENG MY, YU L, ZHU PT, et al. Development and preparation of active starch films carrying tea polyphenol [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 196: 162–167.
- [26] YAN YS, DUAN SQ, ZHANG HL, et al. Preparation and characterization of Konjac glucomannan and pullulan composite films for strawberry preservation [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 243: 116446.
- [27] ANTONIOU J, LIU F, MAJEED H, et al. Characterization of tara gum edible films incorporated with bulk chitosan and chitosan nanoparticles: A comparative study [J]. *Food Hydrocolloid*, 2015, 44: 309–319.
- [28] FABRA MJ, FALCO I, RANDAZZO W, et al. Antiviral and antioxidant properties of active alginate edible films containing phenolic extracts [J]. *Food Hydrocolloid*, 2018, 81: 96–103.
- [29] LEI YL, WU HJ, JIAO C, et al. Investigation of the structural and physical properties, antioxidant and antimicrobial activity of pectin-konjac glucomannan composite edible films incorporated with tea polyphenol [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 94: 128–35.
- [30] LEI J, ZHOU L, TANG YJ, et al. High-strength konjac glucomannan/silver nanowires composite films with antibacterial properties [J]. *Materials*, 2017, 10(5): 524.
- [31] REN LL, YAN XX, ZHOU J, et al. Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 105: 1636–1643.
- [32] ZHENG KW, XIAO S, LI W, et al. Chitosan-acorn starch-eugenol edible film: Physico-chemical, barrier, antimicrobial, antioxidant and structural properties [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 135: 344–352.
- [33] HAJJI S, KCHAOU H, BKHAIRIA I, et al. Conception of active food packaging films based on crab chitosan and gelatin enriched with crustacean protein hydrolysates with improved functional and biological properties [J]. *Food Hydrocolloid*, 2021, 116: 106639.
- [34] HOSSEINI SF, REZAEI M, ZANDI M, et al. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles [J]. *Food Hydrocolloid*, 2015, 44: 172–182.
- [35] CUI HY, YANG XJ, ABDEL-SAMIE MA, et al. Cold plasma treated phlorotannin/*Momordica charantia* polysaccharide nanofiber for active food packaging [J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 239: 116214.
- [36] TALON E, TRIFKOVIC KT, NEDOVIC VA, et al. Antioxidant edible films based on chitosan and starch containing polyphenols from thyme extracts [J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 157: 1153–1161.
- [37] AHMED AO, JONG-WHAN R. Effect of post-treatments and concentration of cotton linter cellulose nanocrystals on the properties of agar-based nanocomposite films [J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 134: 20–29.
- [38] 许亚如. 褐藻多酚的抗氧化活性研究[D]. 宁波: 宁波大学, 2015.
- XU YR. Studies on antioxidant activities of phlorotannins [D]. Ningbo: Ningbo University, 2015.
- [39] JIMENEZ-LOPEZ C, PEREIRA AG, LOURENCO-LOPES C, et al. Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits [J]. *Food Chem*, 2021, 341(Pt 2): 128262.
- [40] WU YH, LI Q, ZHANG XZ, et al. Cellulose-based peptido polysaccharides as cationic antimicrobial package films [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 128: 673–680.
- [41] ABDELHEDI O, JRIDI M, NASRI R, et al. Rheological and structural properties of *Hemiramphus* far skin gelatin: Potential use as an active fish coating agent [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 87: 331–341.
- [42] HANSEN E, JUNCHER D, HENCKEL P, et al. Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage [J]. *Meat Sci*, 2004, 68(3): 479–484.
- [43] 周慧敏, 张顺亮, 赵冰, 等. 木糖葡萄球菌和肉葡萄球菌混合发酵剂对腊肉品质的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(22): 7.
- ZHOU HM, ZHANG SL, ZHAO B, et al. Effect of starter culture mixture of *Staphylococcus xylosus* and *S. carnosus* on the quality of dry-cured meat [J]. *Food Sci*, 2018, 39(22): 7.
- [44] GEORGANTELIS D, AMBROSIADES I, KATIKOU P, et al. Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4°C [J]. *Meat Sci*, 2007, 76(1): 172–181.
- [45] NAM KC, KO KY, MIN BR, et al. Effects of oleoresin-tocopherol combinations on lipid oxidation, off-odor, and color of irradiated raw and cooked pork patties [J]. *Meat Sci*, 2007, 75(1): 61–70.
- [46] 王永辉, 马丽珍. 肌肉颜色变化的机理及其控制方法初探[J]. 肉类工业, 2006, (4): 18–21.
- WAN YH, MA LZ. Study on mechanism of color changes of muscle and possible control method [J]. *Meat Ind*, 2006, (4): 18–21.
- [47] 路宏朝, 张涛. 茶多酚对冷却肉抗氧化保鲜作用的研究[J]. 中国食物与营养, 2010, (11): 40–42.
- LUHT, ZHANG T. Research on anti-oxidation preservative effect of TP on chilled pork [J]. *Food Nutr China*, 2010, (11): 40–42.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

作者简介



颜吉强, 博士, 讲师, 主要研究方向为生物信息学与食品科学。

E-mail: 87968123@qq.com