

茶树精油壳聚糖乳液的制备及其抗氧化、防霉性能研究

刘喜明¹, 曹红云², 陈雪梅², 廖晓宝³, 马景蕃^{2*}

1. 龙岩学院传播与设计学院, 福建龙岩 364012; 2. 龙岩学院生命科学学院, 福建龙岩 364012; 3. 福建优创农业发展有限公司, 福建龙岩 364012

摘要: 以天然来源的茶树精油及壳聚糖为原料, 以吐温-80 为乳化剂, 无水乙醇为助乳化剂, 采用超高压均质法制备茶树精油壳聚糖乳液, 通过响应面试验优化其制备条件, 考察茶树精油壳聚糖乳液在不同温度条件下的贮藏稳定性, 并评价其抗氧化活性及防霉特性。结果表明: 茶树精油壳聚糖乳液最佳的制备条件为均质压力 160 MPa, 茶树精油质量分数为 12%, 复合乳化剂质量分数为 4%, 在此条件下乳液粒径为 99.24 nm。在 4、25、50 °C 下贮藏 28 d, 其粒径保持在 164 nm 以内, Zeta 电位均超过 39 mV, 多分散指数 (PDI) 保持在 0.53 以内, 表明乳液的贮藏稳定性较好。乳液对 DPPH 自由基及 OH 自由基的 IC₅₀ 值分别为 22.82、18.75 μL/mL, 表明乳液具有较好的抗氧化活性。乳液防霉试验表明, 经茶树精油壳聚糖乳液处理后, 竹材的防霉能力与未处理竹材相比均有提高, 当处理浓度为 80 μL/mL 时, 防霉效果显著。

关键词: 茶树精油壳聚糖乳液; 超高压制备; 稳定性; 抗氧化性; 防霉特性

中图分类号: TS201.2 文献标志码: A

Preparation of Tea Tree Oil Chitosan Emulsion and Its Antioxidation and Anti-mildew Properties

LIU Ximing¹, CAO Hongyun², CHEN Xuemei², LIAO Xiaobao³, MA Jingfan^{2*}

1. College of Communication and Design, Longyan University, Longyan, Fujian 364012, China; 2. College of Life Sciences, Longyan University, Longyan, Fujian 364012, China; 3. Fujian Youchuang Agricultural Development Co., Ltd., Longyan, Fujian 364012, China

Abstract: Tea tree oil (TTO) chitosan emulsion was prepared by ultra-high pressure homogenization method with natural TTO and chitosan as raw materials, Tween-80 as emulsifying agent, and ethanol as co-emulsifying agent. The preparation conditions were optimized by response surface test. The storage stability of TTO chitosan emulsion at different temperatures was investigated, and its antioxidant activity and mildew proof properties were evaluated. The optimal preparation conditions of the emulsion were as follows, the homogenization pressure 160 MPa, the mass fraction of tea tree oil 12%, and the mass fraction of compound emulsifier 4%. Under the conditions, the particle size of the emulsion was 99.24 nm. When stored at 4, 25 and 50 °C for 28 days, the particle size remained within 164 nm, the Zeta potential all exceeded 39 mV, and the PDI remained within 0.53, indicating that the storage stability of the emulsion was good. The IC₅₀ value of DPPH radical and OH radical of the emulsion was 22.82 μL/mL and 18.75 μL/mL, respectively, indicating that the emulsion had good antioxidant activity. The mildew proof test showed that the mildew proof ability of bamboo treated with TTO chitosan emulsion was higher than that of untreated bamboo. When the treatment concentration was 80 μL/mL, the antifungal effect was significant.

Keywords: tea tree oil chitosan emulsion; ultra high pressure preparation; stability, antioxidant activity; anti-mildew property

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.10.024

收稿日期 2025-04-30; 接受日期 2025-05-24

基金项目 福建省科技厅对外合作项目 (No. 2024I0025)。

作者简介 刘喜明 (1978—), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物活性及竹材防霉防腐研究。*通信作者 (Corresponding author): 马景蕃 (MA Jingfan), E-mail: m_jingfan@163.com。

茶树精油 (tea tree oil, TTO) 是从澳洲茶树 (*Melaleuca alternifolia*) 的茎叶中提取的天然活性物质^[1], 具有广谱抗菌、抗炎、抗氧化及防霉等特性^[2], 被广泛应用于医药、食品保鲜和日化产品领域。然而, 茶树精油本身存在水溶性差、易氧化挥发、生物利用率低等问题^[3], 严重限制了其实际应用。近年来, 通过乳化技术将茶树精油包裹于生物相容性材料中制成乳液以提高其应用性和稳定性^[4]成为研究热点。壳聚糖是自然界唯一带阳离子的碱性多糖, 是一种可再生的天然高分子物质, 具有无毒、生物相容性好、可生物降解及抗菌性能强等优点, 可与带多个负电荷的其他物质发生交联, 保护生物活性成分不受外界环境的影响, 已被广泛用作天然乳化载体, 可有效保护活性成分并实现缓释功能^[5]。另外, 壳聚糖在溶液中的特殊链结构可以渗透到竹材细胞壁中, 形成互穿的聚合物网络结构, 竹材中含有大量羟基, 可以和壳聚糖中的氨基或羟基形成分子间氢键, 可以减少聚合物在竹材中的流失^[6]。研究发现, 乳液可以保护、携带和释放生物活性物质^[7], 另外, 亲脂性化合物在乳化后界面面积增大, 可提高其水溶性和生物利用率^[8]。超高压均质作为一种新型食品加工技术, 在一些油性成分乳液的制备中已得到应用, 该技术具有表面活性剂的用量少、乳液粒径小、乳化时间短、体系稳定等优点。已有采用超高压均质制备大豆多肽纳米乳^[9]、桂鱼乳^[10]等乳液的文献报道。

基于此, 本研究以超临界 CO₂ 萃取的茶树精油为原料, 结合壳聚糖的成膜特性与超高压均质技术, 优化制备工艺参数 (均质压力、壳聚糖浓度及乳化剂配比), 系统评价制得乳液的理化性质、抗氧化活性及防霉性能。通过响应面法优化工艺, 结合体外抗氧化模型 (DPPH、OH 自由基清除试验) 及竹材防霉试验, 阐明乳液的活性维持机制, 旨在为开发高效稳定的茶树精油功能化产品提供理论依据与技术参考

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 供试毛竹为 5 年生, 采自福建省龙岩市东肖镇, 长约 12 m, 端头直径 10 cm 以上, 用推台锯和压刨加工成长×宽×厚为 50 mm×20 mm×5 mm 的去青、去黄、去节竹材试样。为保证试验的准确性, 从加工的竹材试样中随机选

择 12 片竹材为一组试样。茶树精油由本课题组通过超临界 CO₂ 工艺提取, 经 GC-MS 分离出 49 种组分, 松油烯-4-醇含量最高为 32.41%, 其次为 γ -萜品烯, 含量为 17.12%, 2-萜烯含量为 10.79%, 1,8-桉叶素含量为 1.07%, 符合 GB/T 26514—2011^[11]中松油烯-4-醇含量 $\geq 30\%$, 1,8-桉叶素含量 $\leq 5\%$ 的规定。

1.1.2 主要试剂 高分子壳聚糖 (黏度为 50~800 mPa·s)、吐温-80 (分析纯) 均购自国药集团化学试剂有限公司。L-抗坏血酸 (分析纯) 购自上海麦克林生化科技有限公司。黑曲霉 (*Aspergillus niger*)、桔青霉 (*Penicillium citrinum*) 和绿色木霉 (*Trichoderma viride*) 均购自上海保藏生物技术中心。

1.1.3 仪器与设备 Ultra-Turrax T25 高速分散机, 德国 IKA 仪器设备有限公司; STANSTED 高压纳米均质仪, 英国 SFP 公司; Zetasizer NANO-ZS90 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪, 英国 Malvern 公司; Bio-TekELX800 酶标仪, 美国宝特公司。

1.2 方法

1.2.1 茶树精油壳聚糖乳液的制备及优化设计 取 1.5 g 壳聚糖缓慢加入到 100 mL 含有质量分数为 1% 的醋酸水溶液中, 磁力搅拌, 待壳聚糖充分溶解后, 超声去除溶液中的空气即得到均一的壳聚糖溶液。以吐温-80 为乳化剂, 无水乙醇为助乳化剂, 根据前期试验, 二者比例为 3:1 时, 乳液粒径与多分散指数 (PDI) 最小, 并且粒径分布最窄, 所以确定乳化剂与助乳化剂比例为 3:1。向烧杯中加入一定质量分数的茶树精油、吐温-80 与助乳化剂, 在 37 °C 水浴条件下, 以 600 r/min 下均匀搅拌 20 min, 加入 1.5% 壳聚糖溶液后继续搅拌 30 min 形成粗乳液。将得到的粗乳液利用高速剪切机以 13 000 r/min 速度剪切 3 min, 在 25 °C、一定压力条件下采用高压纳米均质仪均质 3 次, 得到粒径较为均一的茶树精油壳聚糖乳液。

茶树精油壳聚糖乳液体系配方的设计原则为: 使用最少的复合乳化剂乳化最大量的茶树精油。在前期单因素试验的基础上, 茶树精油较优的质量分数为 10%, 复合乳化剂较优的质量分数为 3%, 均质压力为 160 MPa, 根据 Box-Behnken 中心组合试验设计原理, 进行三因素三水平试验, 以乳液粒径为响应面值, 优化茶树精油壳聚糖乳液的配比。

1.2.2 乳液平均粒径、PDI 及 Zeta 电位测定 取

适量的乳液用超纯水稀释 200 倍, 摇晃均匀, 用纳米粒度及电位分析仪分别测定乳液的平均粒径、PDI 及 Zeta 电位。

1.2.3 乳液稳定性测定 将制备的茶树精油壳聚糖乳液分别于 4、25、50 °C 条件下放置 28 d, 每 7 d 测定 1 次乳液的平均粒径、PDI 及 Zeta 电位。

1.2.4 乳液的抗氧化活性测定 以抗坏血酸为对照, 参照文献[12-13]的方法测定茶树精油壳聚糖乳液的清除 DPPH 及 OH 自由基活性。

1.2.5 竹材试样的茶树精油壳聚糖乳液浸渍处理 采用 6 种不同浓度 (0、5、10、20、40、80 μL/mL, 以茶树精油计) 的茶树精油壳聚糖乳液处理竹材试样。乳液处理方式: 分别将每组 12 片竹材试样置于干燥箱中, 设置干燥温度为 100 °C, 干燥时间 24 h, 然后将竹材试样置于装有茶树精油壳聚糖乳液的高压浸注罐中进行浸注处理。浸注过程中, 先进行前真空处理, 设置真空度为 0.01 MPa, 时间为 1.5 h, 再进行加压浸注处理, 设置真空度为 1.2 MPa, 时间为 3 h。浸注结束后, 取出竹材试样, 用滤纸吸去表面多余的茶树精油壳聚糖乳液。将试样置于通风橱内通风 14 d 后进行竹材防霉试验。为了保证试验的准确性, 设定 6 组平行试验, 取平均值。

1.2.6 竹材试样的防霉试验 参照 GB/T 18261—2013 中的方法进行竹材的防霉性能试验。主要步骤如下: 取 24 g 马铃薯淀粉和 18 g 琼脂, 加入 1000 mL 蒸馏水, 搅拌均匀后高温灭菌, 制作平板培养基, 待平板凝固后置于恒温恒湿培养箱[温度(27±2)°C, 相对湿度(85±5)%]中培养, 进行无菌筛查。用接种针将黑曲霉、桔青霉、绿色木霉分别接种在培养基表面, 置于恒温恒湿培养箱中培养, 待接种的霉菌扩张至整个平板面积的 80% 左右后, 在平板培养基表面放置 2 根直径为 3 mm 的玻璃棒, 在玻璃棒上横放 2 片竹材试样, 用封口膜密封后置于恒温恒湿箱中培养 30 d, 每 2 d 观察 1 次竹材表面的霉菌感染面积, 根据表 1 记录感染值, 30 d 后取平均值计算各处理对霉菌的防治效力。防治效力按如下公式计算:

$$\text{防治效力} = \left(1 - \frac{D_1}{D_0}\right) \times 100\%$$

式中, D_1 为处理竹材的平均感染值; D_0 为对照竹材的平均感染值。

1.3 数据处理

试验结果以平均数±标准差表示, 使用 SPSS

表 1 竹材被霉菌感染分级

Tab. 1 Grade of mold infection value of bamboo

感染值 Infection value	竹材感染面积 Infection area of bamboo
0	竹材表面无菌丝、霉点
1	竹材表面感染面积<1/4
2	1/4≤竹材表面感染面积<1/2
3	1/2≤竹材表面感染面积<3/4
4	竹材表面感染面积≥3/4

22.0 统计软件对数据进行显著性分析 ($P<0.05$), 采用 Design Expert 8.0.6 软件进行响应面分析, 使用 Origin 8.0 软件制图。

2 结果与分析

2.1 响应面试验

2.1.1 试验设计与结果 基于三因素三水平的 Box-Behnken 中心组合试验设计, 系统考察了均质压力 (X_1)、茶树精油质量分数 (X_2)、复合乳化剂质量分数 (X_3) 对乳液粒径 (Y) 的影响规律, 试验设计及结果见表 2。通过 Design-Expert 软件构建二次多项式回归模型, 并采用方差分析 (ANOVA) 验证模型显著性, 最终优化工艺参数以降低乳液粒径。

表 2 响应面试验设计及结果

Tab. 2 Design and results of RSM

编号 No.	X_1 均质压力 Homogeneous pressure/Mpa	X_2 茶树精油 质量分数 Mass fraction of TTO/%	X_3 复合乳化剂质 量分数 Mass fraction of compound emul- sifier/%	Y 乳液 粒径 Emulsion particle size/nm
1	160	8	4	99.42
2	150	10	2	123.72
3	150	12	3	134.67
4	170	10	4	100.40
5	160	10	3	183.45
6	160	10	3	143.08
7	160	10	3	179.77
8	160	10	3	98.78
9	160	10	3	103.45
10	170	10	2	107.48
11	160	8	2	100.34
12	160	12	2	99.42
13	160	12	4	160.41
14	170	8	3	109.55
15	150	10	4	146.71
16	150	8	3	191.46
17	170	12	3	159.90

基于表 2 数据进行多元回归分析建立了茶树精油壳聚糖乳液粒径的二次多项式预测模型： $Y=7771.10-83.68X_1-105.26X_2-132.55X_3+0.16X_1X_2-0.53X_1X_3+1.91X_2X_3+0.25X_1^2+3.33X_2^2+29.71X_3^2$ 。

模型验证指标显示, 决定系数(R^2)为 0.9973, 说明模型中的自变量(均质压力、复合乳化剂质量分数、茶树精油质量分数及其交互项与二次项)可解释因变量(乳液粒径)99.73%的变异, 表明试验数据与模型预测值高度吻合^[14]。校正决定系数(R^2_{Adj})为 0.9938, 表明模型可解释 99.38% 以上的数据变异, 具备优异的预测能力。2 个系数均高于 0.9000, 反映模型不仅能精准拟合当前试验数据, 还具备对未知数据的高预测精度, 可有

效指导工艺参数优化。精密度值(46.550)和低变异系数(1.99%)进一步证实了模型的高可靠性与试验数据的良好重现性, 可以用该方程对茶树精油壳聚糖乳液粒径进行准确预测和分析。方差分析(表 3)显示, 模型整体极显著($P<0.0001$), 失拟项不显著($P=0.0594$), 证实模型构建合理且实验误差可控。具体而言, 均质压力(X_1)、茶树精油质量分数(X_2)、复合乳化剂质量分数(X_3)及其交互项 X_1X_3 、二次项 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 均对粒径产生极显著影响($P<0.01$)。通过 F 值比较发现, 各因素对乳液粒径的影响强度为: 均质压力(X_1)>复合乳化剂质量分数(X_3)>茶树精油质量分数(X_2)。

表 3 响应面试验结果的方差分析
Tab. 3 Variance analysis of surface response test

来源 Source	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型	17564.44	9	1951.60	284.58	<0.0001	**
A	4222.80	1	4222.80	615.77	<0.0001	**
B	1764.77	1	1764.77	257.34	<0.0001	**
C	3435.38	1	3435.38	500.95	<0.0001	**
AB	40.90	1	40.90	5.96	0.0446	*
AC	114.17	1	114.17	16.65	0.0047	**
BC	58.14	1	58.14	8.48	0.0226	*
A ²	2723.47	1	2723.47	397.14	<0.0001	**
B ²	745.67	1	745.67	108.73	<0.0001	**
C ²	3716.00	1	3716.00	541.87	<0.0001	**
残差	48.00	7	6.86			
失拟项	46.11	3	15.37	32.37	0.0594	
纯误差	1.90	4	0.47			
总和	17612.44	16				

注: *表示差异显著($P<0.05$); **表示差异极显著($P<0.01$)。

Note: * means significant difference ($P<0.05$); ** means extremely significant difference ($P<0.01$).

2.1.2 响应面分析 均质压力、复合乳化剂质量分数和茶树精油质量分数三因素之间的交互影响见图 1。由图 1A、图 1B 可知, 随着均质压力的增大, 乳液的粒径先减小后趋于缓和, 这可能是由于随着压力的增大, 乳液颗粒发生高速碰撞, 在剪切、撞击、空穴效应和动态搅拌的作用下, 形成小的液滴, 复合乳化剂在液滴表面形成乳化层, 防止液滴聚集^[15]。但当继续增加压力, 乳液颗粒继续变小, 就会形成巨大的表面积, 使有限的复合乳化剂难以完全覆盖液滴表面, 导致液滴聚集, 聚集作用和破裂作用达到平衡, 平均粒径减小不显著。由图 1A、图 1C 可知, 随着茶树精

油质量分数的增加, 乳液粒径变化不大, 这可能是由于在乳化体系中, 茶树精油添加量在一定范围内时, 有充足的乳化剂可在液滴表面形成乳化剂层, 降低液滴表面张力, 防止液滴间发生聚合。由图 1B、图 1C 可以看出, 随着复合乳化剂质量分数的增加, 乳液的粒径先减小后增大, 这可能是由于随着复合乳化剂添加量的增加, 可在油滴表面包裹形成乳化剂层, 降低表面张力, 防止油滴聚合, 但当继续增加复合乳化剂, 体系内无足够的茶树精油滴, 多余的乳化剂在微粒之间连接, 液滴聚合, 反而增大乳液的粒径^[16]。由图 1B 可知, 均质压力与复合乳化剂质量分数两因素的等

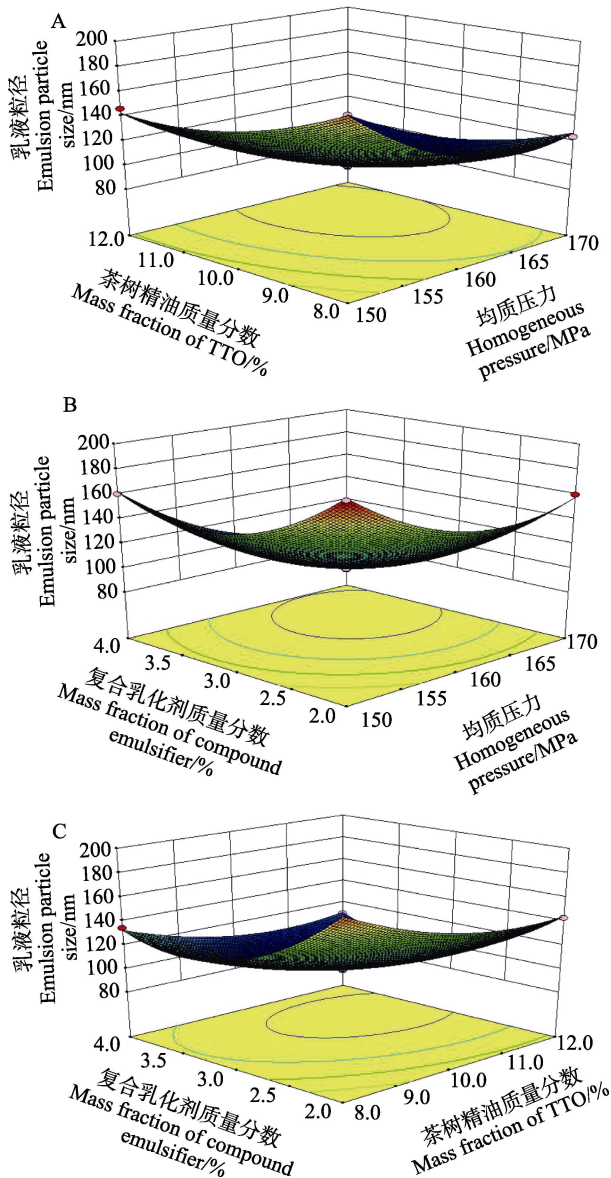


图 1 因素的交互作用对乳液粒径的影响
Fig. 1 Effect of interaction of factors on emulsion particle size

高线均为相对密集的椭圆形,说明交互作用最为显著,这与模型中 F 值的分析结果一致。

2.1.3 验证试验 通过响应面回归方程,得到 3 个因素最佳的条件:均质压力为 160 MPa,茶树精油质量分数为 12%,复合乳化剂质量分数为 4%,在此条件下模型预测的粒径为 99.92 nm,乳液实际粒径为 99.24 nm,与理论值接近,RSD 为 0.38%,证明该回归模型是可靠的。

2.2 茶树精油壳聚糖乳液的稳定性分析

乳液在贮藏或运输过程中,温度对其稳定性具有显著的影响。温度升高引起乳液粒子吸收能量,布朗运动增强,进而引起乳液破乳或液滴聚

合等现象。将茶树精油壳聚糖乳液在 4、25、50 °C 下贮藏 28 d,其稳定性结果见表 4~表 6。

由表 4、表 5 可知,在 4、25 °C 的贮藏温度下,28 d 内茶树精油壳聚糖乳液的粒径和 Zeta 电位值变化均较小。4、25 °C 条件下,28 d 后乳液的平均粒径增长率分别为 13.8%和 16.6%。而在 50 °C 贮藏温度下,乳液的粒径变化显著,其平均增长率为 51.8%,这可能是由于较高的环境温度使乳液分子运动速率增加,粒子相互碰撞聚集,导致粒径变大,但乳液未出现破乳或相分离的现象。Zeta 电位可反映油滴表面电荷量的多少,其大小与乳液的物理稳定性呈正相关,一般来说,乳液越稳定,Zeta 电位的绝对值越大^[17]。由表 5 可知,在 4、25 °C 贮藏温度下,不同贮藏时间的乳液 Zeta 电位均无显著变化,在 50 °C 贮藏 28 d 时,乳液的 Zeta 电位变化显著,但在不同的贮藏温度与时间下,乳液的 Zeta 电位均超过 39 mV,说明分散的茶树精油在壳聚糖水相中具有较强的静电排斥作用,乳液具有良好的物理稳定性^[18]。PDI 值可以反映分散体系中粒径的分布情况,PDI 值越小,则乳液粒径分布的范围越小,体系就越稳定^[19]。如表 6 所示,在不同贮藏温度和贮藏时间下,乳液的 PDI 值呈波动变化趋势,除在 50 °C 下贮藏超过 21 d,乳液的 PDI 值大于 0.3,其他 PDI 值均小于 0.3,表明茶树精油壳聚糖乳液在贮藏期间颗粒高度均匀,分布范围窄。

表 4 不同温度贮藏茶树精油壳聚糖乳液的粒径
Tab. 4 Particle size of TTO chitosan emulsion during different temperature storage

贮藏时间 Storage time/d	粒径 Particle size/nm		
	4 °C	25 °C	50 °C
0	100.37±8.32 ^b	100.29±10.21 ^b	100.41±6.43 ^d
7	102.25±5.84 ^b	103.95±9.23 ^b	111.36±10.25 ^c
14	105.31±9.11 ^b	106.38±9.46 ^b	125.85±9.54 ^b
21	109.76±8.25 ^{ab}	108.54±8.27 ^{ab}	130.33±8.51 ^b
28	114.19±6.33 ^a	116.92±6.56 ^a	152.46±11.29 ^a

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference between treatments ($P<0.05$).

2.3 茶树精油壳聚糖乳液的抗氧化活性

以相同浓度的抗坏血酸 (Vc) 作为对照,测定茶树精油及其乳液对 DPPH 自由基的清除能力,结果表明,随着浓度增大,茶树精油及其乳液对 DPPH 自由基的清除效果逐渐增强,呈现明

表 5 不同温度贮藏茶树精油壳聚糖乳液的 Zeta 电位
Tab. 5 Zeta potential of TTO chitosan emulsion during different temperature storage

贮藏时间 Storage time/d	Zeta 电位 Zeta potential/mV		
	4 °C	25 °C	50 °C
0	42.37±3.24 ^a	42.39±2.53 ^a	42.36±3.22 ^a
7	42.16±4.85 ^a	42.12±3.46 ^a	41.87±2.45 ^a
14	41.95±2.77 ^a	41.97±5.08 ^a	41.04±4.35 ^a
21	41.34±2.84 ^a	41.23±4.14 ^a	40.27±3.41 ^a
28	41.09±6.17 ^a	40.96±3.85 ^a	39.17±4.09 ^b

注：同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference between treatments ($P<0.05$).

表 6 不同温度贮藏茶树精油壳聚糖乳液的多分散指数
Tab. 6 PDI of TTO chitosan emulsion during different temperature storage

贮藏时间 Storage time/d	多分散指数 PDI		
	4 °C	25 °C	50 °C
0	0.26±0.03 ^a	0.26±0.06 ^a	0.24±0.03 ^b
7	0.28±0.05 ^a	0.18±0.02 ^b	0.29±0.05 ^b
14	0.23±0.06 ^a	0.22±0.05 ^a	0.27±0.06 ^b
21	0.25±0.05 ^a	0.19±0.03 ^b	0.32±0.09 ^{ab}
28	0.27±0.03 ^a	0.23±0.02 ^a	0.38±0.15 ^a

注：同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

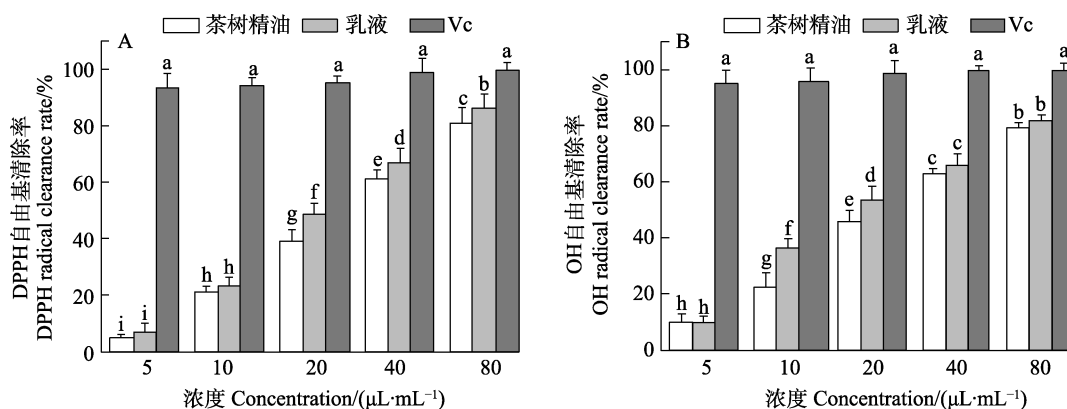
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference between treatments ($P<0.05$).

显的剂量依赖性。当茶树精油的浓度大于 20 $\mu\text{L/mL}$ 时，茶树精油与乳液对 DPPH 自由基的清除率具有显著差异 (图 2A)。茶树精油及其乳液对 DPPH 自由基的 IC_{50} 值分别为 31.43、22.82 $\mu\text{L/mL}$ (以茶树精油计)，说明将茶树精油制备成乳液可以显著提高其清除 DPPH 自由基的

能力^[20]。与清除 DPPH 自由基相似，茶树精油及其乳液清除 OH 自由基的作用也随着浓度的增加而增加，当茶树精油的浓度为 10、20 $\mu\text{L/mL}$ 时，茶树精油与乳液对 OH 自由基的清除率具有显著差异 (图 2B)。茶树精油及其乳液对 OH 自由基的 IC_{50} 值分别为 22.98、18.75 $\mu\text{L/mL}$ ，说明将茶树精油制备成乳液可以显著提高其清除 OH 自由基的能力^[21]。综上，与茶树精油相比，茶树精油壳聚糖乳液可以显著提高其抗氧化性。

2.4 茶树精油壳聚糖乳液的防霉性能分析

不同浓度的茶树精油壳聚糖乳液处理后，竹材试样经绿色木霉、桔青霉和黑曲霉感染 30 d 的平均感染值如图 3 所示，各处理的竹材对 3 种霉菌的综合防治效力如表 7 所示，图 4 为利用 80 $\mu\text{L/mL}$ 茶树精油壳聚糖乳液处理后，竹材经绿色木霉、桔青霉和黑曲霉处理 30 d 的侵染效果。结果表明，未经茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材防霉效果最差，3 种霉菌菌丝在第 2 天即感染竹材试样，绿色木霉菌丝在第 6 天布满整个竹材表面，黑曲霉和桔青霉菌丝在第 8 天布满整个竹材表面。经茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材其防霉性能有所提高。如图 3 所示，经 5 $\mu\text{L/mL}$ 茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材，绿色木霉、黑曲霉和桔青霉分别在第 4、6、6 天感染竹材样品，其菌丝分别在第 12、16、14 天布满整个竹材试样；由表 7 可知，5 $\mu\text{L/mL}$ 茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材对 3 种霉菌的平均防治效力分别为 14.3%、17.4%和 16.1%。经 20 $\mu\text{L/mL}$ 茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材，绿色木霉、黑曲霉和桔青霉分别第 6、8、8 天感染竹材样品，其菌丝分别第



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

图 2 茶树精油及其乳液对 DPPH 自由基和 OH 自由基的清除作用

Fig. 2 Clearance action against DPPH radical of TTO and its emulsion

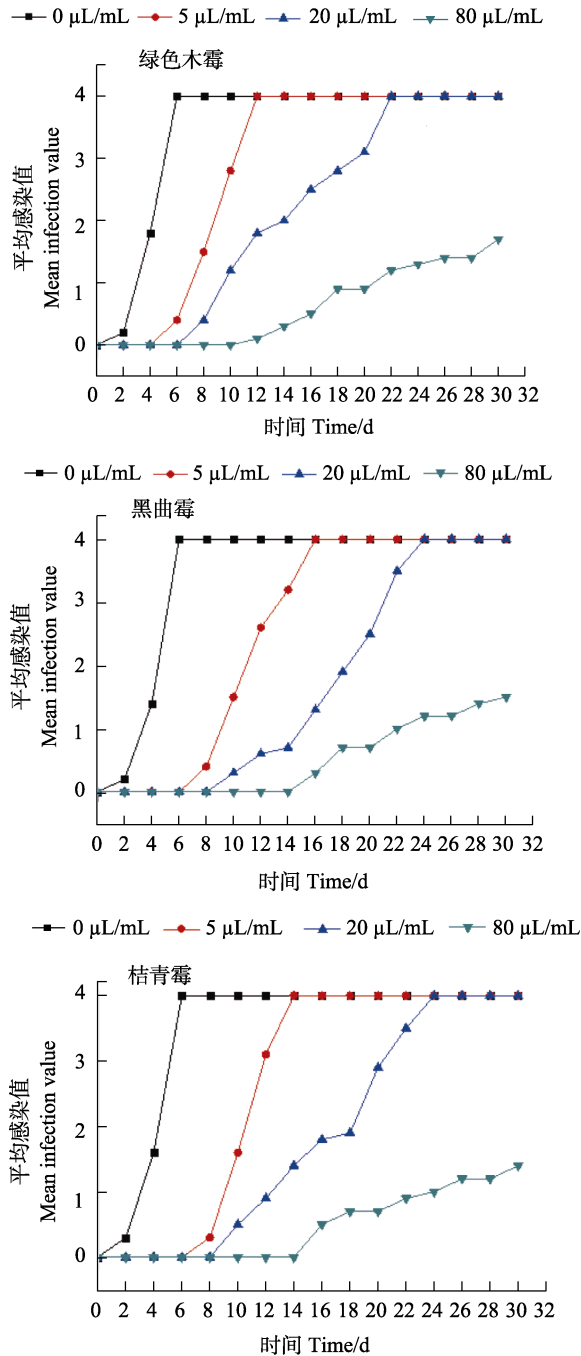


图 3 茶树精油壳聚糖乳液处理竹材的防霉效果
Fig. 3 Antifungal effect of bamboo after TTO chitosan emulsion

22、24、24 天布满整个竹材试样，经 20 μL/mL 茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材对 3 种霉菌的平均防治效力分别为 20.7%、25.3%和 24.9%。经 80 μL/mL 茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材，其防霉性能明显提高，绿色木霉、黑曲霉和桔青霉分别在第 10、14、14 天感染竹材表面，直到试验结束，竹材表面只有少量菌丝，均未被全部感染，

表 7 茶树精油壳聚糖乳液处理竹材对霉菌的平均防治效力

Tab. 7 Average preserving effects of bamboo on mold after TTO chitosan emulsion treatment

浓度 Concentration/($\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$)	平均防治效力 Average preserving effect/%		
	绿色木霉 <i>Trichoderma virens</i>	黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i>	桔青霉 <i>Penicillium citrinum</i>
5	14.3	17.4	16.1
20	20.7	25.3	24.9
80	82.8	91.2	90.8

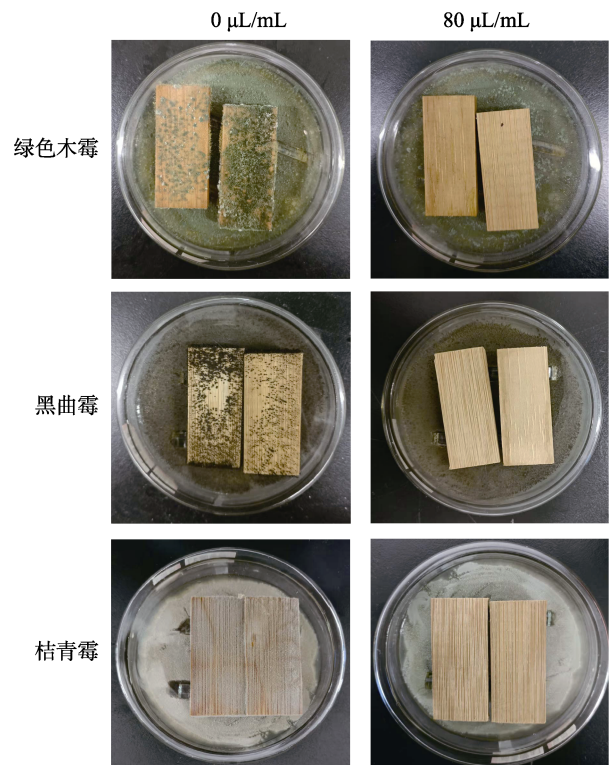


图 4 竹材防霉效果
Fig. 4 Anti-mold effect of bamboo

经 20 μL/mL 茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材对 3 种霉菌的平均防治效力分别高达 82.8%、91.2%和 90.8%。

3 讨论

本研究中均质压力 (X_1) 对粒径的影响最为显著 (F 值最高)，这与高压均质过程中剪切力、空穴效应和撞击作用的协同破碎机制密切相关。当压力达到 160 MPa 时，粒径趋于稳定，可能因乳化剂覆盖率的临界效应，过高的压力导致液滴表面积激增，而乳化剂不足以完全包裹新界面，促使动态平衡形成 (聚集与破碎速率相当)。这一

现象与蔡芸丹等^[22]在乳液中的发现一致,表明乳化剂与均质压力的适配性是工艺优化的核心。复合乳化剂(X_3)的添加量呈现非线性影响(粒径先降后升),其机制可能是适量乳化剂降低界面张力,抑制液滴聚并,乳化剂过量时,未吸附的游离乳化分子通过桥联作用引发乳液絮凝。这与壳聚糖分子链的柔性特性相关——高浓度下分子间缠绕可能削弱界面膜强度^[23]。茶树精油质量分数(X_2)对粒径影响较弱,可能归因于试验范围内(8%~12%)壳聚糖的乳化能力足以包覆油相,表明壳聚糖作为天然乳化剂在高油载量下的潜力。

乳液的贮藏稳定性与其物理化学特性密切相关。4℃和25℃下粒径增长缓慢(<17%),而50℃下显著升高(51.8%),这与高温加速液滴布朗运动及奥斯特瓦尔德熟化效应有关^[24]。值得注意的是,即使高温下 Zeta 电位绝对值仍大于 30 mV,表明壳聚糖的正电荷层通过静电排斥有效抑制聚并,而 PDI 值升高(>0.3)可能源于局部热扰动引起的粒径分布展宽,但未出现相分离,说明壳聚糖的空间位阻作用对稳定性具有重要贡献^[25]。这一双重稳定机制(静电+空间位阻)为开发耐温型纳米乳液提供了新思路。

乳液的抗氧化活性显著提升可能源于乳液的微小粒径增大了茶树精油活性成分的比表面积,促进其与自由基的接触效率。另外,乳液体系可阻隔氧气渗透,延缓精油的氧化降解^[26],这一发现与左云会等^[27]报道的乳液中多酚稳定性增强现象相符,表明乳化技术是提升疏水性活性成分功能的有效策略。

高浓度乳液(80 μL/mL)对3种霉菌的防治效力达82.8%~91.2%,显著优于低浓度组,结果表明,乳液的微小粒径可增强其在竹材微孔中的渗透性,延长活性成分的缓释时间。王星星等^[28]研究表明,茶树精油可以破坏霉菌细胞膜完整性,而壳聚糖可通过正电荷吸附抑制孢子萌发,其形成的物理屏障可阻碍菌丝附着^[29]。这一结果为开发绿色竹材防腐剂提供了理论依据。

4 结论

以天然来源的茶树精油及壳聚糖为原料,以吐温-80为乳化剂,无水乙醇为助乳化剂,超高压均质制备了茶树精油壳聚糖乳液,采用响应面法对制备条件进行了优化,得到最佳的制备条件:均质压力为160 MPa,茶树精油质量分数为12%,

复合乳化剂质量分数4%,在此条件下乳液粒径为99.24 nm,在4、25、50℃下贮藏28 d,乳液粒径保持在164 nm以内,Zeta 电位均超过39 mV,PDI 值保持在0.53以内,表明乳液的贮藏稳定性很好。茶树精油壳聚糖乳液对 DPPH 自由基及 OH 自由基的 IC₅₀ 值分别为 22.82、18.75 μL/mL,显示乳液具有较好的抗氧化活性。经 80 μL/mL 茶树精油壳聚糖乳液处理的竹材试样,对绿色木霉、桔青霉和黑曲霉侵染 30 d 的平均防治效力分别为 82.8%、91.2%和 90.8%,表明茶树精油及壳聚糖乳液具有较好的防霉特性。本研究初步构建了茶树精油壳聚糖乳液体系,并验证其稳定性、抗氧化及防霉性能,后续可进一步研究乳液抗氧化与防霉的分子作用机制,明确茶树精油与壳聚糖的协同效应路径。另外,还可评估茶树精油壳聚糖乳液在食品保鲜、医药载体或农业抑菌等领域的适用性,探索其与生物基材料的复合功效,以提升其功能性与环境适配性。

参考文献

- [1] PADUCH R, MATYSIK-WOŹNIAK A, JÜNEMANN A G, REJDAK R. Tea tree oil influence on human keratocytes growth and viability[J]. *Experimental Eye Research*, 2024, 246: 110013.
- [2] WANG W M, YI X B, ZHOU R G, PENG W L, HUANG J J, CHEN J, BO R N, LIU M J, LI J G. Tea tree oil nanoemulsion targets AgrA protein potentiates amoxicillin efficacy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 292: 139111.
- [3] DZIĄGWA-BECKER M, OLESZEK M. Is the biopesticide from tea tree oil an effective and low-risk alternative to chemical pesticides? A critical review[J]. *Molecules*, 2024, 29(14): 3248.
- [4] HU K P, JIA E N, ZHANG Q M, ZHENG W, SUN R J, QIAN M, TAN Y, HU W L. Injectable carboxymethyl chitosan-genipin hydrogels encapsulating tea tree oil for wound healing[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2023, 301: 120348.
- [5] SUN Q, YUAN T, YANG G, GUO D, SHA L, YANG R. Chitosan-graft-poly (lactic acid) / CD-MOFs degradable composite microspheres for sustained release of curcumin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 25: 127519.
- [6] BI Y B, GAO J, ZHANG Y T, ZHANG Y, DU K K, SU J X, ZHANG S B. *In-situ* construction of chitosan@tannin structure on bamboo fiber for green and convenient reinforcement

- of poly (3-hydroxybutyrate) biocomposite[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 278: 134954.
- [7] ASHFAQ A, OSAMA K, YOUSUF O, YOUNIS K. Protein-based emulsion hydrogels and their application in the development of sustainable food products[J]. *Plant Foods for Human Nutrition*, 2024, 79(4): 759-768.
- [8] SCHORK F J. Monomer equilibrium and transport in emulsion and miniemulsion polymerization[J]. *Biomacromolecules*, 2024, 25(6): 3249-3260.
- [9] 吕沛宣, 廖永红, 周晓宏. 超高压均质制备大豆多肽纳米乳及其粒径和稳定性分析[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(22): 265-271.
- LYU P X, LIAO Y H, ZHOU X H. Soybean isolate protein hydrolysate nanoemulsions prepared by ultra-high pressure homogenization: size and physical stability[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(22): 265-271. (in Chinese)
- [10] LIU S, LI J, QIN Y, YANG T, GUO X, DONG X, ZHU B, TU J. High-pressure homogenization transformed salmon protein filament into micelle structure: improvement on the stability and swallowing rheology of dysphagia-oriented salmon emulsion gels[J]. *Food Chemistry*, 2025, 468: 142460.
- [11] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 互叶白千层(精油), 松油烯-4-醇型[茶树(精油)]: GB/T 26514—2011[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, China National Standardization Administration. Oil of *Melaleuca alternifolia*, terpinen-4-ol type (tea tree oil): GB/T 26514—2011[S]. Beijing: China Standard Press, 2011. (in Chinese)
- [12] RUMPF J, BURGER R, SCHULZE M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 233: 123470.
- [13] ZHANG L N, LI J N, HUO Y R, YANG W P, CHEN J, GAO Z Q, YANG Z P. Ultrasonic extraction and antioxidant evaluation of oat saponins[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2024, 109: 106989.
- [14] LANGENDÖRFER L J, GUSEVA E, BAUERMAN P, SCHUBERT A, HENSEL O, DIAKITÉ M. The viscoelastic behavior of legume protein emulsion gels—the effect of heating temperature and oil content on viscoelasticity, the degree of networking, and the microstructure[J]. *Foods*, 2024, 13(23): 3875.
- [15] NG S W, CHONG W T, SOO Y T, TANG T K, AB KARIM N A, PHUAH E T, LEE Y Y. Pickering emulsion stabilized by palm-pressed fiber cellulose nanocrystal extracted by acid hydrolysis-assisted high pressure homogenization[J]. *PLoS One*, 2022, 17(8): e0271512.
- [16] FUJII M, WADA F, HONDA N, MIURA K, HASHIZAKI K, TAGUCHI H, KOIZUMI N, WATANABE Y. Characteristics of an emulsion obtained using hydrophobic hydroxypropyl methylcellulose as an emulsifier and a high-pressure homogenizer[J]. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 2020, 68(12): 1178-1183.
- [17] WELSH T J, KRAINER G, ESPINOSA J R, JOSEPH J A, SRIDHAR A, JAHNEL M, ARTER W E, SAAR K L, ALBERTI S, COLLEPARDO-GUEVARA R, KNOWLES T P J. Surface electrostatics govern the emulsion stability of biomolecular condensates[J]. *Nano Letters*, 2022, 22(2): 612-621.
- [18] ALMEIDA F S, DA SILVA A M M, MENDES G A C, SATO A C K, CUNHA R L. Almond protein as Pickering emulsion stabilizer: impact of microgel fabrication method and pH on emulsion stability[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 280: 135812.
- [19] 明雨, 曹艳芸, 唐紫薇, 孙溪, 吴满刚, 王庆玲. 植物油体的提取、稳定性、消化性及在食品中的应用[J]. *中国食品学报*, 2025, 25(4): 509-522.
- MING Y, CAO Y Y, TANG Z W, SUN X, WU M G, WANG Q L. Research progress on the extraction, stability, digestibility, and application in food of plant oil bodies[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2025, 25(4): 509-522. (in Chinese)
- [20] WANG R, DUAN C C. Waxy maize starch incorporated (-)-epigallocatechin-3-gallate can stabilize emulsion gel and improve antioxidant activity[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 253: 127333.
- [21] ROSA E, DIAFERIA C, GALLO E, MORELLI G, ACCARDO A. Stable formulations of peptide-based nanogels[J]. *Molecules*, 2020, 25(15): 3455.
- [22] 蔡芸丹, 饶胜其, 顾璐萍, 常翠华, 李俊华, 杨严俊, 苏宇杰. 蛋黄脂质粉末油脂制备工艺优化及性质研究[J]. *中国油脂*, 2025, 50(5): 34-42.
- CAI Y D, RAO S Q, GU L P, CHANG C H, LI J H, YANG Y J, SU Y J. Optimization of preparation process and properties of egg yolk lipids powdered oil[J]. *China Oils and Fats*, 2025, 50(5): 34-42. (in Chinese)
- [23] 杜鹏莹, 任国艳, 赵冰, 史宇璇, 成晓瑜. 负载白藜芦醇乳液的壳聚糖-明胶缓释膜制备及其调理牛排保鲜效果[J]. *食品科学*, 2025, 46(10): 240-248.
- DU L Y, REN G Y, ZHAO B, SHI Y X, CHENG X Y. Preparation of chitosan-gelatin sustained-release film incorporated with resveratrol-loaded emulsion and its preservation effect on prepared steak[J]. *Food Science*, 2025, 46(10): 240-248. (in Chinese)

- [24] 陈光浩, 胡菡, 范鹏辉, 刘子瑞, 马麟, 苏健裕. 山苍子精油微乳液的制备及其性质表征[J]. 林产化学与工业, 2025, 45(2): 33-41.
CHEN G H, HU H, FAN P H, LIU Z R, MA L, SU J Y. Preparation and properties of *Litsea cuheha* essential oil microemulsion[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2025, 45(2): 33-41. (in Chinese)
- [25] 赵欣悦, 李培通, 刘砚华, 胡冰, 刘勇刚, 陈全. 壳聚糖-京尼平纳米凝胶体系交联动力学与应用[J]. 高分子学报, 2024, 55(3): 275-286.
ZHAO X Y, LI P T, LIU Y H, HU B, LIU Y G, CHEN Q. Crosslinking kinetics and application of chitosan-genipin nanogel[J]. Acta Polymerica Sinica, 2024, 55(3): 275-286. (in Chinese)
- [26] 李熊志, 胡春, 张海龙, 张维农. 亚麻籽油多层纳米凝胶乳液的特征、稳定性及消化特性研究[J/OL]. 中国油料作物学报, (2025-03-21)[2025-07-04]. <https://doi.org/10.19802/j.issn.1007-9084.2024284>.
LI X Z, HU C, ZHANG H L, ZHANG W N. Characteristics, stability and digestion traits of multilayer nanogel emulsion of flaxseed oil[J/OL]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, (2025-03-21)[2025-04-20]. <https://doi.org/10.19802/j.issn.1007-9084.2024284>. (in Chinese)
- [27] 左云会, 胡腾根, 朱永清, 徐玉娟, 唐语谦, 余元善. 石榴皮活性物质提取及其 W/O/W 乳液稳态化包埋研究[J]. 中国食品学报, 2024, 24(9): 167-183.
ZUO Y H, HU T G, ZHU Y Q, XU Y J, TANG Y Q, YU Y S. Studies on the extraction of active substances from pomegranate peel and its steady state embedding of W/O/W emulsion[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2024, 24(9): 167-183. (in Chinese)
- [28] 王星星, 李永华, 韦莹莹, 陶能国, 邵兴锋. 茶树精油对灰葡萄孢霉活性氧代谢的影响[J]. 中国食品学报, 2018, 18(12): 180-187.
WANG X X, LI Y H, WEI Y Y, TAO N G, SHAO X F. The effect of tea tree oil on reactive oxygen species metabolism of *Botrytis cinerea*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018, 18(12): 180-187. (in Chinese)
- [29] 徐宏俊, 陈昌彪, 肖嘉豪, 潘健强, 沈利铭, 张艳, 孙芳利. 壳聚糖季铵盐改性水性环氧树脂对木材尺寸稳定性及防腐防霉性能的影响[J/OL]. 林业工程学报, (2024-12-10)[2025-04-20]. <https://doi.org/10.13360/j.issn.2096-1359.202409007>.
XU H J, CHEN C B, XIAO J H, PAN J Q, SHEN L M, ZHANG Y, SUN F L. Effect of chitosan quaternary ammonium salt-modified waterborne epoxy resin on wood dimensional stability and anticorrosion/antimildew properties [J/OL]. Journal of Forestry Engineering, (2024-12-10) [2025-04-20]. <https://doi.org/10.13360/j.issn.2096-1359.202409007>. (in Chinese)