

静电纺抗菌纳米纤维膜的制备及纺丝条件对其形貌的影响

吴虹, 温棚, 崔秀秀, 朱定和, 娄文勇, 宗敏华

(华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 本文利用静电纺丝技术将可生物降解的聚乙烯醇(PVA)和具有良好抗菌作用的肉桂精油纺成抗菌纳米纤维材料。溶液组成及纺丝工艺参数会影响纤维直径的分布, 进而影响材料的抗菌性能。因此, 我们首先考察了不同质量浓度的 PVA 和 β -环糊精(β -CD)对纤维直径分布的影响。借助扫描电镜对制备的纳米纤维形貌进行观察, 发现最适的 PVA 及 β -CD 的质量浓度分别为 6% 和 2%。在恒定电压下, 利用 SPSS 分析接收距离和纺丝速率对纤维直径分布的影响。结果表明, 接收距离对纤维直径的影响更为显著, 而纺丝速率影响相对较小, 适宜的纺丝工艺参数为电压 15 kV, 纺丝速率 0.4 mL/h, 接收距离 14 cm。在上述优化条件下, 得到的纳米纤维直径分布均匀、形貌良好, 有利于提高其抗菌活性。

关键词: 静电纺丝; 抗菌纳米纤维膜; 纤维直径; SPSS

文章编号: 1673-9078(2013)12-2937-2941

Preparation of Electrospun Antimicrobial Nanofiber Film and the Effect of Electrospinning Condition on Its Morphology

WU Hong, WEN Peng, CUI Xiu-xiu, ZHU Ding-he, LOU Wen-yong, ZONG Min-hua

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Biodegradable polymer of polyvinyl alcohol (PVA) and cinnamon essential oil with a good antimicrobial effect were successfully electrospun into antimicrobial nanofiber film in this study. The solution composition and electrospinning parameters had significant effect on the distribution of fiber diameter, leading to the variation of antimicrobial property of nano-material. Therefore, we first investigated the effect of PVA and β -cyclodextrin (β -CD) concentrations on the fiber diameter distribution. SEM was applied to observe the morphology of the nanofibers, and the optimal mass concentration of PVA and β -CD was found to be 6% and 2%, respectively. SPSS methodology was used to analyze the effect of the flow rate and distance on the diameter distribution under constant voltage condition. The results showed that the distance had more remarkable influence on the nanofiber diameter than that of flow rate. The optimal electrospinning conditions were: voltage 15 kV, flow rate 0.4 mL/h and distance 14 cm. Under the above-mentioned optimal conditions, the diameters of the resulting nanofibers were equally distributed, and the nanofiber film had a good morphology, which could enhance the persistence of its antimicrobial ability.

Key words: electrospun; antimicrobial nanofiber film; fiber diameter; statistics package for social science

食品抗菌包装是在包装材料中添加一定量的对人体安全的抗菌剂, 通过抑制或杀灭食品表面附着的微生物, 从而延长食品货架期的一种新型功能材料^[1]。

收稿日期: 2013-08-05

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31071559); 新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-11-0161, NCET-10-0367); 广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室开放基金资助项目(201207)

作者简介: 吴虹(1971-), 女, 博士, 副教授, 主要从事食品化工、生物化工研究; 温棚与崔秀秀并列第二作者

通讯作者: 宗敏华(1960-), 女, 博士, 教授, 主要从事食品化工、生物化工研究

抗菌包装材料包括添加无机或有机抗菌剂的抗菌包装材料、可食性食品抗菌膜、分子组装抗菌材料、纳米抗菌包装材料等。其中, 纳米抗菌包装材料是指把具有抗菌特性的材料加工到纳米级别, 或者是把具有抗菌特性的纳米粒子复合到高分子材料中, 其独特的纳米效应使这些材料具有传统抗菌材料所不具备的一些优良特性^[2]。

制备纳米材料的方法众多, 如拉伸法、模板合成法、微相分离法、自组合法、碳纳米管法、海岛型双组分复合纺丝法、分子喷丝板纺丝法和静电纺丝法^[3]。其中, 静电纺丝法是目前能够直接连续制备纳米纤维

简单有效且操作方式温和的方法。所得的纤维直径在 50 nm~1000 nm 之间, 比常规方法得到的纤维直径小, 具有超高的特异性、比表面积和孔隙率^[4]。同时可以将很多功能性物质加入到聚合物溶液中, 使得所制备的材料具有广泛的用途, 可应用于生物医学, 膜过滤, 和食品工业等领域^[5]。迄今, 已有报道利用静电纺丝技术将可降解高分子聚合物(聚乙烯醇、聚乳酸、聚己内酯等)与金属颗粒、蛋白质、壳聚糖、一些无机材料混纺形成纳米材料^[6-8], 但有关聚乙烯醇(Polyvinyl alcohol, PVA)与植物精油混纺制备抗菌纳米纤维膜的研究未见报道。

静电纺丝过程中的电压、纺丝速率和接收距离等对纤维的直径分布具有显著影响, 而纤维直径的大小又影响其抗菌性能的发挥。我们通过研究发现, 纺丝电压主要影响泰勒锥的形成, 其在 10 kV~20 kV 内都能形成良好的泰勒锥, 而纺丝速率和接收距离的不同会影响泰勒锥的分裂及溶剂的挥发。因此, 需要控制适宜接收距离和纺丝速率得到分布均匀的纤维直径^[9]。SPSS (Statistics Package for Social Science) 是目前广泛应用于自然科学、统计学、经济学、医学等领域的统计学分析方法^[10], 利用其处理数据, 不但能够显著减少数据分析工作量, 而且提高了数据的准确性和可信性。

肉桂精油 (Cinnamon essential oil, CEO) 是一种具有良好抗菌性能的天然抗菌剂^[11], 但其难溶于水, 且易挥发; 加入 β -环糊精 (β -cyclodextrin, β -CD) 使其形成包合物, 可提高其在纳米纤维复合膜中的稳定性和抗菌活性。本研究利用静电纺丝技术, 将肉桂精油与 β -环糊精包合物与可生物降解的聚乙烯醇共纺, 得到一种具有广谱抗菌性的纳米纤维膜, 并应用 SPSS 分析在恒定电压下纺丝速率和接收距离对于纤维直径和形貌的影响。通过条件优化, 得到纤维直径均匀、形貌良好的抗菌纳米纤维膜, 其有利于抗菌剂的缓慢释放, 从而实现抗菌性能的持久性。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

聚乙烯醇购自广州天马精细化工厂; β -环糊精购自上海凌峰化学试剂有限公司; 肉桂精油购自吉安市恒诚天然香料有限公司。所用化学试剂均为分析纯。实验用水为去离子水。

1.2 仪器与设备

RT5 高效 5 点加热磁力搅拌器, 德国 IKA;

ALC-2100.2 电子天平, 德国艾科勒公司; 自制静电纺丝装置; S-3700N 扫描电镜仪, HITACHI 日立有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 纺丝溶液的准备

将一定量 (6~10 g) 的 PVA 加入到 100 g 去离子水中, 80 °C 下搅拌 2 h, 冷却至 50 °C。然后向其中加入一定量 (1~3 g) β -CD, 50 °C 下搅拌 1 h, 冷却至室温。最后, 将 2 mL CEO 加入到上述溶液中搅拌 1 h, 得到 PVA/CEO/ β -CD 纺丝溶液。

1.3.2 静电纺丝过程

设定纺丝电压 15 kV, 使用 20 号不锈钢针头, 注射器推进速度为 0.2~0.8 mL/h, 接收屏到针头的距离为 12~18 cm, 纺丝温度 26 °C, 相对湿度 58%, 纤维收集在接地的铝箔上, 最后, 将得到纳米纤维膜在 35 °C 下真空干燥 12 h。

1.3.3 扫描电镜 (SEM) 测试

将样品表面喷金处理后, 使用日本 Hitachi-4700 型扫描电镜观测纤维形貌。放大倍数 6000 倍, 加速电压 10.0 kV, 工作距离 9.4 mm。取 100 根纤维, 采用 Nano-measurer 1.2 图像分析软件测量纤维直径。

1.3.4 抗菌性能测试

采用抑菌圈法进行抗菌性能测试。制备无菌的营养肉汤平板, 加入浓度为 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ CFU/mL 不同指示菌的菌悬液 0.1 mL, 涂布均匀, 得到含菌平板。再将所得的抗菌纳米纤维复合膜用打孔器打出直径 6 mm 的圆片, 放在紫外灯下灭菌 2 h, 然后贴于上述含菌平板上, 对照为大小一致的铝箔, 倒置培养 24 h, 观察抑菌圈大小。

1.4 数据分析

用 SPSS 17.0 for Windows 进行试验数据分析, 先进行适当的数据转换以满足方差分析的要求, 用无重复双因素方差分析 (two way ANOVA) 检验接收距离和纺丝速率对纤维直径分布的影响; 采用进入法拟合因变量的线性回归方程, 并对回归模型进行显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 静电纺抗菌纳米纤维膜的制备

在纺丝电压 15 kV, 纺丝速率 0.2 mL/h, 接收距离为 15 cm 时, 所制备的 6% PVA/2% CEO/1% β -CD 抗菌纳米纤维膜见图 1, 其 SEM 及纳米纤维直径分布

图如图3所示,所得纳米纤维膜直径在 110 nm~720 nm 之间。采用抑菌圈法检测该纳米纤维膜对 4 种常见食源性微生物(金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、单增李斯特菌 *Listeria monocytogenes*、大肠杆菌 *Escherichia coli*、沙门氏菌 *Salmonella*) 的抑菌效果。图 2 的结果表明,所得纳米纤维膜对革兰氏阳性菌(*S.aureus*, *L. monocytogenes*)及革兰氏阴性菌(*E. coli*, *Salmonella*)都具有较好的抑菌作用,且对革兰氏阳性菌更为敏感。这与前人报道的结果相一致^[12]。



图 1 PVA/CEO/β-CD 抗菌纳米纤维膜

Fig.1 PVA/CEO/β-CD antimicrobial nanofiber film

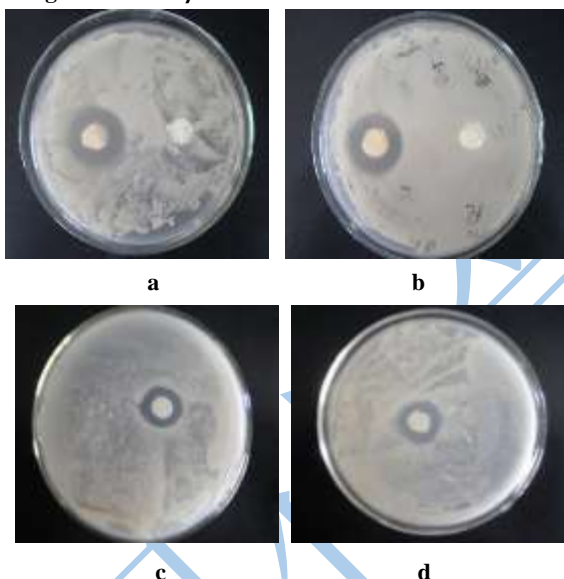


图 2 PVA/CEO/β-CD 纳米纤维膜的抑菌圈图

Fig.2 Inhibition zones of the PVA/CEO/β-CD nanofiber film

注: a: *S.aureus*, b: *L. monocytogenes*, c: *E. coli*, d: *Salmonella*。

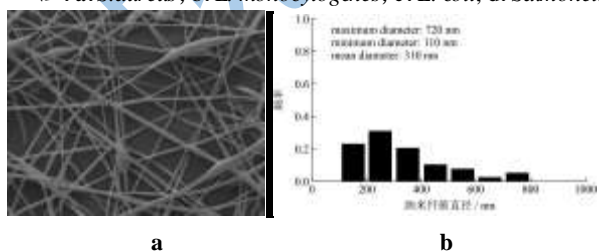


图 3 PVA/CEO/β-CD 抗菌纳米纤维膜 SEM 图 (a) 及其纤维直径分布图 (b) (6000×)

Fig.3 SEM of PVA/CEO/β-CD antimicrobial nanofiber film and its fiber diameter distribution

注: 纺丝条件: 电压 15 kV, 纺丝速率 0.6 mL/h, 接收距离 16 cm, 26℃, 相对湿度 58%。

2.2 PVA 浓度对纳米纤维膜形貌的影响

影响纤维形貌的因素主要包括溶液参数及纺丝工艺参数等。对于纺丝溶液而言, 高的粘度和低的电导率会阻碍纤维的拉伸, 导致所得的纳米纤维较粗^[13]。目前, 采用 PVA 进行静电纺丝时, 浓度一般为 6~10%; 而在我们的实验研究中, 发现当 PVA 质量浓度为 10% 时, 纺丝溶液由于粘度太大易堵塞针孔, 无法连续制备纳米纤维。因此, 考察了 6% 和 8% 的 PVA 对所得纳米纤维膜形貌的影响(图 4)。由图 4 可知, 含 8% PVA 的膜其纤维直径分布不均匀, 且略粗于含 6% PVA 的相应值。其原因是前者的溶液粘度显著高于后者 (0.168 Pa.S vs 0.325 Pa.S), 产生的表面张力不利于纤维的拉伸分化。此外, 由于我们采用 β-CD 对 CEO 进行包埋, 其可以与 PVA 之间形成大量氢键, 使得溶液粘度继续增加, 因此, 我们选择 PVA 的浓度为 6% (m/m)。

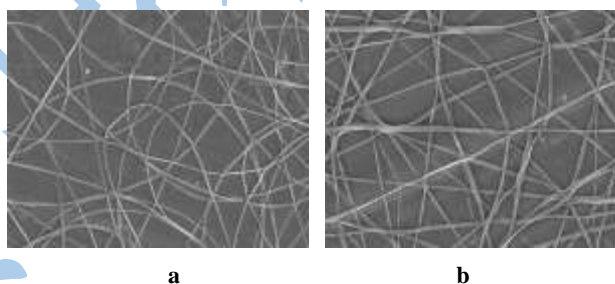


图 4 含不同 PVA 浓度的纳米纤维膜 SEM 图 (4000×)

Fig.4 SEM images of nanofiber films with different PVA concentrations

注: 纺丝条件: 电压 15 kV, 纺丝速率 0.6 mL/h, 接收距离 16 cm, 26℃, 相对湿度 60%; a: 6% PVA; b: 8% PVA。

2.3 β-CD 浓度对纳米纤维膜形貌的影响

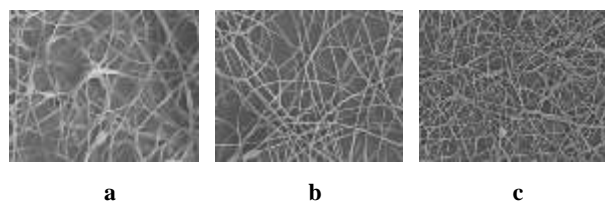


图 5 含不同 β-CD 浓度的纳米纤维膜 SEM 图 (4000×)

Fig.5 SEM images of nanofiber film with different β-CD concentrations

注: 纺丝条件: 电压 15 kV, 纺丝速率 0.6 mL/h, 接收距离 16 cm, 26℃, 相对湿度 60%; a: 1% β-CD; b: 2% β-CD; c: 3% β-CD。

β-CD 浓度对纳米纤维膜形貌的影响见图 5。由图

5a 可知, 含 1% β -CD 的抗菌纳米纤维膜的纤维直径大小不均一, 且存在粘连的问题, 其原因可能是 β -CD 的量过少, 不能完全包埋 CEO, 使得形成的纳米纤维被未挥发的 CEO 溶解。当 β -CD 为 2% 时, 所得纳米纤维的直径分布均匀(图 5b)。随着 β -CD 的含量进一步增大为 3% (m/m), 所得纳米纤维膜的纤维粗细不均匀, 且彼此之间易粘结, 主要是因为溶液粘度较大, 不能有效保证电场力和表面张力之间的平衡, 在针头处易累积液滴, 导致纤维不均匀拉伸。因此, 适宜的 β -CD 浓度为 2% (m/m)。

2.4 静电纺丝工艺参数对纳米纤维膜形貌的影响

表 1 SPSS 试验设计及结果

Table 1 Experimental design and results of SPSS

试验号	因素		纤维直径分布	
	纺丝速率/(mL/h)	接收距离/cm	最大直径/ μ m	最小直径/ μ m
1	0.2	12	0.70	0.10
2	0.2	14	0.66	0.10
3	0.2	16	0.78	0.09
4	0.2	18	0.88	0.08
5	0.4	12	0.58	0.06
6	0.4	14	0.62	0.10
7	0.4	16	0.64	0.07
8	0.4	18	0.74	0.07
9	0.6	12	0.34	0.10
10	0.6	14	0.49	0.08
11	0.6	16	0.62	0.06
12	0.6	18	0.71	0.06
13	0.8	12	0.60	0.11
14	0.8	14	0.83	0.07
15	0.8	16	0.89	0.05
16	0.8	18	0.94	0.08

静电纺丝工艺参数对所形成的纳米纤维的形貌有显著影响^[4]。实验发现, 在纺丝过程中, 纺丝电压在 10 kV~ 20 kV 内都能形成良好的泰勒锥, 而接收距离和纺丝速率的不同会影响泰勒锥的分裂及溶剂的挥发。一般地, 增大接收距离能延长飞行及溶剂挥发时间, 使得更小的细丝从针头处的泰勒锥喷射或分裂出来, 但是距离过大会导致纤维直径分布不均的程度增大; 而纺丝速率会影响针头处纺丝液的体积, 进而影响泰勒锥的质量和溶剂的挥发时间。因此, 在固定纺丝电压条件下, 通过改变纺丝速率和接收距离, 利用

SPSS 统计分析所得纤维直径分布情况, 以期得到形貌良好的抗菌纳米纤维膜。

表 2 SPSS 无重复双因素方差分析表

Table 2 No repeated two-factor analysis of variance table

方差来源	因变量/ μ m	III型平方和	Df	均方	F	Sig.
校正模型	最大直径	0.353 ^a	6	0.059	17.771	0.000
	最小直径	0.003 ^b	6	0.001	4.333	0.025
截距	最大直径	7.480	1	7.480	2257.235	0.000
	最小直径	0.106	1	0.106	845.000	0.000
接收距离	最大直径	0.168	3	0.056	16.866	0.000
	最小直径	0.003	3	0.001	6.733	0.011
纺丝速率	最大直径	0.186	3	0.062	18.676	0.000
	最小直径	0.001	3	0.000	1.933	0.195
误差	最大直径	0.030	9	0.003		
	最小直径	0.001	9	0.000		
总计	最大直径	7.863	16			
	最小直径	0.110	16			
校正的	最大直径	0.383	15			
	最小直径	0.004	15			

a.R²=0.922 (调整的 R²=0.870)
b.R²=0.743 (调整的 R²=0.571)

表 3 回归方程显著性检验表

Table 3 Significant test for each term of the fitted regression model

模型	平方和	df	均方	F	Sig.
回归	0.169	2	0.085	5.143	0.023 ^a
1 ^b 残差	0.214	13	0.016		
总计	0.383	15			
回归	0.003	2	0.001	8.667	0.004 ^a
1 ^c 残差	0.002	13	0.000		
总计	0.004	15			

a. 预测变量: 常量, 纺丝速率/(mL/h), 接收距离/cm
b. 因变量: 最大直径/ μ m
c. 因变量: 最小直径/ μ m

固定纺丝电压为 15 kV, 对接收距离和纺丝速率进行二因素四水平的 SPSS 实验(表 1)。表 1 的结果表明, 95% 置信区间内最大直径和最小直径的分布范围分别是 598.6~768.9 nm 和 72.1~90.4 nm。利用 SPSS 17.0 软件对表 1 中数据进行无重复双因素方差分析(表 2)。由表 2 可看出, 对于纤维直径的分布而言, 接收距离对最大及最小直径的影响显著, 而纺丝速率影响不显著。采用进入法拟合线性回归方程, 得到最大及最小直径的回归方程分别为: $Y_{max}=0.042 \times distance$, $Y_{min}=-0.005 \times distance+0.169$ 。对回归模型进行显著性

检验,结果如表3所示。由表可知,最大直径的回归模型显著(Sig.=0.023<0.05),最小直径的回归模型极其显著(Sig.=0.004<0.01)。二者回归模型的决定系数 R^2 分别为0.842和0.871,表明该模型与数据拟合程度较高,可用该模型分析和预测纳米纤维直径的分布范围。

由SPSS分析得出最佳的纺丝工艺参数为:电压15 kV,进样速率0.4 mL/h,接收距离14 cm;所得纤维最大及最小理论直径分别为588 nm和99 nm。而在此条件下纺丝所得的纳米纤维膜的SEM图如图6所示,最大及最小纤维直径的实测值分别为590 nm和100 nm,与SPSS的预测值相比,误差仅为0.33%和1%;且纤维直径分布均匀,大部分集中在200~300 nm之间,不存在纺锤状珠节,形貌良好,有利于抗菌剂的缓慢释放。该结果亦表明采用SPSS分析方法得到的纺丝工艺参数是可行的。

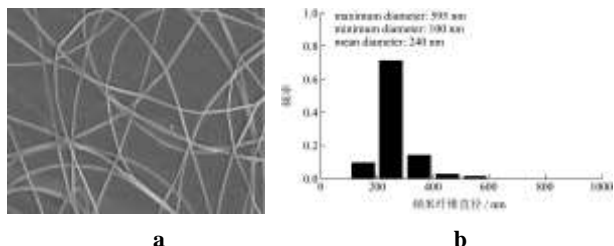


图6 优化条件下PVA/CEO/ β -CD抗菌纳米纤维膜的SEM图(a)(6000 \times)及其纳米纤维直径分布图(b)

Fig.6 SEM of PVA/CEO/ β -CD antimicrobial nanofiber film and its fiber diameter distribution under optimal condition

注:纺丝条件:纺丝溶液组成为6% PVA / 2% CEO / 2% β -CD,电压15 kV,纺丝速率0.4 mL/h,接收距离14 cm,26 $^{\circ}$ C,相对湿度58%。

3 结论

利用静电纺丝技术成功制备了PVA/CEO/ β -CD抗菌纳米纤维膜,其对四种常见食源性微生物(*S.aureus*, *L.monocytogenes*, *E.coli*, *Salmonella*)均具有良好的抑菌作用。溶液组成及纺丝工艺参数均会影响所得纤维膜纤维直径的分布。最适的PVA及 β -CD的质量浓度分别为6%和2%。对纺丝工艺参数的SPSS统计分析结果表明,在恒定电压下,与纺丝速率相比,接收距离对纤维形貌的影响更显著。最适的纺丝条件为电压15 kV,纺丝速率0.4 mL/h,接收距离14 cm。优化条件下所得的纳米纤维较纤细,且直径分布均匀,形貌良好,有利于提高其比表面积,从而实现抗菌剂的缓慢释放。

参考文献

- [1] 高艳玲,姜国伟,李铁强,等.食品抗菌包装技术及研究进展[J].塑料工业,2004,32(2):6-8
GAO Yan-ling, JIANG Guo-wei, LI Tie-qiang, et al. Advance in study of new trends of antimicrobial food packaging technique [J]. China plastics industry, 2004, 32(2): 6-8
- [2] Dastjerdi R, Montazer M. A review on the application of inorganic nano-structured materials in the modification of textiles: Focus on anti-microbial properties [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010, 79(1): 5-18
- [3] 安林红,王跃.纳米纤维技术的开发及应用[J].当代石油石化,2002,10(1):41-45
AN Lin-hong, WANG Yue. Development and application of nanofiber technology [J]. Petroleum and Petrochemical Today, 2002, 10(1): 41-45
- [4] Bhardwaj N, Kundu SC. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique [J]. Biotechnology Advances, 2010, 28(3): 325-347
- [5] Cruz-Romero M C, Murphy T, et al. Antimicrobial activity of chitosan, organic acids and nano-sized solubilisates for potential use in smart antimicrobially-active packaging for potential food applications [J]. Food Control, 2013, 34(2): 393-397
- [6] Kayaci F, Uyar T. Encapsulation of vanillin/cyclodextrin inclusion complex in electrospun polyvinyl alcohol (PVA) nanowebs: Prolonged shelf-life and high temperature stability of vanillin [J]. Food Chemistry, 2012, 133(3): 641-649
- [7] Lagaron J M, Lopez-Rubio A. Nanotechnology for bioplastics: opportunities, challenges and strategies [J]. Trends in Food Science & Technology, 2011, 22(11): 611-617
- [8] Sun X Z, Williams G R, Hou X X, et al. Electrospun curcumin-loaded fibers with potential biomedical applications [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 94(1): 147-153
- [9] Deitzel J M, Kleinmeyer J, Harris D, et al. The effect of processing variables on the morphology of electrospun nanofibers and textiles [J]. Polymer, 2001, 42(1): 261-272
- [10] 陆志波,汪毅,王娟.SPSS10.0 在实验数据分析中的应用[J].环境技术,2003,3:37-42
LU Zhi-bo, WANG Yi, WANG Juan. SPSS 10.0 Applied in Experimental Data Analysis [J]. Environmental technology, 2003, 3: 37-42
- [11] Du W X, Oksen C W, Avena-Bustillos R J, et al. Antibacterial Effects of Allspice, Garlic, and Oregano

- Essential Oils in Tomato Films Determined by Overlay and Vapor-Phase Methods [J]. *Journal of Food Science*, 2009, 74(7): 390-39
- [12] Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2004, 94(3): 223-253
- [13] Bhardwaj N, Kundu S C. Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique [J]. *Biotechnology Advances*, 2010, 28(3): 325-347
- [14] Zuo W, Zhu M, Yang W, et al. Experimental study on relationship between jet instability and formation of beaded fibers during electrospinning [J]. *Polymer Engineering & Science*, 2005, 45(5): 704-709
- [13] Bhardwaj N, Kundu S C. Electrospinning: A fascinating fiber

现代食品科技