

食品模拟液对抗菌涂层中 Nisin 扩散性的影响

崔珊珊¹, 卢立新^{1,2}, 刘志刚^{1,2}

(1. 江南大学 包装工程系, 江苏 无锡 214122; 2. 中国包装总公司 食品包装技术与安全重点实验室, 江苏 无锡 214122)

摘要: 影响抗菌剂扩散性的因素有很多, 食品模拟液是其中一个重要的因素。将 1 g Nisin 加入到壳聚糖中制备成抗菌涂层, 涂覆于薄膜后分别接触 100 ml 2 % 的蔗糖溶液、2 % NaCl 溶液以及水, 在 25 °C 下用考马斯亮蓝法测量 Nisin 的扩散量, 通过计算扩散系数来评价在不同食品模拟液中 Nisin 的扩散性。结果表明, Nisin 在 2 % 蔗糖溶液中的扩散系数最大, 其次是水和 2 % 氯化钠溶液。

关键词: 抗菌涂层; 食品模拟液; 扩散系数; 包装

中图分类号: TB489; TQ067

文献标志码: A

文章编号: 1674-7100(2009)01-0016-03

Effect of Food Simulant on the Diffusibility of Antimicrobial Coating Film Containing Nisin

Cui Shanshan¹, Lu Lixin^{1,2}, Liu Zhigang^{1,2}

(1. Department of Packaging Engineering, Jiangnan University, Wuxi Jiangsu 214122, China;

2. Key Laboratory of Food Packaging Techniques and Safety of China National Packaging Corporation, Wuxi Jiangsu 214122, China)

Abstract: Many factors could impact the diffusibility of antimicrobial agent. 1g Nisin was added into chitosan to prepare the antimicrobial coating, and contacted 100 ml 2 % sucrose solution, 2 % NaCl solution and water respectively after coated on film. The diffusive volume of Nisin was measured by Coomassie brilliant blue method and the diffusion coefficient was calculated to evaluate the diffusibility of Nisin in different food stimulants. The result showed that diffusion coefficient of Nisin was the largest in 2 % sucrose solution, followed by water and 2 % NaCl solution.

Key words: antimicrobial coating; food stimulant; diffusion coefficient; packaging

由微生物引起的食品腐败是影响食品货架期的主要因素。抗菌涂层薄膜使抗菌剂从涂层中缓慢释放出来, 从而抑制微生物的生长, 延长食品的保质期^[1]。从理论上来说, 抗菌剂本身的基质以及所接触的物质都会影响其扩散的特性, 所以抗菌剂的种类、载体类型以及所包装的食品类型都能改变抗菌剂的扩散速度。

由于对真实食品的理化特性分析有很多困难, 所以常选用食品模拟液来衡量包装材料中抗菌剂的扩散过程^[2]。抗菌剂从聚合物载体扩散到食品模拟液中可用 swelling-controlled 模型描述, 该模型也适用于 Nisin 的扩散。含 Nisin 的抗菌涂层接触溶液后, 涂层物质先

膨胀, 从而使 Nisin 从溶胀体中释放出来。当所接触食品模拟液不同时, 可能会改变 Nisin 的扩散性, 已有研究表明 Nisin 的扩散性依赖于食品模拟液的类型^[2]。

本文选用 Nisin 为抗菌剂添加到壳聚糖载体中, 通过测试其扩散到溶液中的量来评价该包装形式的可行性。不同于一般标准上选用的模拟液, 针对不同口味的食品, 本文选用 2 % 的蔗糖溶液代表甜味食品, 2 % 的 NaCl 溶液代表咸味食品, 蒸馏水代表中性食品, 在 25 °C 下, 含 Nisin 的抗菌涂层接触 100 ml 溶液, 通过计算扩散系数来评价不同类型食品模拟液对 Nisin 扩散性的影响。

收稿日期: 2009-08-20

基金项目: 国家“863”计划基金资助项目(2007AA100408)。

作者简介: 崔珊珊(1985-), 女, 山东德州人, 江南大学硕士生, 主要研究方向为食品包装技术与安全;

通讯作者: 卢立新(1966-), 男, 江苏宜兴人, 江南大学教授, 博士, 博士生导师, 主要从事食品农产品包装, 运输包装等方面的研究, E-mail: luxl@jiangnan.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料

乳酸链球菌素(效价 1.0×10^6 IU/g), 浙江银象生物工程有限公司; 壳聚糖、丙三醇、考马斯亮蓝 G-250、95%乙醇、磷酸、冰乙酸、蔗糖、NaCl, 均为化学纯, 国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

UV-2802 型紫外可见分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; 自动涂膜机, 上海现代环境工程技术有限公司; 千分手式薄膜测厚仪, 上海六菱仪器厂。

1.3 试验方法

1.3.1 涂层制备

准确称取 1 g Nisin 加入到 100 ml 体积分数为 4% 的乙酸溶液中, 充分溶解后加入 4.91 g 壳聚糖, 在 60 °C 水浴中加热搅拌 30 min, 取出后冷却至室温, 加入甘油, 取出适量用涂布机涂覆于 PE 薄膜上, 湿涂层厚度为 0.7 mm, 在 60 °C 干燥箱中干燥 12 h。

1.3.2 涂层厚度测量

在 25 °C 下用手持式测厚仪测量涂层干燥后和浸水后的厚度, 由于实际测量的 Nisin 浓度是接触水后的数值, 所以以浸水厚度为准。

1.3.3 Nisin 浓度测量

在保鲜杯底部挖孔, 以便于取液, 将抗菌涂层薄膜置于杯口, 扣上杯盖, 使涂层一侧面向杯底。杯子大小一致, 面积为 33.2 cm²。实验时, 向每个杯子中加入 100 ml 不同类型的食品模拟液, 在不同时间点用移液器取出 1 ml 扩散液于比色皿中, 加入 2 ml 考马斯亮蓝溶液, 反应 5~10 min 后用紫外分光光度计于 595 nm 下测其吸光度值, 根据标准曲线计算出其中 Nisin 的浓度。取过溶液的杯子再补充 1 ml 相应的模拟液, 每组实验重复 3 次, 取平均值。

1.3.4 考马斯亮蓝法测定标准曲线^[3-4]

1) 考马斯亮蓝溶液的配制。准确称取 100 mg 考马斯亮蓝 G-250 溶于 50 ml 体积分数为 95% 的乙醇中, 再加入 100 ml 体积分数为 85% 的磷酸, 用蒸馏水稀释至 1 000 ml, 过滤后备用。2) 标准曲线制作。准确称取 0.1 g Nisin 样品, 用质量分数为 2% 的蔗糖溶液和 2% 的 NaCl 溶液以及蒸馏水分别溶解并定容至 100 ml, 即得到浓度为 1 000 μg/ml 的标准液, 绘制标准曲线时分别取上述标准溶液 0、0.01、0.02、0.04、0.08、0.16、0.32 ml 于试管中, 用质量分数为 2% 的蔗糖溶液、质量分数为 2% 的 NaCl 溶液以及蒸馏水补足至 1 ml, 加入考马斯亮蓝 G-250 显色剂 2 ml, 混匀后在 5~20 min 内, 以不加 Nisin 的溶液为空白于 595 nm 波长下分别测试其吸光度值, 以吸光度对 Nisin 溶液浓度做图得出标准曲线如图 1~3, 各种溶液的回归方程分别为:

$$C_{2\% \text{蔗糖溶液}} = -0.82 + 588.62 A, r = 0.9994;$$

$$C_{2\% \text{NaCl溶液}} = -8.09 + 656.46 A, r = 0.9924;$$

$$C_{\text{蒸馏水}} = -12.27 + 489.4 A, r = 0.9968。$$

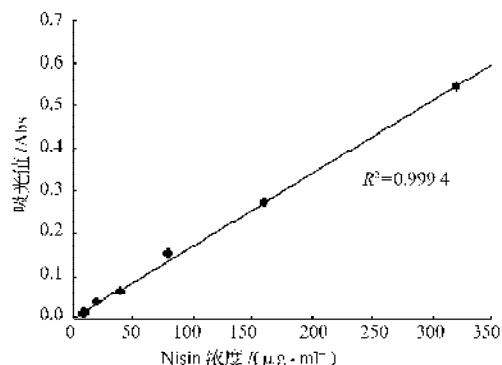


图1 Nisin 在 2% 蔗糖溶液中的标准曲线
Fig. 1 The standard curve of Nisin in 2% sucrose

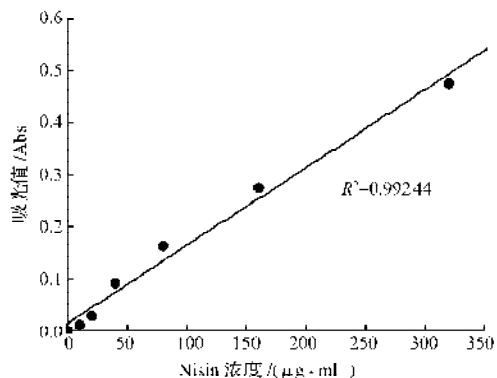


图2 Nisin 在 2% NaCl 溶液中的标准曲线
Fig. 2 The standard curve of Nisin in 2% NaCl

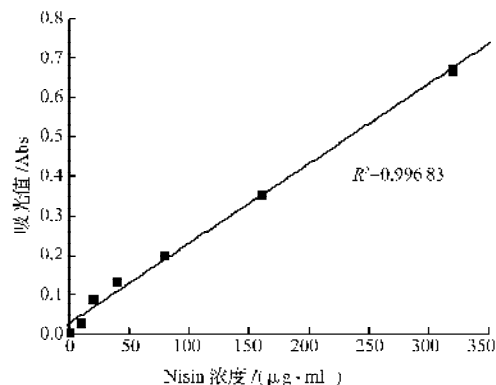


图3 Nisin 在水中的标准曲线
Fig. 3 The standard curve of Nisin in water

图 1~3 说明 Nisin 浓度在 10~320 μg/ml 范围内, 吸光值和浓度呈现良好的线性关系。

1.3.5 扩散系数 D 计算

本实验计算的扩散系数与不同时间 Nisin 的浓度密切相关, 可应用 Fick 第二扩散定律描述浓度随时间的变化规律^[5]。Nisin 从壳聚糖中扩散出来, 可以看作单向扩散, 通过计算 Nisin 的扩散系数来表征其扩散特性, 即:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2}, \quad (1)$$

式中: C 为 Nisin 的浓度, 单位为 μg/ml; D 为扩散系数,

单位为 cm^2/s ; x 为扩散方向上的扩散距离, 单位为 cm ;
 t 为扩散时间, 单位为 s 。

实验中, 当 $t=0$ 时, 模拟液中 Nisin 的质量浓度为 0, 则通过式 (1) 可以得出 Nisin 的浓度为:

$$C = \frac{4C_0}{\pi} \sum_{n=0}^{\infty} \frac{1}{2n+1} \exp \left\{ -\frac{D(2n+1)^2 \pi^2 t}{h^2} \right\} \sin \frac{(2n+1)\pi x}{h}, \quad (2)$$

式中: C_0 为涂层中 Nisin 的初始浓度, 单位为 $\mu\text{g}/\text{ml}$;
 h 为涂层厚度, 单位为 cm 。

$$\frac{M_t}{M_{t=\infty}} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2 \pi^2} \exp \left\{ -\frac{D(2n+1)^2 \pi^2 t}{h^2} \right\}, \quad (3)$$

式中: M_t 为 t 时刻 Nisin 的扩散量, 单位为 μg ; $M_{t=\infty}$ 为无限长时间的 Nisin 扩散量, 单位为 μg 。

式 (3) 可简化为^[5]:

$$\frac{M_t}{M_{t=\infty}} = 4 \left(\frac{Dt}{h^2} \right)^{\frac{1}{2}} \left\{ \pi^{\frac{1}{2}} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \operatorname{erfc} \frac{nh}{\sqrt{Dt}} \right\}, \quad (4)$$

短时间内当 $M_t / M_{t=\infty} < 2/3$ 时, 可忽略误差项, 式 (4)

$$\text{可简化为: } \frac{M_t}{M_{t=\infty}} = 4 \left(\frac{Dt}{h^2} \right)^{\frac{1}{2}} = kt^{\frac{1}{2}}, \quad (5)$$

式 (5) 中: k 为线性回归后的斜率。故从式 (5) 可得出 D 由下式近似计算: $D = (kh/4)^2 \pi$ 。 (6)

2 结果与讨论

2.1 涂层厚度

测得干燥后含 Nisin 抗菌涂层的平均厚度为 $43.3 \mu\text{m}$, 25°C 下浸水处理后的平均厚度为 $51.8 \mu\text{m}$, 有所增加, 符合 swelling-controlled 模型的描述。

2.2 不同模拟液对抗菌涂层中 Nisin 扩散性的影响

不同模拟液对抗菌涂层中 Nisin 扩散性的影响如图 4 所示。

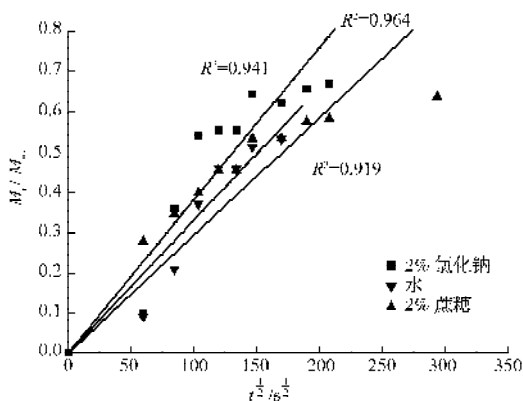


图 4 不同模拟液对抗菌涂层中 Nisin 扩散性的影响 (25°C)

Fig. 4 Effects of food simulants for the diffusibility of nisin in antimicrobial coating under 25°C

从图 4 可看出, 25°C 下, 3 种食品模拟液对抗菌涂层中 Nisin 的扩散性有不同的影响。其中, 在质量分数为 2 % 的蔗糖溶液中, 通过测量 Nisin 含量得出的 $M_t/M_{t=\infty}$ 对 $t^{1/2}$ 斜率最大, 即式 (5) 中的 K 值最大, 在厚度及储存温度一定的情况下, Nisin 在 2 % 蔗糖溶液中的扩散系数最大, 其次是水、质量分数为 2 % 的氯化钠。

依据式 (6), 可计算出 Nisin 在 3 种模拟液中的扩散系数, 具体数据见表 1。由表 1 可知, 蔗糖溶液中 Nisin 扩散系数约是氯化钠溶液的 2 倍, 而水和氯化钠则相差不大, 该结果与图 4 相对应, 这可能与 Nisin 和溶质的分子间作用有关, 有待于进一步的研究。

表 1 不同模拟液中 Nisin 扩散系数的比较 (25°C)

Table 1 Comparison of diffusion coefficient of Nisin in different food simulants under 25°C

模拟液	扩散系数 $D \times 10^{-12} (\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1})$	R^2
质量分数为 2 % 的蔗糖	83.09	0.941
蒸馏水	57.06	0.964
质量分数为 2 % 的氯化钠	44.95	0.919

3 结论

不同食品模拟液对 Nisin 扩散系数均有一定影响。质量分数为 2 % 的蔗糖溶液、2 % 的氯化钠溶液及水 3 种模拟液分别代表了不同的食品风味, 比较而言, 蔗糖溶液中 Nisin 扩散系数最大, 其次是水和氯化钠溶液。

参考文献:

- [1] Suppakul P, Miltz J, Sonneveld K, et al. Active Packaging Technologies with an Emphasis on Antimicrobial Packaging and Its Applications[J]. Journal of Food Science, 2003, 68 (2): 408-420.
- [2] Kim Y M, An D S, Park H J, et al. Properties of Nisin-Incorporated Polymer Coating as Antimicrobial Packaging Materials[J]. Packaging Technology and Science, 2002, 15 (5): 247-254.
- [3] 许家喜. 蛋白质的检测方法与乳制品中蛋白含量测定[J]. 大学化学, 2009, 24(1): 66-69.
Xu Jiayi. Method for Determining the Protein Content[J]. University Chemistry, 2009, 24(1): 66-69.
- [4] 王爱军, 王凤山, 王友联, 等. 低浓度蛋白质含量测定方法的研究[J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(2): 78-80.
Wang Aijun, Wang Fengshan, Wang Youlian. Study on a Method for Determining the Protein Content of Low Concentration Solution[J]. Chinese Journal of Biochemical Pharmaceutics, 2003, 24(2): 78-80.
- [5] Redl A, Gontard N, Guilbert S. Determination of Sorbic Acid Diffusivity in Edible Wheat Gluten and Lipid Based Films[J]. Journal of Food Science, 1996, 61(1): 116-120.

(责任编辑: 廖友媛)