

琼脂/纳他霉素抗菌膜的性能表征及应用评价

宋雪健^{1,2}, 王欣卉¹, 王春圻¹, 王洪江¹, 曹家宝¹, 张东杰^{1,2,3*}, 李志江^{1,2,3*}, 徐玮东⁴, 文昌典¹

(1. 黑龙江八一农垦大学食品学院, 黑龙江大庆 163319) (2. 黑龙江省杂粮加工及质量安全工程技术研究中心, 黑龙江大庆 163319) (3. 国家杂粮工程技术研究中心, 黑龙江大庆 163319)
(4. 黑龙江农业工程职业学院学生工作处, 黑龙江哈尔滨 150025)

摘要: 该研究采用纳他霉素与琼脂进行复配制备抗菌保鲜膜, 探究不同湿度对抗菌膜的力学性能及阻隔性的影响, 并评价了抗菌膜对鲜切哈密瓜的保鲜效果, 得出以下结果, 随着纳他霉素含量的增加, 抗菌膜对黑曲霉和酿酒酵母的抑菌直径从 0 mm 增加到约 28 mm。在 20%、50% 及 90% 的相对湿度条件下, 随着纳他霉素含量的增加, 抗菌膜的透氧系数存在显著差异 ($P < 0.05$)。当纳他霉素含量为 0.66% (m/m), 抗菌膜的抗拉强度分别为 24.20、17.05、5.73 MPa, 将该抗菌膜结合包装设计对鲜切哈密瓜进行保鲜研究, 结果表明, 在 4 °C 和 20 °C 的条件下, 当储藏 14 d 和 72 h 时, 抗菌膜组的菌落数为 9.26 lg CFU/g 和 9.12 lg CFU/g 明显低于其他处理组, 并且能减缓可溶性固形物及硬度的降低速率。因此, 试验制备的包装膜具有一定的抑菌功能并且能延长鲜切哈密瓜的货架期。

关键词: 纳他霉素; 琼脂; 抗菌膜; 鲜切哈密瓜

文章编号: 1673-9078(2023)06-132-141

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.6.0751

Characterization of Agar/Natamycin Antifungal Wraps and Application Evaluation

SONG Xuejian^{1,2}, WANG Xinhui¹, WANG Chunqi¹, WANG Hongjiang¹, CAO Jiabao¹, ZHANG Dongjie^{1,2,3*},
LI Zhijiang^{1,2,3*}, XU Weidong⁴, WEN Changdian¹

(1.College of Food, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China)

(2.Heilongjiang Engineering Research Center for Coarse Cereals Processing and Quality Safety, Daqing 163319, China)

(3.National Coarse Cereals Engineering Research Center, Daqing 163319, China)

(4.Student Affairs Division, Heilongjiang Agricultural Engineering Vocational College, Harbin 150025, China)

Abstract: The use of natamycin and agar in the preparation of antifungal food wraps was investigated by studying the effects of humidity on the mechanical properties, the permeability of the antifungal wraps, and the freshness preservation performance of the wraps for freshly cut Hami melon. Increasing the natamycin content resulted in an increase in the antibacterial diameter against *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae* from 0~28 mm. Under relative humidities of 20%, 50%, and 90% and an increasing natamycin content ($P < 0.05$, the oxygen permeability coefficient of the antifungal wrap varied significantly, and a natamycin content of 0.66 % was associated with tensile strengths of 24.20, 17.05, and 5.73 MPa at different humidities. Freshness preservation was evaluated by packaging freshly cut Hami melon in the prepared antifungal wraps, with results showing colony counts of 9.26 lg CFU/g and 9.12 lg CFU/g for fruit stored over 14 d and 72 h at 4 °C and 20 °C,

引文格式:

宋雪健,王欣卉,王春圻,等.琼脂/纳他霉素抗菌膜的性能表征及应用评价[J].现代食品科技,2023,39(6):132-141.

SONG Xuejian, WANG Xinhui, WANG Chunqi, et al. Characterization of agar/natamycin antifungal wraps and application evaluation [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(6): 132-141.

收稿日期: 2022-06-14

基金项目: 大庆市指导性科技计划项目 (zd-2021-77); 黑龙江八一农垦大学自然科学人才支持计划 (ZRCPY202108); 黑龙江省大学生创新创业训练计划项目 (202110223051); 国家科技部支撑计划项目 (2015BAD16B05)

作者简介: 宋雪健 (1991-), 男, 硕士, 实验师, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程, E-mail: byndsxj@126.com; 共同第一作者: 王欣卉 (1992-), 女, 在读博士, 研究方向: 食品科学, E-mail: w604466213@163.com

通讯作者: 张东杰 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农产品加工及贮藏工程, E-mail: byndzdj@126.com; 共同通讯作者: 李志江 (1977-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: lizhijiang@126.com

respectively, which were significantly lower than those obtained for other experimental groups. The wraps were also observed to decrease the reduction rate of soluble solid contents and improve fruit firmness, with reasonable antifungal function and the ability to prolong the shelf life of freshly cut Hami melon.

Key words: natamycin; agar; antifungal wrap; freshly cut Hami melon

鲜切的水果和蔬菜不仅营养丰富,而且易于加工,便于烹饪或食用,在旅游业和零售业中很受欢迎^[1]。哈密瓜以其结实、松脆、多汁的质地和芳香的气味而闻名,在被剥切销售时,表面细胞受损,原有保护层被破坏,营养物质暴露,导致水分流失、组织软化,微生物生长,从而严重缩短保质期^[2,3]。导致鲜切哈密瓜腐败的真菌主要是根霉、链格孢、酵母菌、粉红单端孢、黑曲霉及青霉菌等。因此,寻找一种有效的保存鲜切哈密瓜的方法是非常必要的。目前,通过低温^[4]、涂层^[5,6]、物理杀菌^[7]、化学处理等方法^[8],对延长哈密瓜的保质期进行了研究。

琼脂具有一定的凝胶性质,可以通过氢键在其分子之间形成连续的网络结构^[9]。琼脂基薄膜具有一定的成膜能力、生物相容性、无毒、可降解性,是传统石油基包装材料的可再生替代品。Sousa 等^[10]发现,用 1% (*m/m*) 的琼脂凝胶溶液可以制成厚度为 7 μm 的琼脂基薄膜。Arham 等^[11]发现琼脂质量分数(1%、2%和 3%)与琼脂膜在水中的溶解度呈负相关,琼脂浓度与厚度、拉伸强度和断裂伸长率呈正相关。由于单一琼脂在成膜后相对易脆,弹性低,热稳定性差,水蒸汽渗透性高,限制了其应用^[12]。然而,将琼脂与生物聚合物、疏水材料、增塑剂、纳米材料或抗菌剂等物质结合,可以提高琼脂膜的机械性能、抑菌性能等指标^[13,14]。Abdollahi 等^[15]通过将精油加入到琼脂和羧甲基纤维素(CMC)的复合膜中,制备了一种抗菌膜,所制备的膜对革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌和单核增生李斯特菌)的抑制作用有效,但对革兰氏阴性菌的抑制作用较差。

纳他霉素是一种天然多烯大环内酯抗菌剂,可与细胞膜中的甾醇化合物发生反应,影响其通透性,以达到抑制真菌的生长^[16]。因其无毒、广谱和抗菌特性而被广泛应用于食品和医药领域^[17,18]。Bierhalz 等^[19]发现,在海藻酸钠成膜液中添加纳他霉素、钡离子和钙离子后,制备的薄膜,可以有效抑制黑曲霉、青霉菌的生长。Duran 等^[20]发现,将新鲜草莓涂上加入含有 1.5% (*m/m*) 壳聚糖和 1% (*m/m*) 纳他霉素的涂层溶液,放置在 4 $^{\circ}\text{C}$ 和 80%~85% 的相对湿度下,新鲜草莓的保质期延长。此外,Ğöçke 等^[21]发现,随着纳他霉素含量的增加(0.01%~0.4%, *m/m*),海藻酸钠和玉米醇溶蛋白膜的抗真菌活性不断增加,含有高质量分数纳

他霉素的玉米醇溶蛋白膜对被黑曲霉和青霉污染的奶酪保鲜时长达 45 d。霉菌和酵母等微生物的生长导致了食品腐败和霉菌毒素的产生,破坏了食品的稳定,威胁到消费者的安全^[22]。综上所述,纳他霉素可作为抗菌剂混合在琼脂等生物可降解聚合物中,制备一种新的抗菌琼脂膜,并研究抗菌膜对鲜切哈密瓜的保鲜效果。

1 材料与方法

1.1 试剂材料

纳他霉素(BR, 纯度 $\geq 95\%$),南京森贝伽生物科技有限公司;琼脂粉,青岛高科园海博生物技术有限公司;明胶,索莱宝生物科技有限公司;丙三醇(GR),天津市光复精细化工研究所;氢氧化钠,天津市大茂化学试剂厂;邻苯二甲酸氢钾,穗冠化工;草酸,沈阳泉瑞试剂厂;抗坏血酸,天津富宇化工厂;2,6-二氯靛酚试剂,上海研生实业有限公司;氯化钠,天津市大茂化学试剂厂;马铃薯葡萄糖琼脂(PDA),青岛高科技工业园海博生物技术有限公司;哈密瓜,购置于北京华联超市;妙洁密实袋,烟台白马包装有限公司。

1.2 仪器设备

XLW 型智能电子拉力试验机,济南兰光机电技术有限公司;BYT-B1 型透气性测试仪,济南兰光机电技术有限公司;TSY-T1H 透湿性测试仪,济南兰光机电技术有限公司;SPECORD@ 210 PLUS 紫外可见分光光度计,德国耶拿分析仪器股份公司;2WAJ 阿贝折射仪,上海光学仪器厂;TA-XT2i 物性测试仪,英国 Stable Micro Systems;HS-800A 程式恒温恒湿试验机,上海和晟仪器有限公司;CR-400/410 色彩色差仪,柯尼卡美能达有限公司;WGT-S 透光率/雾度测定仪,上海仪电物理光学仪器有限公司;JSM-6390LV 扫描电子显微镜,日本 JEOL 公司;徕卡 ICC50W 无线显微镜,北京悦昌行科技有限公司;HGA-02 顶空气体分析仪,济南兰光机电技术有限公司。

1.3 抗菌膜的制备方法

在 100 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴中,向 220 mL 蒸馏水中缓慢依次加入 1.56% (*m/m*) 的琼脂,0.58% (*m/m*) 的甘油和 0.19% (*m/m*) 的明胶,边加边搅拌,用保鲜膜将

烧杯口密封,中速搅拌 20 min,使其完全溶解后,将不同质量分数(0.00%、0.33%、0.66%、0.99%、1.32%、1.65%)的纳他霉素(以干基计算)先溶于 30 mL 的蒸馏水中再加入成膜液中,中速搅拌 1~2 min,流延于铺有特氟龙的特制玻璃板上,冷却凝固成型后,置于 35 ℃ 的电热鼓风干燥箱中,干燥 8 h,取出即可。

1.4 抗菌膜的性能测试

1.4.1 厚度

膜厚度参照 GB/T 6672-2001“塑料薄膜和薄片厚度机械测量法”,取平均值(精度为 0.01 mm)^[23]。

1.4.2 抑菌性测定

选择常导致鲜切哈密瓜变质的酿酒酵母和黑曲霉作为细菌抑制试验的目标菌株。将酿酒酵母和黑曲霉菌株分别接种于 PDA 液体培养基和 PDA 固体培养基中,并在 28 ℃,相对湿度为 80%~90%的条件下进行活化。用平板计数法将活化的菌株在 0.9%生理盐水中稀释至理想浓度的 10⁶ CFU/g,用涂布法将菌株均匀接种到 PDA 培养基上。从抗菌膜上切下直径为 6 mm 的小圆圈,放置在培养基的中心。酿酒酵母在 28 ℃,相对湿度为 80%~90%的条件下培养 48 h,黑曲霉培养 72 h。抑菌圈直径的大小和薄膜样品的抗菌活性成正比^[24]。

1.4.3 颜色的测试

利用全自动测色色差仪对薄膜的色泽进行测定,其中 L^* 值表示薄膜的亮度(由白色到黑色), a^* 值表示薄膜的发红度(正数是红,负数是绿), b^* 值表示薄膜的发黄度(正数是黄,负数是蓝)。以标准白板作为色差测定的空白参比,每个样品均测定 3 次,取平均值。先将仪器进行预热,然后用标准版进行校正,将膜置于标准版上进行多次测量取平均值。

ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* 分别表示标准白板作与抗菌膜的颜色差异值,标准白色板的数值为 $L^*=94.30$ 、 $a^*=0.31$ 、 $b^*=0.32$ 。

1.4.4 光泽度测定

参考 GB/T 8941-2007“纸和纸板镜面光泽度的测定(20°、45°、75°)”^[25]和国际标准 TAPPI T480“纸张和纸板的光泽度的测定”^[26]对抗菌膜采用 75°专用型探头进行光泽度测定。先 DMN 型光泽度仪开进预热,采用标准板进行标定处理差值在 1.2 Gs 之内即可,对膜进行多次测定取平均值。

1.4.5 阻隔和力学性能测试

将制备好的薄膜放置在相对湿度分别为 20%、50%和 90%的环境中,使其相对湿度与所处的环境达到平衡后进行如下测试研究。

1.4.5.1 机械性能测试

对抗菌膜的机械强度进行测试。膜长 150 mm、宽 20 mm,初始夹距 50 mm,拉引速率设为 25 mm/min。

1.4.5.2 透氧系数的测试(Oxygen Permeability, OP)

将薄膜样品切割成直径为 90 mm 的圆形形状。测试的曝光面积约为 56.71 cm²,薄膜样品上没有孔或划痕。测试环境温度为 25 ℃,相对湿度为 50%。

1.4.5.3 水蒸气透过速率(Water Vapor Transmission Rate, WVTR)

将抗菌膜裁剪成 90 mm 的圆形,进行水蒸气透过速率的测定^[27]。

$$WVTR = \frac{\Delta M}{S \cdot T} \quad (1)$$

式中:

WVTR——水蒸气透过速率;

ΔM ——系统较少的质量, g;

S——膜面积, m²;

T——时间, h。

1.5 鲜切哈密瓜的气体传质模型研究

在高湿条件下,根据其保鲜的最优气调组分来制定抗菌膜的包装尺寸及打孔数等指标,鲜切哈密瓜的最优 O₂ 体积分数为 3%,CO₂ 体积分数为 10%^[28]。在 4 ℃ 的条件下 O₂ 的扩散速率为 0.063 m²/h,在 20 ℃ 的条件下 O₂ 的扩散速率为 0.069 m²/h。

采用顶空气体分析仪在相对湿度为 90%,温度分别为 4 ℃、20 ℃ 的条件下用取样针刺透硅胶密封垫测定鲜切哈密瓜的消耗氧速率,设置采样时间间隔为 5 s,分析时间为 15 s,多次测量取平均值。试验根据气调包装(MAP)气体传质模型公式(2)对抗菌膜的气调包装方式进行设计^[29]。

$$\frac{dno_2}{dt} = \frac{ND_{O_2}A_p(0.21P_a - P_{O_2})}{L_d} \left(\frac{1}{RT} \right) + \frac{\bar{P}_{O_2}S(0.21P_a - P_{O_2})}{L} - WR_{O_2} \quad (2)$$

式中:

$\frac{dno_2}{dt}$ ——气体通过膜的扩散量,其中 dt 代表存储时间,

h; dno_2 代表包装环境内单位时刻氧气物质的量, mol;

N ——抗菌膜的打孔数量;

D_{O_2} ——氧气的扩散系数, m²/h;

A_p ——所打孔的孔面积, m²;

P_{O_2} ——氧气的分压, atm;

P_a ——大气压, atm;

L ——抗菌膜的厚度, μ m;

L_d ——在穿孔深度为穿孔直径的 1.1 倍时气体扩散阻力的校正穿孔长度, m;

- R —气体常数, $\text{m}^3 \text{atm k}^{-1} \text{mol}^{-1}$;
 \bar{P}_{O_2} —抗菌膜的透氧性, $\text{mol } \mu\text{m} \cdot \text{m}^{-2} \text{h}^{-1} \text{atm}^{-1}$;
 S —抗菌膜的表面积, m^2 ;
 W —被包装物的质量, kg ;
 R_{O_2} — O_2 的消耗速率, $\text{mol}/(\text{kg h})$;
 T —绝对温度, K 。

1.6 鲜切哈密瓜的品质测试

1.6.1 储藏方法

取一定质量的去皮鲜切哈密瓜(边长 2 cm 左右的小正方体块)于容量为 350 mL 的 PE 碗中(厚度为 0.2 mm), 分别将面积为 0.018 m^2 的抗菌膜、琼脂膜及 PE 膜黏贴于 PE 碗上, 并设置空白组(未做任何密封处理)共四个处理组, 在相对湿度为 90%, 温度分别为 4、20 °C 的条件下储藏, 研究随着储藏时间的延长抗菌膜对水果的保鲜效果。在 4 °C 的条件下取样时间间隔为 2 d; 在 20 °C 条件下前两次按 6 h 间隔取样, 然后每隔 12 h 取样。

1.6.2 水果的品质测定方法

1.6.2.1 失水率的测试

鲜切哈密瓜的初始质量为 M_3 , 测试时间点鲜切哈密瓜的质量为 M_4 。鲜切哈密瓜的失水率计算如下:

$$C = \frac{M_3 - M_4}{M_3} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

C —失水率, %;

M_3 —哈密瓜的初始质量, g;

M_4 —测试时间点鲜切哈密瓜的质量, g;

1.6.2.2 菌落总数的测试

参照 Perdones 等^[30]的方法对水果的霉菌、酵母菌菌落总数进行测定, 以判定抗菌膜在抑制水果霉变腐败方面的效果。

1.6.2.3 硬度的测试

将哈密瓜切成边长 2 cm 左右的小正方体块, 利用 TA-XT2i 物性测试仪进行测定, 测量 3 次, 取平均值。设置测前的速率为 0.5 mm/s; 测试的速率为 0.5 mm/s; 测后的速率为 0.5 mm/s; 压缩量为 30%; 触发力为 5 g。

1.6.2.4 可溶性固形物 (Soluble Solid Content, SSC) 含量的测试

试验选取果实中部的果肉, 吸取汁液均匀涂在阿贝折射仪上进行测定。

1.6.2.5 维生素 C 含量的测定

参考 Nerdy 等^[31]的研究方法, 采用 2,6-二氯酚法进行 Vc 含量的测定。

1.7 数据分析

每组实验重复 3 次, 取平均值, 采用 SPSS 2.0 版进行方差分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 抗菌膜的性能表征

由表 1 可知, 随着纳他霉素的含量的增加, 抗菌膜厚度由 0.07 mm 增至 0.09 mm, 因含量占有成膜物质的比重较低, 故在相近梯度内无显著性差异 ($P > 0.05$), 与 Roy 等^[32]制备的姜黄素琼脂抗菌膜厚度接近。

纳他霉素的抗菌作用机制似乎是通过分子与真菌细胞膜的甾醇部分结合, 导致其凋亡^[33]。随着纳他霉素含量的增加, 抗菌膜对酿酒酵母和黑曲霉有显著的抑制作用 ($P < 0.05$), 并且对黑曲霉的抑制活性略高于对酿酒酵母的抑制活性。当纳他霉素的加入量为 0.66% (m/m) 时, 对黑曲霉的抑制直径为 23.08 mm, 酿酒酵母的抑制直径为 21.47 mm, 具有较高的抗菌活性。这一结果小于 Resa 的研究^[34], 对酿酒酵母的抑制直径为 29.7 mm, 但其在淀粉膜中加的纳他霉素量为 $9.25 \text{ mg}/\text{dm}^2$, 高于本研究的 $5.99 \text{ mg}/\text{dm}^2$ 。

表 1 不同含量的纳他霉素对抗菌膜的性能影响

Table 1 Effect of natamycin content on characteristics of agar film.

性能	纳他霉素含量/(%, m/m)						
	0.00	0.33	0.66	0.99	1.32	1.65	
厚度/mm	0.07±0.01 ^d	0.07±0.01 ^d	0.07±0.01 ^{cd}	0.08±0.01 ^{bc}	0.09±0.01 ^{ab}	0.09±0.01 ^a	
抑菌圈直径/mm	黑曲霉	0.00 ^e	18.70±0.49 ^d	23.08±0.32 ^c	25.44±0.51 ^b	27.63±0.57 ^a	28.44±0.59 ^a
	酿酒酵母菌	0.00 ^e	15.95±0.68 ^d	21.47±0.82 ^c	24.17±0.61 ^b	26.67±0.90 ^a	27.02±1.00 ^a
L^*	96.66±0.06 ^a	96.20±0.09 ^b	96.04±0.02 ^c	95.77±0.04 ^d	95.59±0.13 ^e	95.25±0.05 ^f	
a^*	-0.31±0.01 ^a	-0.31±0.01 ^a	-0.34±0.01 ^b	-0.35±0.01 ^b	-0.39±0.02 ^c	-0.406±0.01 ^c	
b^*	5.17±0.04 ^f	5.81±0.10 ^e	6.32±0.08 ^d	6.46±0.05 ^c	7.17±0.02 ^b	7.38±0.05 ^a	
光泽度/Gs	65.77±4.96 ^a	56.23±2.08 ^b	53.77±2.17 ^{bc}	52.47±1.66 ^{bc}	49.60±2.10 ^c	49.00±1.04 ^c	

注: 同列右肩不同的小写字母表示差异显著性, 字母相同表示差异不显著, 字母不同表示差异显著。

随着纳他霉素含量的增加抗菌膜的 L^* 、 b^* 存在显著性差异 ($P < 0.05$), 即纳他霉素含量与 L^* 值成反比关系, 与 b^* 成正比关系; 随着纳他霉素含量的增加抗菌膜的 a^* 开始逐渐降低, 且纳他霉素含量范围在 0.00%~0.33%、0.66%~0.99%、1.32%~1.65% 范围内存在显著性差异 ($P < 0.05$), 因琼脂是主要的成膜基材且颜色为淡黄色, 故抗菌膜的总体颜色呈现出淡黄色。

抗菌膜的光泽度在 49.00~65.77 Gs 范围内, 随着纳他霉素添加量的增加抗菌膜的光泽度逐渐降低, 未添加纳他霉素的琼脂膜与添加了纳他霉素的膜存在显著性差异, 而不同的纳他霉素添加量之间无很明显的显著差异 ($P > 0.05$)。这是因为纳他霉素分子镶嵌于琼脂抗菌膜表面或贯穿于琼脂分子层, 使其表面光滑程度降低, 但含量较低对抗菌膜的光泽度不能构成显著影响。试验制备的抗菌膜其光泽度要优于 Sandra 等^[35]采用 50% 的明胶和 50% 的淀粉制备的淀粉明胶膜, 其光泽度为 37 Gs。

2.2 相对湿度对抗菌膜性能的影响

2.2.1 对机械强度的影响

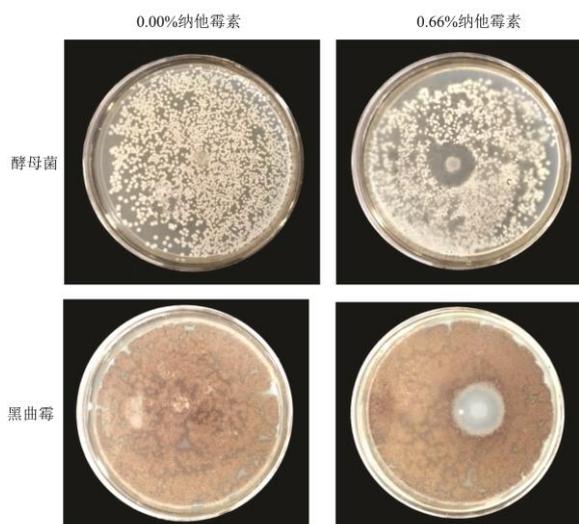


图 1 抗菌膜抑菌效果

Fig.1 Antifungal effects of natamycin contents on microorganisms

抗菌膜的机械性能是其在外界作用力条件下保证膜结构完整性的最重要的性质。不同湿度对抗菌膜的抗拉强度和断裂伸长率的影响如图 1 所示。薄膜的抗拉强度随相对湿度的增加而降低, 与抗拉强度相反, 薄膜的断裂伸长率随相对湿度的增加而增加。这可能是由于琼脂膜的水分含量增加, 削弱了琼脂分子之间的作用力, 增加了琼脂分子运动的灵活性^[36]。另外, 无论相对湿度如何, 纳他霉素含量在增加时, 抗拉强

度呈下降趋势, 断裂伸长率呈上升趋势。主要由于纳他霉素不是凝胶状的, 纳他霉素分子分散在琼脂分子之间, 减少了琼脂分子之间的氢键和其他分子间作用力, 导致其凝胶强度下降。根据分析猜测抗菌膜的 OP 性能会增强。Liu 等^[37]研究发现, 明胶膜的抗拉强度随着纳他霉素含量的增加而降低。

2.2.2 对 OP 的影响

OP 是反映抗菌膜透气性能的参数, 其数值越大, 则透气性能越高。有效地控制抗菌膜的透气系数, 能改善包装物周围的气体浓度, 对延长货架期具有一定的意义。随着相对湿度的增加, 薄膜的透氧系数逐渐增大, 透氧能力增强, 如图 2, 主要是因为水分对抗菌膜的作用, 使分子之间的作用力减弱, 分子由“固定态”变为“流动态”, 抗菌膜空隙变大所导致的。在不同相对湿度条件下, 纳他霉素的含量对抗菌膜的透氧系数具有显著影响 ($P < 0.05$), 由于纳他霉素的存在降低了琼脂分子之间的的相互作用力, 故使透气性能增强。因此, 相对湿度和纳他霉素含量的改变都会影响薄膜的 OP 性能, 进而验证了抗拉强度降低的原因。种晓^[38]研究发现, 抗菌膜的抗拉强度和断裂伸长率、透气性能成反比关系, 试验与其得到的结果相一致。

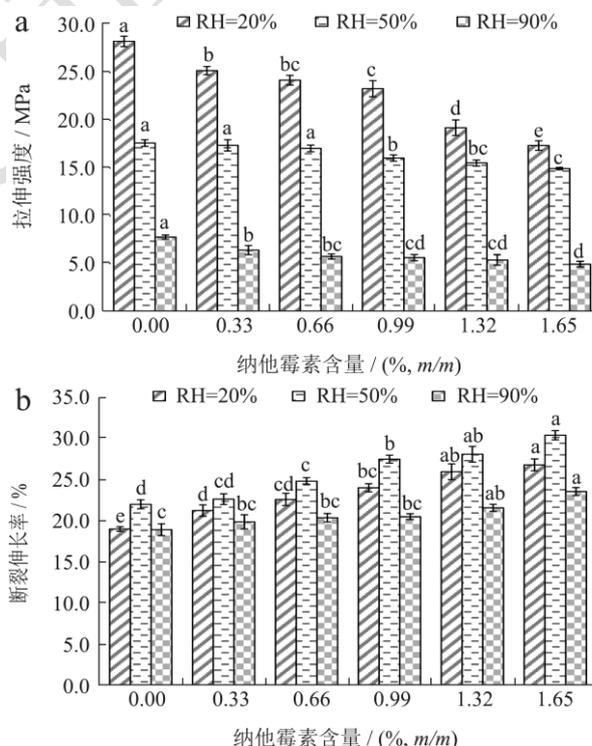


图 2 不同相对湿度条件下抗菌膜的机械性能

Fig.2 Mechanical properties of antifungal films under various relative humidity conditions

注: 小写字母表示相同湿度条件下纳他霉素含量对抗菌膜机械性能的差异显著性。

2.2.3 对 WVTR 的影响

如图 3 所示, 由于纳他霉素含量相对较低, 琼脂的保水能力较强, 大部分水被保留在琼脂形成的水凝胶中, 根据失重测量结果, 只有少量的水能够通过膜, 所以纳他霉素的含量对薄膜的 WVTR 没有显著差异 ($P>0.05$)。Rhim 等^[39]也报道了类似的结果, 他们将 GSE (葡萄柚籽提取物) 加入到琼脂膜中, 发现 WVTR 无显著差异。Balaguer 等^[40]也发现在含有肉桂醛的麦胶蛋白中添加纳他霉素对 WVTR 无显著差异。

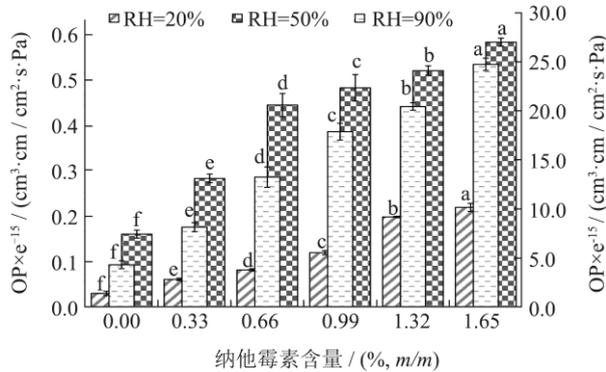


图 3 不同相对湿度条件下抗菌膜的透氧性

Fig.3 Breathability of antifungal films under various relative humidity conditions

注: 图中字母表示相同湿度条件下纳他霉素含量对抗菌膜透氧性的差异显著性。(RH=20%和 RH=50%对应 Y 轴, RH=90%对应 Z 轴)。

2.3 鲜切哈密瓜的包装方式

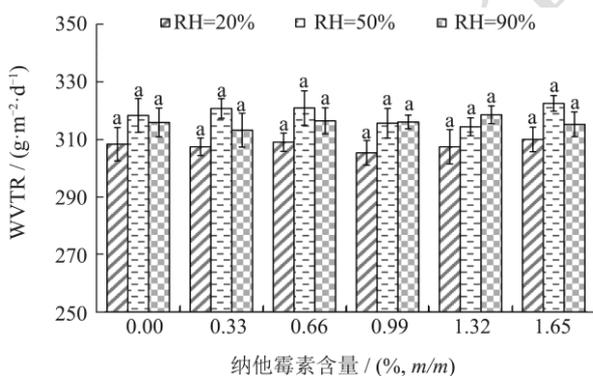


图 4 不同相对湿度条件下抗菌膜的 WVTR

Fig.4 WVTR of antifungal films under various relative humidity conditions

注: 图中字母表示相同湿度条件下纳他霉素含量对抗菌膜 WVTR 的差异显著性。

纳他霉素含量为 0.66% (m/m) 的抗菌膜具有较高的抗菌效果和良好的综合性能, 而且, 纳他霉素添加量也满足 GB 2760-2014“食品安全国家标准 食品添加剂使用标准”^[41]中规定纳他霉素在食品中的最低添加量。因此选择其对鲜切哈密瓜进行保鲜适用性研

究。因果蔬中水分的含量较大, 且储藏环境较为湿润, 故选取高湿条件下进行包装设计。根据鲜切哈密瓜的呼吸与包装透气相平衡的状态进行包装设计, 取鲜切哈密瓜的重量为 200 g, 置于 4 °C 和 20 °C 的条件储藏, 鲜切哈密瓜的氧气消耗速率为 0.000 251 2 mol/(kg h) 和 0.000 681 8 mol/(kg h), 包装膜面积为 0.009 5 m², 打孔数分别为 2 个和 5 个, 打孔的直径为 0.302 mm, 如图 4。

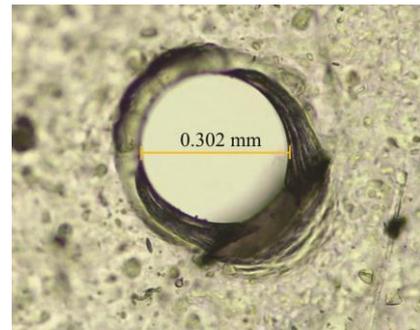


图 5 放大 100 倍微孔图

Fig.5 Microporous map amplified in 100 times

2.4 保鲜试验结果分析

2.4.1 不同处理组对鲜切哈密瓜失水率的影响

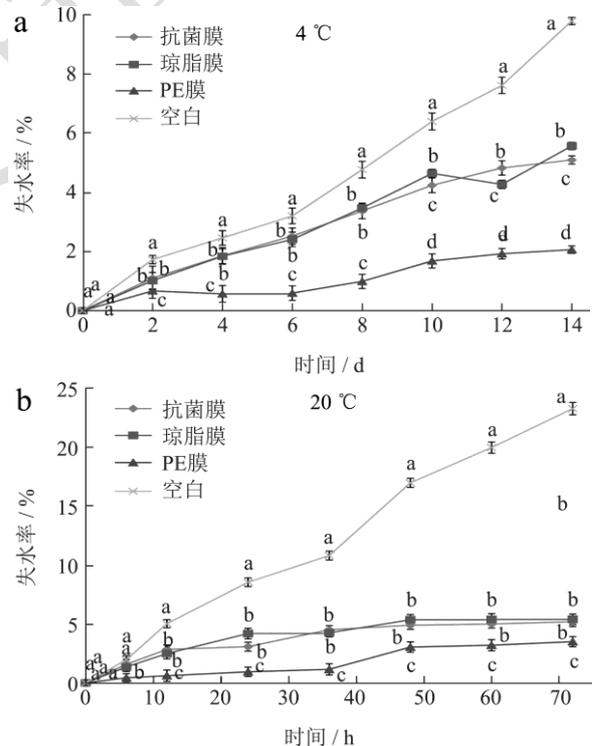


图 6 不同处理方式对鲜切哈密瓜失水率的影响

Fig.6 Effect of different treatments on water loss of fresh cut hami melon

注: “a~d” 代表同一时间不同处理组的指标差异显著性, 字母不同表示差异显著 ($P<0.05$), 字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$), 下同。

不同包装处理下鲜切哈密瓜的失水量如图 6 所示。PE 袋包装的鲜切哈密瓜失水量最低，其次是抗菌膜组，对照组失水量最大。PE 组在 4 °C 保存 14 d 时的失水率为 2.06%，抗菌膜组为 5.09%，琼脂膜组为 5.57%，空白组为 9.80%。而在 20 °C 贮藏 72 h 时的失水率分别为 3.52%、5.29%、5.40% 和 23.31%。与低温相比，新鲜农产品在高温下水分更容易流失。薄膜处理的失水量均高于 PE 膜处理。因为吸水基质如琼脂和明胶的存在，会吸收一定量水果或蔬菜水分^[42]。

2.4.2 不同处理组对鲜切哈密瓜菌落总数的影响

不同条件下鲜切哈密瓜的菌落总数变化趋势如图 7。随着储藏时间的延长菌落数量呈现“J”型增长趋势。在 4 °C 条件下储藏 14 d 鲜切哈密瓜的菌落数分别为抗菌膜组 9.26 lg CFU/g，琼脂膜组 10.10 lg CFU/g，PE 组 10.36 lg CFU/g，空白组 11.25 lg CFU/g。在 20 °C 条件下储藏 72 h 鲜切哈密瓜的菌落数分别为 9.12、9.65、10.54、11.41 lg CFU/g。试验制备的抗菌膜能有效地抑制鲜切哈密瓜中微生物的滋生和防止外界环境中微生物对鲜切哈密瓜的侵害，起到了很好的延长哈密瓜货架期的作用。另外，不添加纳他霉素的琼脂基膜抗菌活性较低，但由于其高保水能力，所以比 PE 膜保鲜效果更好。琼脂基薄膜的高吸水性可以通过减少微生物生长代谢所需要的水分，抑制其生长繁殖，进而延长果蔬的货架期^[43,44]。

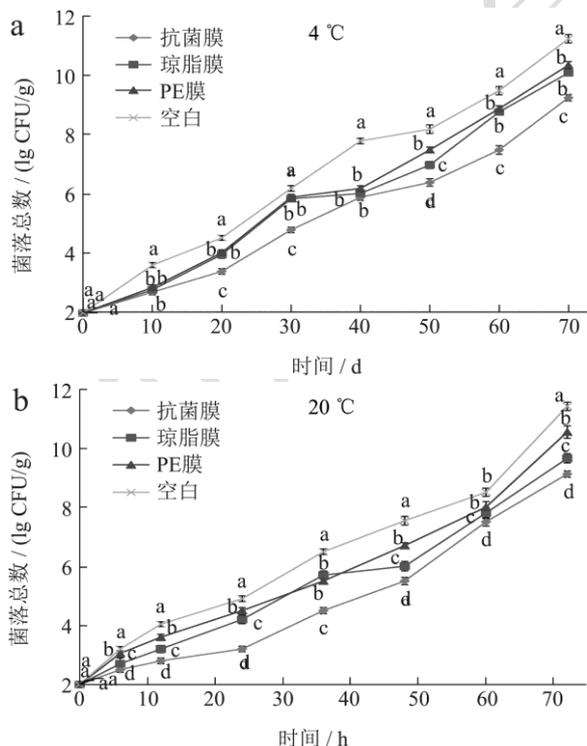


图 7 不同处理方式对鲜切哈密瓜菌落总数的影响

Fig.7 Effect of different treatments on the total number of fresh cut hami melon colonies

2.4.3 不同处理组对鲜切哈密瓜硬度的影响

硬度的降低是限制果实品质和采后保质期的主要因素之一。哈密瓜容易因水分流失、微生物的生长和营养物质的流失而软化。如图 8 所示，在 4 °C 条件下鲜切哈密瓜的硬度在储存第 14 d 达到最低值。而在 20 °C 条件下，硬度在 72 h 达到最低值。随着储藏期的延长，鲜切哈密瓜的硬度都会下降^[45]。用抗菌膜处理的鲜切哈密瓜在贮藏过程中硬度高于其他处理组。这可能是由于抗菌膜抑制了微生物的生长，减少了微生物对鲜切哈密瓜中营养物质的消耗。同时，通过抗菌膜结合包装设计来控制包装中气体成分的浓度，减缓了鲜切哈密瓜的生理代谢，减少了营养损失，保持了鲜切哈密瓜的硬度。

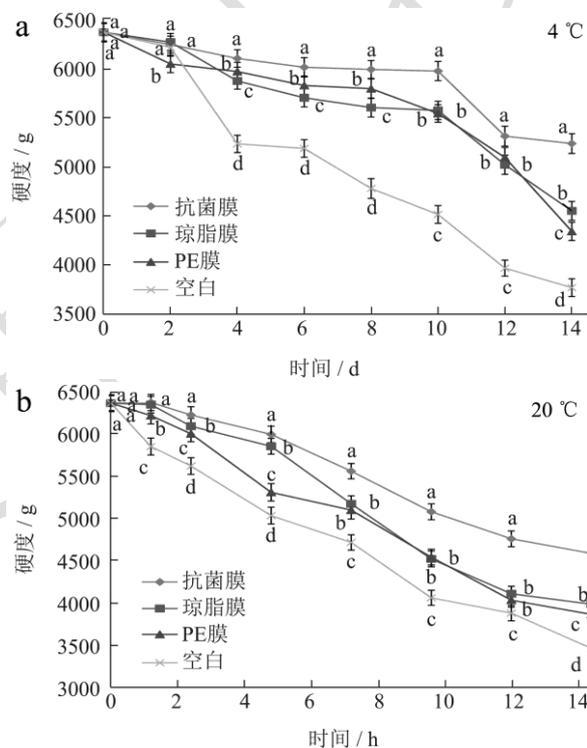


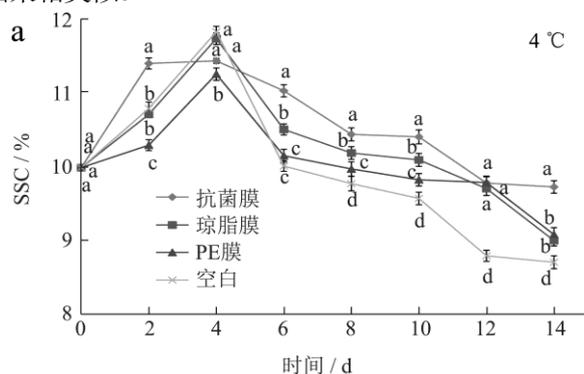
图 8 不同处理方式对鲜切哈密瓜硬度的影响

Fig.8 Effect of different treatments on hardness of fresh cut hami melon

2.4.4 不同处理组对鲜切哈密瓜可溶性固形物含量的影响

SSC 是影响水果品质和消费者可接受性的最重要参数之一，具有较高的可溶性固体含量值是首选。如图 9 所示，在 4 °C 条件下储藏第 4 天时鲜切哈密瓜 SSC 达到最大值后逐渐下降，在 14 d 达到最低含量分别为抗菌膜组 9.71%，琼脂膜组 8.99%，PE 组 9.07%，空白组 8.69%。在 20 °C 条件下储藏 6 h 时鲜切哈密瓜 SSC 达到最大值后逐渐下降，在 72 h 时达到最低值分别为 8.59%、8.20%、8.05%、7.90%。这主要是由于鲜切哈密瓜中水解酶的活性，它分解了淀粉，增加了总糖含

量。然而,新鲜切割的哈密瓜通过呼吸作用消耗底物,导致随着储存时间的延长,可溶性固体含量降低。在不同条件下,抗菌膜组的可溶性固形物含量明显高于其他处理组,表明抗菌膜可以有效抑制微生物的生长和维持鲜切哈密瓜的生理活动。马东辉等^[46]采用 4% 的明胶 (m/m , 以水的质量的计,下同)、2% 的海藻酸钠、2% 的甘油及 3% 的不同种类的乳酸菌保护剂制备的可食膜,在 4 °C 和 25 °C 的条件下可以实现对鲜切哈密瓜中可溶性固形物含量的控制,试验与其得到的结果相类似。



2.4.5 不同处理组对鲜切哈密瓜 Vc 含量的影响

鲜切哈密瓜 Vc 含量变化趋势如图 10 所示,在不同条件下整体上呈现出随着储藏时间的延长 Vc 含量逐渐下降的趋势,对控制鲜切哈密瓜 Vc 含量下降由强到弱的顺序是抗菌膜组>琼脂膜组>PE 组>空白组,在 4 °C 和 20 °C 条件下抗菌膜组 Vc 含量降低率分别为 9.10% 和 11.40%。说明抗菌膜在一定程度上能减缓鲜切哈密瓜中 Vc 含量的下降。琼脂是多糖,成膜后能起到隔绝氧气的作用,在一定程度上抑制了鲜切哈密瓜抗氧化活性物质的氧化^[47]。

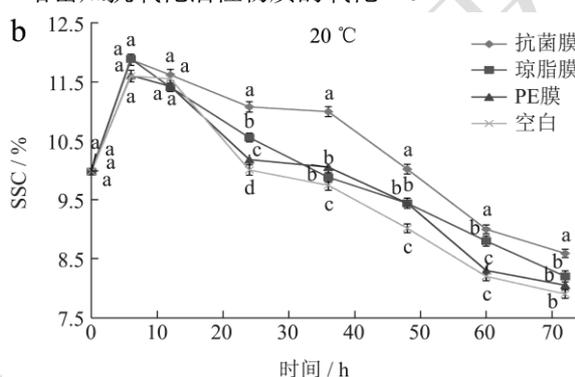


图 9 不同处理方式对鲜切哈密瓜可溶性固形物含量的影响

Fig.9 Effect of different treatments on soluble solids content of fresh cut hami melon

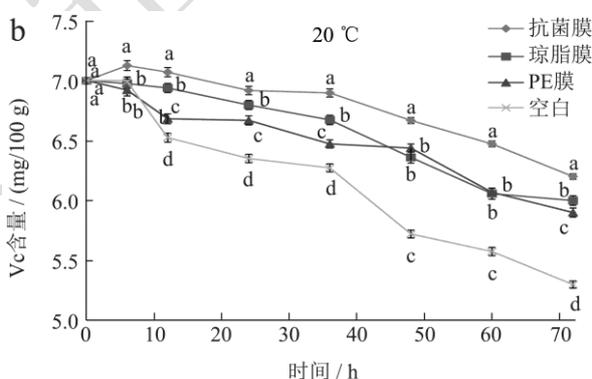
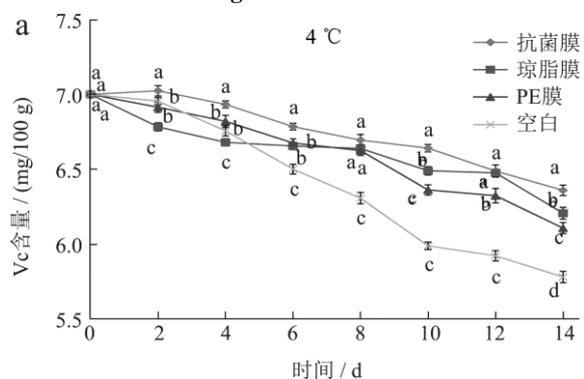


图 10 不同处理方式对鲜切哈密瓜 Vc 含量的影响

Fig.10 Effect of different treatments on Vc content of fresh cut hami melon

3 结论

研究采用 1.56% (m/m) 的琼脂作为主要的成膜基材、0.19% (m/m) 的明胶作为增强剂,0.58% (m/m) 的甘油作为增塑剂、不同质量分数的纳他霉素作为抗菌剂,来制备环保抗菌膜,并对其性能指标及对鲜切哈密瓜的保鲜效果进行研究,得出以下结论:

(1) 随着纳他霉素含量的增加 (0.00%、0.33%、0.66%、0.99%、1.32%、1.65%, m/m), 抗菌膜的厚度、颜色及光泽度存在差异。在 20%、50%、90% 湿度条件下,随着纳他霉素含量的增加抗菌膜的抗拉强度分别在 28.27~17.35 MPa、17.61~14.94 MPa、7.76~4.92 MPa 范围内,断裂伸长率逐渐升高,透氧系

数具有显著差异。

(2) 抗菌膜能有效地抑制导致鲜切哈密瓜腐败变质的特征菌,黑曲霉和酿酒酵母菌的滋生,并且当抗菌膜中纳他霉素含量为 0.66% 时,对两者的抑菌圈直径分别为 23.08 mm 和 21.47 mm,说明了该抗菌膜可以应用于鲜切哈密瓜的保鲜研究。

(3) 采用纳他霉素含量为 0.66% 的抗菌膜对鲜切哈密瓜进行合理的包装,研究抗菌膜的保鲜效果,结果表明,抗菌膜能有效地抑制鲜切哈密瓜中菌落总数的增加,减缓水分及营养成分的流失,可以起到延长货架期的目的。为抗菌膜的进一步研究及水果保鲜方面提供理论支持。

参考文献

- [1] Ma L, Zhang M, Bhandari B, et al. Recent developments in novel shelf life extension technologies of fresh-cut fruits and vegetables [J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 64: 23-38.
- [2] Cortellino G, Gobbi S, Bianchi G, et al. Modified atmosphere packaging for shelf life extension of fresh-cut apples [J]. Trends in Food Science and Technology, 2015, 46(2): 320-330.
- [3] Oliveira M, Abadias M, Usall J, et al. Application of modified atmosphere packaging as a safety approach to fresh-cut fruits and vegetables - A review [J]. Trends in Food & Technology, 2015, 46: 13-26.
- [4] Zhang T, Qian Z, Yan P, et al. Changes of polyamines and CBFs expressions of two Hami melon (*Cucumis melo* L.) cultivars during low temperature storage [J]. Scientia Horticulturae, 2017, 224: 8-16.
- [5] Zhou R, Zheng Y R, Zhou X W, et al. Influence of hot water treatment and O-carboxymethyl chitosan coating on postharvest quality and ripening in Hami melons (*Cucumis melo* var. *saccharinus*) under long-term simulated transport vibration [J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(8): 1-12.
- [6] Cong F S, Zhang Y G, Dong W Y. Use of surface coatings with natamycin to improve the storability of Hami melon at ambient temperature [J]. Postharvest Biology & Technology, 2007, 46(1): 71-75.
- [7] Lin Y, Hu J, Li S, et al. Curcumin-based photodynamic sterilization for preservation of fresh-cut Hami melon [J]. Molecules, 2019, 24(13): 2374.
- [8] Li X W, Jin P, Wang J, et al. 1-Methylcyclopropene delays postharvest ripening and reduces decay in Hami melon [J]. Journal of Food Quality, 2011, 34(2): 119-125.
- [9] Mostafavi F S. The surface characteristics of biopolymer-coated tomato and cucumber epicarps: effect of guar, Persian and tragacanth gums [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2019, 13(1): 840-847.
- [10] Sousa A M, Sereno A M, Hilliou L, et al. Biodegradable agar extracted from gracilaria vermiculophylla: films properties and application to edible coating [C]// Materials Science Forum. Trans Tech Publications, 2010, 1: 739-744.
- [11] Arham R, Mulyati M T, Metusalach M, et al. Physical and mechanical properties of agar based edible film with glycerol plasticizer [J]. International Food Research Journal, 2016, 23(4): 1669-1675.
- [12] Jang S A, Lim G O, Song K B. Use of nano-clay (Cloisite Na+) improves tensile strength and vapour permeability in agar rich red algae (*Gelidium corneum*)-gelatin composite films [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2010, 45(9): 1883-1888.
- [13] Simkovic I. Unexplored possibilities of all-polysaccharide composites [J]. Carbohydr Polym, 2013, 95(2): 697-715.
- [14] Saurabh C K, Gupta S, Bahadur J, et al. Mechanical and barrier properties of guar gum based nano-composite films [J]. Carbohydr Polym, 2015, 124(25): 77-84.
- [15] Abdollahi M, Damirchi S, Shafafi M, et al. Carboxymethyl cellulose-agar biocomposite film activated with summer savory essential oil as an antimicrobial agent [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 126: 561-568.
- [16] Bierhalz A C K, Silva M A D, Kieckbusch T G. Natamycin release from alginate/pectin films for food packaging applications [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(1): 18-25.
- [17] Karaman K, Sagdic O, Yilmaz M T. Evaluation of natamycin performance to control the growth of *Zygosaccharomyces bailii* and *Z. rouxii* in apple juice during storage [J]. International Journal of Food Microbiology, 2020, 332(5): 108771.
- [18] Edwar L, Janna Y M, Rozaliyani A, et al. Therapeutic response time of topical voriconazole 1% and intrastromal voriconazole 0.05% versus topical natamycin 5% monotherapy in *Fusarium keratitis* in rabbit [J]. Mycoses, 2020, 10: 1128-1132.
- [19] Bierhalz A C K, Silva M A, Braga M E M, et al. Effect of calcium and/or barium crosslinking on the physical and antimicrobial properties of natamycin-loaded alginate films [J]. LWT - Food Science and Technology, 2014, 51: 494-501.
- [20] Duran M, Aday M S, Zorba N D, et al. Potential of antimicrobial active packaging 'containing natamycin, nisin, pomegranate and grape seed extract in chitosan coating' to extend shelf life of fresh strawberry [J]. Food & Bioproducts Processing, 2016, 98: 354-363.
- [21] Gkce S K, Elik M F, Mazi B G, et al. Evaluation of alginate and zein films as a carrier of natamycin to increase the shelf life of kashar cheese [J]. Packaging Technology and Science, 2020, 33(1): 39-48.
- [22] Moatsou G, Moschopoulou E, Beka A, et al. Effect of natamycin-containing coating on the evolution of biochemical and microbiological parameters during the ripening and storage of ovine hard-Gruyère-type cheese [J].

- International Dairy Journal, 2015, 50: 1-8.
- [23] GB/T 6672-2001,塑料薄膜和薄片厚度机械测量法[S].
- [24] Liu G, Ren L, Song Z, et al. Purification and characteristics of bifidocin A, a novel bacteriocin produced by *Bifidobacterium animals* BB04 from centenarians' intestine [J]. Food Control, 2015, 50: 889-895.
- [25] GB/T 8941-2007,纸和纸板 镜面光泽度的测定(20° 45° 75°)[S].
- [26] TAPPI T480,纸张和纸板的光泽度的测定[S].
- [27] Pérez-Córdoba L J, Norton I T, Batchelor H K, et al. Physico-chemical, antimicrobial and antioxidant properties of gelatin-chitosan based films loaded with nanoemulsions encapsulating active compounds [J]. Food Hydrocolls, 2018, 79(1): 544-559.
- [28] Aaron L B. Modified Atmosphere Packaging for Fresh-Cut Fruit Vegetabl [M]. Chemical Industry Press, 2016
- [29] Wang H J, An D S, Lee D S. Development of multifunctional active film and its application in modified atmosphere packaging of Shiitake mushrooms [J]. Journal of Food Protection, 2016, 79(9): 1599-1608.
- [30] Perdonés A, Vargas M, Atares L, et al. Physical, antioxidant and antimicrobial properties of chitosan-cinnamon leaf oil films as affected by oleic acid [J]. Food Hydrocolls, 2014, 36(2): 256-264.
- [31] Nerdy N. Determination of vitamin C in various colours of bell pepper (*Capsicum annum* L.) by titration method [J]. Alchemy Jurnal Penelitian Kimia, 2018, 14(1): 164-177.
- [32] Roy S, Rhim J W. Preparation of carbohydrate-based functional composite films incorporated with curcumin [J]. Food Hydrocolls, 2020, 98(1): 105302.1-105302.10.
- [33] Hamilton-Miller J M. Fungal sterols and the mode of action of the polyene antibiotics [J]. Advances in Applied Microbiology, 1974, 17: 109-134.
- [34] Resa C P O, Gerschenson L N, Jagus R J. Natamycin and nisin supported on starch edible films for controlling mixed culture growth on model systems and Port Salut cheese [J]. Food Control, 2014, 44: 146-151.
- [35] Sandra A, Alberto J, Maite C,等.脂肪酸脂的加入对淀粉-明胶膜物理性能和稳定性影响[J].西部皮革,2015,37(22): 38-44.
- [36] Gontard N, Guilbert S, Cuq J L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film [J]. Journal of Food Science, 1993, 58(1): 206-211.
- [37] Liu Q, Wu X, Qian F, et al. Influence of natamycin loading on the performance of transglutaminase induced crosslinked gelatin composite films [J]. International Journal of Food Ence & Technology, 2019, 54(7): 2425-2436.
- [38] 种晓.抗菌复合蛋白薄膜的静态超高压改性及其传质迁移研究[D].上海:上海海洋大学,2018.
- [39] Kanmani P, Rhim J W. Antimicrobial and physical-mechanical properties of agar-based films incorporated with grapefruit seed extract [J]. Carbohydr Polym, 2014, 102: 708-716.
- [40] Balaguer M P, Fajardo P, Gartner H, et al. Functional properties and antifungal activity of films based on gliadins containing cinnamaldehyde and natamycin [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 173: 62-71.
- [41] GB 2760-2014,食品安全国家标准 食品添加剂使用标准 [S].
- [42] Rhim J W, Wang L F. Mechanical and water barrier properties of agar/ κ -carrageenan/konjac glucomannan ternary blend biohydrogel films [J]. Carbohydr Polym, 2013, 96(1): 71-81.
- [43] Wang H J, An D S, Rhim J W, et al. A multi-functional biofilm used as an active insert in modified atmosphere packaging for fresh produce [J]. Packaging Technology and Science, 2015, 28(12): 999-1010.
- [44] Mahajan P V, Rodrigues F A S, Motel A, et al. Development of a moisture absorber for packaging of fresh mushrooms (*Agaricus bisporous*) [J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 48(3): 408-414.
- [45] 马捷.壳聚糖涂膜对鲜切哈密瓜品质、抗氧化能力和微生物污染的影响[D].兰州:甘肃农业大学,2017.
- [46] 马东辉.含乳酸菌可食膜的制备及对鲜切哈密瓜保鲜效果的研究[D].雅安:四川农业大学,2020.
- [47] 王艳,汤卫东,张亮.壳聚糖+植酸复合涂膜对鲜切哈密瓜保鲜效果的影响[J].食品科技,2022,47(4):48-53.