

广藿香精油纳米乳液的制备、表征及性能研究

尹玉洁, 李 薇, 万 欣, 封嗣中, 戎春驰

Preparation, Characterization and Properties of Patchouli Essential Oil Nanoemulsion

YIN Yujie, LI Wei, WAN Xin, FENG Sizhong, and RONG Chunchi

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022110095>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

大豆分离蛋白-茶皂素复合乳化剂制备山茶油纳米乳液及其性质研究

Preparation of Camellia Oil Nanoemulsion by Soy Protein Isolate-Tea Saponin Compound Emulsifier and Properties of Nanoemulsion

食品工业科技. 2020, 41(22): 27-34,42 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020020138>

特种油脂纳米乳液超声制备工艺优化及其特性研究

Optimization of Special Oil Nanoemulsion Prepared using Ultrasonic by Response Surface Methodology and Its Characteristics Analysis

食品工业科技. 2020, 41(16): 131-139 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.16.022>

不同配方制备紫檀芪纳米乳液及其稳定性

Preparation of pterostilbene nanoemulsions with different formulation and its stability

食品工业科技. 2017(21): 69-75 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.21.014>

油相浓度对姜黄素纳米乳液稳定性的影响

Effect of oil phase concentration on the stability of curcumin nanoemulsion

食品工业科技. 2017(22): 17-21 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.22.004>

高压微射流制备橙皮精油纳米乳液影响因素研究

Study on the Factors Influencing the Preparation of Orange Oil Nanoemulsion by High-pressure Microfluidization

食品工业科技. 2020, 41(9): 69-73,80 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020.09.011>

OSA变性淀粉的乳化特性及其对纳米乳液构建影响的研究

Research of the emulsifying characteristics of OSA modified starch and the effect on the preparation of nano emulsions

食品工业科技. 2017(01): 59-64 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2017.01.003>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

尹玉洁, 李薇, 万欣, 等. 广藿香精油纳米乳液的制备、表征及性能研究 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(21): 30–36. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110095

YIN Yujie, LI Wei, WAN Xin, et al. Preparation, Characterization and Properties of Patchouli Essential Oil Nanoemulsion[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(21): 30–36. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110095

· 研究与探讨 ·

广藿香精油纳米乳液的制备、表征及性能研究

尹玉洁, 李 薇, 万 欣, 封嗣中, 戎春驰*

(南京师范大学食品与制药工程学院, 江苏南京 210023)

摘 要:为改善广藿香精油的稳定性及抑菌性, 采用高能乳化法, 利用吐温 80、焦磷酸硫胺素和壳聚糖共同乳化广藿香来制备纳米乳液, 并且分析广藿香精油纳米乳液的结构、粒径、 ζ 电位、多分散项系数。结果表明, 刚制备的广藿香精油纳米乳液粒径约为 89.5 nm; 包封率为 95.85%, 在室温条件下放置 7 d, 广藿香精油保留率保持在 85% 以上; 荧光显微镜和扫描电子显微镜图像证实了所制备的乳液的液滴为均匀的球形, 且乳液中油滴分布相对均匀; 傅里叶变换红外光谱和 X 射线衍射实验表明广藿香精油被包裹在纳米乳液中; 抗氧化实验表明广藿香精油纳米乳液具有良好的氧化稳定性; 抑菌实验表明广藿香精油纳米乳液在 7 d 内对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌有较好的抑制作用。研究发现, 相对比于纯精油, 广藿香精油纳米乳液表现出更好的稳定性和抑菌性, 因此在食品保鲜领域具有十分广阔的发展前景。

关键词:广藿香精油, 纳米乳液, 稳定性, 抑菌性能

中图分类号: TS209

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)21-0030-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022110095



本文网刊:

Preparation, Characterization and Properties of Patchouli Essential Oil Nanoemulsion

YIN Yujie, LI Wei, WAN Xin, FENG Sizhong, RONG Chunchi*

(College of Food and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: In order to improve the stability and bacteriostasis of patchouli essential oil, high-energy emulsification method was used to prepare patchouli essential oil nanoemulsion by using a mixture of tween 80, thiamine pyrophosphate and chitosan, its structure, particle size, ζ potential and polymer dispersity index were analysed. The results showed that the particle size of the newly prepared patchouli essential oil nanoemulsion was about 89.5 nm. The encapsulation rate of patchouli essential oil was 95.85%, and the retention rate remained above 85% for up to 7 days at room temperature. Furthermore, fluorescence microscopy and scanning electron microscopy demonstrated that the droplets of the emulsion were spherical and the dispersion of oil droplets was relatively uniform. It was also showed that the patchouli essential oil was encapsulated in nanoemulsion based on the Fourier transform infrared spectroscopy and X-ray diffraction experiments. The results of the antioxidation and antibacterial experiments showed that the patchouli essential oil nanoemulsion exhibited a better oxidation stability, it had a good inhibitory effect on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* within a period of 7 days. Altogether, patchouli essential oil nanoemulsion showed a better stability and bacteriostatic activity compared to pure essential oil, and had a broad application prospect in the fields of food preservation.

Key words: patchouli essential oil; nanoemulsion; stability; bacteriostasis

收稿日期: 2022-11-10

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (22208165)。

作者简介: 尹玉洁 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物大分子的合成与利用, E-mail: 1849667752@qq.com。

* 通信作者: 戎春驰 (1989-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 功能脂质与健康, E-mail: chunchirong@njnu.edu.cn。

广藿香精油(Patchouli essential oil, PEO)是从唇形科刺蕊草属植物广藿香植株中提取的一种植物精油,是一种具有壤香、木香和草药香的天然植物精油,主要的功能性成分是百里香酚、4-异丙基甲苯、 γ -松油烯和香芹酚等物质^[1]。此外,还含有多种萜类、酚类、酯类和醇类化合物等成分,具有抗癌、抗炎、抗氧化和抗菌活性^[2]。然而,由于 PEO 的味道有强烈刺激性、较强的挥发性和疏水性,还有对氧气和光的敏感性等各种缺点^[3],这些缺点严重限制了 PEO 在食品领域的广泛应用。

利用近些年来兴起的纳米乳液(Nanoemulsion, NE)技术来包埋精油,解决精油水溶性及稳定性差等缺点,精油 NE 在食品的抗菌保鲜领域已经越来越多的应用^[4],逐渐成为食品保鲜领域的热点技术。NE 是一种由油相、水相、表面活性剂等按照一定的比例制备而成的粒径范围为 50~500 nm 的胶体分散系统^[5]。大小均匀,透明或半透明^[6],具有高速离心稳定的性质,是动力学稳定体系之一^[7]。与纯精油相比较而言,精油 NE 的质地比较均匀、颗粒比较细腻、刺激性味道明显减弱,使用起来舒适感很强,在很长时间内都具有稳定性^[8]。

国内外对 NE 的制备主要采用高能乳化法和低能乳化法两种^[9]。低能乳化法是 NE 利用体系的内部化学能制备的,是由相变引起的。它包括相变温度、自发乳化和相反转合成过程^[10]。这些过程主要依赖于油、表面活性剂和其他组分界面性质的变化,以此得到合适的配方^[11]。如将肉桂^[12]、迷迭香^[13]和百里香酚^[14]等天然植物精油制备成 NE,再应用于新鲜蔬菜的保鲜。NE 粒径受油相^[15]和表面活性剂的亲水亲油平衡值^[16](Hydrohile-ipohilie balance, HLB)的影响。陈良红^[17]将木果油,吐温 80 分别加热至 70 ℃,在普通搅拌条件下将水相加入油相制备粗乳液,在 500 r/min 转速下冷却至 40 ℃,均质后冷却至室温,该法制备的体系稳定性很好。但是低能乳化法要考虑实验对象本身的理化性质,有一定的局限性。高能乳化法是通过机械装置利用高动能来制备 NE。Kotta 等^[18]是用高速搅拌机将油相、表面活性剂和水相混匀,然后在 10000 psi 的压力下用高压均质机均质处理,使用 UP200ST 超声波细胞破碎仪在 100 W 功率下对粗乳液进行 5 min 的超声处理,得到的 NE 稳定性良好,在室温下贮藏较长时间都无分层现象。Adhavan 等^[19]研究广藿香精油纳米乳液(Patchouli essential oil nanoemulsion, PEO NE)对福氏志贺菌、金黄色葡萄球菌、变形链球菌和白色念珠菌的抗菌和生物膜根除活性,发现 PEO NE 有较强的抗念珠菌活性。Park 等^[20]研究广藿香精油对长角血蜱若虫的驱避活性,发现 PEO NE 提高了 PEO 的驱避害虫能力,是一种潜在的长角海蛾驱避剂。Une 等^[21]研究了 PEO 在三种不同温度下的保质期,探究了 PEO 应用在香水市场的可能性。Manjeshk 等^[22]

研究了 PEO NE 对二斑叶螨成虫和斜纹夜蛾幼虫的杀虫效果,发现斜纹夜蛾幼虫表现出相当大的拒食和觅食威慑作用。

鉴于目前对 PEO 及 PEO NE 的研究较少,本文采用高能乳化法制备广藿香精油纳米乳液 PEO NE,通过荧光显微镜和扫描电子显微镜这两种仪器对 PEO NE 的微观结构进行了研究,进一步分析比较了 PEO NE 冻干样品的傅里叶红外光谱和 X 衍射光谱。此外,还研究了 PEO NE 的抗氧化活性和抑菌性能。该研究对基于小分子乳化剂的 NE 的开发具有重要的指导意义,NE 作为一种极具前景的抗菌剂,可以提高营养物质的贮藏期和生物利用度,改善生物活性化合物的递送,可进一步开发在食品保鲜等方面中的应用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

PEO(主要成分为藿香醇、广藿香烯、丁香酚、杜松烯) 江西华隆植物香料有限公司;壳聚糖(Chitosan, CTS, 低分子量,脱乙酰度>90%)、焦磷酸硫胺素(Thiamine pyrophosphate, TPP)、二氯甲烷(Dichloromethane, DCM)、乙酸、二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)、吐温 80、甲醇、ABTS 和 DPPH 上海麦克林生化科技有限公司;醋酸、氯化钠、乙醇、盐酸和氢氧化钠 中国上海国药集团化学试剂有限公司;实验中所有的水溶液 均用蒸馏水配制;2 株细菌:金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* ATCC 6538)和大肠杆菌(*Escherichia coli* ATCC 8739)

均来自南京师范大学食品与制药工程学院;其他化学品 均为分析级。

CR21N 型高速离心机 Hinac; Secura 分析天平 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;SM-3000C 型超声波细胞破碎仪 南京舜玛仪器设备有限公司;752N/721/722N 型紫外可见分光光度计 济南欧莱博科学仪器有限公司;奥龙 Aolong X 射线衍射仪(X-RAY XRD) 丹东奥龙射线仪器集团有限公司;DF-101S 型恒温水浴锅 湖南力辰仪器科技有限公司;高速剪切机 上海思峻机械设备有限公司;马尔文激光纳米粒度仪 Malvern Panalytical;CKX53 型奥林巴斯倒置荧光生物显微镜 上海巴玖实业有限公司;FEI Apreo 美国赛默飞扫描电镜 北京亿诚恒达科技有限公司;ALPHA II 型布鲁克傅立叶红外光谱仪 布鲁克(北京)科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 广藿香精油纳米乳液的制备过程 为了配制乳状液,根据陈莹莹等^[23]的制备方法并进行改善。分别制备了油相和水相。在 PEO 中加入二氯甲烷(1:3, v/v),搅拌至溶液溶解,即油相。将 1 g CTS 粉末分散到 100 mL 1% w/v 醋酸溶液中,在室温条件下以 1000 r/min 转速搅拌 16~24 h 左右。为了清除未溶解掉的 CTS 和其他的杂质,将得到的 CTS 溶

液进行 4000 r/min 离心 10 min 处理,取上清液用于后续实验。在乳化过程中,用蒸馏水将 CTS 溶液稀释至所需浓度,并调节 pH 至 6.5,即水相。

采用高能乳化法制备 PEO NE(图 1)。将油相、乳化剂吐温 80 和交联剂(TPP)缓慢加入 CTS 溶液中,用高速剪切机在冰浴中以 10000 r/min 的速度操作 3 min,再磁力搅拌 15 min 制备得到粗乳液。在剪切过程中,使用冰浴以避免加热效应。最后,通过超声波细胞破碎仪的作用,100 W,15 min,制备得到 PEO NE,室温贮存。

1.2.2 广藿香精油纳米乳液的表征

1.2.2.1 粒径、多分散性指数(Polydispersity index, PDI)、 ζ 电位 将新鲜制备的 PEO NE 送到科学指南针公司进行测定;将广藿香精油纳米乳液在室温条件下贮藏 30 d 后再次送到科学指南针公司进行测定。用马尔文激光粒度仪测定 PEO NE 的粒径、 ζ 电位和 PDI。样品在检测前稀释 10 倍左右,马尔文激光粒度仪测量范围 0.02~2000 μm ,扫描速度:1000 次/s^[24]。

1.2.2.2 包封率 采用超滤离心法^[25]测定 PEO NE 的包封率,连续测定 35 d。首先用移液枪吸取 400 μL 样品放到超滤离心管中,将离心管置于离心机中,10000 r/min 转速下离心 10 min,用移液枪吸取滤液,用无水乙醇定容至 10 mL,通过紫外分光光度计来测定 NE 的吸光度,根据标准曲线和稀释倍数关系计算出游离活性物的含量(W_f)。然后根据公式(1)计算 PEO NE 的包封率:

$$EE(\%) = \frac{W_t - W_f}{W_t} \times 100 \quad \text{式 (1)}$$

式中:EE 为包封率, W_t 为总活性物含量(mg), W_f 为游离活性物的含量(mg)。

1.2.2.3 荧光显微镜 采用荧光显微镜测定乳液的微观结构,分别测定新鲜制备的 PEO NE 和室温贮藏 30 d 的 PEO NE。在 10 $\times$ 目镜和 60 $\times$ 油镜下进行观测。用 1 mg/mL 尼罗红溶液对精油染色,样品染色 30 min 后进行观测。尼罗红溶液的激发波长是 561 nm,发射波长是 605 nm^[26]。

1.2.2.4 扫描电子显微镜 为了用扫描电镜分析评价 PEO NE 的形貌,把新鲜制备的样品在-40 $^{\circ}\text{C}$ 、真空 0.007 大气压下冷冻干燥 48 h。在 5.0 kV 的加速电压下,用扫描电子显微镜(SEM)对其形貌和大小

进行成像。粉状样品在检查前涂上一层金^[27]。

1.2.2.5 傅里叶变换红外光谱 用傅立叶变换红外光谱仪检测新鲜制备的 PEO NE 的结构变化。样品用溴化钾(1:100~1:200)在研钵中研磨成粉末。傅立叶变换红外光谱(FT-IR)的扫描范围为 4000~500 cm^{-1} ^[28]。

1.2.2.6 X 射线衍射 用 X 射线衍射仪(Cu-K α 辐射,波长 0.154 nm)获得 CTS 和新鲜制备的 PEO NE 的 X 射线衍射图。所有扫描均在 $2\theta=5^{\circ}\sim 40^{\circ}$ 范围内进行,扫描速度为 $2^{\circ}/\text{min}$ ^[29]。

1.2.2.7 抗氧化活性 采用 DPPH(2,2-二苯基-1-苦基肼)法和 ABTS 法测定 PEO NE 的抗氧化活性。根据邹小波等^[30]的方法测定 DPPH 自由基清除率。首先吸取 0.2 mL PEO NE 与 3 mL 的 DPPH 混合均匀,并于避光条件下放置 30 min。将 3 mL 的 DPPH 甲醇溶液(150 $\mu\text{mol/L}$)与 0.2 mL 甲醇溶液混合作为参照,测定 517 nm 处的吸光度值,并按照以下公式计算 DPPH 自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = \frac{A_f - A_c}{A_f} \times 100 \quad \text{式 (2)}$$

式中: A_f 为所测样品的吸光度; A_c 为所测参照的吸光度。

根据史亚濛^[31]的实验方法来测定 ABTS⁺自由基清除率。将 7 mmol/L 的 ABTS⁺溶液和 2.45 mmol/L K₂S₂O₈ 溶液混合,常温避光 12 h 后得到 ABTS⁺母液,并用超纯水稀释至其在 734 nm 处吸光度值为 0.700 $\pm$ 0.020,获得 ABTS⁺工作液。0.5 mL PEO NE (实验组)或超纯水(空白对照组)与 6.0 mL ABTS⁺稀释液混合,30 $^{\circ}\text{C}$ 反应 15 min 后在 734 nm 处测定吸光度值。ABTS⁺自由基清除率的计算公式如下:

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率}(\%) = \frac{A_0 - A_x}{A_0} \times 100 \quad \text{式 (3)}$$

式中: A_0 表示空白对照组吸光度值, A_x 表示实验组样品吸光度值。

1.2.2.8 抗菌活性 用抑菌圈直径(M_m)测定 PEO NE 的抗菌活性,连续测定 7 d。用剪刀将滤纸裁剪成直径为 6 mm 的圆形滤纸片,然后将滤纸片分别浸染于 PEO NE 中。待滤纸片完全浸染后将滤纸片置于已经涂布好菌株的培养皿中,设置三个平行。操作完成后,将培养皿置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中进行培养,记录培养时间。然后在不同时间测量其抑菌圈大小,根

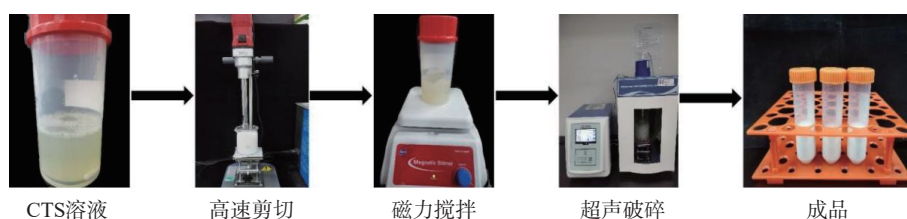


图 1 PEO NE 的制备

Fig.1 Preparation of PEO NE

据直径大小判定其抑菌性能^[32]。

1.3 数据处理

数据是三次实验的平均值±标准偏差, 数据处理软件是 Excel, 图形绘制软件是 Origin。使用 IBM SPSS Statistics 27 进行显著性差异分析。统计学差异采用单因素方差分析(ANOVA)和邓肯检验, 差异有统计学意义($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 PEO NE 的特性——粒径、PDI 和 ζ 电位

PEO NE 制备完成后, 首先测定了新鲜制备的 PEO NE 的粒径、 ζ 电位以及 PDI。其次测定了置于室温下贮藏 30 d 的 PEO NE 的粒径、 ζ 电位以及 PDI。如表 1 所示, 刚制备完成的 PEO NE 的粒径是 89.5 nm; 室温下贮藏 30 d 的 PEO NE 的平均粒径达到了 160.8 nm。刚制备完成的 PEO NE 的 ζ 电位是 20.8 mV; 室温下贮藏 30 d 的 PEO NE 的 ζ 电位达到了 9.67 mV。样品的 PDI 值在 0.253 到 0.363 之间, 这表明了 PEO NE 是均匀分布的、单分散的、稳定的颗粒群。

表 1 PEO NE 的粒径、PDI 和 ζ 电位
Table 1 Particle size, PDI and ζ potential of PEO NE

贮藏时间(d)	粒径(nm)	Zeta电位(mV)	PDI
0	89.5±5.4 ^b	+20.8±1.8 ^a	0.253±0.009 ^b
30	160.8±8.6 ^a	+9.67±0.7 ^b	0.363±0.005 ^a

注: 实验数据以平均值±标准偏差的形式表示, 同列不同字母表示具有显著性差异($P<0.05$), 相同字母表示不具有显著性差异($P>0.05$)。

2.2 包封率

一般来说, 包封率越高, 载体的物理化学稳定性越高。Ruengdech 等^[32]研究的儿茶素 NE 的包封率为 62%。李艺等^[33]研究的茶黄素 NE 的包封率为 56.89%。本文经过超滤离心法测定了 PEO NE 的包封率为 95.85%, PEO 被包裹于载体中。如图 2 所示, PEO NE 在 30 d 内包封率依然保持在 85% 以上, 表明 PEO NE 的包封率稳定性非常好, 原因可能是由于通过配方的改进, 体系中含有大量的 CTS, CTS 的粘度较大, 阻碍了分子间的热运动, 从而减小了被包裹的 PEO 分子之间的聚集从而结晶析出的过程^[34]; 另一方面, CTS 与聚甘油类的乳化剂具有非常

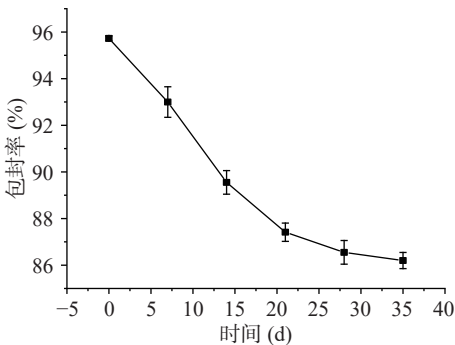


图 2 PEO NE 的包封率变化

Fig.2 Change of encapsulation efficiency of PEO NE

好的亲和性, 巨大的亲水基团向外与 CTS 结合, 形成了紧密的乳化剂外壳, 使 PEO 难以从中泄露出来, 从而提高了 PEO NE 的包封稳定性^[35]。

2.3 荧光显微镜

新鲜制备的 PEO NE 和室温贮藏 30 d 的 PEO NE 的荧光显微镜图如图 3 所示。由图 3 可见 PEO NE 在显微镜下呈现出非常微小、且分布均匀的小油滴, 但是仍能观察到新鲜制备的 PEO NE 分布更加密集, 并且 NE 的液滴尺寸较小, 这与表 1 中的数据是相对应的。通过对比新鲜制备的 PEO NE 和室温贮藏 30 d 的 PEO NE 的荧光显微镜图, 可以发现, 新鲜制备的 PEO NE 和室温贮藏 30 d 的 PEO NE 的油滴尺寸相差不大, 乳液中油滴仍然是分布相对均匀的, 表明 CTS 和吐温 80 共同乳化的 PEO NE 具有良好的稳定性。

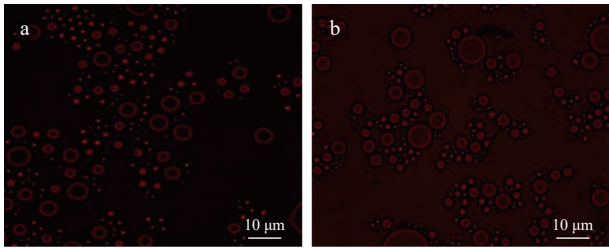


图 3 新鲜制备的 PEO NE 和室温下贮藏 30 d 的 PEO NE 荧光显微镜图

Fig.3 Fluorescence microscopy images of freshly prepared PEO NE and PEO NE stored at room temperature for 30 days
注: a: 新鲜制备的 PEO NE; b: 室温贮藏 30 d 的 PEO NE。

2.4 扫描电子显微镜

PEO NE 的 SEM 图如图 4 所示。PEO NE 具有颗粒均匀的球形表面形态, 这是因为 PEO 中的酚类物质可以与 CTS 的酰胺基发生相关反应来形成共价键, 从而增强 PEO NE 的凝胶网络。与此同时, 共价交联降低了在水中分散的 PEO NE 的溶胀度, 共价交联作用能够在冷冻干燥过程中保护 PEO NE 的完整, 从而能够维持 PEO NE 的完整性^[36]。

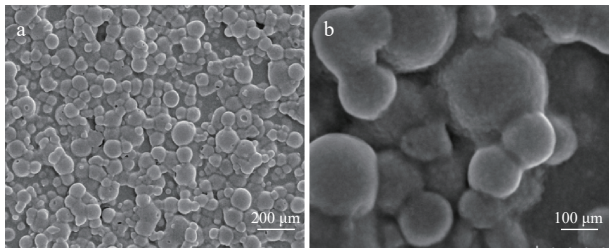


图 4 PEO NE 的扫描电镜图

Fig.4 SEM of PEO NE

2.5 傅里叶变换红外光谱

傅立叶变换红外光谱法(FT-IR)是确定纳米载体结构中各组分之间相互作用的一种很好的技术, 可以分析关于有机和无机成分分子结构的基本信息, 并提供从高空间分辨率(一般为 10 μm)的生物样品中收集化学信息的独特可能性^[37]。采用 FT-IR 对冷冻

干燥过的 PEO NE 的化学结构进行了分析。如图 5 所示, PEO NE 与 CTS 在 3007、2923、2879、2856、1745、1708、1462 和 1404 cm^{-1} 处出现不同的峰值。3000~3400 cm^{-1} 范围内的典型峰被认为是氢键, 氢键和疏水力都有助于大分子结构的稳定性。研究发现, 氢键附近疏水残基的存在通过形成脱水环境提高了后者的稳定性, 从而保护蛋白质或多肽免受水侵蚀。3007 cm^{-1} 处的宽而强的谱带可以归因于广藿香醇单体之间通过 O-H 键的分子间相互作用而产生的 O-H 键的伸缩振动模式。不同的样品在 2800~3000 cm^{-1} 范围内有多个峰, 这可能是由于 -CH₃ 基团在不同位置的拉伸振动模式引起的^[38]。2923、2879 和 2856 cm^{-1} 处的谱带与 PEO 单体之间的 C-H 伸缩振动有关。蛋白质二级结构主要特征是酰胺 I 带, 1600~1640 cm^{-1} 处的条带归属于 β -折叠, 1640~1650 cm^{-1} 处的条带对应于随机结构, 1650~1660 cm^{-1} 处的条带表示 α -螺旋结构, 1660~1700 cm^{-1} 处的条带表示 β -转角。1745 cm^{-1} 和 1708 cm^{-1} 处的条带分别归因于 PEO 中 δ -愈创木烯的不对称和对称振动。1462 cm^{-1} 和 1404 cm^{-1} 处出现了指定的峰, 可能跟 PEO NE 过程中添加的焦磷酸硫胺素有关^[39]。

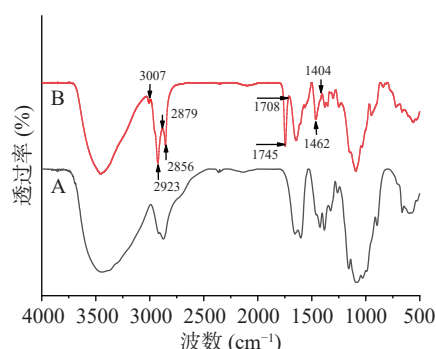


图 5 傅里叶变换红外光谱图

Fig.5 Fourier transform infrared spectrogram
注: A: CTS; B: PEO NE; 图 6 同。

2.6 X 射线衍射

图 6 显示了 CTS(A)的晶体结构、PEO NE(B)的晶体结构。CTS 的衍射光谱显示在 20°的 2 θ 处有一个尖峰, 而 PEO NE 的衍射图中峰值较小, 这可能是由于其无定形, 其结晶度较高^[40]。并且乳化过程

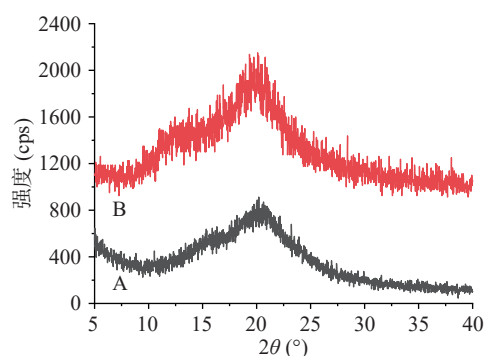


图 6 X 射线衍射图

Fig.6 X-ray diffraction pattern

中 TPP 的交联反应破坏了 CTS 的晶体结构, 这表明 PEO 的加入可能导致 CTS TPP 复合物结构的改变, 从而导致 PEO NE 的峰值较小。

2.7 DPPH 和 ABTS 抗氧化性实验

本研究通过 DPPH 和 ABTS 法对 PEO NE 的抗氧化活性进行测定, 其结果如图 7 所示。DPPH 和 ABTS 实验结果均表明, 与纯浓度的 PEO 相比, PEO NE 具有更强的抗氧化能力, DPPH 自由基清除率达到 69.64%, ABTS⁺自由基的清除能力可达到 66.53%, PEO NE 的自由基清除能力得到增强, 表明 PEO 经过乳化作用, 具有较好的抗氧化能力。NE 对 PEO 的保护作用更强, 抗氧化性能更好。这是由于 PEO 中强抗氧化组分百里香酚的成功负载。PEO 强大的抗氧化活性归因于百里香酚结构中存在大量的酚基, 其被认为是酚类物质抗氧化功能的活性位点^[41]。已有研究报道酚基在姜黄素的抗氧化活性中起主要作用^[42]。

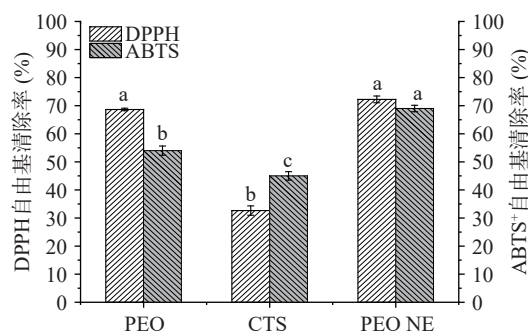


图 7 PEO、CTS、PEO NE 的抗氧化能力

Fig.7 Antioxidant capacity of PEO, CTS, PEO NE
注: 不同处理组之间, 不同字母代表存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.8 抑菌性能

在抑菌实验中, 选取金黄色葡萄球菌和大肠杆菌作为本实验的实验菌种, 在不同的时间段分别检测 PEO NE 的抑菌性。如图 8 所示, 在 7 d 内 PEO 对金黄色葡萄球菌的抑菌圈变化范围是 11.9~14.3 mm, PEO NE 对金黄色葡萄球菌的抑菌圈变化范围是 13.9~17.1 mm。在 7 d 内 PEO 对大肠杆菌的抑菌圈

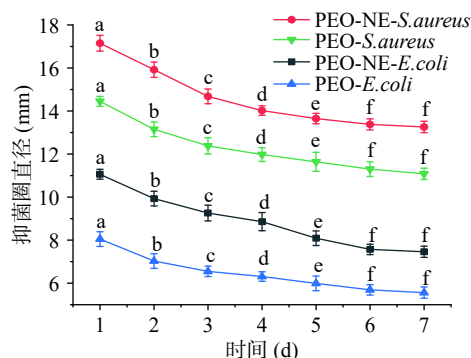


图 8 PEO NE 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的影响

Fig.8 Impact of PEO nanoemulsion on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

注: 同组不同时间下, 不同字母代表存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

变化范围是 5.6~8 mm, PEO NE 对大肠杆菌的抑菌圈变化范围是 7.9~11 mm。由此可见,在相同含量的 PEO 和 PEO NE 以及其他外界因素一致的情况下,PEO NE 对 2 种供试菌抑菌效果均比 PEO 的抑菌效果好。这可能是因为 NE 通过运输活性物质,PEO NE 在水中的溶解性和稳定性均明显提升,增加了分散性,提高了比表面积,并且可以与细菌细胞膜相互作用导致细胞裂解^[43]。而且研究结果还表明 PEO NE 对金黄色葡萄球的抑制效果要好于大肠杆菌。

3 结论

本文通过将 PEO 制备成 NE,对 PEO NE 进行表征,还探究了 PEO NE 的稳定性和抑菌性等性能。荧光显微镜和扫描电镜结果显示 PEO NE 具有良好的稳定性;傅里叶变换红外光谱和 X 射线衍射图谱分析 PEO NE 的具体化学键变化。通过测定 PEO NE 的 DPPH 和 ABTS 抗氧化活性,表明 PEO NE 具有良好的抗氧化稳定性;抑菌实验表明 PEO NE 对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌具有良好的抑制效果。PEO NE 对革兰氏阳性菌的敏感性大于其他种类的菌株,可在后续深入研究 NE 对革兰氏阳性菌的作用机制。NE 作为一种极具前景的抗菌剂,可以提高营养物质的贮藏期和生物利用度,改善生物活性化合物的递送,可进一步开发在食品保鲜等方面的应用。

参考文献

- [1] LALTHAFAMKIMI L, BHAU B S, KUMAR S, et al. Indirect organogenesis-mediated high frequency conversion of non-embryonic synthetic seeds, essential oil profiling and antibacterial activity in genetically stable plants of patchouli[J]. *3 Biotech*, 2022, 12(12): 349.
- [2] BUNRATHEP S, THONGPHASUK P, SETTHARAKSA S, et al. Effect of an essential oil blend of citronella, lemongrass, and patchouli on acne-causing bacteria[J]. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 2020, 42(5): 1106–1112.
- [3] JIA Jingfu, DUAN Shulei, ZHOU Xue, et al. Long-term antibacterial film nanocomposite incorporated with patchouli essential oil prepared by supercritical CO₂ cyclic impregnation for wound dressing[J]. *Molecules*, 2021, 26(16): 5005.
- [4] ARAHMAN N, ROSNELLY C M, WINDANA D S, et al. Antimicrobial hydrophilic membrane formed by incorporation of polymeric surfactant and patchouli oil[J]. *Polymers*, 2021, 13(22): 3872.
- [5] ALOTAIBI W A, ALMOTWAA S M. Oxaliplatin-loaded nanoemulsion containing *Teucrium polium* L. essential oil induces apoptosis in colon cancer cell lines through ROS-mediated pathway[J]. *Drug Delivery*, 2022, 29(1): 2190–2205.
- [6] PENICHE T, DUARTE J L, FERREIRA R M A, et al. Larvicidal effect of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. essential oil nanoemulsion on *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae)[J]. *Molecules*, 2022, 27(23): 8433.
- [7] WANG Ke, HONG Yan, GU Zhengbiao, et al. Fabrication and characterisation of spice essential oil-based nanoemulsions: Physical, sensory and antimicrobial properties[J]. *International Journal of Food Science & Technology*, 2022, 57(12): 7852–7861.
- [8] POLAT Y G, SEZER E, SIÇRAMAZ H. Inhibitory effect of sodium alginate nanoemulsion coating containing myrtle essential oil (*Myrtus communis* L.) on *listeria monocytogenes* in kasar cheese[J]. *Molecules*, 2022, 27(21): 7298.
- [9] JAVANMARDI Z, KOUSHESH S M, NOURBAKHS H, et al. Efficiency of nanoemulsion of essential oils to control *Botrytis cinerea* on strawberry surface and prolong fruit shelf life[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2023, 384: 109979.
- [10] WALKER REBECCA M, DECKER ERIC A, MCCLEMENTS DAVID J. Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size[J]. *Journal of Food Engineering*, 2015, 164: 10–20.
- [11] CHANG Y H, MCCLEMENTS D J. Optimization of orange oil nanoemulsion formation by isothermal low-energy methods: Influence of the oil phase, surfactant, and temperature[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(10): 2306–2312.
- [12] BADR M M, BADAWEY M E I, TAKTAK N E M. Preparation, characterization, and antimicrobial activity of cinnamon essential oil and cinnamaldehyde nanoemulsions[J]. *Journal of Essential Oil Research*, 2022, 34(6): 544–558.
- [13] RESTREPO ANDREA E, ROJAS JOSÉ D, GARCÍA OMAR R, et al. Mechanical, barrier, and color properties of banana starch edible films incorporated with nanoemulsions of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) and rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oils[J]. *Food Science and Technology International*, 2018, 24(8): 705–712.
- [14] SUBAHARAN K, SENTHAMARAI S P, SUBRAMANYA T M, et al. Ultrasound-assisted nanoemulsion of trachyspermum ammi essential oil and its constituent thymol on toxicity and biochemical aspect of aedes aegypti[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2022, 29(47): 71326–71337.
- [15] KUMAR H, SARMA A K, KUMAR P. A comprehensive review on preparation, characterization, and combustion characteristics of microemulsion based hybrid biofuels[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2020, 117(C): 109498–109510.
- [16] SOMALA N, LAOSINWATTANA C, TEERARAK M. Formulation process, physical stability and herbicidal activities of cymbopogon nardus essential oil-based nanoemulsion[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1): 10280.
- [17] 陈良红. 含乳木果油 NE 的制备技术及其应用研究[D]. 上海: 上海应用技术学院, 2015. [CHEN Lianghong. Study on the preparation technology and application of shea butter containing nano lotion[D]. Shanghai: Shanghai Institute of Applied Technology, 2015.]
- [18] KOTTA S, KHAN A W, ANSARI S H, et al. Formulation of nanoemulsion: A comparison between phase inversion composition method and high-pressure homogenization method[J]. *Drug Delivery*, 2015, 22(4): 455–466.
- [19] ADHAVAN P, KAUR G, PRINCY A, et al. Essential oil nanoemulsions of wild patchouli attenuate multi-drug resistant gram-positive, gram-negative and *Candida albicans*[J]. *Industrial Crops & Products*, 2017, 100: 106–116.
- [20] PARK J H, KIM H J, WIMALASENAB S H M P, et al. *In vitro* repellent efficacy of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. [Lamiaceae] essential oil and its nanoemulsion against *Haemaphysalis longicornis* (Acari: Ixodidae)[J]. *International Journal of Acarology*, 2022, 48(6): 466–471.
- [21] UNE VIDHITA R, BONDARDE M P, SOME S. Formulation and development of water-based fragrance from patchouli es-

- sential oils using nonionic surfactant[J]. *Applied Nanoscience*, 2022, 12(7): 2117–2125.
- [22] MANJESH K, KUNDU A, DUTTA A, et al. Bio-Insecticidal nanoemulsions of essential oil and lipid-soluble fractions of pogostemon cablin[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, 13: 874221.
- [23] 陈莹莹, 白礼涛, 刘抗, 等. 薄荷 NE 的制备及抗菌特性研究[J]. *合肥工业大学学报(自然科学版)*, 2022, 45(11): 1569–1574.
- [CHEN Yingying, BAI Litao, LIU Kang, et al. Preparation and antibacterial properties of peppermint oil nanoemulsion[J]. *Journal of Hefei University of Technology (Natural Science Edition)*, 2022, 45(11): 1569–1574.]
- [24] 李林竹, 盛超越, 李艺, 等. 表没食子儿茶素-壳聚糖 NE 的制备及其性能分析[J]. *食品科技*, 2022, 47(5): 254–259.
- [LI Linzhu, SHENG Zhaoyue, LI Yi, et al. Preparation and performance analysis of epigallocatechin chitosan nanoemulsion[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(5): 254–259.]
- [25] SANTOS J, TRUJILLO-CAYADO L A, BARQUERO M, et al. Influence of type and concentration of biopolymer on β -carotene encapsulation efficiency in nanoemulsions based on linseed oil[J]. *Polymers*, 2022, 14(21): 4640.
- [26] 侯克洪, 冯潇, 高成成, 等. 肉桂精油 NE 的抑菌性和稳定性研究[J]. *中国粮油学报*, 2020, 35(11): 86–92.
- [HOU Kehong, FENG Xiao, GAO Chengcheng, et al. Study on bacteriostasis and stability of cinnamon essential oil nanoemulsion[J]. *Chinese Journal of Cereals and Oils*, 2020, 35(11): 86–92.]
- [27] ZHAO Tiaobin, XU Chao, MA Yitong, et al. Study on preparation and structure of chrysanthemum-shaped micron calcium carbonate based on inverse microemulsion[J]. *Micro & Nano Letters*, 2020, 15(15): 1151–1155.
- [28] SHARIFI-RAD A, MEHRZAD J, DARROUDI M, et al. Oil-in-water nanoemulsions comprising berberine in olive oil: Biological activities, binding mechanisms to human serum albumin or holotransferrin and QMMD simulations[J]. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2021, 39(3): 1029–1043.
- [29] 王策. 大麻二酚递送载体的构建、稳定性及生物利用率研究[D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [WANG Ce. Construction, stability and bioavailability of cannabinoid delivery vector[D]. Changchun: Jilin University, 2022.]
- [30] 邹小波, 王圣, 石吉勇, 等. 天然花青素提取物与壳聚糖明胶复合膜的制备和表征[J]. *农业工程学报*, 2016, 32(17): 294–300.
- [ZOU Xiaobo, WANG Sheng, SHI Jiyong, et al. Preparation and characterization of composite membrane of natural anthocyanin extract and chitosan gelatin[J]. *Journal of Agricultural Engineering*, 2016, 32(17): 294–300.]
- [31] 史亚濛. 花椒精油 NE 的制备、特性表征及其应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2022.
- [SHI Yameng. Preparation, characterization and application of zanthoxylum bungeanum essential oil nanoemulsion[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2022.]
- [32] RUENGDECH A, SIRIPATRAWAN U. Improving encapsulating efficiency, stability, and antioxidant activity of catechin nanoemulsion using foam mat freeze-drying: The effect of wall material types and concentrations[J]. *LWT*, 2022, 162.
- [33] 李艺, 甘晴, 李林竹, 等. 茶黄素-3,3'-双没食子酸酯-壳聚糖 NE 制备及其性能分析[J]. *中国食品添加剂*, 2022, 33(9): 151–158.
- [LI Yi, GAN Qing, LI Linzhu, et al. Preparation and performance analysis of theaflavin-3,3'-bis gallate chitosan nanoemulsion[J]. *China Food Additives*, 2022, 33(9): 151–158.]
- [34] 邹长鑫, 吴鹏, 刘苗苗, 等. 溶剂非溶剂法制备四逆汤微囊研究[J]. *科技资讯*, 2019, 17(12): 178–180, 182.
- [ZOU Changxin, WU Peng, LIU Miaomiao, et al. Study on the preparation of Sini decoction microcapsules by solvent non solvent method[J]. *Science and Technology Information*, 2019, 17(12): 178–180, 182.]
- [35] 龙腾, 陈义强, 柯文林, 等. 超细 SiO_2 改性壳聚糖膜的制备、表征及蛋白质分离性能研究[J]. *应用海洋学学报*, 2022, 41(4): 607–613.
- [LONG Teng, CHEN Yiqiang, KE Wenlin, et al. Ultra-fine SiO_2 preparation, characterization and protein separation performance of modified chitosan membrane[J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2022, 41(4): 607–613.]
- [36] BARDHAN S, KUNDU K, PAUL B K, et al. Interfacial composition and characterization of a quaternary water-in-oil mixed surfactant (cationic of different alkyl chain lengths+polyoxyethylene type nonionic) microemulsions in absence and presence of inorganic salts[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2013, 433(4): 219–229.
- [37] TABIBIAZAR M, DAVARAN S, HASHEMI M, et al. Design and fabrication of a food-grade albumin-stabilized nanoemulsion[J]. *Food Hydrocolloids*, 2015, 44: 220–228.
- [38] LOEKER F, MARR P C, HOWDLE S M. FTIR analysis of water in supercritical carbon dioxide microemulsions using monofunctional perfluoropolyether surfactants[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2003, 214(1): 143–150.
- [39] LONE I H, AHMED J, AHMAD T. Reverse micellar synthesis, characterization, magnetic and ferroelectric properties of YFeO_3 nanoparticles[J]. *Materials Today: Proceedings*, 2018, 5(7): 15303.
- [40] YAN Xuechao, ZHANG Xiaoping, LI Qian. Preparation and characterization of CS/ β -CD/Nano-ZnO composite porous membrane optimized by Box-Behnken for the adsorption of Congo red[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2018, 25(22): 22244–22258.
- [41] QUIDEAU S, DEFFIEUX D, DOUAT-CASASSUS C, et al. Plant polyphenols: Chemical properties, biological activities, and synthesis[J]. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 2011, 50(3): 586–621.
- [42] PRIYADARSINI K I, MAITY D K, NAIK G H, et al. Role of phenolic O-H and methylene hydrogen on the free radical reactions and antioxidant activity of curcumin[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2003, 35(5): 475–484.
- [43] RYU V, CORRADINI M G, MCCLEMENTS D J, et al. Impact of ripening inhibitors on molecular transport of antimicrobial components from essential oil nanoemulsions[J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2019, 556(C): 568–576.