

二氢香豆素纳米乳液制备及在紫甘蓝贮藏中的应用

刘媛媛¹, 张亚南², 肖性龙^{1,2}, 林旖晗¹, 张自强¹, 曹怡芳^{1*}

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

(2. 喀什大学生命与地理科学学院, 新疆喀什 844000)

摘要: 该文以吐温 80 为表面活性剂, 无水乙醇为助表面活性剂, 二氢香豆素为油相, 按 6:2:1 的质量比且水分含量为 80% 的配方制备得到二氢香豆素纳米乳液, 乳液外观澄清透明。染色法和透射电镜表征结果显示: 乳液类型为 O/W 型, 透射电镜下可观察到均匀分散的纳米颗粒, 平均粒径为 68.50 nm。二氢香豆素纳米乳液的最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 分别为 2.00 和 4.00 mg/mL。研究了纳米乳液对紫甘蓝贮藏期间的抑菌效果和品质影响, 结果表明, MBC 组能有效杀灭沙门氏菌, 4 ℃ 和 25 ℃ 分别贮藏 8 d 后, MBC 组沙门氏菌数量比对照组分别降低 3.59、4.86 lg CFU/g。此外, 经纳米乳液处理后, MIC 和 MBC 组紫甘蓝颜色变化程度和失重率与对照组相比有所减小。综上所述, 二氢香豆素纳米乳液对紫甘蓝表面沙门氏菌的抑制和贮藏品质的保持有显著效果, 其有望为蔬菜的防腐保鲜提供新的思路。

关键词: 沙门氏菌; 二氢香豆素; 纳米乳液; 紫甘蓝

文章编号: 1673-9078(2025)02-116-123

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.2.0101

Preparation of Dihydrocoumarin Nanoemulsion and Its Application in Red Cabbage Storage

LIU Yuanyuan¹, ZHANG Ya'nan², XIAO Xinglong^{1,2}, LIN Yihan¹, ZHANG Ziqiang¹, CAO Yifang^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. College of Life and Geographic Sciences, Kashgar University, Kashi 844000, China)

Abstract: A dihydrocoumarin nanoemulsion was prepared by using Tween 80 as the surfactant, anhydrous ethanol as the co-surfactant, and dihydrocoumarin as the oil phase at a mass ratio of 6:2:1 and water content of 80%. The nanoemulsion obtained was clear and transparent. Staining and transmission electron microscopy (TEM) characterization results revealed that the nanoemulsion was of the O/W type. Uniformly dispersed nanoparticles were observed under TEM, with an average particle size of 68.50 nm. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of the dihydrocoumarin nanoemulsion were estimated as 2.00 and 4.00 mg/mL, respectively. The antibacterial effects of the nanoemulsion and its impact on the quality of red cabbage during storage were investigated. The results showed that the MBC group effectively eliminated *Salmonella*. After 8 days of storage at 4 and 25 ℃, the *Salmonella* count in the MBC group was reduced by 3.59 and 4.86 lg colony forming units/g, respectively. Additionally, both the MIC and MBC groups exhibited

引文格式:

刘媛媛,张亚南,肖性龙,等.二氢香豆素纳米乳液制备及在紫甘蓝贮藏中的应用[J].现代食品科技,2025,41(2):116-123.

LIU Yuanyuan, ZHANG Ya'nan, XIAO Xinglong, et al. Preparation of dihydrocoumarin nanoemulsion and its application in red cabbage storage [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(2): 116-123.

收稿日期: 2024-01-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32172320); 广东省自然科学基金项目 (2021A1515011068)

作者简介: 刘媛媛 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品安全与控制, E-mail: 1784246599@qq.com

通讯作者: 曹怡芳 (1995-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 食品安全与控制, E-mail: cyfpd@scut.edu.cn

significantly reduced color changes and weight losses, compared with the control group. In summary, the dihydrocoumarin nanoemulsion has significant effects on the inhibition of *Salmonella* on the surface as well as quality preservation of red cabbage during storage. These findings provide new strategies for vegetable preservation.

Key words: *Salmonella*; dihydrocoumarin; nanoemulsion; red cabbage

沙门氏菌是一种属肠杆菌科的食源性致病菌,其可以寄生在人类和动物肠道中,引起宿主发烧、腹泻和呕吐,严重时甚至导致死亡,对公众健康构成严重威胁^[1]。沙门氏菌是欧盟第二大常见人畜共患病致病菌,是造成全球腹泻疾病的四大主要原因之一,其中,鼠伤寒沙门氏菌和肠炎沙门氏菌是致病率最高的两种沙门氏菌血清型^[2]。沙门氏菌可以通过形成生物膜黏附在食品表面或食品加工设备表面,从而增强自身在环境胁迫和抑菌剂作用下的生存能力^[3]。沙门氏菌来源广泛,除肉蛋奶等常被沙门氏菌污染的畜禽类产品,一些生食蔬菜如生菜、紫甘蓝、香菜等因未经加热也具有感染沙门氏菌的高风险^[4]。因此,控制沙门氏菌污染不但能够减少经济损失,而且能够改善公共卫生和提高食品安全性,对于保障公众健康和促进食品产业的发展具有重要意义。

二氢香豆素是一种苯并吡喃衍生物,具有多种生物和药理活性,来源于零陵香豆等天然产物中,是国标 GB2760-2014 中允许添加的食品香料,美国香精和提取物制造商协会将其列入“一般认为安全”(FEMA-GRAS)的物质清单。二氢香豆素具有令人愉快的奶油、椰子、肉桂香型气味,可以赋予食品甜润的香草香气^[5]。已有研究报道二氢香豆素具有良好的抗菌活性,其通过抑制群体感应有效降低细菌泳动能力和生物膜密度^[6],进一步抑制细菌引起的食品腐败,对曲霉中霉菌毒素的生成也显示出良好的抑制效果^[7]。但二氢香豆素不溶于水的特点导致其应用场景受限。纳米乳液是一种由油相、水相、表面活性剂、助表面活性剂组成的各向均一的胶体分散系统,其粒径通常小于 100 nm。纳米乳液具有均一透明、稳定性高、能够掩盖化合物不良气味等优点,并在一定程度提高活性物质生物利用度和降低毒副作用^[8]。本文通过伪三元相图法确定了纳米乳液的配方,旨在制备稳定的二氢香豆素纳米乳液,解决其疏水性的难题,从而拓宽其在食品防腐抑菌领域的应用。

1 材料与方法

1.1 菌株与试剂

沙门氏菌菌株(*Salmonella typhimurium* ATCC 14028),来自广东省微生物菌种保藏中心;紫甘蓝,购于当地超市;胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)和胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA),购于广州环凯微生物有限公司;吐温 80、吐温 40、司盘 80,购于郑州卓研生物科技有限公司;无水乙醇,购于天津市富宇精细化工有限公司;聚乙二醇 400,购于江西益生药业有限公司;二氢香豆素(CAS-No.119-84-6;98%),购于上海源叶生物科技有限公司;亚甲基蓝、苏丹红Ⅲ,购于上海易恩化学技术有限公司;脱纤维绵羊血,购于河南巨石生物有限公司。

1.2 主要仪器设备

JB-2 恒温磁力搅拌器,常州澳华仪器有限公司;HT7700 透射电子显微镜,日本 Hitachi 公司;Cytation5 多功能酶标仪,美国 Biotek 公司;JW-3021HR 高速冷冻离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;TA.XT PlusC 质构仪,英国 Stable Micro Systems 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 二氢香豆素纳米乳液的制备

准确称取一定量的表面活性剂与助表面活性剂于锥形瓶中,磁力搅拌 30 min 制备混合表面活性剂(S_{mix})。按 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 的质量比,称取一定量的混合表面活性剂和二氢香豆素于烧杯中,磁力搅拌 30 min 使之混合均匀,之后一边磁力搅拌一边向烧杯内逐滴加入去离子水,记录体系由浑浊到清澈或从清澈到混浊时的各组分的质量百分比。然后,使用 Origin 2018 软件构建伪三元相图,使用 AutoCAD 软件计算伪三元相图中纳米乳液区域的相对面积。

1.3.1.1 表面活性剂的筛选

将表面活性剂吐温 80、吐温 40 和司盘 80 按

9:1~1:9 的质量比与二氢香豆素混合,按 1.3.1 中的制备方法加入去离子水,记录临界点各组分质量分数。

1.3.1.2 助表面活性剂的筛选

固定吐温 80 作为表面活性剂,将吐温 80 与聚乙二醇 400、乙醇、丙二醇按 3:1 的质量比混合,接着将 S_{mix} 按 9:1~1:9 的质量比与二氢香豆素混合,制备方法同 1.3.1。

1.3.2 纳米乳液类型判定

通过染色法判断纳米乳液类型,取 5 mL 乳液于玻璃瓶中,分别向其中加入等体积油溶性染料苏丹红和水溶性染料亚甲基蓝,如果油溶性染料的扩散速度大于水溶性染料,则该乳液为油包水型 (W/O),反之则该乳液为水包油型 (O/W)。

1.3.3 微观形态及粒径分布

在透射电子显微镜下观察纳米乳液微观形态,将稀释 10 倍的乳液滴加在覆盖有碳膜的铜网上,并用 2% (质量分数) 磷钨酸进行负染色,用滤纸吸去多余液体,室温下干燥,待完全干透后置于透射电镜下,在 80 kV 加速电压下观察。

1.3.4 溶血性分析

取 5 mL 绵羊血,1 500 r/min,4 °C 离心 10 min,弃上清,加入生理盐水混匀,重复洗涤红细胞至上清液无血红色,最后加入生理盐水制备 2% 红细胞混悬液 (体积分数)。取 6 只 2 mL 离心管,分别加入 900 μL 2% 红细胞悬液,其中 1 号管加入 100 μL 生理盐水作为阴性对照 (不溶血),2~5 号管加入 100 μL 质量浓度为 0.50、1.00、2.00、4.00 mg/mL 纳米乳液,6 号管加入 100 μL 的 2% triton (体积分数) 作为阳性对照 (溶血)。将上述样品混匀后 37 °C 水浴 1 h,反应结束后,1 500 r/min 离心 10 min,分别取各离心管上清液 200 μL 于 96 孔板,测量 540 nm 下的吸光值。溶血率 (Hemolysis Rate, HR) 计算公式如下:

$$B = \frac{A_t - A_{ck}^-}{A_{ck}^+ - A_{ck}^-} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

B ——溶血率 (HR), %;

A_t ——实验组在 540 nm 下的吸光值;

A_{ck}^- ——阴性对照在 540 nm 下的吸光值;

A_{ck}^+ ——阳性对照在 540 nm 下的吸光值。

1.3.5 抑菌活性

采用微量二倍稀释法测定二氢香豆素纳米乳液对沙门氏菌的最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓

度 (MBC)。向 96 孔细胞培养板各孔中加入 100 μL TSB 培养基,在第一列加入质量浓度为 32 mg/mL 的纳米乳液 (以乳液中二氢香豆素质量浓度计),混匀后,移取 100 μL 混合液于第 2 列孔中吹打混匀,重复上述步骤至第 8 列孔。向每孔加入 100 μL 菌悬液 (10^6 CFU/mL),设置未加纳米乳液的孔作为阳性对照,未加菌悬液的孔作为阴性对照。37 °C 培养 24 h,测量 600 nm 处的光密度,将与阴性对照吸收值相差 <0.02 的孔对应浓度确定为 MIC,从无可见细菌生长的孔中取 100 μL 液体涂布 TSA 平板,37 °C 下培养 24 h,显示没有菌落生长的最低浓度是 MBC。

1.3.6 纳米乳液处理对鲜切紫甘蓝储藏期品质的影响

1.3.6.1 紫甘蓝表面沙门氏菌的接种及处理条件

沙门氏菌接种方法参考张莲娇^[9]的方法,将紫甘蓝剥去最外层叶片,用无菌剪刀将新鲜紫甘蓝剪成边长为 3 cm 的正方形,在超净工作台中紫外照射 20 min 消除背景菌,采用点接法对其进行接种,将 60 μL 菌悬液 (10^6 CFU/mL) 均匀接种于紫甘蓝叶片表面,置于超净工作台晾干。接种后的叶片分别经 0、1 MIC 和 1 MBC 的二氢香豆素纳米乳清洗处理 1 min,放入密封保鲜袋中分别于 4 °C 和 25 °C 保存,于 0、2、4、6、8 d 进行取样检测。

1.3.6.2 紫甘蓝表面沙门氏菌数的变化

取 3 片处理后的紫甘蓝于离心管,用无菌剪刀剪碎,加入 10 mL 无菌生理盐水,涡旋 2 min。取 0.5 mL 液体进行梯度稀释,取 1 mL 稀释液倾注平板,37 °C 培养箱培养 24 h 后计数。

1.3.6.3 紫甘蓝色度的测定

使用色差仪测定紫甘蓝叶片的亮度 L^* 、红绿 a^* 和黄蓝 b^* 值,测定前使用标准板对仪器校准。对于同一叶片取不同位置测量 3 次,总色差 ΔE 越大表示颜色变化越大, ΔE 计算公式为:

$$\Delta E = \sqrt{(L_t^* - L_0^*)^2 + (a_t^* - a_0^*)^2 + (b_t^* - b_0^*)^2} \quad (2)$$

式中:

L_0^* 、 a_0^* 、 b_0^* ——贮藏初期的测定值;

L_t^* 、 a_t^* 、 b_t^* ——贮藏结束的测定值。

1.3.6.4 紫甘蓝失重率的测定

紫甘蓝分别经过 0、1 MIC 和 1 MBC 的二氢香豆素纳米乳液处理后,各选择 3 片叶片称量其贮藏前质量,用保鲜袋密封,置于 4 °C 和 25 °C 下保存,每隔 2 d 进行称量并计算因失水而失重的百分率。失重率 (Weight Loss Rate, WLR) 计算见公式 (3)。

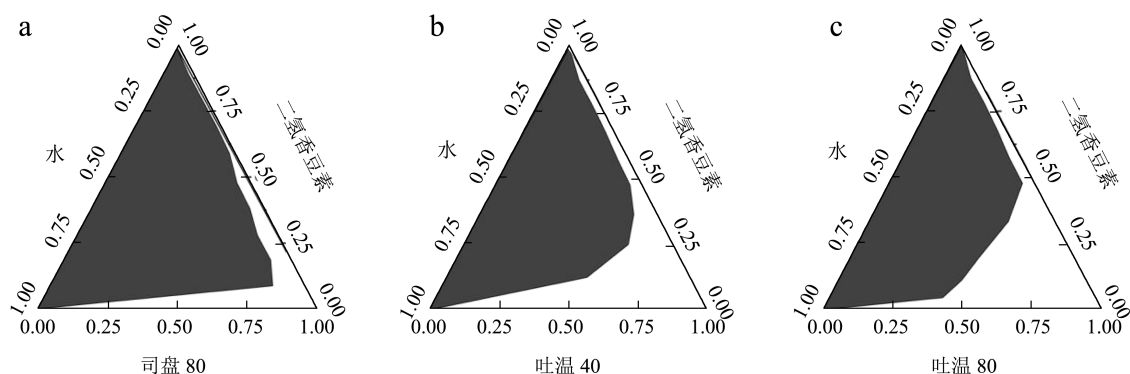


图 1 不同表面活性剂对纳米乳液形成的影响

Fig.1 Effect of different surfactants on nanoemulsion formation

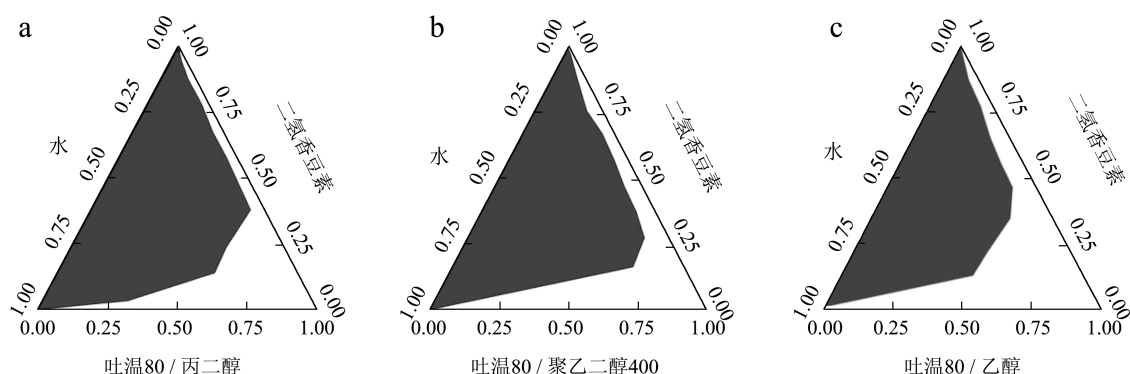


图 2 不同助表面活性剂对纳米乳液形成的影响

Fig.2 Effect of different co-surfactants on nanoemulsion formation

$$D = \frac{G_0 - G_t}{G_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

D ——失重率 (WLR), %;

G_0 ——紫甘蓝初始质量, g;

G_t ——贮藏时间为 t 时质量, g。

1.3.7 数据分析

所有实验重复 3 次, 采用 Origin 2018 软件作图, 结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。采用 IBM SPSS Statistics 26 进行显著性差异分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 表面活性剂的确定

亲水-亲油平衡 (HLB) 反映了表面活性剂分子中亲水基团和亲油基团对油或水的结合能力。在 HLB 适宜的条件下才能形成稳定的纳米乳液体系^[10]。为了筛选与二氢香豆素相匹配的表面活性剂, 本实验选择了 HLB 值由低到高的 3 种表面活性剂: 司盘 80、吐温 40 和吐温 80, 如图 1 所示, 白色区域表示纳米乳液相区, 吐温 80 作为表面活性剂形

成纳米乳液的区域相对面积最大 (33.43%), 其次是吐温 40 (31.68%), 最后是 HLB 最小的司盘 80 (16.52%), 因此, HLB 值越大的表面活性剂越有利于二氢香豆素纳米乳液的形成, 选择吐温 80 作为表面活性剂进行后续实验。

2.2 助表面活性剂的确定

助表面活性剂不仅具有助溶的作用, 还能够改善表面活性剂的亲水-亲油平衡, 增强体系的分散性和稳定性^[11]。本研究选用聚乙二醇 400、乙醇、丙二醇作为助表面活性剂, 分别与吐温 80 以 3:1 的质量比混合制备 S_{mix} , 研究助表面活性剂对二氢香豆素纳米乳液相行为的影响。结果如图 2 所示, 与单独使用吐温 80 相比, 添加乙醇能够扩大纳米乳液区域面积, 且乙醇作为助表面活性剂形成纳米乳液的区域面积最大 (37.18%), 结果与陈硕等^[12]相似。这是由于醇分子的体积越大, 其嵌入界面的阻力越大, 不利于纳米乳液的形成。乙醇能通过自组装将 -OH 定向在表面活性剂亲水基团和水之间, 而烃链定向于表面活性剂疏水链之间, 以此增加界面的柔韧性, 使更多的油被表面活性剂溶解^[13]。当 S_{mix}

与二氢香豆素质量比为 9:1 和 8:1 时,形成的纳米乳液可被水无限稀释。考虑到配方的安全性,因此选择表面活性剂占比少的比例组分,最终确定纳米乳液配方为吐温 80:乙醇:二氢香豆素=6:2:1 (m/m)。因本研究意在制备水包油型乳液,因此添加水分至质量分数为 80% 进行后续的研究。

2.3 二氢香豆素纳米乳类型

二氢香豆素纳米乳液外观澄清透明,可被水无限稀释。在激光照射下形成一条光亮的通路,具有丁达尔现象,可知所制备的纳米乳液均一稳定且分散性好。滴入等体积亚甲基蓝和苏丹红染料后,亚甲基蓝迅速在乳液中扩散,1 h 后已完全与乳液互溶,而苏丹红明显扩散缓慢,因此可以确定制备的二氢香豆素纳米乳液类型为水包油型。



图 3 纳米乳液外观及类型判定

Fig.3 Appearance and type judgement of nanoemulsion

2.4 微观形态及粒径分布

将纳米乳液稀释 10 倍,在透射电镜放大倍数 10.0 k,加速电压 80 kV 条件下,形成的纳米颗粒清晰可见。如图 4a 所示,二氢香豆素纳米乳液液滴呈圆球形,分布均匀、不聚集。使用 ImageJ 软件对粒径进行统计分析,绘制粒径分布直方图,如图 4b 所示,纳米液滴的尺寸集中在 40~100 nm 之间,平均直径为 68.50 nm。

2.5 溶血性分析

溶血性被认为是药物对正常健康细胞一般毒性的评价指标,采用溶血性实验分析二氢香豆素纳米乳液的生物安全性。2% 红细胞与纳米乳液温浴 1 h 后,各实验组溶血现象如图 5 所示,阳性对照管中红细胞完全溶解,管底没有红细胞残留。二氢香豆素纳米乳液质量浓度为 0.50 和 1.00 mg/mL 时,溶血率与阴性对照没有显著差异,表明不引起红细胞的破裂,质量浓度为 2.00 和 4.00 mg/mL 时,溶血率分别为 2.82% 和 4.64%。在实验组各浓度下,溶血率均低于 5%,根据溶血性实验体外毒性程度评定标准,0~9% 为无毒^[14]。二氢香豆素纳米乳液对沙

门氏菌的 MIC 和 MBC 值分别为 2.00 和 4.00 mg/mL,即二氢香豆素纳米乳液能够在生物安全范围内对沙门氏菌具有良好抑制效果,因此可以作为一种安全的防腐剂应用到食品工业中。

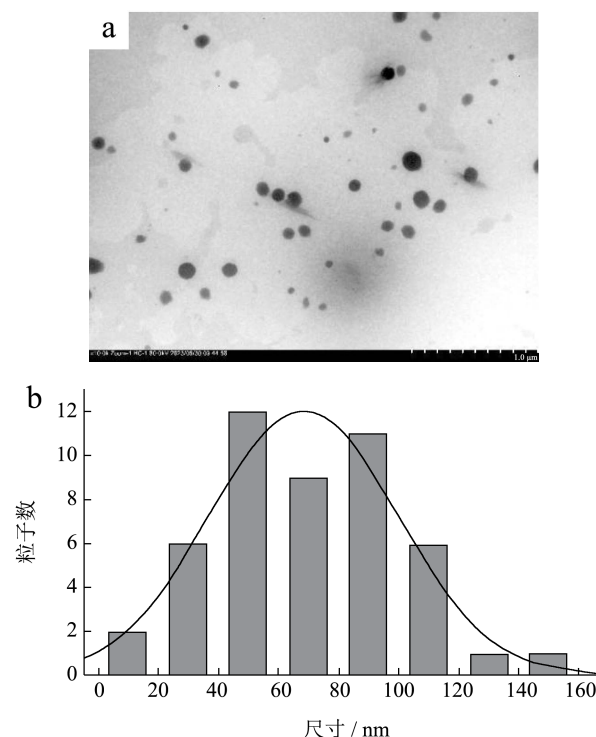


图 4 纳米乳液微观形态 (a) 及粒径分布 (b)

Fig.4 Micromorphology (a) and particle size distribution (b) of nanoemulsion

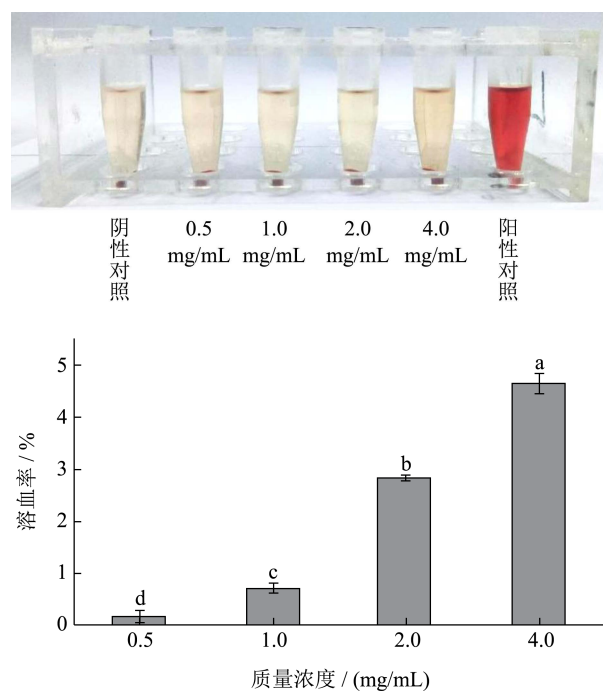


图 5 纳米乳液对红细胞溶血性的影响

Fig.5 *In vitro* hemolytic effect of dihydrocoumarin nanoemulsion on erythrocyte

表 1 4 ℃贮藏期间紫甘蓝的颜色变化

Table 1 Color changes in purple cabbage during storage at 4 ℃

	<i>L</i> *		<i>a</i> *		<i>b</i> *		<i>ΔE</i>
	0 d	8 d	0 d	8 d	0 d	8 d	
Control	41.90 ± 2.65 ^{Aa}	36.49 ± 0.49 ^{Ab}	10.62 ± 2.41 ^{Aa}	12.80 ± 1.59 ^{Aa}	-1.85 ± 0.16 ^{Aa}	-1.93 ± 0.20 ^{Aa}	6.11 ± 3.92
MIC	41.72 ± 1.37 ^{Aa}	37.83 ± 2.20 ^{Ab}	11.04 ± 0.53 ^{Aa}	12.80 ± 1.40 ^{Aa}	-1.72 ± 0.27 ^{Aa}	-2.05 ± 0.70 ^{Aa}	4.47 ± 1.59
MBC	41.10 ± 0.52 ^{Aa}	41.27 ± 1.13 ^{Ba}	10.69 ± 1.35 ^{Aa}	11.19 ± 1.82 ^{Aa}	-1.89 ± 0.44 ^{Aa}	-2.61 ± 0.87 ^{Aa}	1.68 ± 0.96

注：同列右肩大写字母表示同列数据有显著性差异；同行右肩小写字母表示同行数据有显著性差异（*P* < 0.05）。下同。

表 2 25 ℃贮藏期间紫甘蓝的颜色变化

Table 2 Color changes in purple cabbage during storage at 25 ℃

	<i>L</i> *		<i>a</i> *		<i>b</i> *		<i>ΔE</i>
	0 d	8 d	0 d	8 d	0 d	8 d	
Control	40.45 ± 1.11 ^{Aa}	36.22 ± 1.42 ^{Ab}	13.82 ± 0.58 ^{Aa}	8.73 ± 1.06 ^{Ab}	-3.16 ± 0.57 ^{Aa}	-0.97 ± 0.37 ^{Ab}	7.19 ± 0.83
MIC	40.07 ± 0.90 ^{Aa}	36.83 ± 0.65 ^{Ab}	13.57 ± 0.07 ^{Aa}	9.92 ± 0.22 ^{ABb}	-3.03 ± 0.17 ^{Aa}	-0.96 ± 0.08 ^{Ab}	5.32 ± 0.16
MBC	40.01 ± 0.71 ^{Aa}	38.86 ± 1.08 ^{Ba}	14.60 ± 0.80 ^{Aa}	11.46 ± 0.96 ^{Bb}	-3.23 ± 0.37 ^{Aa}	-1.61 ± 0.05 ^{Bb}	4.06 ± 1.38

2.6 纳米乳液处理对鲜切紫甘蓝储藏期品质的影响

2.6.1 沙门氏菌活菌数的变化

图 6a 是贮藏在 4 ℃ 下紫甘蓝表面沙门氏菌活菌数的变化，与对照组相比，经过 MIC、MBC 浓度的纳米乳液处理后，在第 0 天，MIC 组和 MBC 组沙门氏菌数降低了 1.21、1.39 lg CFU/g。在贮藏期内，对照组沙门氏菌数呈现缓慢上升的趋势，在第 8 天时其沙门氏菌数增长了 0.94 lg CFU/g，MIC 组在贮藏期内沙门氏菌增长速率显著降低，到第 8 天，仅增长 0.31 lg CFU/g，MBC 处理组沙门氏菌数总体呈下降趋势，第 8 天沙门氏菌数仅为 1.69 lg CFU/g，比对照组低 3.59 lg CFU/g。

25 ℃ 下贮藏时（图 6b），在第 0 天，MIC 组和 MBC 组经处理后沙门氏菌数降低了 1.69、1.83 lg CFU/g。贮藏前期，所有实验组沙门氏菌数量均呈上升趋势，到第 6 天，MIC 和 MBC 处理组沙门氏菌开始失活，贮藏期结束时，MIC 和 MBC 组的沙门氏菌数分别比对照组分别低 1.85、4.86 lg CFU/g。结果表明，经纳米乳液处理后，能即时减少沙门氏菌数量，在贮藏期内，MIC 组对抑制沙门氏菌在紫甘蓝表面的生长有显著作用，而 MBC 组可以杀灭紫甘蓝表面沙门氏菌。

2.6.2 紫甘蓝色度的测定

颜色能够直观的反映蔬菜新鲜度，采用色差仪对 4 ℃ 和 25 ℃ 下贮藏前后的紫甘蓝叶片进行检测，

结果如表 1，其中 *L** 表示明暗度的变化，*L** 值越低，表明贮藏期间蔬菜变暗越严重。*a** 表示红绿色的变化，*a** 越大表示颜色越偏红，而 *b** 表示黄蓝色的变化，*b** 越大颜色越偏黄。

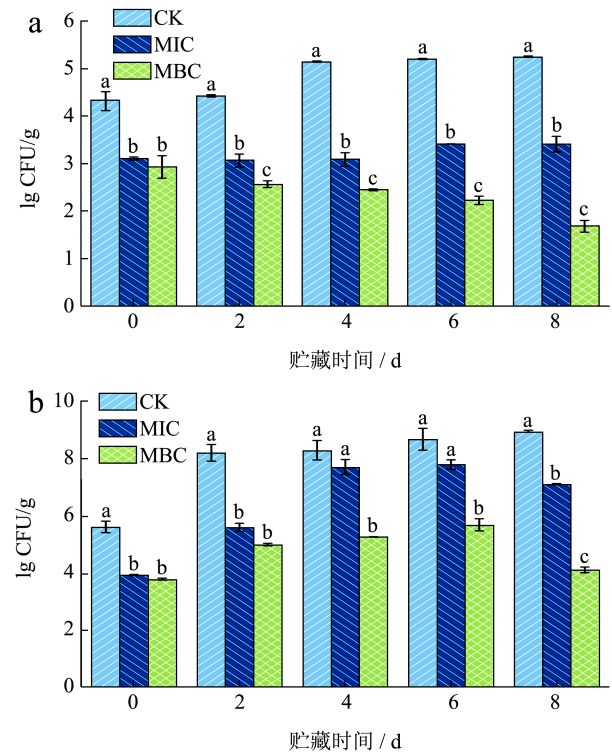


图 6 紫甘蓝在 4 ℃ (a) 和 25 ℃ (b) 贮藏期间沙门氏菌数的变化

Fig.6 *Salmonella* viable count during storage of purple cabbage at 4 ℃ (a) and 25 ℃ (b)

注：同组间小写字母不同表示存在显著性差异（*P* < 0.05）。下同。

贮藏初期,各实验组色差并不显著,4℃贮藏至第8天时,对照组和MIC组 L^* 值显著下降, a^* 、 b^* 值变化不大,说明叶片颜色变暗,王丹等^[15]认为这可能与叶片的水分流失有关。对照组总色差值($\Delta E=6.11$) ≥ 5 ,样品颜色变化明显,各实验组总色差 ΔE :Control>MIC>MBC,因此,经纳米乳液处理后的紫甘蓝叶片可以较好的保持色泽,推测是由于二氢香豆素纳米乳液能够延缓水分流失或抑制色素降解酶,从而阻止紫甘蓝叶片变暗。

当在25℃贮藏8d后(表2),各组总色差值相比于4℃均增大。其中, L^* 值降低,叶片颜色变暗; a^* 值降低,红色减弱; b^* 值升高,叶片黄色增强,这可能是由于室温贮藏期间,紫甘蓝中的花色苷由红色黄烺盐阳离子向蓝色醌型碱转变,并且叶片的呼吸速率加快,导致紫甘蓝叶片更容易发生氧化反应从而导致褐变^[16],说明温度对于紫甘蓝品质的保持具有重要影响。25℃贮藏8d后,仅MBC组总色差值($\Delta E=4.06$) ≤ 5 。因此,在室温和冷藏条件下,纳米乳液处理能够达到减缓紫甘蓝色泽变化的效果,MBC组对紫甘蓝色泽的保持作用优于MIC和对照组。

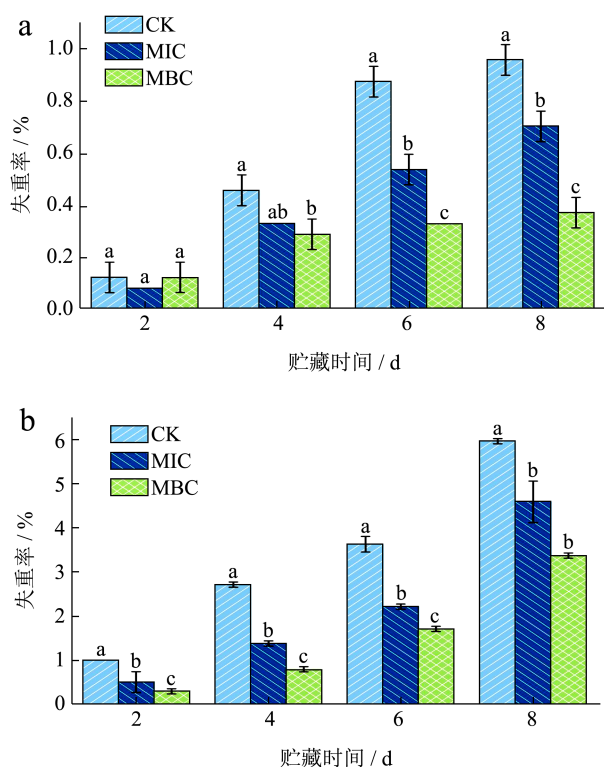


图7 紫甘蓝在4℃(a)和25℃(b)贮藏期间的失重率
Fig.7 Weight loss rate of purple cabbage during storage at 4℃(a) and 25℃(b)

2.6.3 紫甘蓝失重率的测定

失重率是指贮藏期间由于细胞呼吸和蒸腾作用导致的营养成分及水分含量减少,表现为重量的降低。水分的流失会造成蔬菜的萎蔫,降低耐贮性,因此失重率是判定果蔬感官品质和理化指标的重要因子之一^[17]。由图7a可知,4℃下贮藏8d,各组紫甘蓝叶片失重率均在1%以内,这归功于低温对蔬菜的保鲜作用,从第4天开始,各组开始出现显著性差异,处理组失重率显著低于对照组,其中,MBC处理组失重率最低。25℃贮藏时(图7b),各组失重率快速上升,均高于4℃下贮藏的失重率,说明室温下由于呼吸作用和蒸腾作用加快导致水分流失严重。第8天时,对照组失重率显著高于MIC和MBC处理组,三组样品失重率分别为5.96%、4.58%、3.37%,Li等^[18]、Yang等^[19]利用肉桂醛、丁香酚和香芹酚纳米乳对柑橘进行保鲜,同样降低了失重率和腐烂率,因此推测残留在表面的纳米乳液可形成物理屏障,对果蔬呼吸作用和蒸腾作用有减弱效果。

3 结论

本文通过伪三元相图法筛选配方,当吐温80和无水乙醇为混合表面活性剂,且 K_m 为3:1时相图中纳米乳液相对面积最大(38.62%),在此配方下制备了二氢香豆素纳米乳液。溶血性实验和最小抑菌浓度表明,二氢香豆素纳米乳液在生物安全浓度范围内对沙门氏菌有良好抑制效果。本文从紫甘蓝贮藏期间沙门氏菌数量的变化、颜色变化和失重率三个方面评价了二氢香豆素纳米乳液的防腐保鲜效果。结果显示,4℃贮藏8d后,MIC沙门氏菌仅增长0.31 lg CFU/g,MBC组则降低3.59 lg CFU/g。25℃贮藏8d后,MIC和MBC组沙门氏菌均呈先增长后下降的趋势,贮藏结束时分别比对照组分别低1.85、4.86 lg CFU/g。此外,二氢香豆素纳米乳液处理后的紫甘蓝的颜色变化和水分流失也有所改善。本文为二氢香豆素纳米乳液在食品领域的应用提供了理论参考。

参考文献

- [1] AGREGÁN R, MUNEKATA P E S, ZHANG W, et al. High-pressure processing in inactivation of *Salmonella* spp. in food products [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 107: 31-37.
- [2] LOBACZ A, ZULEWSKA J. Fate of *Salmonella* spp. in

- the fresh soft raw milk cheese during storage at different temperatures [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(5): 938.
- [3] 刘素可,张彪,路娟娥,等.沙门氏菌在食品中的生存策略及其防控的研究进展[J].食品科学,2022,43(13): 218-226.
- [4] TRAORE M B, SUN A, GAN Z, et al. Antimicrobial capacity of ultrasound and ozone for enhancing bacterial safety on inoculated shredded green cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*) [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2020, 66(2): 125-137.
- [5] SERRA S, CASTAGNA A, VALENTINO M. Biocatalytic synthesis of natural dihydrocoumarin by microbial reduction of coumarin [J]. *Catalysts*, 2019, 9(8): 665.
- [6] HOU H M, JIANG F, ZHANG G L, et al. Inhibition of *Hafnia alvei* H4 biofilm formation by the food additive dihydrocoumarin [J]. *Journal of Food Protection*, 2017, 80(5): 842-847.
- [7] HU Y, ZHOU Y, MAO Z, et al. NAD(+)-dependent HDAC inhibitor stimulates *Monascus* pigment production but inhibit citrinin [J]. *AMB Express*, 2017, 7(1): 166.
- [8] NOORI S, ZEYNALI F, ALMASI H. Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets [J]. *Food Control*, 2018, 84: 312-320.
- [9] 张莲娇.超声与百里香油纳米乳液协同杀菌机制及其初步应用研究[D].杭州:浙江大学,2021.
- [10] CAI J X, LI Y W, WEI L H, et al. Recovery of chlorosilane residual liquid to prepare nano-silica via the reverse micro-emulsion process [J]. *Materials*, 2023, 16(21): 6912.
- [11] SPERNATH A, ASERIN A, GARTI N. Fully dilutable microemulsions embedded with phospholipids and stabilized by short-chain organic acids and polyols [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2006, 299(2): 900-909.
- [12] 陈硕,徐马俊坤,张赞彬,等.薄荷精油微乳体系的构建及其抑菌性[J].现代食品科技,2014,30(11):139-144,104.
- [13] HE X F, CHEN J, LI Y H, et al. Preparation of water-in-oil (W/O) cinnamaldehyde microemulsion loaded with epsilon-polylysine and its antibacterial properties [J]. *Food Bioscience*, 2022, 46: 101586.
- [14] SUGANTHY N, MUNIASAMY S, ARCHUNAN G. Safety assessment of methanolic extract of *Terminalia chebula* fruit, *Terminalia arjuna* bark and its bioactive constituent 7-methyl gallic acid: *In vitro* and *in vivo* studies [J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2018, 92: 347-357.
- [15] 王丹,鲁榕榕,马越,等.切分方式对鲜切紫甘蓝营养品质和挥发性风味物质的影响[J].食品科学技术学报,2020, 38(4):27-36,62.
- [16] 潘颖,高庆超,孙晨晨,等.不同有机酸对紫甘蓝花色苷辅色效应及热稳定性对比分析[J].现代食品科技,2021, 37(8):97-108.
- [17] YIN X, HUANG Z. Effects of polylactic acid antimicrobial films on preservation of Chinese rape [J]. *Packaging Technology and Science*, 2020, 33(11): 461-468.
- [18] LI X, LI G, SHAN Y, et al. Preparation, characterization, and antifungal property of the inclusion complex of *Litsea cubeba* essential oil/hydroxypropyl- β -cyclodextrin and its application in preservation of Shatang mandarin [J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87(10): 4714-24.
- [19] YANG R, MIAO J, SHEN Y, et al. Antifungal effect of cinnamaldehyde, eugenol and carvacrol nanoemulsion against *Penicillium digitatum* and application in postharvest preservation of citrus fruit [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 141: 110924.