

纳米银抗菌包装对虾仁冷藏过程中品质的影响

罗晨¹, 董铮¹, 庄松娟², 李振兴¹, 林洪¹

(1. 中国海洋大学, 青岛 266003; 2. 青岛市食品药品检验研究院, 青岛 266071)

摘要: **目的** 制备一种可用于水产品冷藏保鲜包装的纳米银抗菌薄膜, 并测定其保鲜性能。 **方法** 将纳米银母粒与低密度聚乙烯颗粒混合, 并通过吹膜机生产纳米银质量分数为 1%, 2% 的抗菌活性薄膜, 通过测定 pH 值、TBARS 值、TVB-N 值、菌落总数等指标来分析纳米银抗菌活性薄膜对虾仁贮藏的效果。 **结果** 随着薄膜中纳米银含量的提高, 抗氧化能力和抑菌能力也相应提高。与低密度聚乙烯薄膜相比, 该薄膜的抑菌能力和抗脂质氧化能力可提高 50% 左右, 冷藏虾仁的货架期可延长 2 d。 **结论** 纳米银抗菌薄膜具有抗菌和抗氧化的作用, 并可延长虾仁在冷藏过程中的保质期, 有望成为一种新型的虾仁包装材料。 **关键词:** 纳米银; 虾仁; 包装; 保鲜

中图分类号: TB484.9; S988 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2018)07-0060-05

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2018.07.012

The Effect of Nano-silver Antibacterial Package on the Quality of Shrimp Meat during Cold Storage

LUO Chen¹, DONG Zheng¹, ZHUANG Song-juan², LI Zhen-xing¹, LIN Hong¹

(1. Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Qingdao Institute for Food and Drug Control, Qingdao 266071, China)

ABSTRACT: The work aims to prepare a kind of nano-silver antibacterial film used in preservation of aquatic products and evaluate its preservation capability. Nano-silver masterbatch and low-density polyethylene particles were mixed and the film blowing machine was used to produce the antibacterial film with nano-silver mass fractions of 1% and 2%. Based on the determination of pH, TBARS, TVB-N, the total number of bacterial colonies and other indicators, the effect of nano-silver active antibacterial film on the preservation capability of shrimp meat was analyzed. The antioxidant capacity and antibacterial activity of nano-silver antibacterial film were improved accordingly with the increase of nano-silver content. Compared with low density polyethylene film, the antibacterial activity and lipid antioxidant capacity of the film could be increased by about 50% and the shelf life of frozen shrimp meat could be extended for about 2 days. Featured by antibacterial activity and antioxidant capability and being able to extend the shelf life of shrimp meat during cold storage, the nano-silver antibacterial film has the potential of becoming a new packaging material of shrimp meat.

KEY WORDS: nano-silver; shrimp meat; packaging; preservation

虾类营养丰富^[1], 蛋白质含量高, 脂肪含量较低, 而且多不饱和脂肪酸含量高, 其中 DHA 和 EPA 含量较高, 经常食用虾类产品具有健脑益智、增强人体免疫力、预防心脑血管疾病的功效。虾类肉质柔软细嫩, 水分含量高, 容易被腐败菌侵入, 且所含酶类活性较强, 常温下贮藏很快会发生褐变、脂质氧化和腐败反应^[2]。冷冻贮藏中的冻结、解冻过程以及温度

波动引起的冰晶生长都会破坏虾肉质构, 而冷藏可以在较短时间内保持虾仁的良好质构和食用口感^[3]。普通保鲜膜可通过物理手段阻隔外部细菌和气体进入容器内部, 但对包装内环境中的氧气和细菌并无去除效果^[4]。

食物活性包装是指采用抗氧化剂、抗菌剂、异味(腐味)消除剂、水分和二氧化碳控制剂等来延长食

收稿日期: 2017-10-17

基金项目: 山东省重点研发计划(2016CYJS04A01); 水产品(甲壳类)高效保鲜技术模式建立与示范(2015ZDZX05003)

作者简介: 罗晨(1995—), 男, 中国海洋大学硕士生, 主攻水产品加工与贮藏。

通信作者: 李振兴(1978—), 男, 中国海洋大学教授, 主要研究方向为水产品加工及质量控制。

品的货架期、提高其安全性和改善感官性的包装技术^[5]。活性包装在起到阻隔外部细菌和空气的同时,对内部的气体环境和微生物环境也有调节作用^[6]。在冷藏保鲜过程中,若通过活性包装薄膜进行包装和真空处理,可以延长虾仁的保质期。

纳米银粉体的抑菌能力可达 99% 以上^[7],可将其作为活性成分加入塑料薄膜中制成活性抗菌包装。张瑶等^[8]将纳米银粉体添加至聚乙烯颗粒中,生产出纳米银质量分数为 0.15% 的保鲜盒和保鲜袋,并证实该保鲜处理对于保持杨梅品质有一定的作用。艾茜等^[9]采用类似的方法,将纳米银原料填入造粒机中制成纳米银/LDPE (低密度聚乙烯) 复合母粒,再由吹膜机吹膜制成,并对其物理性能指标进行检测。卢叶等^[10]也通过先造粒后吹膜的方式生产出载银抗菌剂/低密度聚乙烯抗菌薄膜,探究其物理性能的变化并证实该薄膜具有良好抗菌性。苏启枝^[11]等对食物包装中纳米银的迁移进行了研究,结果显示不管是包装的食品模拟物还是真实食品,纳米银的释放量都较小,从而显示出纳米银薄膜的安全性。目前纳米银薄膜对水产品的应用研究较少,薄膜生产一般将纳米银通过改性造粒的方法加入 LDPE 颗粒中,制成纳米银抗菌母粒,随后将母粒按适宜比例添加到 LDPE 颗粒中生产活性包装薄膜。

这里以纳米银抑菌母粒为纳米银载体生产纳米银抑菌薄膜,通过测定虾仁包装期间鲜度指标的变化评价薄膜保鲜性能,从而为优化纳米银薄膜的科研生产实践和纳米银薄膜在水产品保鲜中的应用提供一定理论依据。

1 实验

1.1 材料与设备

主要材料: 凡纳滨对虾,购自青岛市台东利群超市,处理前应保证 90% 以上的存活率,虾体大小较为均一,虾体表面呈现青灰色,用手抚摸触感较硬; JDSKM-PE 纳米银抑菌塑料母粒,购自晋大科技公司,120 元/kg,纳米银抗菌粉体质量分数为 20%。主要设备: JFG-30 共挤复合吹膜实验机,广州金中机械有限公司; UV1101 紫外可见分光光度计,杭州艾普仪器设备有限公司; STARTER 3100 实验室 pH 计,奥豪斯仪器(上海)有限公司; JYL-D051 九阳料理机,九阳股份有限公司。

1.2 纳米银活性薄膜的制备

选用纳米银抗菌粉体质量分数为 20% 的纳米银抑菌塑料母粒作为活性抗菌薄膜添加物。该抗菌母粒由纳米银粉末与 LDPE 熔融混合,通过造粒机熔融共混和改性造粒的方式制成,其目的在于预先将固态纳米银均匀混合于少量 LDPE 中。采用吹膜机产膜时,

将纳米银抗菌母粒和 LDPE 颗粒以一定比例混合,可使得纳米银在薄膜中分散得更加均匀。

采用 3 层共挤式吹膜机进行吹塑,设置螺杆前、中、后温度均为 180 °C,分流器区温度为 190 °C,模头区温度为 200 °C,3 个螺杆主机的转速均调节至 17.16 r/s,牵引电机转速调节至 10.84 r/s。纳米银为不挥发性组分,吹膜工艺中,可根据纳米银粉体的添加量计算活性包装薄膜中纳米银的含量。采用 1900 g LDPE 颗粒和 100 g 纳米银母粒的配比生产纳米银质量分数为 1% 的抗菌薄膜,采用 1800 g LDPE 颗粒和 200 g 纳米银母粒的配比生产纳米银质量分数为 2% 的抗菌薄膜,同时生产不含纳米银的纯 LDPE 薄膜作为对照。

1.3 实验设计

将凡纳滨对虾通过适当的前处理剥取虾仁,采用纳米银质量分数分别为 0, 1%, 2% 的 3 种活性薄膜通过真空包装机抽真空包装,标记并保存于 4 °C 冷藏柜中,记此时包装虾仁的天数为第 0 天,在第 2, 4, 6, 8, 10, 12 天分别打开相应天数的 3 个包装袋,取虾仁搅碎后进行虾仁鲜度指标的测定。

1.4 测定方法

1.4.1 pH 值

参照 Lopez-Caballero 等的方法,稍作修改。使用无菌均质机将 5 g 绞碎虾肉与 50 mL 去离子水以每分钟 10 次的强度均质 1 min。将均质液从无菌袋中倒入 50 mL 离心管中,放置于室温下保存 5 min,然后直接使用 pH 计测定虾肉均质液的 pH 值^[12]。在用 pH 值判断虾类鲜度的过程中,要注意测量得到的 pH 值是下降阶段还是上升阶段的 pH 值^[13]。测量时在同一虾仁样品均质液的上、中、下层各测量 3 次,同一样品在同一位置的 3 次测量结果相同时方可记录数据。

1.4.2 硫代巴比妥酸还原值

硫代巴比妥酸还原值(TBARS 值)的测定参照 Gomes^[14]和 Chevalia^[15]的方法略微进行改进。将虾仁绞碎,称取 10 g 于无菌袋中,加入 25 mL 体积分数为 25% 的三氯乙酸溶液和 20 mL 超纯水,于无菌均质机中以每分钟 10 次的速度均质 1 min。然后倒入离心管中,在 3000 r/min 的转速下离心 20 min,过滤。吸取 4 mL 的上清液和 4 mL 浓度为 0.02 mol/L 的硫代巴比妥酸溶液至 10 mL EP 管中,每个样品做 3 组重复,采用涡旋振荡器震荡 1 min 使其充分混合。再置于沸水浴中保温 40 min,流水冷却 5 min,于 532 nm 处测定吸光值 A_{532} 。用 2 mL 体积分数为 25% 的三氯乙酸溶液和 2 mL 超纯水及 4 mL 浓度为 0.02 mol/L 的 TBA 溶液作为空白对照组。每份虾仁样品吸光值的测定设计 3 组重复,结果取其算术平均值。TBARS

值以每千克样品含有的丙二醛质量表示,其计算为:

$$Q_T = 9.48 A_{532}$$

式中: Q_T 为 TBARS 值 (mg/kg); A_{532} 为溶液在 532 nm 处的吸光值; 9.48 为吸光值与丙二醛当量的换算系数。

1.4.3 挥发性盐基氮值

用电子天平准确称量 15 g 绞碎虾肉于 100 mL 锥形瓶中,加入 75 mL 超纯水后用保鲜膜封口浸提。不时震荡促使虾肉与水充分接触,1 h 后获得虾肉提取液。将该提取液倒入 50 mL 离心管配平,以 8000 r/min 的速率离心 15 min。离心后若不进行滴定可以放入冰箱冷藏室在温度为 4 °C 的环境中暂存。

虾仁提取液中挥发性盐基氮值 (TVB-N 值) 的测定方法参考 GB 5009.228—2016 中的微量测定法^[16]。每份虾仁样品挥发性盐基氮值的测定设计 3 组重复实验,再求取算术平均值,结果保留 3 位有效数字。根据国家标准规定,海虾的 TVB-N 值应小于等于 30 mg/(100 g)^[17]。

1.4.4 菌落总数

微生物指标采用有氧平板菌落计数进行测定^[18]。准确称量 5 g 虾肉,同 45 mL 无菌生理盐水在无菌袋中以每分钟 12 次的强度匀浆,制得 10 倍稀释的匀浆液;进行 10 倍逐步稀释进一步制得虾肉 10^2 , 10^3 和 10^4 稀释倍数的稀释液。移液枪量取 100 μ L 各样品的稀释液涂布营养琼脂 (调整 NaCl 质量分数为 1.5%) 平板 3 个,于 30 °C 恒温培养箱中培养 48 h,计数。肉眼观察平板中的菌落数量,当平板某些位置菌落过于密集时可以使用放大镜,记录稀释倍数和相应的菌落数量 CFU^[19]。处理数据时,计算 3 个平板菌落总数的算数平均值作为同一样品同一稀释度的菌落数。

1.5 数据分析

采用 Microsoft Office Excel 和 OriginPro 8.5.1 软件进行数据分析处理与作图,并进行显著性分析, $P > 0.05$ 表示变化不显著, $P < 0.05$ 表示变化显著,每组做 3 次平行实验,结果取 3 次试验平均值。

2 结果

2.1 pH 值

不同薄膜包装的虾仁 pH 值的变化见图 1。整体来看,无论是实验组纳米银质量分数为 1% 和 2% 的薄膜,还是对照组纯 LDPE 薄膜组, pH 值都呈现出随时间逐渐降低的趋势,推测可能是由于薄膜包装以及真空处理导致包装袋内氧气稀少,虾肉中含有的酵母菌、乳酸菌等无氧发酵产生的相关微生物成为优势菌群,进行无氧发酵产生了酸性物质。

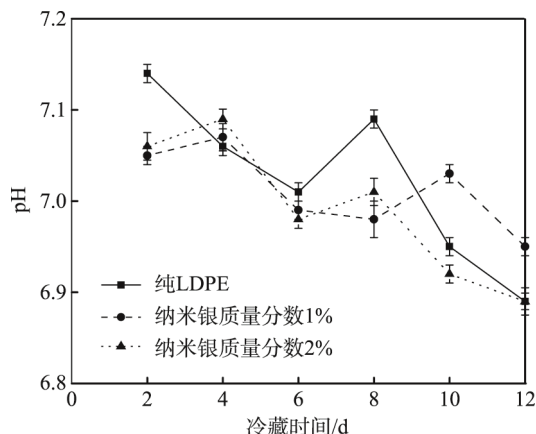


图 1 不同薄膜包装虾仁 pH 值的变化

Fig.1 Changes in pH of shrimp meat packaged by different films

由图 1 可知,纳米银的加入减缓了 pH 值的降低。由计算得出的直线斜率可知,纳米银质量分数为 1% 的薄膜其 pH 值的变化速率 ($y = -0.018x + 7.0747$) 相比纯 LDPE 薄膜 pH 值的变化速率 ($y = -0.0429x + 7.1733$) 降低了 1 倍以上。这可能是由于纳米银抗菌活性薄膜中溶出的纳米银对虾肉中产酸菌的生长繁殖产生了抑制作用,进而减缓了 pH 值降低的速率。

2.2 TBARS 值

不同薄膜包装的虾仁 TBARS 值的变化见图 2,可以看出,实验组纳米银质量分数为 1% 和 2% 的薄膜包装的虾仁总体脂质氧化水平均低于纯 LDPE 薄膜,体现出纳米银具有一定的抗氧化性能。在冷藏保鲜前期 (2~4 d),相比对照组,纳米银质量分数为 2% 的薄膜包装中虾仁的脂质氧化水平最高可以降低近 50%。

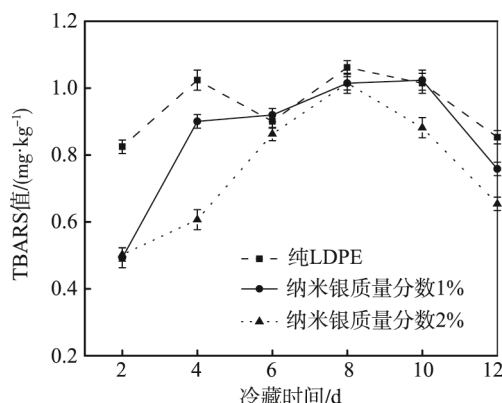


图 2 不同薄膜包装的虾仁 TBARS 值的变化

Fig.2 Changes in TBARS value of shrimp meat packaged by different films

推测纳米银表现出的抗氧化性能可以从以下 2 个角度考虑:微生物的角度,活性包装薄膜中含有的纳米银从薄膜中溶出,并对虾肉中腐败微生物的生长产生抑制作用,从而降低了细菌导致的虾肉氧化过程速率;化学本质角度,纳米银由于具有小尺寸效应和

极大的比表面积，在氧化剂含量逐渐增多时，一般情况下呈现惰性的银原子可能也表现出较强的还原性，最外层电子容易脱离原子核的束缚而离去，银原子失去电子变为更加稳定的银离子，同时还原部分氧化剂。

2.3 菌落总数

不同薄膜包装后虾仁菌落总数的变化见图 3，可以看出，随着时间的延长，3 组薄膜包装的虾仁样品中菌落总数均逐渐增多。相比纯 LDPE 薄膜对照组，纳米银质量分数为 1%，2% 的薄膜包装中虾仁样品菌落总数显著降低。虾仁样品的菌落总数与活性包装薄膜中的纳米银含量呈现出一定的负相关性，即随着活性包装薄膜中纳米银含量的升高，虾仁样品的菌落总数明显降低。纳米银具有优良的抗菌性能，上述结果可能是由于活性包装薄膜中的纳米银通过溶出的方式迁移到虾肉表面，抑制了细菌的生长和繁殖。

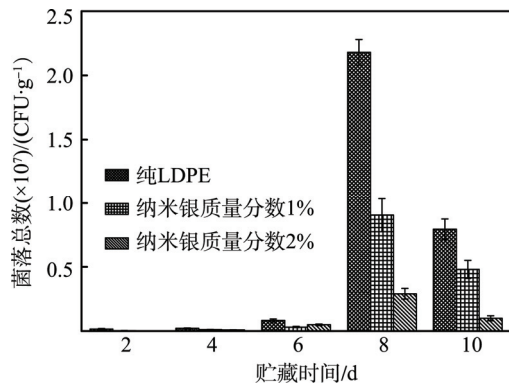


图 3 不同薄膜包装后虾仁菌落总数的变化
Fig.3 Changes in the total number of bacterial colonies of shrimp meat packaged by different films

贮藏前 6 d 时不同薄膜包装后虾仁菌落总数的变化见表 1，结合图 3 可以看出，在贮藏 6 d 前，腐败菌的数量增长速率较慢，6 d 后腐败菌的生长速率显著加快。这显示出第 6 天前，虾仁中腐败菌的生长进入快速增长期。纳米银对虾仁腐败菌的抑制作用主要体现在细菌繁殖的迟滞期，迟滞期内，在 LDPE 薄膜中加入纳米银，甚至可以起到近 50% 的抑菌效果。腐败菌的繁殖进入快速增长期后，纳米银的抗菌作用不再显著。推测出现该结果的原因除了与细菌的生长阶段相关外，也可能是薄膜表面甚至溶出至虾仁表面的纳米银，在虾体表面细菌入侵虾体前开始了抑制作用，即纳米银的抗菌时机与该过程相一致。这也体现了虾仁样品在处理，应尽快采用纳米银活性包装薄膜进行包装，以达到最佳抑菌效果和保鲜效果。

一般来说，当虾类菌落总数 $\leq 10^5$ CFU/g 时评定虾类为一级鲜度， 10^5 CFU/g $<$ 虾类菌落总数 $\leq 5 \times 10^5$ CFU/g 时评定虾类为二级鲜度，当菌落总数达到 10^6 CFU/g 时，通常虾肉已腐败变质不能食用，断定此时为货架期终点^[20]。贮藏 5 d 后纯 LDPE 薄膜包装

的虾仁就已经进入二级鲜度期，而纳米银活性包装薄膜包装的虾仁在贮藏 7 d 左右才进入二级鲜度期，此时纯 LDPE 薄膜包装的虾仁进入三级鲜度期，已经不能食用。从菌落总数方面进行考虑，相比纯 LDPE 薄膜，纳米银活性包装薄膜可以延长虾仁 2 d 左右的货架寿命。

表 1 贮藏前 6 d 时不同薄膜包装后虾仁菌落总数的变化
Tab.1 Changes in the total number of bacterial colonies of shrimp meat packaged by different films 6 days before the storage CFU/g

薄膜组别	贮藏时间/d		
	2	4	6
纯 LDPE	1.6×10^5	3.5×10^4	3.5×10^4
纳米银 质量分数为 1%	2.1×10^5	3×10^4	1.1×10^5
纳米银 质量分数为 2%	8.3×10^5	1.2×10^5	3.2×10^5

2.4 TVB-N 值

由于挥发性盐基氮主要指腐败菌对蛋白质降解后产生的氨及胺类物质，因此 TVB-N 值的分析可以结合菌落总数来讨论。不同薄膜包装的虾仁挥发性盐基氮的变化见图 4，可知挥发性盐基氮值在纯 LDPE 薄膜、纳米银质量分数为 1% 和 2% 的抗菌薄膜中均随着时间延长逐渐增大，体现了虾类腐败进程的趋势，即大分子蛋白质不断被降解为小分子肽、胺、氨基酸，并进一步被腐败菌分解产生氨及胺类物质。

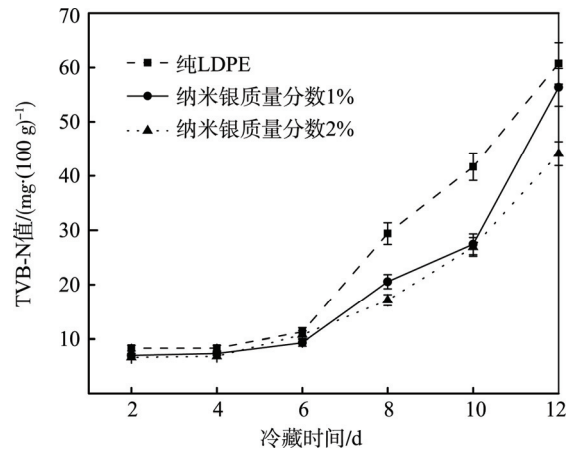


图 4 不同薄膜包装的虾仁挥发性盐基氮的变化
Fig.4 Changes in TVB-N of shrimp meat packaged by different films

由图 4 可以看出，与菌落总数数据类似，贮藏 6 d 后，TVB-N 值的增长明显加快，这与虾肉中腐败菌的增长一致，显示了虾肉分解速率明显加快。国家对 TVB-N 值的限量标准为 30 mg/(100 g)，从 TVB-N 值的角度考虑，贮藏约 9 d 后，纳米银质量分数为 1% 和 2% 的薄膜包装中虾仁达到腐败，而对照组纯 LDPE 薄膜包装的虾仁在约第 7 天就已经腐败，活性包装薄

膜大约可以延长虾仁样品 2 d 的货架期。

3 结语

通过按不同比例加入纳米银抗菌母粒的方式成功生产出了纳米银质量分数为 1% 和 2% 的抗菌薄膜。通过测定虾仁的 pH 值、硫代巴比妥酸还原值、菌落总数和 TVB-N 值等指标,发现该活性薄膜具有一定的抑菌性能和抗氧化能力,其中抑菌能力可以达到 50% 以上。尽管大多数保鲜指标显著性差异不明显,但是考虑虾类腐败变质的菌落总数指标,以及虾类腐败的挥发性盐基氮指标,纳米银活性薄膜包装的虾仁货架期延长了 2 d。同时薄膜中纳米银较低的释放量证实了抗菌薄膜的安全性,对于虾仁的超市陈列和家庭日常冷藏保鲜具有一定的意义。若能优化和提高纳米银抗菌活性包装中纳米银的含量以及与其他方式进行配合,可进一步应用于虾仁等水产品的冷藏包装。

参考文献:

- [1] TACON A G J, AKIYAMA D M, TAN R K H. Vitamin Nutrition in Shrimp and Fish[J]. Proceedings of Aquaculture Feed Processing and Nutrition Workshop, 1991(1): 10—41.
- [2] 沈月新. 水产食品学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [3] 曾名湧. 食品保藏原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
- [4] 张宁, 彭志英. 抗菌食品包装研究进展[J]. 食品工业, 2002(4): 39—41.
- [5] 王天军, 彭伟, 王瑜. 工业防腐剂应用手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2012.
- [6] HAUSER C, PEÑALOZA A, GUARDA A, et al. Development of an Active Packaging Film Based on a Methylcellulose Coating Containing Murta (Ugni Molinae, Turcz) Leaf Extract[J]. Food & Bioprocess Technology, 2016, 9(2): 298—307.
- [7] 陈希荣. 纳米级抗菌技术在液体奶包装的应用[J]. 中国包装, 2004(1): 94—96.
- [8] 张瑶, 杨京平, 杨莹跃, 等. 添加纳米粒子的塑料包装材料在杨梅保鲜中的作用[J]. 农机化研究, 2007(3): 111—114.
- [9] 艾茜, 胡长鹰, 林勤保, 等. 纳米银/低密度聚乙烯复合食品包装薄膜的表征及性能[J]. 食品工业科技, 2014, 35(22): 294—298.
- [10] 卢叶, 杨福馨, 张恒光. 载银抗菌剂/LDPE 抗菌薄膜的制备与性能研究[J]. 包装工程, 2013, 34(11): 27—30.
- [11] 苏启枝, 林勤保, 钟怀宁, 等. 纳米-塑料复合食品包装中的纳米成分及其迁移研究进展[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 1—15.
- [12] NILESHPRAKASH N, SOOTTAWAT B. Effect of Ferulic Acid on Inhibition of Polyphenoloxidase and Quality Changes of Pacific White Shrimp (Litopenaeus Vannamei) during Iced Storage[J]. Food Chemistry, 2009, 116(1): 323—331.
- [13] 刘美华. 大黄鱼微冻保鲜的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2004.
- [14] GOMES H A, SILVA E N, NASCIMENTO M R L, et al. Evaluation of the 2-Thiobarbituric Acid Method for the Measurement of Lipid Oxidation in Mechanically Deboned Gamma Irradiated Chicken Meat[J]. Food Chemistry, 2003, 80(3): 433—437.
- [15] CHEVALIER D, LE BAIL A, GHOUL M. Effects of High Pressure Treatment (100~200 MPa) at Low Temperature on Turbot (Scophthalmus Maximus) Muscle[J]. Food Research International, 2001, 34(5): 425—429.
- [16] GB 5009.228—2016, 食品中挥发性盐基氮的测定[S].
- [17] GB 2733—2015, 食品安全国家标准鲜、冻动物性水产品[S].
- [18] 孔茉莉. 纳米银粉的制备及其涂层抗海洋生物附着和抑菌性能研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- [19] GB 47892—2010, 食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定[S].
- [20] 曹荣, 刘淇, 殷邦忠. 对虾冷藏过程中感官品质与鲜度指标变化研究[J]. 湖南农业科学, 2010(21): 90—94.