



刘晓丽,郭曹羽,林锴立,等.壳聚糖基抑菌抗氧化活性复合膜的制备及其性能研究[J].轻工学报,2023,38(4):27-36.
LIU X L, GUO C Y, LIN K L, et al. Preparation and properties of chitosan-based antibacterial and antioxidative composite films[J]. Journal of Light Industry, 2023, 38(4): 27-36.
DOI: 10.12187/2023.04.004

壳聚糖基抑菌抗氧化活性复合膜的制备及其性能研究

刘晓丽,郭曹羽,林锴立,廖文莹,王文燕

江南大学食品学院/食品科学与技术国家重点实验室/江苏省食品安全与质量控制协同创新中心,江苏无锡 214122

摘要:为获得具有良好功能特性的壳聚糖(CS)基复合膜材料,采用混合溶液浇筑法制备含有纳米细菌纤维素(nBC)、曲酸(KA)和姜黄素(CUR)的CS基抑菌抗氧化活性复合膜(CS/nBC/KA/CUR),考查不同组分复合膜的水分阻隔性能、机械性能、光学性能、抑菌活性和抗氧化活性。结果表明,CS/nBC/KA/CUR复合膜中各组分之间主要是通过氢键与范德华力相互作用,膜内部结晶度明显增强。相较于CS/nBC、CS/nBC/CUR和CS/nBC/KA复合膜,CS/nBC/KA/CUR复合膜的水溶性显著下降,水蒸气透过率比CS/nBC复合膜提升近24%,拉伸强度比CS/nBC/KA复合膜提高近3倍,断裂伸长率比CS/nBC/KA复合膜提高约1.8%,对*E. coli*的抑菌效果比其余复合膜平均提升约12.2%,ABTS自由基清除率比CS/nBC复合膜最高提升约35.2%。CS/nBC/KA/CUR复合膜结合了各组分的优势,在食品抑菌抗氧化活性包装材料的开发领域具有一定潜在价值。

关键词:壳聚糖;曲酸;姜黄素;复合膜;抑菌活性;抗氧化活性

中图分类号:TS206.4 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-1553(2023)04-0027-10

0 引言

近年来,传统石油基包装材料所导致的环境及食品污染问题越来越受到人们的关注。目前,全球每年产生的塑料制品已超过 2×10^8 t,且以每年5%的速率持续增长^[1]。对此,我国于2021年1月1日将“限塑令”加强为“禁塑令”,并加大了在生物基新型环保材料研究方面的支持力度^[2]。因此,研发无毒、无污染、可生物降解的新型环保生物基包装材料

成为食品包装行业的焦点^[3]。目前大多数生物基活性材料的保鲜性能较单一、使用局限性较大。通过将不同结构、不同功能特性的生物基活性材料进行复合,可有效改善单一生物基活性材料机械性能等方面的缺陷,同时赋予其一定的抑菌性和(或)抗氧化活性^[4]。

壳聚糖(Chitosan, CS)是甲壳素脱乙酰化的产物,因其良好的生物相容性和可降解性常被应用于众多材料的研发领域^[5-7]。甄洪鹏等^[8]利用静电纺

收稿日期:2022-11-05;修回日期:2023-02-22;出版日期:2023-08-15

基金项目:国家重点研发计划项目(2019YFC1606004)

作者简介:刘晓丽(1984—),女,甘肃省天水市人,江南大学副教授,博士,主要研究方向为食品加工及保鲜。E-mail:lx1525j@163.com

丝技术制备了含CS的超细医用纤维,但CS分子中含有大量的活性羟基和氨基,分子内部具有较强的氢键作用,单独使用该纤维时机械性能并不理想。细菌纤维素(Bacterial Cellulose, BC)主要由木醋杆菌等细菌产生的一类高分子化合物,其内部结构是由通过 β -1,4-键交联的D-葡萄糖单元重复二聚体形成的^[9]。目前,已有许多研究尝试将BC与其他大分子聚合物复合以增强材料的机械性能和阻隔性能,如Z. Xiang等^[10]将纯净的BC加入木质和非木质纤维纸中,发现纤维纸的机械性能得到显著提高。此外,纳米细菌纤维素(Nanobacterial Cellulose, nBC)可明显提高材料的阻隔性能和复合能力^[11-12]。K. Y. Lee等^[13]利用nBC的3D多孔结构与聚乳酸复合制备聚乳酸纳米复合材料,发现与未添加nBC的复合材料相比,该纳米复合材料的机械性能得到显著提高。

姜黄素(Curcumin, CUR)是一种天然二酮类植物活性化合物,具有抑菌、抗炎、抗癌等生物活性,同时也是世界上销量最大的天然食用添加剂之一^[14]。谢玉梅^[15]将CUR与马铃薯皮进行复合得到含CUR的马铃薯皮活性膜,发现含有5%(g/mL)CUR的活性膜延缓猪肉变质的效果极佳。本课题组^[16]前期利用不同相对分子质量的CS与BC和CUR构建了一种生物可降解复合膜,并探究了该复合膜的机械性能和抗氧化效果,发现含有CS和CUR的复合膜具有较高的接触角和机械性能,同时具有较低的含水率、水蒸气透过率和氧气透过率等。含有CUR的活性膜能够较好地延缓食品腐败变质,但相较于常见抗氧化剂(丁基羟基茴香醚(BHA)、二丁基羟基甲苯(BHT)等),其抗氧化活性较低。曲酸(Kojic Acid, KA)是由真菌发酵产生的一种活性有机化合物,对多酚氧化酶(PPO)的催化活性具有较强抑制作用,并表现出极强的抗氧化活性^[17]。蒋利亚^[18]研究发现,0.3%(g/mL)的曲酸溶液对藕带具有良好的抗褐变效果和抑菌效果。

近几年,CS基膜材料逐渐成为食品包装、生物化工等领域的研究热点,但鲜见有关CS与BC、CUR、KA等天然生物活性物质复配形成复合膜材料的相关报道。基于此,本研究拟以CS为基膜材料,

nBC为结构增强剂,CUR和KA为功能活性强化剂,通过溶液浇筑法制备CS/nBC/KA/CUR复合膜,并对该复合膜的含水率、水溶性、水分阻隔性能、机械性能、抑菌活性等进行,以期与安全、绿色环保的食品包装材料的研发提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

1.1.1 主要试剂 CS(相对分子质量为500 kDa,脱乙酰度 $\geq 78\%$),浙江金科生化有限公司;BC悬浮液(质量分数为0.5%),江苏康婷生物科技有限公司;CUR粉,南京多西夫生物科技有限公司;KA,上海百灵威化学技术有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)和2,2-偶氮-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS),上海源业生物科技有限公司;甘油,上海麦克林生化有限公司;冰醋酸,上海国药化学试剂有限公司;Escherichia coli(E. coli)和Staphylococcus aureus(S. aureus),江南大学食品加工与配料研究中心。其他试剂均为分析纯。

1.1.2 主要仪器 IS10型傅里叶红外光谱(FTIR)仪,美国Nicolet公司;D2 PHASER型X-射线衍射仪(XRD),德国布鲁克AXS有限公司;UV-1800型紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;GI54TW型立式自动压力蒸气灭菌器,致微(厦门)仪器有限公司;TA.XTPlus型物性分析仪,英国SMS公司;FJ200-S型数显高速均质机,上海力陈邦西仪器科技有限公司;HJ-6型多头磁力加热搅拌器,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;DHG-9240A型电热鼓风干燥箱,上海一恒科学仪器有限公司;JIUPIN-1200E型超声波破碎仪,无锡九平仪器有限公司;DL91150型数显游标卡尺,得力集团有限公司;AL204型电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;UltraScan Pro1166型高精度分光测色仪,美国Hunterlab公司。

1.2 实验方法

1.2.1 CS/nBC基膜制备 将1 g CS充分溶解于100 mL体积分数为1%的乙酸溶液,加入5 g BC悬浮液和0.9 g甘油;将混合溶液置于25 000 r/min条件下均质10 min,使用超声波破碎仪(600 W)处

理 25 min 使其分散均匀,得到 CS/nBC 膜液,将其置于冰箱(4 ℃)中备用。采用溶液浇筑法^[16]将 20 mL 上述膜液倒入直径为 9 cm 的培养皿中,于 45 ℃ 条件下烘干 8 h,即得 CS/nBC 基膜。将该基膜修剪后放入自封袋中,置于冰箱(4 ℃)中保存,备用。

1.2.2 CS/nBC/KA 复合膜制备 将 0.04 g KA 溶解于 100 mL 上述 CS/nBC 膜液中,使用多头磁力加热搅拌器在 800 r/min 条件下室温搅拌 5 min 至充分溶解,得到 CS/nBC/KA 膜液,将其置于冰箱(4 ℃)中备用。后续步骤同 1.2.1 所述。

1.2.3 CS/nBC/CUR 复合膜制备 将 0.05 g CUR 溶解于 100 mL 上述 CS/nBC 膜液中,使用多头磁力加热搅拌器在 800 r/min 条件下室温搅拌 6 h 至充分溶解,得到 CS/nBC/CUR 膜液,将其置于冰箱(4 ℃)中备用。后续步骤同 1.2.1 所述。

1.2.4 CS/nBC/KA/CUR 复合膜制备 将 0.04 g KA 溶解于 100 mL 上述 CS/nBC 膜液中,使用多头磁力加热搅拌器在 800 r/min 条件下室温搅拌 5 min 至充分溶解,再加入 0.05 g CUR,在相同条件下搅拌至充分溶解,得到 CS/nBC/CUR/KA 膜液,将其置于冰箱(4 ℃)中备用。后续步骤同 1.2.1 所述。

1.2.5 FTIR 表征 参考 Y. X. Xu 等^[16]的方法,将待测复合膜样品裁剪为 2 cm×2 cm 的正方形,平铺于傅里叶红外光谱仪样品架上进行测试。参数设定为分辨率 4 cm⁻¹,扫描波数 4000~400 cm⁻¹,扫描次数为 32 次^[19]。

1.2.6 XRD 分析 参照 X. Y. Zhou 等^[20]的方法,略作修改。将干燥复合膜样品平整地置于 XRD 平台上,采用 Cu Kα 射线扫描,扫描速度为 4°/min,步长为 0.02,2θ 范围为 5°~50°,电压为 40 kV,电流为 100 mA。

1.2.7 含水率(MC)和水溶性(WS)测定 将复合膜样品裁剪成 2 cm×2 cm 的正方形,称量其质量 M_0 (g)后,将其在电热鼓风干燥箱(105 ℃)中干燥 24 h 后放入硅胶干燥器中,每 6 h 称量其质量直至不变,即 M_1 (g)。 $MC(\%)$ 的计算公式为^[16]:

$$MC = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100\%$$

称量干燥恒重后复合膜样品的质量 M_1 (g),于 25 ℃ 条件下将其浸泡在蒸馏水中 24 h 后,放入电热鼓风干燥箱(105 ℃)中干燥 24 h,称量干燥后的复合膜样品质量 M_2 (g)。 $WS(\%)$ 计算公式为^[16]:

$$WS = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100\%$$

1.2.8 水蒸气透过率(WVTR)测定 参照 H. P. Wang 等^[21]的方法,略作修改。选用瓶口直径约为 1.8 cm、瓶身高约为 6.6 cm 的样品瓶,瓶中均加入 3 g 无水 CaCl₂ 使瓶内相对湿度为 0。将不同复合膜剪成直径略大于瓶口的圆片覆盖于瓶口上,用石蜡密封瓶口,并称量样品瓶的总质量 m_0 (kg);将样品瓶分散放置于含有饱和 KCl 溶液的干燥皿中,温度维持在 25 ℃ 左右,相对湿度保持在 92%。每 12 h 称量样品瓶的质量并记录质量增加量,直至质量变化率基本稳定,称量样品瓶最终质量 m_t (kg)。 $WVTR(\text{kg} \cdot (24 \text{ h} \cdot \text{m}^2)^{-1})$ 计算公式为:

$$WVTR = \frac{m_t - m_0}{t \times S}$$

式中, t 为 24 h; S 为瓶口复合膜覆盖有效面积/m²,按照半径为 0.9 cm 的圆计算。

1.2.9 拉伸强度(TS)和断裂伸长率(E)测定 参照 J. Liu 等^[22]的方法,略作修改。将不同复合膜样品裁剪成 1 cm×6 cm 的矩形条带,分别使用数显游标卡尺测量条带上随机 5 个点的厚度均值 b (mm)。物性分析仪两端之间的拉伸速度为 0.5 mm/s。 TS (MPa)和 $E(\%)$ 的计算公式如下^[15]:

$$TS = \frac{N}{a \times b}$$

$$E = \frac{L - L_0}{L_0} \times 100\%$$

式中, N 为复合膜条带断裂时所需的最大拉力/N, a 为复合膜条带的宽度/mm, L_0 为物性分析仪两端的初始长度 40 mm, L 为物性分析仪两端拉伸断裂前的最终长度/mm。

1.2.10 抑菌活性测定 参照谭才邓等^[23]的方法,通过摇瓶培养法在 37 ℃ 条件下激活 *E. coli* 和 *S. aureus* 两个菌种约 24 h,分别将 0.1 mL 指数期的菌液均匀涂布于提前配制的无菌营养琼脂培养基平板表面,待菌液不再流动(约 10 min),将内径为

6 mm 的牛津杯平稳放置于平板表面,并向杯中分别注入 80 μL 不同膜液。将平板置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 条件下培养 24 h,测定抑菌圈大小。

1.2.11 抗氧化活性测定 参照 X. Y. Zhou 等^[20] 的方法,略作修改。准确称取 0.05 g 复合膜样品浸泡在 10 mL 体积分数为 95% 的乙醇溶液中,并在 25 $^{\circ}\text{C}$ 左右搅拌 24 h。取 10 μL 复合膜浸泡液上清液和 5 mL 0.05 mmol/L 的 DPPH 乙醇溶液充分混合均匀,选用 95% 乙醇溶液作为空白对照组,于室温下避光反应 30 min 后测定其 517 nm 处的吸光度。DPPH 自由基清除率(%)计算公式为:

$$\text{DPPH 自由基清除率} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

式中, A_0 为空白对照组的吸光度, A_1 为含复合膜样品上清液的吸光度。

提前按照体积比 1 : 1 均匀混合 7 mmol/L 的 ABTS 水溶液和 2.45 mmol/L 的 $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 溶液,在室温下避光反应 16 h 制得 ABTS 储备液,并用 pH 值为 7.4 的 PBS 缓冲液将其在 734 nm 处的吸光度调整到 0.7 左右。取 10 μL 复合膜浸泡液上清液与 3 mL ABTS 储备液混合均匀,选用 ABTS 工作溶液作为空白对照组,于室温下避光反应 30 min 后测定其 734 nm 处的吸光度。ABTS 自由基清除率(%)计算公式为:

$$\text{ABTS 自由基清除率} = \frac{A_a - A_1}{A_a} \times 100\%$$

式中, A_a 为 ABTS 工作溶液的吸光度。

1.2.12 光学性能参数测定 参照 M. Y. Gan 等^[24] 的方法,略作修改。使用高精度分光测色仪对复合膜样品表面光学性能参数进行测定,色差 ΔE 计算公式为:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2}$$

式中, L^* 为待测样品的实际亮度, a^* 为待测样品的实际红度, b^* 为待测样品的实际黄度, L_0^* 为标准白板的亮度, a_0^* 为标准白板的红度, b_0^* 为标准白板的黄度。

1.3 数据处理与分析

不同膜材料均进行 3 组平行实验,采用 SPSS 19.0 进行统计学分析并获得数据的平均值和标准

差, $P < 0.05$ 表示有显著性差异,通过 Origin 9 软件制图。

2 结果与讨论

2.1 FTIR 谱图分析

不同复合膜的 FTIR 谱图见图 1。由图 1 可知,4 种复合膜的主要官能团部分相似,如 CS/nBC/KA 和 CS/nBC/CUR 复合膜中均含有 $\text{C}=\text{O}$ 和大量 $-\text{OH}$ 。不同复合膜在 3000~3600 cm^{-1} 附近均有明显宽吸收峰,这是 BC、CUR 和 KA 分子内共有的大量 $-\text{OH}$ 及 CS 分子内的大量 $-\text{NH}$ 产生的伸缩振动峰,1030 cm^{-1} 和 2920 cm^{-1} 处的窄吸收峰分别是 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 和 $-\text{CH}_2$ 的振动吸收峰^[25]。在 CS/nBC、CS/nBC/CUR 和 CS/nBC/KA 复合膜的 FTIR 谱图中,1652 cm^{-1} 和 1558 cm^{-1} 处的两个小峰分别是酰胺 I 和酰胺 II 带的特征吸收峰^[21,26]。4 个复合膜样品在 850 cm^{-1} 处的窄峰可能是苯环振动和苯环邻位取代的特征吸收峰^[27]。此外,与其他样品相比,CS/nBC/KA/CUR 复合膜中 $-\text{OH}$ 的伸缩振动峰在 3277 cm^{-1} 处显著降低,说明该官能团的伸缩振动受到限制,这主要是 CUR 和 KA 中大量的 $-\text{OH}$ 与 CS 中的 $-\text{NH}$ 通过氢键作用相互连接所致^[28]。此外,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的特征峰有所减弱,主要是 CUR 和 KA 被包裹于 nBC 网状结构中,彼此间官能团的伸缩振动被同时限制所致。综上可知,不同复合膜的 FTIR 谱图中没有出现明显的官能团变化,即复合膜中未产生新官能团之间的相互作用力,

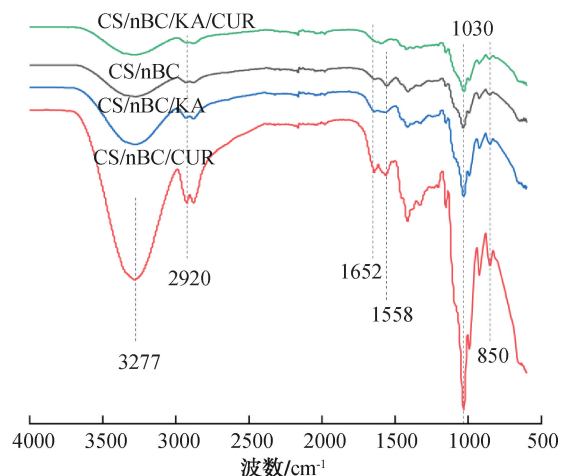


图 1 不同复合膜的 FTIR 谱图

Fig. 1 FTIR spectra of the different composite films

推测氢键、范德华力及物理结合是复合膜制备过程中的主要作用形式。

2.2 XRD 谱图分析

衍射峰的位置与样品内部的结晶度有关,衍射峰的宽度和强度则与晶体的大小相关^[29]。不同复合膜的 XRD 谱图见图 2,其中,不同小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$),下同。由图 2 可知,相较于 CS/nBC/CUR 和 CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 XRD 谱图,CS/nBC 复合膜没有出现非常尖锐的强衍射峰,仅在 $2\theta = 13.90^\circ$ 处出现一个较窄的衍射峰,说明该复合膜的结晶度相对较弱。CS/nBC/KA 复合膜的 XRD 谱图在 $2\theta = 13.90^\circ$ 处的衍射峰被削弱,表明相较于 CS/nBC 复合膜,该复合膜的结晶结构被破坏,结晶度下降,这与刘晓丽等^[30]的报道类似。在 CS/nBC/CUR 复合膜的 XRD 谱图中, $2\theta = 8.77^\circ$ 和 17.08° 处均出现明显的 CUR 特征峰,表明该复合膜中 CUR 成功与其余成分结合,并显著增强了复合膜的结晶度^[16]。在 CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 XRD 谱图中同时存在其他复合膜的特征峰,这表明该复合膜中 CUR 与 KA 可以很好地结合在 nBC 网状结构中。此外,相较于 CS/nBC 和 CS/nBC/KA 两种复合膜,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的结晶度显著增强。

2.3 MC 和 WS 分析

不同复合膜的 MC 和 WS 见图 3,其中小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$),下同。由图 3a)可知,与 CS/nBC 复合膜相比,CS/nBC/CUR 复合膜的

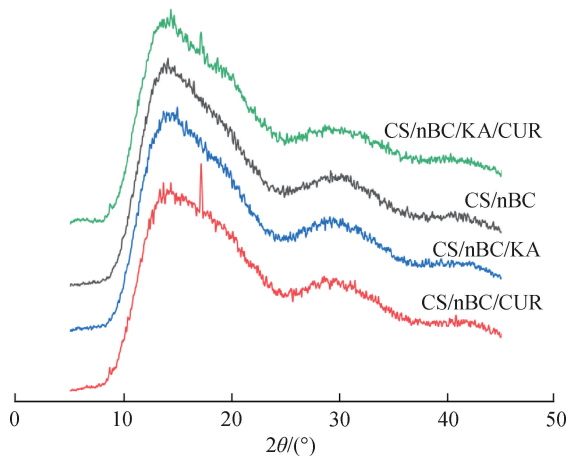


图 2 不同复合膜的 XRD 谱图

Fig. 2 XRD patterns of the different composite films

MC 下降了约 16%,这主要是由于 CUR 具有较强的疏水性,降低了复合膜的柔韧性;CS/nBC/KA 复合膜的 MC 上升了约 5%,这与 KA 在水中的溶解度较高和该复合膜过于柔软有关;CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 MC 下降了约 3%,这主要是因为 CUR 与 KA 通过氢键、物理约束等相互作用结合在 CS 和 nBC 材料中,减弱了 CUR 和 KA 的水溶性差异对复合膜 MC 的影响。

WS 指待测膜样品中可溶性物质的质量与膜样品质量的比值^[31]。由图 3b)可知,CS/nBC/KA 复合膜的 WS 约为 34%,明显高于其他 3 种复合膜,主要原因是 KA 在水中的溶解度较高,该复合膜在遇水后难以发挥 KA 良好的抗氧化活性;与 CS/nBC/KA 复合膜相比,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 WS 下降了约 52%,且 CS/nBC 复合膜的 WS 仅为 CS/

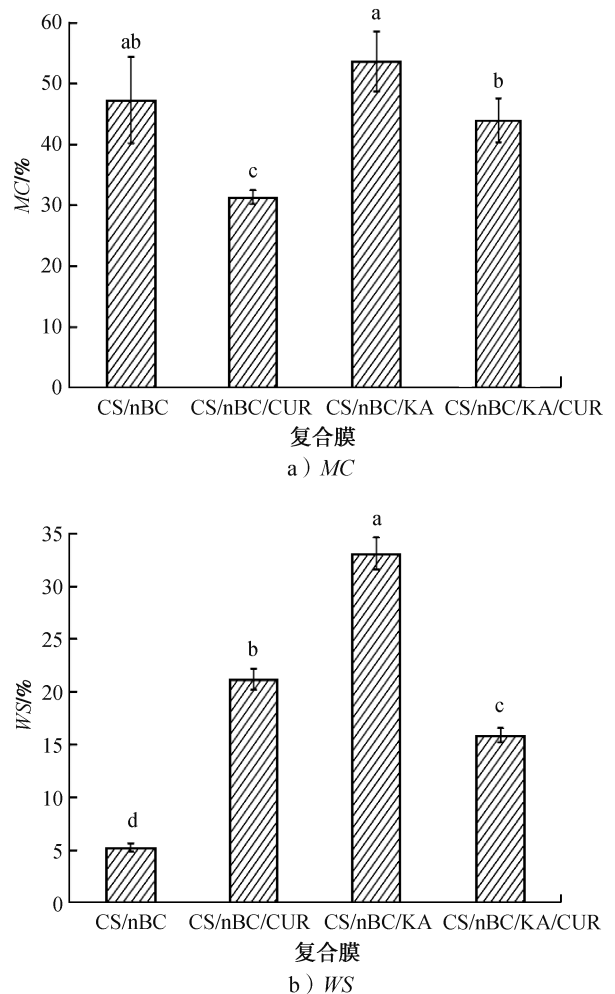


图 3 不同复合膜的 MC 和 WS

Fig. 3 The moisture content and water solubility of the different composite films

nBC/KA 复合膜的 15.7%,这主要是因为 CS 与 nBC 形成的氢键有效地改善了复合膜的内部结晶结构,从而明显降低了复合膜对水分的敏感性^[32]。

2.4 水分阻隔性能分析

膜材料的 *WVTR* 可作为其水分阻隔性能的评价指标,*WVTR* 越小,说明该膜材料的水分阻隔性能越好。不同复合膜的 *WVTR* 见图 4。由图 4 可知,与 CS/nBC 复合膜相比,CS/nBC/CUR、CS/nBC/KA 和 CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 *WVTR* 分别下降了约 14.8%、22.8% 和 24.0%,这主要是由于 CUR 的疏水性、KA 对水蒸气的吸附性阻隔了水蒸气的透过及上述两种阻隔效果的协同作用。与 H. P. Wang 等^[21] 制备的 CS/ZnO 复合膜相似,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 *WVTR* 为 1.244 kg/(24 h·m²)。这一结果与 MC 分析结果基本一致。综上可知,同时复合 KA 和 CUR 能够有效提高复合膜的水分阻隔性能。

2.5 机械性能分析

膜材料的 *TS* 和 *E* 是衡量其机械性能的重要标准,*TS* 和 *E* 越大,表明该材料的机械性能越好^[33]。

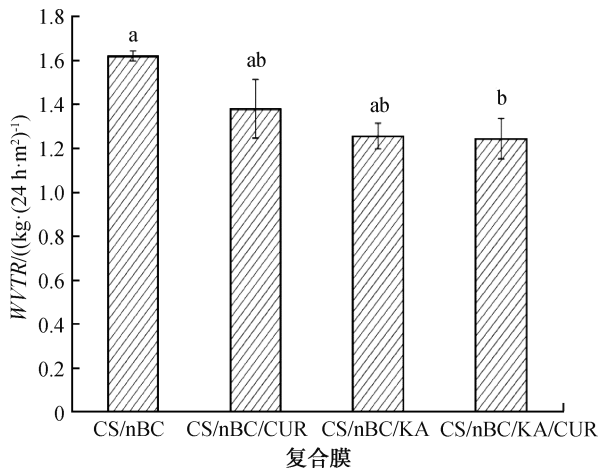


图 4 不同复合膜的 *WVTR*

Fig. 4 The water vapor transmission rate of the different composite films

不同复合膜的 *TS* 和 *E* 见表 1。由表 1 可知,4 种复合膜的厚度均在 0.153 5 mm 左右;CS/nBC/CUR 复合膜的 *TS* 最高(约 12.06 MPa),根据 XRD 谱图分析结果,这可能与 CUR 能显著提高复合膜的结晶度有关。CS/nBC 复合膜的 *E* 最高(约 8.43%),该结果与 MC 所导致的柔韧度较高有关。同时,相较于 CS/nBC/KA 复合膜,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的机械性能显著增强,*TS* 提升了约 3 倍,*E* 提升了约 1.8%,这主要与 CUR 中大量—OH 所形成的氢键及复合膜内部结晶度提高有关。

2.6 抑菌活性分析

不同复合膜的抑菌活性见图 5。由图 5a)可知,相较于其他复合膜,CS/nBC/KA/CUR 复合膜对 *E. coli* 有显著的抑菌效果,其抑菌圈直径平均提高了 1.75 mm,约 12.2%,这与蒋利亚等^[18,34] 的研究结果基本一致。由图 5b)可知,相较于 CS/nBC 和 CS/nBC/KA 复合膜,CS/BC/CUR 复合膜对 *S. aureus* 的抑制效果最好,抑菌圈直径分别提高了 17.6% 和 19.9%。与陈玉芹等^[35] 制备的明胶-壳聚糖-肉桂精油复合膜相比,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的抑菌圈直径(15.23 mm)增加了 2.23%;相较于 M. Y. Gan 等^[24] 制备的含有 CUR 的双层膜,CS/nBC/KA/CUR 复合膜针对 *E. coli* 和 *S. aureus* 的抑菌圈直径分别增加了约 50% 和 33.3%。

复合膜所表现的抑菌活性可能是由于 KA 会影响 DNA 复制相关酶的活性^[36],从而阻碍微生物的正常生长过程。由于 CUR 是一种天然抑菌活性物质^[37],CS/nBC/KA/CUR 复合膜相较于其他复合膜对 *E. coli* 表现出更明显的抑菌效果,这可能是上述两种活性物质协同增效所致。此外,复合膜对 *E. coli* 的平均抑菌效果高于 *S. aureus*,这可能与两种微生物的细胞壁结构不同有关。有研究^[38] 表明,CUR 显著抑菌效果的关键在于其通过细胞膜进入

表 1 不同复合膜的 *TS* 和 *E*

Table 1 The tensile strength and elongation at break of the different composite films

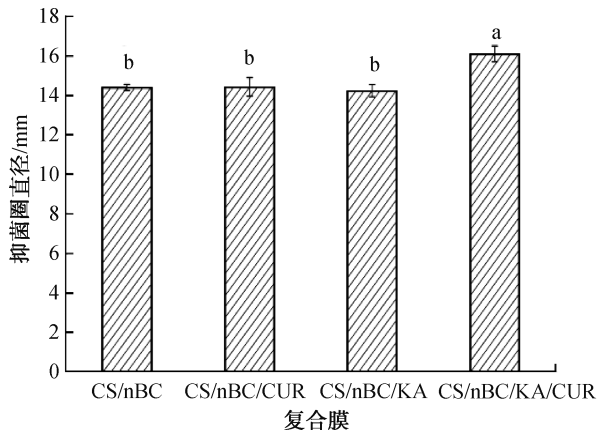
复合膜	厚度/mm	<i>TS</i> /MPa	<i>E</i> /%
CS/nBC	0.155 6±0.005 2 ^a	9.291 5±0.046 0 ^b	8.425 0±0.013 4 ^a
CS/nBC/CUR	0.152 6±0.001 0 ^a	12.057 0±0.104 7 ^a	6.415 0±0.049 5 ^b
CS/nBC/KA	0.153 8±0.001 0 ^a	3.976 0±0.202 2 ^c	6.315 0±0.000 0 ^b
CS/nBC/KA/CUR	0.152 1±0.000 2 ^a	9.151 5±0.146 4 ^b	6.415 0±0.021 2 ^b

细胞内部的能力,而 *E. coli* 的细胞壁结构较疏松,复合膜更易进入其细胞内部,因此对其抑菌效果更好。

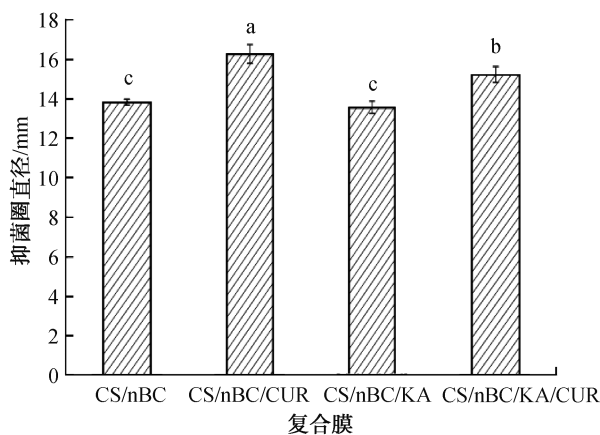
同时,CS/nBC 复合膜也表现出一定的抑菌效果,这可能是由 CS 中带正电荷的活性氨基与带负电荷的细胞膜反应,破坏了细胞膜的完整性所致^[30]。此外,也有研究^[39]指出,使用低浓度乙酸溶解 CS 是其表现出抑菌效果的原因之一,但目前关于 CS 抑菌活性的具体机理尚不明确,有待后续研究。

2.7 抗氧化活性分析

不同复合膜的抗氧化活性见图 6,其中大、小写字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。由图 6 可知,相较于 CS/nBC 复合膜,CS/nBC/KA 和 CS/nBC/CUR 复合膜的自由基清除率都有显著提升,这可能与 KA 和 CUR 的抗氧化机理有关。KA 作为天然抗褐



a) 对 *E. coli* 的抑菌效果



b) 对 *S. aureus* 的抑菌效果

图 5 不同复合膜的抑菌活性

Fig. 5 The antibacterial activity of the different composite films

变剂,能够显著抑制多酚氧化酶(PPO)催化活性,使其表现出明显的抗氧化活性^[17]。CUR 的抗氧化活性与其释放速率等因素有关^[15]。

此外,CS/nBC/KA 复合膜的自由基清除率比 CS/nBC/CUR 复合膜提高约 9%,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的自由基清除率进一步显著提升,达到 14% (DPPH) 和 37% (ABTS)。同时,相较于单独使用 KA 作为抗氧化剂的 CS/nBC/KA 复合膜,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的自由基清除率提高了近 10% (ABTS),这可能是两种抗氧化剂在同一体系内协同增效所致。与 Y. X. Xu 等^[16]制备的仅含有 CUR 的 CS 基膜材料对 ABTS 自由基清除率为 25% 相比,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 ABTS 自由基清除率提升至 37%。

DPPH 和 ABTS 自由基清除率存在明显差异,可能是由于反应涉及的具体步骤有所不同,两者都是基于电子转移来反映待测物的自由基清除能力^[15]。有研究^[40]表明,ABTS 对亲水性和含有色素的待测物的检测效果更显著,而 DPPH 对有机体系中自由基清除率的检测效果更好。

2.8 光学性能分析

不同复合膜的光学性能参数见表 2,其中 $\Delta L^* = L^* - L_0^*$,表示亮度; $\Delta a^* = a^* - a_0^*$,表示红色(+)/绿色(-); $\Delta b^* = b^* - b_0^*$,表示黄色(+)/蓝色(-)^[24]。由表 2 可知,CUR 对复合膜外观色泽的影响十分显著,CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 Δb^* 约为

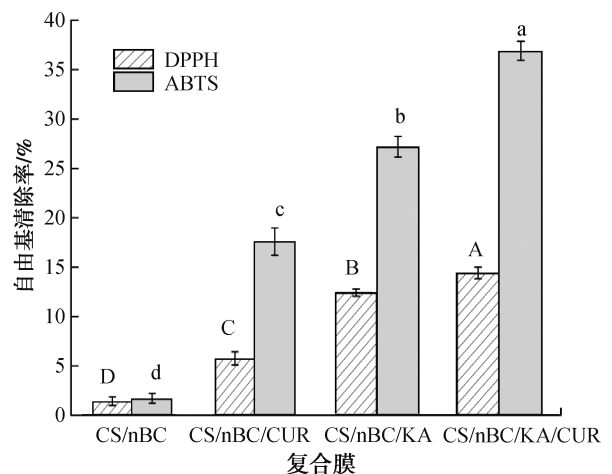
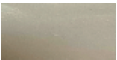
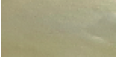




图 6 不同复合膜的抗氧化活性

Fig. 6 The antioxidant activity of the different composite films

表2 不同复合膜的光学性能参数
Table 2 Optical property parameters of the different composite films

复合膜	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE	外观
CS/nBC	0.21±0.22 ^c	1.08±1.4 ^b	0.35±0.38 ^b	1.23±0.10 ^c	
CS/nBC/KA	0.09±0.21 ^c	-0.15±0.36 ^c	-0.44±0.79 ^b	0.72±0.59 ^c	
CS/nBC/CUR	78.35±0.55 ^a	17.72±1.39 ^d	39.77±1.43 ^a	90.84±5.00 ^a	
CS/nBC/KA/CUR	19.31±0.57 ^b	8.33±1.88 ^a	33.14±2.67 ^a	40.23±1.84 ^b	

33.14, 而 CS/nBC 复合膜的 Δb^* 仅约为 0.35。由此可知, CUR 可显著增加复合膜的黄度。此外, 相较于 CS/nBC 复合膜, 添加 CUR 后的 CS/nBC/CUR 复合膜的 ΔE 由 1.23 升高至 90.84。同时, 含有 CUR 的复合膜的 Δa^* 也有所增加, 但 KA 会显著降低其增幅, 如与 CS/nBC/CUR 复合膜 (Δa^* 为 17.72) 相比, CS/nBC/KA/CUR 复合膜的 Δa^* 降低至 8.33。这与 M. Y. Gan 等^[24] 制备的含有低浓度 CUR 的双层膜外观色泽表现相似。

3 结论

本文以 CS 为基膜材料、nBC 为结构增强剂、CUR 和 KA 为功能活性强化剂, 采用溶液浇筑法制备了 CS/nBC/KA/CUR 复合膜材料, 对其结构进行了表征, 并考查了其水分阻隔性能、机械性能、光学性能等。结果表明, CS/nBC/KA/CUR 复合膜中各组分之间主要是通过氢键与范德华力相互作用, 内部结晶度明显增强; 其 $WVTR$ 相较于 CS/nBC 复合膜提升近 24%, TS 相较于 CS/nBC/KA 复合膜上升近 3 倍, E 相较于 CS/nBC/KA 复合膜提高约 1.8%; 抑菌活性和抗氧化活性均显著提升, 对 *E. coli* 的抑菌效果较其他复合膜平均提升约 12.2%, 自由基清除率 (ABTS) 较 CS/nBC 复合膜最高提升约 35.2%。综上所述, CS/nBC/KA/CUR 复合膜具有优良的水分阻隔性能、机械性能、抑菌活性和抗氧化活性, 在食品包装和保鲜领域具有一定的潜在应用价值。

参考文献:

[1] 苏小波. 生物基可降解食品包装材料关键技术研究

[J]. 科技风, 2021(19): 12-13.

- [2] 叶新友. “限塑令”背景下可降解塑料的研究进展[J]. 塑料助剂, 2022(1): 62-66.
- [3] AYRANCI E, TUNC S. The effect of fatty acid content on water vapour and carbon dioxide transmissions of cellulose-based edible films [J]. Food Chemistry, 2001, 72(2): 231-236.
- [4] WEN Y Y, LIU J, JIANG L, et al. Development of intelligent/active food packaging film based on tempo-oxidized bacterial cellulose containing thymol and anthocyanin-rich purple potato extract for shelf life extension of shrimp [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2021, 29: 1-9.
- [5] ELSABEE M Z, NAGUIB H F, MORSI R E. Chitosan based nanofibers, review [J]. Materials Science and Engineering C, 2012, 32(7): 1711-1726.
- [6] GAO L L, ZHANG H, YU B, et al. Chitosan composite hydrogels cross-linked by multifunctional diazo resin as antibacterial dressings for improved wound healing [J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2020, 108(9): 1890-1898.
- [7] 杨焕彬, 曾庆培, 林光明, 等. 生物保鲜剂在禽肉保鲜中的应用研究进展 [J]. 轻工学报, 2021, 36(6): 38-46.
- [8] 甄洪鹏, 聂俊, 孙俊峰, 等. 壳聚糖/聚乙烯醇共混超细纤维的制备及紫外光交联研究 [J]. 高分子学报, 2007(3): 230-234.
- [9] NAGHDI T, GOLMOHAMMADI H, VOSOUGH M, et al. Lab-on-nanopaper: An optical sensing bioplatfrom based on curcumin embedded in bacterial nanocellulose as an albumin assay kit [J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1070: 104-111.
- [10] XIANG Z Y, JIN X C, LIU Q G, et al. The reinforcement mechanism of bacterial cellulose on paper made from woody and non-woody fiber sources [J]. Cellulose, 2017, 24(11): 5147-5156.
- [11] KUNANOPPARAT T, MENUT P, MOREL M H, et al. Reinforcement of plasticized wheat gluten with natural fibers: From mechanical improvement to deplasticizing effect [J]. Composites Part A (Applied Science and Manu-

- facturing), 2008, 39(5): 777-785.
- [12] 刘小静. 细菌纤维素在包装领域的研究进展[J]. 包装工程, 2021, 42(19): 1-11.
- [13] LEE K Y, BLAKER J J, BISMARCK A. Surface functionalisation of bacterial cellulose as the route to produce green polylactide nanocomposites with improved properties [J]. Composites Science and Technology, 2009, 69(15/16): 2724-2733.
- [14] PORTES E, GARDRAT C, CASTELLAN A, et al. Environmentally friendly films based on chitosan and tetrahydrocurcuminoid derivatives exhibiting antibacterial and antioxidative properties [J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 76(4): 578-584.
- [15] 谢玉梅. 含细菌纤维素与姜黄素的马铃薯皮活性膜的制备与表征[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2019.
- [16] XU Y X, LIU X L, JIANG Q X, et al. Development and properties of bacterial cellulose, curcumin, and chitosan composite biodegradable films for active packaging materials[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 260: 117778.
- [17] 何世微, 陶毅明, 王贵平, 等. 曲酸对菠萝蜜多酚氧化酶的抑制作用和抑菌实验[J]. 食品工业科技, 2015, 36(11): 159-161, 166.
- [18] 蒋利亚. 不同浓度的曲酸溶液对藕带褐变的抑制及抗菌作用[J]. 广东化工, 2021, 48(19): 38-40.
- [19] SUKHTEZARI S, ALMASI H, PIRSA S, et al. Development of bacterial cellulose based slow-release active films by incorporation of *Scrophularia striata* Boiss. extract[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 156: 340-350.
- [20] ZHOU X Y, LIU X L, WANG Q, et al. Antimicrobial and antioxidant films formed by bacterial cellulose, chitosan and tea polyphenol-Shelf life extension of grass carp[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2022, 33: 1-10.
- [21] WANG H P, GONG X C, MIAO Y L, et al. Preparation and characterization of multilayer films composed of chitosan, sodium alginate and carboxymethyl chitosan-ZnO nanoparticles[J]. Food Chemistry, 2019, 283: 397-403.
- [22] LIU J, LIU S, CHEN Y, et al. Physical, mechanical and antioxidant properties of chitosan films grafted with different hydroxybenzoic acids[J]. Food Hydrocolloids, 2017, 71: 176-186.
- [23] 谭才邓, 朱美娟, 杜淑霞, 等. 抑菌试验中抑菌圈法的比较研究[J]. 食品工业, 2016, 37(11): 122-125.
- [24] GAN M Y, GUO C Y, LIAO W Y, et al. Development and characterization of chitosan/bacterial cellulose/pullulan bilayer film with sustained release curcumin[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 226: 301-311.
- [25] 张伸. 基于海藻酸钠可食用抗菌复合膜的制备与性能研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2018.
- [26] SUN T, WU C L, HAO H, et al. Preparation and preservation properties of the chitosan coatings modified with the in situ synthesized nano SiO_x [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 54: 130-138.
- [27] MA X X, CHEN Y J, HUANG J Y, et al. In situ formed active and intelligent bacterial cellulose/cotton fiber composite containing curcumin[J]. Cellulose, 2020, 27(16): 9371-9382.
- [28] CHIAOPRAKOBKIJ N, SUWANMAJO T, SANCHAVANAKIT N, et al. Curcumin-loaded bacterial cellulose/alginate/gelatin as a multifunctional biopolymer composite film[J]. Molecules, 2020, 25(17): 3800-3818.
- [29] LIU X L, JIANG Q, XIA W S. One-step procedure for enhancing the antibacterial and antioxidant properties of a polysaccharide polymer: Kojic acid grafted onto chitosan [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 113: 1125-1133.
- [30] 刘晓丽. 壳寡糖-曲酸衍生物的制备及其抗菌活性研究[D]. 无锡: 江南大学, 2015.
- [31] GUZ L, FAMÁ L, CANDAL R, et al. Size effect of ZnO nanorods on physicochemical properties of plasticized starch composites[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157: 1611-1619.
- [32] SABLANI S S, DASSE F, BASTARRACHEA L, et al. Apple peel-based edible film development using a high-pressure homogenization [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(7): E372-E381.
- [33] 席丽娟. N-琥珀酰壳聚糖固载溶菌酶抑菌膜的制备、性能及应用研究[D]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [34] 于金坤, 张芳. 姜黄素介导的光动力技术对鲜切马铃薯的杀菌效果[J]. 食品工业科技, 2021, 42(4): 259-263, 270.
- [35] 陈玉芹, 李仲佰, 姚敏, 等. 明胶-壳聚糖-肉桂精油天然涂膜液的制备及其抑菌效果研究[J]. 轻工学报, 2021, 36(4): 9-17.
- [36] 李凤梅. 曲酸对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用研究[J]. 食品研究与开发, 2008(6): 190-192.
- [37] PENHA C B, BONIN E, SILVA A F D, et al. Photodynamic inactivation of foodborne and food spoilage bacteria by curcumin [J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 76: 198-202.
- [38] 李雪娜. 姜黄素介导的光动力杀菌在食品中的潜在应用[J]. 现代食品, 2021(9): 29-31.
- [39] 陈春涛, 程卫国, 李元, 等. 天然防腐剂壳聚糖的研究与应用[J]. 郑州轻工业学院学报, 1998(1): 4-7.
- [40] KIM D O, LEE K W, LEE H J, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(13): 3713-3717.

Preparation and properties of chitosan-based antibacterial and antioxidative composite films

LIU Xiaoli, GUO Caoyu, LIN Kaili, LIAO Wenyong, WANG Wenyan

School of Food Science and Technology/State Key Laboratory of Food Science and Technology/Collaborative Innovation Center of Food Safety and Quality Control in Jiangsu Province, Jiangnan University, Wuxi 214122, China

Abstract: In order to obtain chitosan (CS) based composite film materials with satisfactory functional properties, CS based antibacterial and antioxidant composite films (CS/nBC/KA/CUR) containing nanobacterium cellulose (nBC), curcumin (CUR) and kojic acid (KA) was prepared by mixed solution casting method. The barrier properties, mechanical properties, optical properties, antibacterial activity, and antioxidant activity of different component composite films were investigated. The results showed that the components of CS/nBC/KA/CUR composite film interacted with each other mainly by hydrogen bonding and van der Waals force, and the interior of the film showed a relatively enhanced crystallinity. Compared with the other composite films, the water solubility of CS/nBC/KA/CUR composite films was decreased significantly. The water vapor transmission rate was increased by nearly 24% compared with CS/nBC composite films. The tensile strength was increased by nearly 3 times, and the elongation at break was increased by about 1.8% compared with CS/nBC/KA composite films. The antibacterial effect against *E. coli* was increased by about 12.2% compared with the other composite films, and the ABTS free radical scavenging rate was most greatly increased by 35.2% compared with CS/nBC composite films. Therefore, CS/nBC/KA/CUR composite films combined the advantages of each components and showed a certain potential value in the development of active food packaging materials.

Key words: chitosan; kojic acid; curcumin; composite films; antibacterial activity; antioxidant activity

(责任编辑:王晓波)

本刊数字网络传播声明

本刊已许可中国知网,万方数据资源系统,维普网,国家科技学术期刊开放平台,博视网,超星,中国科技论文在线,中教数据库,CA,EBSCOhost, Ulrichs, FSTA 等在其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。其相关著作权使用费与本刊稿酬一并支付。作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我刊上述声明。