

一种新型肉桂醛微胶囊的制备及其食品保鲜性能研究

孙林皓 曾贞 周瑶 肖峰 陈浩 江洪

华中农业大学理学院, 武汉 430070

摘要 以玉米淀粉为原料制备羧甲基多孔淀粉(CMS)作为包结材料,之后制备肉桂醛(CA)与羧甲基多孔淀粉的包合物(CA-CMS)并对其结构进行表征,结果显示,肉桂醛被成功地包结于羧甲基多孔淀粉中。采用带正电荷的具有抗菌活性的壳聚糖与带负电荷的羧甲基多孔淀粉相互作用形成层层自组装微胶囊,最终得到壳聚糖-羧甲基多孔淀粉-肉桂醛包合物(微胶囊)。对制得的新型肉桂醛微胶囊进行相关的抗菌性实验及鸡肉保鲜实验,结果表明,该新型肉桂醛微胶囊具有广谱抑菌活性,且能有效延长鸡肉保鲜的货架期。

关键词 肉桂醛; 羧甲基多孔淀粉; 壳聚糖; 自组装技术; 保鲜

中图分类号 TS 201.2 ; TS 202.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2018)05-0081-08

肉桂醛(cinnamaldehyde, CA)对人体无毒,是一种天然易挥发的油状物,它对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、霍乱弧菌、肠炎沙门氏菌、肺炎球菌和炭疽杆菌等具有很强的抑制作用^[1-2]。近年来消费者对食品安全特别是食品添加剂的使用日益关注,肉桂醛因其天然无毒及良好的抑菌活性在食品保鲜领域备受青睐。目前,采用肉桂醛作为食品添加剂的主要挑战包括肉桂醛极低的风味阈值会显著影响食品原本风味以及肉桂醛水溶性差,尤其是在高含水量食物的保鲜应用中与病原体的接触不充分^[3-4]。研究表明,微胶囊技术可以有效地避免或减轻这些不良因素的影响^[5-7],同时可以通过化学合成手段改变微胶囊包结材料的表面基团以改善肉桂醛的水溶性并达到缓释性的效果。

淀粉衍生物是一种常用的包结材料,淀粉与肉桂醛的包合物既能掩盖肉桂醛的风味又能保护其免受氧化或热分解,而且包结物具有缓释肉桂醛的效果从而延长其保鲜活性^[5,7-8]。此外,淀粉衍生物还具有低毒性和高生物降解性等优点^[9-10]。多孔淀粉是一种新型的改性淀粉,通常经过酶解法(α -淀粉酶和糖化酶)水解淀粉颗粒的无定形区域得到,其具有从表面延伸到中心的大量微孔,因此,与天然淀粉相比多孔淀粉具有更好的吸附和缓释性能^[11-12]。羧

甲基多孔淀粉(carboxymethyl porous starch, CMS)是一种重要的改性多孔淀粉,可通过氯乙酸与多孔淀粉反应来制备,它具有优异的吸附性能和良好的水溶性^[13]。

壳聚糖也是一种常用于食品领域的包结材料^[14],它是由自然界广泛存在的几丁质脱乙酰化作用衍生出的阳离子型生物聚合物^[15]。壳聚糖对一系列食源性微生物(包括细菌、真菌和酵母)表现出了强烈的抗菌活性,因此,作为一种纯天然食品保鲜剂受到人们的关注^[16-17]。此外,壳聚糖可通过静电作用与阴离子型的果胶相互作用^[18],研究发现,以壳聚糖作为包结材料包结肉桂醛得到的微胶囊具有较强的抑菌性及较好的食品保鲜效果^[19-20]。

国内外食品消费者对新鲜鸡肉的需求量日益增大,然而正常的制冷保鲜方法只能维持4~5 d的保鲜期,因此,开发新的保鲜技术十分必要。保鲜剂微胶囊化技术可能成为解决这一问题的良好方案。研究证实通过层层自组装技术(layer-by-layer technique)制备的肉桂醛微胶囊是一种有效的食品保鲜途径^[8,21-22]。但是层层自组装制备微胶囊时的技术问题是包结物材料可能不会粘在新鲜食品的表面上,为了解决这个问题则需要选用表面带电荷的包结材料,因此,有多孔结构和表面电荷性质的物质是

收稿日期: 2018-06-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(21502058); 中央高校基本科研基金——华中农业大学自主创新基金(2662015QC031)

孙林皓, 博士, 讲师, 研究方向: 有机合成, E-mail: sunlinhao@mail.hzau.edu.cn

通信作者: 江洪, 博士, 教授, 研究方向: 有机合成、食品化学, E-mail: jianghong@mail.hzau.edu.cn

制作微胶囊的理想选择。

本研究选用羧甲基多孔淀粉(带负电荷)及壳聚糖(带正电荷)作为包结材料,制备一种新型的肉桂醛微胶囊并对其抑菌效果进行检验,旨在为肉桂醛应用于食品保鲜提供新思路。

1 材料与方法

1.1 多孔淀粉的制备

使用酶解法制备多孔淀粉^[23]。本试验中所用的玉米淀粉和酶均为阿拉丁试剂有限公司生产,玉米淀粉为药用级。其他化学试剂均为国药集团化学试剂有限公司生产,纯度为分析纯。称取 100 g 玉米淀粉、2 g 葡糖淀粉酶和 1 g α -淀粉酶,与 500 mL 的 Na_2HPO_4 -柠檬酸缓冲溶液($\text{pH}=5$)混合,并在 50 °C 条件以 200 r/min 恒温搅拌 14 h,反应结束后将混合液用 NaOH 溶液调节 pH 为碱性(酶失活,反应终止),减压抽滤,得到滤饼用蒸馏水洗涤沉淀 3 次以除去酶,然后将产物在 45 °C 真空冷冻干燥器中干燥,取出研磨,过孔径 0.15 mm 的筛网后得产物,产物多孔淀粉于干燥器保存。

1.2 羧甲基多孔淀粉的制备

根据 Stojanovic 等^[24]方法制备。在圆底烧瓶中加入 15 g 多孔淀粉、70 mL 95% 的乙醇和 10 mL 12.5 mol/L 的 NaOH 溶液,将烧瓶于 35 °C 恒温水浴电动搅拌碱化 1 h,加入 10 mL 含有 6 mol/L 氯乙酸的乙醇溶液,将反应混合物在 50 °C 条件下搅拌 5 h。反应结束后,向混合物中加入乙酸中和并过滤,用乙醇-水溶液(90% 乙醇)洗涤沉淀 3 次以除去过量酸,然后将产物在 45 °C 真空干燥器中干燥至恒质量,研磨,得到羧甲基多孔淀粉(CMS)。

1.3 肉桂醛/羧甲基多孔淀粉包结物的制备

根据 Yao 等^[25]的方法,将 CMS(1.0 g)和肉桂醛(0.5 g)与水(10 mL)混合,在 30 °C 下搅拌 5 h,然后过滤,产物在室温下放置 24 h 以挥发掉未包埋的肉桂醛,之后得到肉桂醛/羧甲基多孔淀粉包结物(CA/CMS)。

1.4 肉桂醛/羧甲基/壳聚糖自组装微胶囊的制备

在 20 mL 水中溶解 1.0 g CA/CMS,并在室温下加入到含有 0.1 g 壳聚糖浆液的 1% 乙酸水溶液中,将混合物搅拌 3 h,然后在真空冷冻干燥器中干燥获得由壳聚糖包埋的 CA/CMS 微胶囊。

1.5 仪器分析方法及参数

1) 傅里叶红外光谱(FT-IR)法。在 Model-

Nexus 870 型红外光谱仪上,分别对 CA、CMS 和 CA/CMS 进行结构分析。将样品与固体 KBr 粉末混合以制备压片,将 KBr 压片进行 FT-IR 分光光度法测定,扫描波长范围为 500~4 000 cm^{-1} 。

2) X-射线衍射(XRD)法。在 Bruker D8 Advance X 射线衍射仪上测定天然玉米淀粉、CMS 和 CA/CMS 复合物的 XRD 图谱。测试条件为: $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1.5406 \text{ \AA}$),管压为 40 kV,管流为 40 mA,在 $5^\circ < 2\theta < 30^\circ$ 的衍射角度范围内以 $10^\circ/\text{min}$ 的扫描速度扫描样品,发散狭缝和接收狭缝以及时间常数分别设定为 0.02° 、0.3 mm 和 1 s。

3) 扫描电子显微镜(SEM)测试。采用 JSM-6700F 扫描电子显微镜对样品的微观颗粒形貌进行显微观察,电子枪的加速电压为 10.0 kV。样品进行喷金处理以提高导电性,从而提高扫描电镜照片清晰度。图像放大倍数为 4 500 倍。

4) 热重分析(TG)。所用仪器为 NETZSCH TG209 型热重分析仪。测试条件:氧化铝坩埚,加热范围为 30~500 °C,升温速率为 10 °C/min,动态氮气气氛,气体流速为 50 mL/min。

5) 差示扫描量热分析(DSC)。所用仪器为 NETZSCH DSC204 型差示扫描量热仪。测试条件:氧化铝坩埚,加热范围为 30~500 °C,升温速率为 10 °C/min,动态氮气气氛,气体流速为 50 mL/min。

1.6 抑菌活性测定

试验菌株来源于中国典型培养物保藏中心(CCTCC),包括大肠杆菌(*Escherichia coli* CCTCC AB 93154)、枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis* CCTCC AB 90008)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae* CCTCC AY 92003)。菌种于斜面培养基(细菌:LB 培养基;真菌:YM 培养基)37 °C 活化培养,4 °C 保存。在无菌操作台上将斜面培养基上的菌株接种到液体试管培养基中,于 37 °C 恒温摇床培养箱中培养 24 h,置于 4 °C 冰箱冷藏备用。用无菌吸管吸取少量菌液到无菌生理盐水中,摇匀,配制成菌悬液,递增稀释不同倍数,采用平板菌落计数法测菌液浓度,每个稀释度做 2 个平板,取 2 个平板菌落平均数,根据稀释倍数计算得到浓度为 10^5 cfu/mL 的菌悬液,置于 4 °C 冰箱冷藏备用。检验方法参照 GB4789.2—2010 食品安全国家标准食品微生物学检验菌落总数测定。

按照 Zeng 等^[26]方法测定肉桂醛/羧甲基多孔

淀粉包结物的含油率后,配制肉桂醛/羧甲基多孔淀粉包结物水溶液使肉桂醛质量浓度分别为600、400、200 mg/L。

采用滤纸片扩散法^[27]测定不同肉桂醛包结物的抑菌活性。将100 μL含菌量为10⁵ cfu/mL的培养液导入固体培养基的培养皿中,用无菌玻棒将菌液在平板表面涂匀,通风橱晾干5 min,在每个平板上等间距放置3片直径为8 mm的无菌滤纸片,每片滤纸片上滴加20 μL杀菌剂溶液(同一平板3片滤纸片上滴加溶液浓度相同),肉桂醛溶液以1%的吐温80作空白对照,肉桂醛的包结物以无菌水作空白对照。待溶液在滤纸片上充分吸收,分散均匀后,于37℃恒温培养箱培养24 h,测量抑菌圈直径,抑菌圈直径=处理圈直径-对照圈直径。每组实验进行3个平行。

1.7 鸡肉保鲜实验

将新鲜鸡肉用清水冲洗干净,在无菌操作台上用无菌小刀切成大小形状一致的小块(1 cm×1 cm×1 cm),将肉块在紫外灯下杀菌30 min,每块肉块接种50 μL浓度为10⁵ cfu/mL的大肠杆菌菌液。将接种后的肉块分装到无菌封口袋中,4℃冰箱保存过夜,以挥发掉多余水分,同时使菌体粘附在肉块表面。冷藏后,将肉块于10 mL待测样品溶液中浸泡5 min,0.5%的壳聚糖溶液和无菌水作对照,取出悬挂2 min,滴去多余液体,将肉块装到封口袋于4℃冰箱保存,每隔不同时间分别取样置于50 mL无菌生理盐水中洗涤,搅匀5 min,将洗涤液稀释一定倍数后,移取100 μL稀释液于固体平板培养基上涂抹均匀,37℃恒温培养24 h,观察平板上菌落数,每组样品进行3个平行试验。

根据Brasil等^[8]方法,层层自组装实验设计如下:肉块在肉桂醛/羧甲基多孔淀粉包结物溶液中浸泡后再在壳聚糖溶液中浸泡2 min,取出滴干过多的液体,为自组装1层。再将其在肉桂醛/羧甲基多孔淀粉溶液和壳聚糖溶液中依次浸泡1次,为自组装2层。在2种溶液中交替循环浸泡,可自组装多层。

1.8 鸡肉货架期测试

本研究通过测量鸡肉中挥发性盐基氮(TVB-N)的含量来评估鸡肉货架期即其鲜度。本研究中TVB-N的检测方法是基于国家标准GB/T 5009.44—2003《肉与肉制品卫生标准的分析方法》的改进实验。具体操作如下:

将新鲜鸡肉在无菌操作台上用无菌小刀切成大小约3 g形状一致的小块,分别将肉块于待测样品中浸泡5 min,取出悬挂2 min,滴去多余液体,将肉块装到封口袋于4℃冰箱保存,每隔不同时间分别对样品进行盐基氮测定实验。

配制一定浓度的稀盐酸溶液并用标准碳酸钠溶液标定其浓度,其精确浓度记为*c*。待测鸡肉样品剁碎后放入50 mL离心管中称量,记录其质量*m*,随后加入20 mL蒸馏水,用均质仪处理3 min后离心,定容到50 mL备用。取10 mL该样品液加入5 mL 100 g/L MgO混悬液碱化置于凯氏定氮仪中蒸馏8 min。蒸馏滴定时,将盛有10 mL 3%硼酸吸收液和4~5滴甲基红-溴甲酚绿混合指示剂的溶液置于冷凝管下端,用已标定浓度的盐酸滴定(滴定终点现象为颜色由绿变紫红),记录滴定终点数据。同时以蒸馏水做空白对照组实验。每个样品平行测量3次。

挥发性盐基氮(TVB-N)的含量按如下公式计算:

$$\text{TVB-N}(\text{mg}/100 \text{ g}) = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 14}{m \times 10/50} \times 100$$

其中,*V*₁为测定用样液消耗的盐酸标液体积,mL;*V*₂为测定空白消耗的盐酸标液体积,mL;*c*为盐酸实际浓度,mol/L;*m*为肉试样质量,g。

1.9 数据处理

试验数据均以平均值±标准误差表示;所得的数据采用SPSS 17.0统计软件进行处理,2组之间的比较采用*t*检验,多组间的比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用Tukey检验,以*a*=0.05为检测基准。

2 结果与分析

2.1 羧甲基多孔淀粉/肉桂醛包结物的傅里叶红外光谱分析

由图1可知,CA的特征峰分别出现在3 062和3 029 cm⁻¹(Ar-H拉伸)、2 816和2 743 cm⁻¹(-CHO费米共振)、1 674 cm⁻¹(C=O拉伸)以及1 626、1 606、1 576和1 496 cm⁻¹(芳香环的C=C伸缩和骨架振动)和748、689 cm⁻¹(Ar-H弯曲)处(图1A)^[28]。羧甲基多孔淀粉的宽带在3 362 cm⁻¹处(图1B)是由于CMS和水的O-H基团的伸缩振动;2 930 cm⁻¹处的峰由亚甲基不对称C-H拉伸引起;1 644 cm⁻¹的条带表明存在水分;在1 600和

1 415 cm^{-1} 处的峰由 C=O 反对称拉伸和 -COONa 的对称拉伸引起,表明羧甲基与 CMS 结合。CA/CMS 包合物(图 1C)的光谱与 CMS 的相似(图 1B),CA 分子中的 C=O 键的特征吸收位于 1 675 cm^{-1} 处。CA/CMS 中羰基峰值强度的降低和 C-H 峰的增加(图 1C)表明 CMS 成功包埋了 CA^[29]。

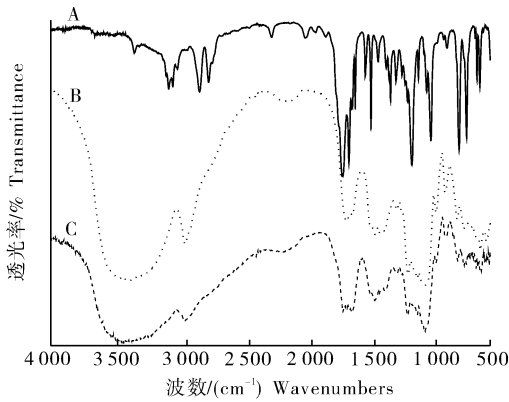


图 1 肉桂醛(A)、羧甲基多孔淀粉(B)、羧甲基多孔淀粉/肉桂醛包结物(C)的傅里叶红外光谱图

Fig.1 FT-IR spectrum of CA (A), CMS (B) and CA/CMS inclusion complex (C)

2.2 羧甲基多孔淀粉/肉桂醛包结物的 X 射线衍射分析

由图 2 可知,玉米原淀粉的特征衍射峰出现在 13° 、 15.3° 、 17.3° 、 18.2° 、 23.1° 和 26.9° ,为典型的 A 型结晶^[30]。经酶水解反应和羧甲基化反应后得到的羧甲基多孔淀粉衍射峰位置没有显著变化,也显示 A 型结晶特征峰。图 2 中 C 显示了 CA/CMS 包合

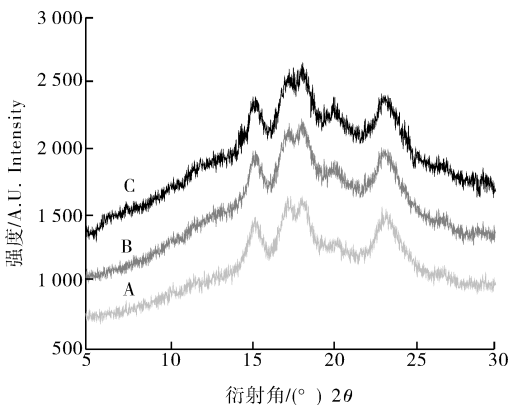


图 2 玉米原淀粉(A)、羧甲基多孔淀粉(B)及羧甲基多孔淀粉/肉桂醛包结物(C) X 射线衍射图

Fig.2 XRD patterns of native corn starch (A), CMS (B) and CA/CMS inclusion complex (C)

物中 CMS 的一些特征峰的强度变化,在 $2\theta = 7.5^\circ$ 、 11.9° 和 20.3° 处发现了一些新峰,这可能是由 CA 包裹于 CMS 的空腔内造成的。

2.3 肉桂醛微胶囊的扫描电子显微镜分析

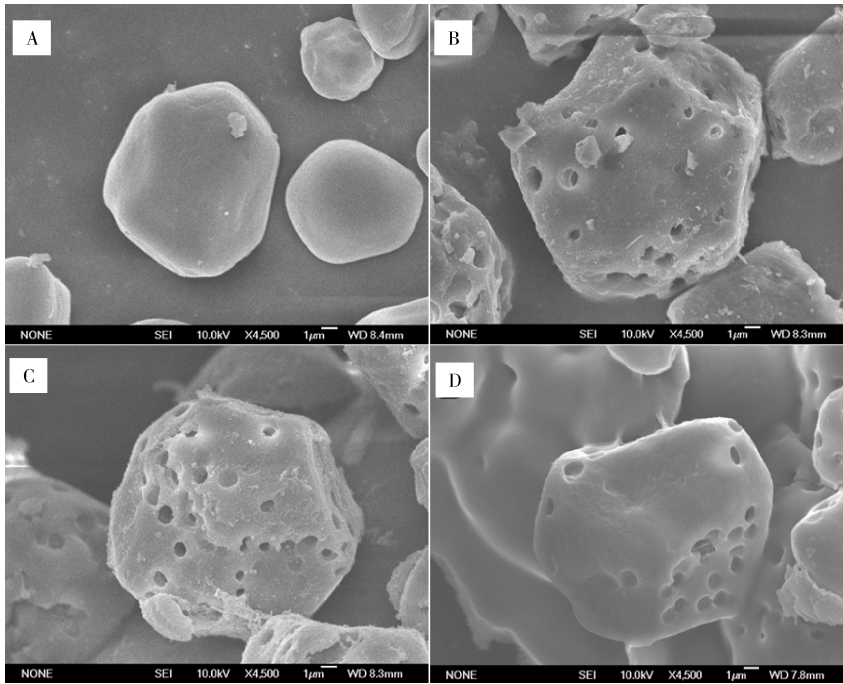
图 3A 显示了玉米原淀粉的形态,可见其大多具有圆形和多边形的颗粒形状且表面相对光滑棱角分明。由玉米原淀粉制备的多孔淀粉的颗粒形态如图 3B 所示,可见经酶水解后,颗粒形状为圆形或多边形蜂窝状,其表面布满了许多延伸到中心的孔,孔径约为 $1 \mu\text{m}$,这些结构性性质使之具有较大的比表面积。由此可推测在其作为包结材料应用时,小分子肉桂醛可被包结在这些空腔中,通过挥发作用缓慢释放出来。CMS 的颗粒形态(图 3C)与玉米多孔淀粉相似,显然羧甲基化反应后 CMS 的多孔腔结构没有被破坏。图 3D 显示壳聚糖包埋的 CA/CMS 微胶囊的形态。由于在表面覆盖了一层薄的壳聚糖膜,颗粒变得更平滑,由此可直观地看到 CA/CMS 和壳聚糖成功组装到了一起。

2.4 羧甲基多孔淀粉及其包结肉桂醛产物的热分析

从图 4A 可知,CMS 第一失重阶段在 $40 \sim 120^\circ\text{C}$,其质量减少与水的损失有关,而 $280 \sim 320^\circ\text{C}$ 的第二失重阶段是其自身分解。CA/CMS 的热重曲线与 CMS 相似,第一失重阶段 $40 \sim 120^\circ\text{C}$ 对应水的蒸发还有部分肉桂醛的挥发;第二失重阶段 $140 \sim 250^\circ\text{C}$ 归因于包结物内的肉桂醛受热释放,在 250°C 左右,曲线 B 比曲线 A 失重率多 $8.4\% \pm 0.2\%$;第三失重阶段 $280 \sim 320^\circ\text{C}$ 与 CMS 相同,对应羧甲基多孔淀粉的自身分解。从图 4B 可知,吸热峰出现在与热重曲线失重阶段类似的温度区域,所以可以从 DSC 曲线给出相同的解释。在 CA/CMS 曲线上, 190°C 出现 1 个小峰,这对应着释放 CA 的吸热过程。这些热分析结果都表明 CA 已成功包结在 CMS 内。

2.5 肉桂醛及其包结物的抑菌活性

从表 1 可知,CA 和 CA/CMS 对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌和酿酒酵母都具有明显的抑制作用,随着肉桂醛浓度的增加,抑制作用增强,CA/CMS 的抗菌活性与 CA 在相同浓度下没有明显差异,这表明将 CA 加入 CMS 后,CA 的抗菌活性没有降低。



A: 玉米原淀粉 Native corn starch; B: 玉米多孔淀粉 Corn porous starch; C: 羧甲基多孔淀粉 CMS; D: 壳聚糖包裹的肉桂醛/羧甲基多孔淀粉 CA/CMS covered by chitosan.

图 3 扫描电子显微镜图像

Fig.3 SEM of native corn starch (A), corn porous starch (B), CMS (C), CA/CMS covered by chitosan (D)

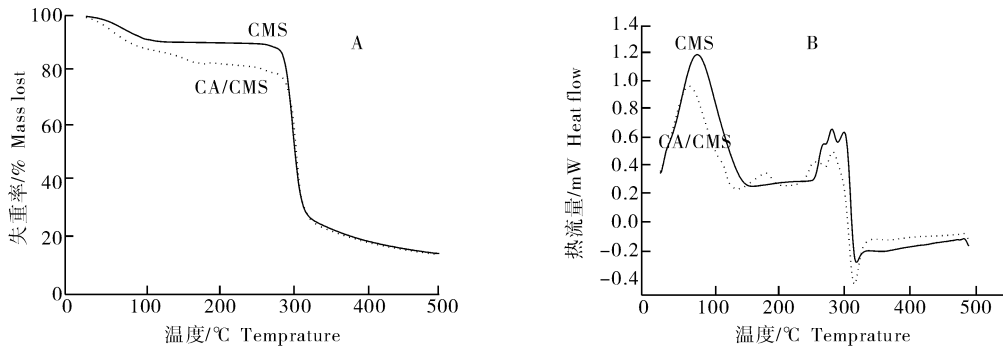


图 4 羧甲基多孔淀粉和肉桂醛/羧甲基多孔淀粉的热分析

Fig.4 Thermogravimetric (A) and differential scanning calorimetry curves (B) of CMS and CA/CMS

表 1 肉桂醛及其包结物的抑菌活性 (抑菌圈直径)

Table 1 The antimicrobial activities of CA and CA/CMS (IZD)

mm

菌株 Bacterial strain	肉桂醛/(mg/L) CA			羧甲基多孔淀粉-肉桂醛包结物/(mg/L) CA/CMS		
	200	400	600	200	400	600
大肠杆菌 <i>E. coli</i>	4.2±0.3a	6.3±0.2b	8.9±0.4c	4.3±0.3a	6.0±0.5b	8.7±0.6c
枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>	4.3±0.4a	6.4±0.2b	9.2±0.5c	4.4±0.4a	6.5±0.5b	9.1±0.5c
酿酒酵母 <i>S. cerevisiae</i>	4.5±0.3a	6.3±0.5b	9.4±0.3c	4.2±0.4a	6.5±0.3b	9.4±0.4c

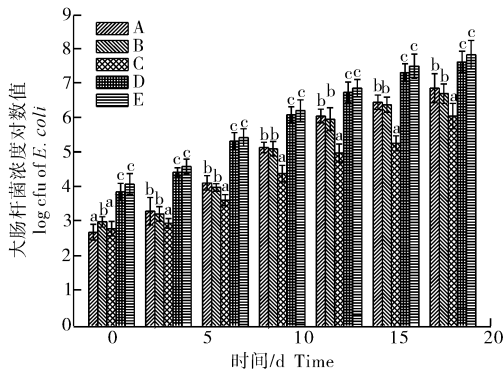
注: 数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。Note: Values followed by different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

2.6 肉桂醛微胶囊对大肠杆菌的抑制效果

如图 5 所示, 随着鸡肉贮存时间的延长, 大肠杆菌的数量增加。用 400 mg/L 肉桂醛 (A)、400

mg/L 肉桂醛/羧甲基多孔淀粉包结物 (B)、肉桂醛/羧甲基多孔淀粉/壳聚糖自组装微胶囊 (C)、0.5% 壳聚糖溶液 (D)、无菌水 (E) 等 5 种不同保鲜剂溶液样

品处理的鸡胸肉中的大肠杆菌生长速率大小为: 无菌水>壳聚糖>CA>CA/CMS≈CA/CMS>L-b-L 自组装 1 层微胶囊。上述结果表明, 通过将 CA 包埋到包结材料 CMS、CMS/壳聚糖中, 可以使 CA 的释放速度减慢, 因此, 在更长的时间内抑制了大肠杆菌的生长即能够延长鸡肉贮存时间。其中, 通过层层自组装 1 层形成的肉桂醛/羧甲基多聚糖/壳聚糖微胶囊具有最强的保鲜效果, 这可能是由于 CMS 和壳聚糖涂层的孔隙覆盖率大大降低了 CA 的挥发损失。同时, 壳聚糖和 CA 以逐层覆盖的形式存在, 可能对大肠杆菌的抑制有协同作用。



A: 400 mg/L 肉桂醛 400 mg/L CA; B: 400 mg/L 肉桂醛/羧甲基多聚糖包结物 400 mg/L CA/CMS; C: 肉桂醛/羧甲基多聚糖/壳聚糖自组装微胶囊 L-b-L self-assembly sample; D: 0.5% 壳聚糖溶液 0.5% chitosan solution; E: 无菌水 Sterile water. 柱状图上不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Columns with different small letters indicate significant difference ($P < 0.05$). 下图同 The same as below.

图 5 不同保鲜剂处理的鸡肉在储藏过程中大肠杆菌的数量变化

Fig.5 The effect of different antimicrobial solutions on fresh-keeping of chicken breast fillets by the count of *E. coli*

2.7 肉桂醛微胶囊对鸡肉储藏中挥发性盐基氮 (TVB-N) 含量影响

分别将 400 mg/L 肉桂醛(A)、400 mg/L 肉桂醛/羧甲基多聚糖包结物(B)、肉桂醛/羧甲基多聚糖/壳聚糖自组装微胶囊(C)、0.5% 壳聚糖溶液(D)、无菌水(E)等 5 种不同的溶液作为保鲜剂处理鸡肉, 并测量了其在储藏 10 d 中的挥发性盐基氮 (TVB-N) 含量变化(图 6)。这 5 种溶液处理后的鸡肉其 TVB-N 值均随储藏时间增加而增加, 这是由于肉类正常腐败过程中氨气及挥发性胺类化合物的产生导致。根据文献标准, 每 100 g 肉类食品中 TVB-N 含量超过 30 mg 时就不适宜人食用^[31]。在

4 °C 冷藏 1 d 后, 经 5 种不同保鲜剂处理的鸡肉 TVB-N 含量均小于 20 mg/100 g, 说明鸡肉均处于新鲜可食用的状态。而在储藏时间超过 4 d 后, 有 3 种鸡肉样品的 TVB-N 含量刚刚超过了 30 mg/100 g, 而用肉桂醛/羧甲基多聚糖/壳聚糖层层自主装 1 层的微胶囊处理的鸡肉在储藏 4 d 之后其 TVB-N 含量仍然维持在 30 mg/100 g 之下, 也就是仍然适合人食用的。从 10 d 的储藏情况来看, TVB-N 含量大小与处理鸡肉的保鲜剂有如下关系: 无菌水>壳聚糖>CA>CA/CMS≈CA/CMS>L-b-L 自组装 1 层微胶囊。此结果与肉桂醛及其包结物的抑菌活性试验结果一致, 再次证实了用 CMS 或 CMS/壳聚糖自组装包埋之后的肉桂醛微胶囊具有更好的缓释效果并有效延长了鸡肉的货架期(保质期)。在本组实验中由层层自组装 1 层形成的肉桂醛/羧甲基多聚糖/壳聚糖微胶囊具有最强的保鲜效果。

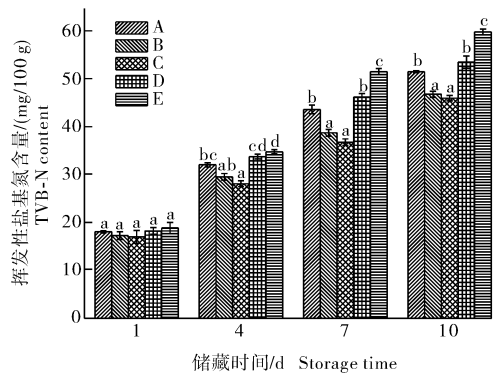


图 6 不同保鲜剂处理的鸡肉在 4 °C 储藏 10 d 中的挥发性盐基氮含量变化

Fig.6 Postmortem changes in TVB-N in chicken breast fillets stored at 4 °C during 10 days using different antimicrobial solutions

3 讨论

本研究制备了一种由肉桂醛/羧甲基多聚糖/壳聚糖通过层层自组装形成的新型肉桂醛微胶囊, 并通过傅里叶变换红外光谱、X 射线衍射、扫描电子显微镜、热分析等检测方法验证了其包结结构。该新型肉桂醛微胶囊的结构优点是肉桂醛小分子被包埋多孔结构的空腔中, 再通过自组装被壳聚糖膜包裹, 从而能够实现缓释肉桂醛并掩盖其风味的效果。通过抑菌实验和鸡肉保鲜中的大肠杆菌数量检测确认了这种新型肉桂醛微胶囊具有良好的广谱抑菌活

性。实际上动物性食品在储藏过程中会产生一系列生物化学变化,这是影响其货架期(保质期)的主要原因。本研究通过测定鸡肉在腐败过程中生成的具有挥发性的氨及胺类化合物(即挥发性盐基氮 TVB-N)的含量,来评估不同保鲜剂对鸡肉保鲜货架期、鲜度的影响^[32-33]。得益于肉桂醛微胶囊的缓释作用,鸡肉的保鲜货架期得到了有效延长。而且经羧甲基修饰的多孔淀粉具有较好的水溶性,在含水量较高的食物保鲜中能起到更有效输送保鲜剂的效果。根据抑菌实验及 TVB-N 含量测定实验结果,我们还可推测壳聚糖薄膜外壳与肉桂醛的抗菌活性可能通过协同作用增强了该微胶囊的保鲜性能。

羧甲基多孔淀粉和壳聚糖都是众所周知的绿色可食用材料,使用它们作为自组材料包结肉桂醛作为保鲜剂,具有很大的应用潜力,该微胶囊能通过缓慢释放肉桂醛起到更持久的抑菌保鲜效果,还有效掩盖了肉桂醛的风味,是一种理想的食品保鲜剂替代品。

参 考 文 献

- [1] GUTIERREZ L, ESCUDERO A, BATLLE R, et al. Effect of mixed antimicrobial agents and flavors in active packaging films[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2009, 57 (18): 8564-8571.
- [2] WEI Q Y, XIONG J J, JIANG H, et al. The antimicrobial activities of the cinnamaldehyde adducts with amino acids[J]. International journal of food microbiology, 2011, 150 (2/3): 164-170.
- [3] HILL L E, GOMES C, TAYLOR T M. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing essential oils (trans-cinnamaldehyde, eugenol, cinnamon bark, and clove bud extracts) for antimicrobial delivery applications[J]. LWT-food science and technology, 2013, 51(1): 86-93.
- [4] LOPEZ P, SANCHEZ C, BATTLE R, et al. Development of flexible antimicrobial films using essential oils as active agents [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2007, 55(21): 8814-8824.
- [5] CEVALLOS P A P, BUERA M P, ELIZALDE B E. Encapsulation of cinnamon and thyme essential oils components (cinnamaldehyde and thymol) in beta-cyclodextrin: effect of interactions with water on complex stability[J]. Journal of food engineering, 2010, 99(1): 70-75.
- [6] JIANG S, LI J N, JIANG Z T. Inclusion reactions of β -cyclodextrin and its derivatives with cinnamaldehyde in *Cinnamomum loureirii* essential oil [J]. European food research and technology, 2010, 230(4): 543-550.
- [7] TIAN Y Q, ZHU Y Q, BASHARI M, et al. Identification and releasing characteristics of high-amylose corn starch-cinnamaldehyde inclusion complex prepared using ultrasound treatment [J]. Carbohydrate polymers, 2013, 91(2): 586-589.
- [8] BRASIL I M, GOMES C, PUERTA-GOMEZ A, et al. Polysaccharide-based multilayered antimicrobial edible coating enhances quality of fresh-cut papaya [J]. LWT-food science and technology, 2012, 47(1): 39-45.
- [9] ARFA A B, PREZIOSI-BELLOY L, CHALIER P, et al. Antimicrobial paper based on a soy protein isolate or modified starch coating including carvacrol and cinnamaldehyde [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2007, 55(6): 2155-2162.
- [10] MURUA-PAGOLA B, BERISTAIN-GUEVARA C I, MARTINEZ-BUSTOS F. Preparation of starch derivatives using reactive extrusion and evaluation of modified starches as shell materials for encapsulation of flavoring agents by spray drying [J]. Journal of food engineering, 2009, 91(3): 380-386.
- [11] BELINGHERI C, CURTI E, FERRILLO A, et al. Evaluation of porous starch as a flavour carrier [J]. Food & function, 2012, 3 (3): 255-261.
- [12] BELINGHERI C, GIUSSANI B, RODRIGUEZ-ESTRADA M T, et al. Oxidative stability of high-oleic sunflower oil in a porous starch carrier [J]. Food chemistry, 2015, 166: 346-351.
- [13] ZHONG X U, MING M, PENG W, et al. Study on preparation and properties of carboxymethyl corn porous starch [J]. Food science, 2005, 26(10): 116-120.
- [14] GAO P S, ZHU Z Q, ZHANG P. Effects of chitosan-glucose complex coating on postharvest quality and shelf life of table grapes [J]. Carbohydrate polymers, 2013, 95(1): 371-378.
- [15] ARANAZ I, MENGIBAR M, HARRIS R, et al. Functional characterization of chitin and chitosan [J]. Current chemical biology, 2009, 3(2): 203-230.
- [16] GUO Z Y, REN J M, DONG F, et al. Comparative study of the influence of active groups of chitosan derivatives on antifungal activity [J]. Journal of applied polymer science, 2013, 127(4): 2553-2556.
- [17] XIA W S, LIU P, ZHANG J L, et al. Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides [J]. Food hydrocolloids, 2011, 25(2): 170-179.
- [18] MARUDOVA M, LANG S, BROWNSEY G J, et al. Pectin-chitosan multilayer formation [J]. Carbohydrate research, 2005, 340(13): 2144-2149.
- [19] MARTINON M E, MOREIRA R G, CASTELL-PEREZ M E, et al. Development of a multilayered antimicrobial edible coating for shelf-life extension of fresh-cut cantaloupe (*Cucumis melo* L.) stored at 4 degrees C [J]. LWT-food science and technology, 2014, 56(2): 341-350.
- [20] RIEGER K A, SCHIFFMAN J D. Electrospinning an essential oil: cinnamaldehyde enhances the antimicrobial efficacy of chitosan/poly(ethylene oxide) nanofibers [J]. Carbohydrate poly-

- mers, 2014, 113: 561-568.
- [21] MOREIRA S P, DE CARVALHO W M, ALEXANDRINO A C, et al. Freshness retention of minimally processed melon using different packages and multilayered edible coating containing microencapsulated essential oil[J]. International journal of food science and technology, 2014, 49 (10): 2192-2203.
- [22] SIPAHI R E, CASTELL-PEREZ M E, MOREIRA R G, et al. Improved multilayered antimicrobial alginate-based edible coating extends the shelf life of fresh-cut watermelon (*Citrullus lanatus*) [J]. LWT-food science and technology, 2013, 51(1): 9-15.
- [23] YAMADA T, HISAMATSU M, TERANISHI K, et al. Components of the porous maize starch granule prepared by amylase treatment[J]. Starch-starke, 1995, 47(9): 358-361.
- [24] STOJANOVIC Z, JEREMIC K, JOVANOVIC S, et al. A comparison of some methods for the determination of the degree of substitution of carboxymethyl starch[J]. Starch-starke, 2005, 57(2): 79-83.
- [25] YAO W R, YAO H Y. Adsorbent characteristics of porous starch[J]. Starch-starke, 2002, 54(6): 260-263.
- [26] ZENG Z F, FANG Y X, JI H B. Side chain influencing the interaction between beta-cyclodextrin and vanillin[J]. Flavour and fragrance journal, 2012, 27(5): 378-385.
- [27] WEI Q Y, XIONG J J, JIANG H. The antimicrobial activities of the cinnamaldehyde adducts with amino acids[J]. International journal of food microbiology, 2011, 150(2/3): 164-170.
- [28] VASKO P D, BLACKWELL J, KOENIG J L. Infrared and raman spectroscopy of carbohydrates. part II: Normal coordinate analysis of α -D-glucose[J]. Carbohydrate research, 1972, 23(3): 407-416.
- [29] ALI M T, FULE R, SAV A, et al. Porous starch: a novel carrier for solubility enhancement of carbamazepine [J]. AAPS Pharm-Sci Tech, 2013, 14(3): 919-926.
- [30] WHITTAM M A, NOEL T R, RING S G. Melting behaviour of A- and B-type crystalline starch [J]. International journal of biological macromolecules, 1990, 12(6): 359-362.
- [31] GOKODLU N, OZDEN O, ERKAN N. Physical, chemical and sensory analyses of freshly harvested sardines (*Sardina pilchardus*) stored at 4 degrees C[J]. Journal of aquatic food product technology, 1998, 7(2): 5-15.
- [32] OCANO-HIGUERA V M, MAEDA-MARTINEZ A N, MARQUEZ-RIOS E, et al. Freshness assessment of ray fish stored in ice by biochemical, chemical and physical methods[J]. Food chemistry, 2011, 125(1): 49-54.
- [33] QIAO L, TANG X, DONG J. A feasibility quantification study of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content in duck meat for freshness evaluation[J]. Food chemistry, 2017, 237: 1179-1185.

Preparation of a novel microcapsule of cinnamaldehyde and its effect on food preservation

SUN Linhao ZENG Zhen ZHOU Yao XIAO Feng CHEN Hao JIANG Hong

College of Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract In this study, the carboxymethyl porous starch (CMS) synthesized from the corn starch was used as coating material. The inclusion complex of cinnamaldehyde with CMS (CA/CMS) was prepared and its structure was characterized. The results showed that cinnamaldehyde was successfully packed in the porous structure of CMS. A Layer-by-layer self-assembly technique using chitosan, a cationic biopolymer with antimicrobial property, was used to encapsulate the anionic CMS. A novel cinnamaldehyde “CA-CMS-Chitosan” microcapsule was obtained. Its antimicrobial activity and effects on chicken breast fillets preservation were investigated. The results showed that this cinnamaldehyde microcapsule had a broad-spectrum antibacterial activity. It can effectively prolong the shelf life for chicken preservation.

Keywords cinnamaldehyde; carboxymethyl porous starch; chitosan; layer-by-layer self-assembly; food preservation