

# 细菌纤维素-甲壳素-玉米醇溶蛋白颗粒 复合膜的制备与表征

高若航, 李青, 万芝力\*, 杨晓泉

(华南理工大学食品科学与工程学院植物蛋白与胶体研究中心, 广东省天然产物绿色加工与产品安全重点实验室, 广东广州 510640)

**摘要:** 为制备功能化细菌纤维素基复合膜, 本研究以细菌纤维素 (Bacterial Cellulose, BC)、甲壳素纳米纤维 (Chitin Nanofibrils, CH)、玉米醇溶蛋白纳米颗粒 (Zein Nanoparticles, ZN) 为原料, 采用高效的快速抄纸技术 (抽滤与热压结合) 制备 BC-CH-ZN 复合膜。研究 BC:CH 质量比、ZN 添加量对复合膜结构和性能的影响。进一步在 ZN 中加入百里香酚 (Thymol, TH), 考察 TH 添加量对膜的热稳定性及抗菌特性的影响。结果表明, 相对于纯 BC 膜, 当 BC:CH 质量比从 10:0 减少至 5:5 时, 复合膜的抗拉强度 (从 183.45 MPa 到 171.38 MPa) 和断裂伸长率 (从 2.58% 到 2.11%) 未发生明显变化。扫描电镜、厚度、红外光谱和元素分析结果共同证实 ZN 能有效地包覆在 BC-CH 复合膜内, 接触角数据变化 (从 49.15° 增加至 77.28°) 表明其改善了 BC 膜过于亲水的缺陷。TH 的加入不影响 BC-CH-ZN 复合膜的热稳定性, 且能为复合膜提供更好的抗菌效果。因此, 复合 CH、ZN 和 TH 制备 BC 基新型功能膜材料可以改善 BC 过于亲水的缺陷, 为开发具有更多功能特性的 BC 复合膜提供指导意义。

**关键词:** 细菌纤维素; 甲壳素纳米纤维; 玉米醇溶蛋白颗粒; 纳米复合膜; 快速抄纸技术

文章编号: 1673-9078(2022)11-210-218

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.11.0025

## Preparation and Characterization of the Bacterial Cellulose-Chitin-Zein Particle Composite Membrane

GAO Ruohang, LI Qing, WAN Zhili\*, YANG Xiaoquan

(College of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangdong Province Key Laboratory for Green Processing of Natural Products and Products Safety, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** Bacterial cellulose-based functional nanocomposite membranes were fabricated using an efficient and scalable papermaking process (filtration and hot pressing), with bacterial cellulose (BC), chitin nanofibrils (CH), and zein nanoparticles (ZN) as nanosized building blocks. The effects of the mass ratio of BC to CH and the content of ZN on the structure and properties of the composite membranes were studied. The effect of incorporating thymol (TH) on the thermal stability and antibacterial properties of the membranes were further investigated. The results showed that the tensile strength (from 183.45 MPa to 171.38 MPa) and elongation at break (from 2.58% to 2.11%) of the composite film did not significantly change when the mass ratio of BC to CH was decreased from 10:0 to 5:5, respectively. Scanning electron microscopy, thickness evaluation, Fourier transform infrared spectroscopy, and elemental analysis confirmed that ZN could be effectively incorporated into the BC-CH membranes. Further, the contact angle data (from 49.15° to 77.28°) indicated that the surface hydrophobicity of the composites was improved in the presence of ZN. The thermal stability of the composite membranes was not affected by the addition of thymol, but their antibacterial effect was improved. Thus, the surface hydrophobicity of BC can be improved by compositing with CH, ZN, and TH to prepare

引文格式:

高若航, 李青, 万芝力, 等. 细菌纤维素-甲壳素-玉米醇溶蛋白颗粒复合膜的制备与表征[J]. 现代食品科技, 2022, 38(11): 210-218

GAO Ruohang, LI Qing, WAN Zhili, et al. Preparation and characterization of the bacterial cellulose-chitin-zein particle composite membrane [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(11): 210-218

收稿日期: 2022-01-07

基金项目: 广东省自然科学基金面上项目 (2021A1515011000)

作者简介: 高若航 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 蛋白质化学与营养, E-mail: 15797631690@qq.com

通讯作者: 万芝力 (1987-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向: 蛋白质化学与工程, E-mail: zhiliwan@scut.edu.cn

new BC-based functional membrane materials. These results can provide guidance for the development of BC composite membrane with additional functional properties.

**Key words:** bacterial cellulose; chitin nanofibrils; zein nanoparticles; nanocomposites; paper-making technique

废弃塑料膜造成了严重的土地污染、海洋污染和水源污染,甚至威胁到动物与人类的生存<sup>[1]</sup>。自2020年限塑令发布以来,淀粉<sup>[2]</sup>、纤维素<sup>[3]</sup>、聚乳酸<sup>[4]</sup>等可降解聚合物逐步取代合成类聚合物,成为膜材料制备的热门原料。细菌纤维素(Bacterial Cellulose, BC)是一类由木醋杆菌等微生物发酵合成的一种天然纳米纤维聚合物,其化学结构与植物纤维素相同;凝胶状的BC由许多有序排列,紧密结合的高长径比纳米纤维组成,其干燥后形成的膜材料具有优异的机械性能<sup>[5]</sup>。纯BC膜功能单一难以作为功能材料发挥作用,同时其亲水性过强的特点极大的限制了其在食品邻域(如吸管材料)中的应用。目前,为了改善BC膜过于亲水的特点以及拓展其应用,常用的解决方式是将BC与其他物质(如纤维素、蛋白质)进行复合制备性能更为优良的复合膜材料<sup>[6,7]</sup>。

甲壳素(Chitin)是含量仅次于纤维素的第二大生物聚合物,也是自然界唯一的聚阳离子多糖,主要存在于虾、蟹、真菌等生物体中,组成甲壳素的分子链排列有序,存在分子内和分子间氢键,因而具有较高的强度和模量。此外,作为生物来源的天然聚合物,甲壳素也具有良好的生物相容性和生物可降解性,是一种绿色环保的原料<sup>[8]</sup>。目前,已有相关学者将甲壳素通过机械处理制备出纳米纤维(Chitin Nanofibrils, CH),并将其应用在BC膜的制备中。例如, Yang等<sup>[7]</sup>将CH在BC原位合成阶段加入,经纯化干燥后可得到纳米填充膜;该原位合成的改性BC基材料具有一定的抗微生物效应。但该方式生产周期长,产品品质对生长环境要求较高。因此,有必要探索更快速有效的工艺来制备更多功能特性的BC-CH复合膜。玉米醇溶蛋白(Zein)为一种醇溶蛋白,通过反溶剂技术可制备出纳米颗粒。玉米醇溶蛋白颗粒(Zein Nanoparticles, ZN)可应用在荷载疏水活性物质的多功能性材料中,且已有研究证明将其添加到纤维膜中的可行性<sup>[9]</sup>。

然而,目前鲜有关于快速制备纯天然原料基功能性复合膜的研究。抄纸技术作为一项成熟的造纸工艺,具有操作简单、耗时短等优点,且制备的纤维素膜分布均匀、表面光滑,利于工业化大规模生产<sup>[9]</sup>。基于前期研究结果<sup>[9]</sup>,本实验以BC、CH和ZN为原料,利用快速抄纸工艺先通过抽滤除去成膜溶液中的大部分水分,后将湿膜基质经热压干燥制得BC-CH-ZN复合膜。重点研究BC和CH组成比例和ZN的加入对BC膜微

观结构、机械性能和表面接触角的影响。同时进一步在ZN中加入天然抗菌剂百里香酚(Thymol, TH),考察TH添加对BC-CH-ZN复合膜机械性能的影响。最后,研究复合膜的热稳定性、元素分析和抗菌性能。本研究可为开发具有更多功能特性的BC复合膜提供指导意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

细菌纤维素,海南椰国食品有限公司;甲壳素(CTI),山东奥康生物科技有限公司;玉米醇溶蛋白Zein,美国Sigma公司;冰醋酸(分析纯),广东光华科技股份有限公司

RK3AKWT型凯塞法自动抄纸系统,奥地利PTI公司;INSTRON 5943型拉伸压缩材料试验机,美国Instron公司;OCA20型视频光学接触角测定仪,德国Dataphysics公司;BSA224S型分析天平,赛多利斯科学仪器有限公司;DF-1型磁力搅拌器,江苏金坛市环宇科学仪器厂;ZEISS Merlin型高分辨率热场发射扫描电镜,德国Zeiss公司;L&W 250型厚度仪,瑞典Lorentzen&Wettr公司;M-110EH-30型高压微射流纳米均质机,美国MFIC公司;JY98-IIID型超声破碎机,新芝生物科技有限公司;RV10 digital型旋转蒸发器,德国IKA公司;TG209F1型TGA热重分析仪,德国耐驰公司;VERTEX 70型傅里叶变换红外光谱仪,德国Bruker公司;Vario EL cube型元素分析仪,德国Elementar公司。标明具体公司

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 细菌纤维素(BC)悬浮液的制备

##### 1.2.1.1 纯化

用纯水冲去BC表面残留的培养基、菌体及杂质后将其置于0.2 mol/L的NaOH溶液中,于90℃下蒸煮30 min。蒸煮后取出用纯水重复冲洗多次,直至获得中性BC分散液。

##### 1.2.1.2 机械处理

将纯化后的BC与纯水按质量比1:1混合,使用均质机高速(12 000 r/min)剪切10 min,随后将其置于胶体磨中剪切30 min进一步细化纤维,最后通过高压微射流(137.9 MPa)处理10次,获得BC纳米纤维悬浮液。

### 1.2.2 甲壳素纳米纤维(CH)悬浮液的制备

参考 Ifuku 等<sup>[10]</sup>的制备方法。称取 1 g CH 粉末分散在 99 g 纯水中,用冰醋酸调 pH 值至 3.0,搅拌 10 min 后置于均质机(10 000 r/min)剪切 5 min,再用高压微射流(137.9 MPa)处理 10 次,获得 CH 悬浮液。

### 1.2.3 玉米醇溶蛋白纳米颗粒(ZN)的制备

参考 Patel 等<sup>[11]</sup>的制备方法。将 1 g Zein 溶解在 40 mL 80% (V/V) 的乙醇溶液中,搅拌确保样品充分溶解。在 1 000 r/min 搅拌状态下,将 100 mL 纯水快速倒入 zein 醇溶液中,继续搅拌 15 min 后将溶液置于旋转蒸发仪中(40 °C, 100 r/min),除去乙醇和少量水分,获得 1 wt% 的 ZN 分散液。

### 1.2.4 荷载百里香酚(TH)的 ZN 制备

参考 Li 等<sup>[12]</sup>的制备方法。称取 1 g Zein 粉末,溶解在 40 mL 80% (V/V) 的乙醇溶液中,搅拌至充分溶解。随后,将一定质量的 TH 粉末加入 Zein 醇溶液中,TH 质量分数为蛋白量的 10%~40%。最后,采用反溶剂过程(同 1.2.3)制得含有不同质量分数 TH 的 ZN 分散液(ZN 浓度固定为 1 wt%)。

### 1.2.5 复合膜的制备

#### 1.2.5.1 细菌纤维素-甲壳素纳米纤维(BC-CH)复合膜的制备

将 0.1wt% BC 和 0.1wt% CH 悬浮液按质量比 10:0、9:1、7:3、5:5、3:7、0:10 混合,得到总质量为 120 g 的混合液;之后,将该混合液搅拌 1 h 后置于超声破碎仪中处理 10 min,功率为 100 W,输出频率为 50%。将超声后的混合液脱气后进行抽滤处理得到湿膜。最后将其置于凯塞法半自动抄纸系统中(90 °C, 0.1 MPa)干燥 10 min,得到复合膜。

#### 1.2.5.2 细菌纤维素-甲壳素纳米纤维-蛋白颗粒(BC-CH-ZN)复合膜的制备

将含有不同浓度的 TH (ZN 质量分数 0~40%) 的 ZN 颗粒(1wt%) 和 BC-CH 混合液(0.2wt%, 质量比为 5:5) 混合,得到的悬浮液总质量为 120 g,混合纤维浓度为 0.1wt%, ZN 浓度为 0.01wt%~0.05wt% (纤维质量分数 10%~50%)。按 1.2.5.1 所述方法制得含有 10%~50% ZN (相对总纤维质量)的复合膜。

### 1.2.6 纳米纤维微观结构表征

采用原子力显微镜观察纳米纤维的微观结构。将纤维素液稀释至 0.01wt%, 在 100 W 下超声 10 min 使悬浮液分散均匀,取 2  $\mu$ L 悬浮液滴在新剥离的云母片上,通风橱下室温干燥后,用轻敲模式观察纳米纤维结构(扫描范围为 5  $\mu$ m $\times$ 5  $\mu$ m)。

### 1.2.7 膜厚度测定

用分辨率为 0.1  $\mu$ m 的 L&W 厚度仪测定膜厚度。

随机选取膜十个位置,测定其厚度值,计算得到膜厚度的平均值。

### 1.2.8 膜表面微观结构表征

采用扫描电子显微镜观察膜表面的微观结构。将复合膜粘在样品盘上,喷金 10 min 后将其放入电压为 5 kV 的扫描电镜观察室中观察。

### 1.2.9 膜物理特性表征

#### 1.2.9.1 机械性能测定

参照 GB/T 1040.3-2006《塑料拉伸性能测定》中对薄膜机械性能的测定方法<sup>[13]</sup>,用拉伸压缩材料试验机测试复合膜的机械性能,将平衡 48 h 后的复合膜裁成 40 mm $\times$ 5 mm 的矩形条,将初始距离设置为 10 mm,拉伸速度设置为 0.5 mm/s。每个样品测十个平行,取平均值。其中抗拉强度(TS)为膜断裂时承受的最大载荷与膜横截面的比值,断裂伸长率(EAB)为膜断裂长度与初始长度之差占初始长度的比值。

#### 1.2.9.2 接触角测定

采用座滴法测量复合膜表面的水接触角,设定液滴量为 5  $\mu$ L,分别测定液滴刚接触膜表面及接触 10 s 后的膜接触角。每个膜样测六次平行,去除最大值和最小值后计算得到平均值。

#### 1.2.9.3 红外光谱

用 FT-IR 仪全反射组件测定膜材料吸收光谱,扫描范围为 400~4 000  $\text{cm}^{-1}$ 。

#### 1.2.9.4 元素分析

准确称取 4.5 mg 剪碎后的复合膜于元素分析仪中测定其 C、H、N 元素的含量。

#### 1.2.9.5 热稳定性

用热重分析(TG)技术观测程序控温下物质质量与温度或时间的变化关系,载气  $\text{N}_2$ ,温度范围 30~600 °C,升温速度 20 °C/min。

#### 1.2.9.6 抗菌活性测定

根据 GB 4789.2-2016《食品微生物学检验菌落总数的测定》中的方法对菌浓度进行确定<sup>[14]</sup>,参考 Zhao 等<sup>[15]</sup>的实验方法,取稀释至  $10^5$  CFU/mL 的大肠杆菌(革兰氏阴性菌)和金黄色葡萄球菌(革兰氏阳性菌)菌悬液 3 mL 加至 10 mL 试管中,称取裁剪后的经紫外灭菌 1 h 的纯 BC 膜、BC 和 CH 质量比为 5:5 的 BC-CH 复合膜、BC-CH-10% ZN 复合膜、BC-CH-30% ZN 复合膜、BC-CH-40% ZN 复合膜、BC-CH-50% ZN 复合膜各 50 mg 于菌悬液中,于 200 r/min、37 °C 摇床培养,分别通过测 12 h 后的  $\text{OD}_{600}$  值及观察菌落得出细菌生长曲线和细菌生长抑制情况。

### 1.2.10 数据统计分析

用 SPSS 17.0 和 Origin 2018 对数据进行统计分析,

所得数据均为不少于3次重复的均值,以“平均值±标准偏差”表示,采用方差分析(ANOVA)不同平均值之间的差异显著性,  $p < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 细菌纤维素(BC)和甲壳素纳米纤维(CH)的微观结构

纳米纤维的尺寸直接影响纤维间结合的紧密程度和复合纤维膜的厚薄程度及机械强度等;过细的纤维尺寸要求有更高的机械处理强度,而过粗的纤维尺寸会影响纤维膜的孔隙度,从而进一步影响其机械性能<sup>[3]</sup>。因此,首先使用AFM对BC和CH的微观结构进行观察。如图1所示,通过胶体磨和高压微射流处理过的BC和CH的形态均一,纤维之间紧密堆积,能形成纤维网络结构,为复合膜的制备提供了可能。与BC相比,CH具有更小的纤维尺度和宽度,两者直径均处于5~50 nm之间,这分别与王丽英<sup>[9]</sup>和Hai<sup>[16]</sup>等用机械法拆解得到的纤维形态类似。

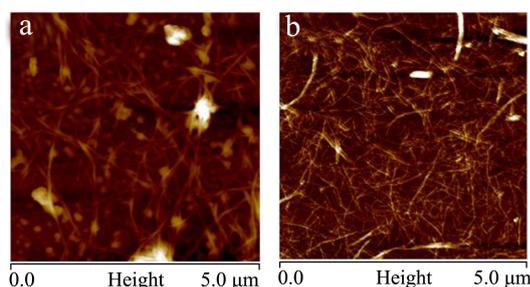


图1 BC (a) 和CH (b) 的原子力显微镜图

Fig.1 2D AFM images of BC (a) and CH (b) nanofibrils

### 2.2 BC-CH 纤维组成比例对复合膜的影响

#### 2.2.1 纤维组成比例对复合膜外观、微观结构和厚度的影响

通过快速抄纸过程,成功制备了不同质量比(BC:CH)的BC-CH复合膜。由图2外观图可看出,单独BC膜外观完整,证明BC本身具有良好抄纸成膜的能力。然而,纯CH膜在热压后出现开裂现象,表明其成膜能力较弱。使用BC和CH制备的复合膜表面较为光滑,颜色均匀,形状基本完整。

图3a~3c为BC-CH膜表面的扫描电镜图。可以看出,纯BC膜和纯CH膜均显示出光滑的表面。在复合膜中,可以看到略细的CH纤维均匀地分布在BC纤维之间,且复合膜表面的孔隙度较纯BC膜有所减少。由复合膜的厚度图(图3d)也可知,复合膜厚度较为均一。同一热压条件下,复合膜厚度随纤维质量比的减小

从30.36 μm下降至26.34 μm,其归因于CH较低的尺度。

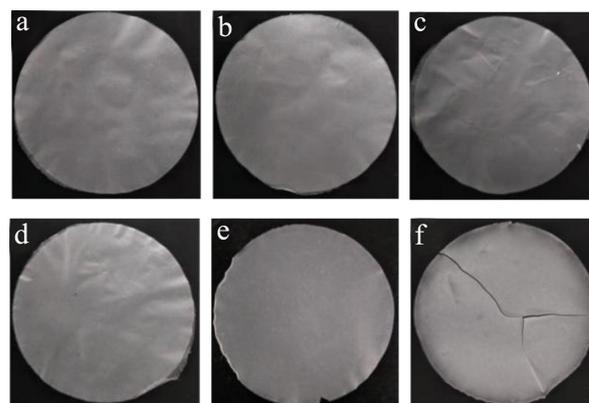


图2 不同质量比下BC-CH复合膜的外观图

Fig.2 Photographs of BC-CH composite membranes with different BC:CH mass ratios

注:(a) 10:0; (b) 9:1; (c) 7:3; (d) 5:5; (e) 3:7; (f) 0:10。

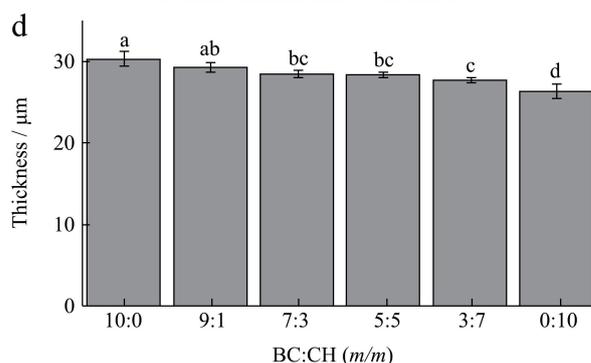
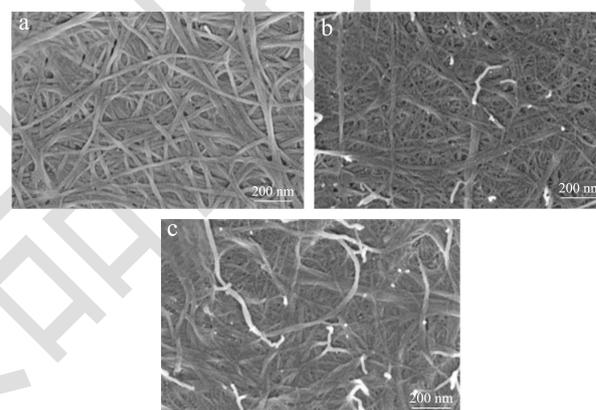


图3 不同质量比下BC-CH复合膜表面的扫描电镜图

Fig.3 FE-SEM images of BC-CH composite membranes with different BC/CH mass ratios

注:(a) 10:0; (b) 5:5; (c) 0:10; (d) 不同质量比下BC-CH复合膜的厚度;图d中不同字母表示具有显著性差异( $p < 0.05$ )。

#### 2.2.2 纤维组成比例对复合膜接触角的影响

图4为不同纤维比例复合膜的接触角变化图,纯BC膜的接触角(0 s)为32.70°,表明其较强的亲水性。单独CH膜的接触角可达64.70°(0 s),说明CH本身的亲水性弱于BC。CH的加入使复合膜表面形态发生

变化因而影响了其表面粗糙度,复合膜的接触角随着CH 占总纤维质量比的增加而增加,故复合CH 后可以改善纯BC 膜亲水性过强的弱点。这也与 Shams 等<sup>[17]</sup>通过测量甲壳素复合膜(55°)和纤维素复合膜(34°)的接触角得出甲壳素复合膜比纤维素复合膜更疏水的结论一致。

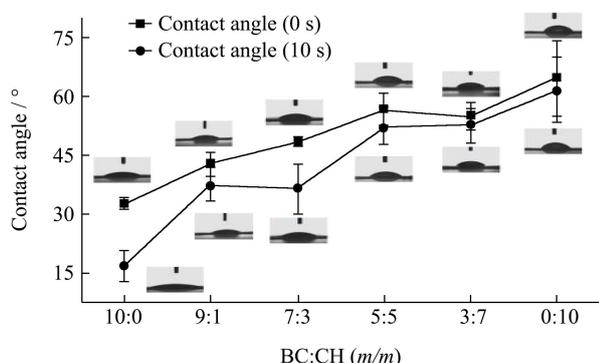


图4 不同质量比下BC-CH复合膜的0 s和10 s接触角数据及对  
应外观图

Fig.4 Contact angle (0 and 10 s) values and corresponding images  
of BC-CH composite membranes with different mass ratios

### 2.2.3 纤维组成比例对复合膜机械性能的影响

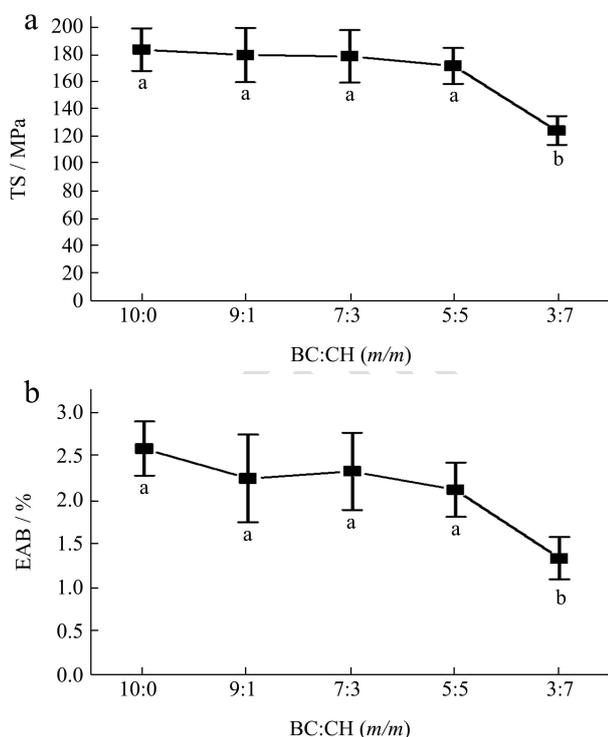


图5 不同质量比下BC-CH复合膜的机械性能

Fig.5 Mechanical properties of the BC-CH composite  
membranes with different mass ratios

注: a 为抗拉强度; b 为断裂伸长率; 不同字母表示具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

由图5 可看出,纯BC 膜的拉伸强度为183.45 MPa,随着纤维质量比(BC:CH)的减少(不低于5:5),复

合膜的抗拉强度和断裂伸长率变化不显著 ( $p > 0.05$ ),即当BC 含量大于CH 含量时,在改善纤维素复合膜过于亲水的同时基本不影响复合膜的机械性能。然而,当纤维质量比(BC:CH)低于5:5 时,复合膜的机械强度显著减弱 ( $p < 0.05$ );这是由于此时复合膜中CH 含量多于BC,复合膜内部纤维网络较大部分由CH 堆积而成,而CH 网络本身的抗拉伸能力较弱,从而弱化复合膜的机械性能。Wang 等<sup>[18]</sup>使用甘蔗渣和针叶木浆复合木质素制备的纳米微米复合吸管材料的抗拉强度约70 MPa,明显低于本研究中BC-CH 复合膜的抗拉强度,表明本研究的复合膜具有较好的机械性能,可应用在食品领域(如吸管材料)中。

### 2.3 Zein 纳米颗粒(ZN)添加量对复合膜特性的影响

#### 2.3.1 ZN 添加量对膜外观、微观结构及厚度的影响

ZN 是由反溶剂法制备的一种纳米颗粒,在功能性活性成分的荷载及释放等方面发挥着重要的作用<sup>[19,20]</sup>。为了进一步拓展BC-CH 复合膜的应用,使用Zein 作为功能因子的载体来制备功能性BC-CH 复合膜。在对复合膜进行功能性探究之前,首先研究了Zein 纳米颗粒(ZN)的加入对纤维复合膜外观的影响。由图6 可看出,加入ZN 后复合膜表面仍颜色均匀,光滑平整。相对于未添加ZN 的复合膜,含有颗粒的复合膜的外观偏黄,归因于原料中含有的少量叶黄素和玉米黄素等呈色的类胡萝卜素。

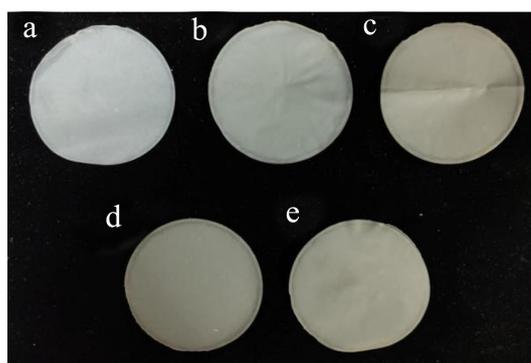


图6 不同BC-CH-ZN复合膜外观图

Fig.6 Photographs of different BC-CH-ZN composite  
membranes

注:(a) BC-CH 复合膜;(b) BC-CH-10%ZN 复合膜;(c) BC-CH-20%ZN 复合膜;(d) BC-CH-30%ZN 复合膜;(e) BC-CH-40%ZN 复合膜。BC 与CH 的质量比为5:5。

为了进一步确认ZN 的存在并探究蛋白颗粒添加对复合膜微观结构的影响,采用场发射扫描电镜观察了复

合膜表面的微观形貌。从图 7 的电镜图可看到, 复合膜内部 (图 7b 和 7c) 具有较多凸起的球状颗粒, 说明 ZN 能有效地包覆在复合膜内。这些 ZN 均匀分布在纤维网络之间, 表明其不会影响纤维网络的形成。此外, 复合膜厚度的变化也能表明 ZN 的存在。Chen 等<sup>[21]</sup>将纤维素纳米纤维与银纳米颗粒混合制得不同厚度的复合膜。图 7d 为添加不同 ZN 后复合膜的厚度变化, 该图显示了复合膜厚度随着 ZN 的增多从 28.41  $\mu\text{m}$  增加到 35.60  $\mu\text{m}$ , 表明 ZN 的加入提高了复合膜的厚度。

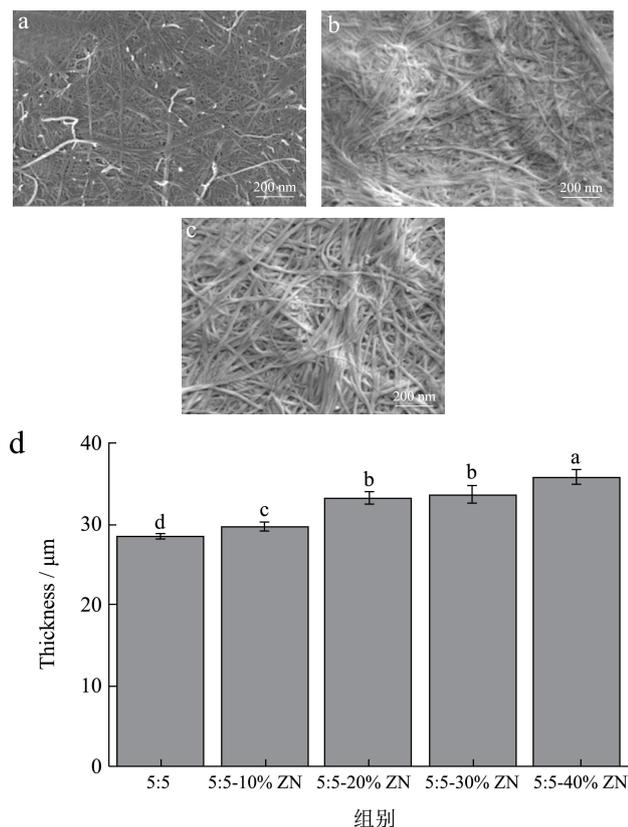


图 7 不同 BC-CH-ZN 复合膜表面的扫描电镜图

Fig.7 FE-SEM images of different BC-CH-ZN composite membrane surfaces

注: (a) BC-CH 复合膜; (b) BC-CH-10% ZN 复合膜; (c) BC-CH-30% ZN 复合膜; (d) 含有不同 ZN 含量的 BC-CH-ZN 复合膜的厚度; 图 d 中不同字母表示具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。其中 BC 与 CH 的质量比为 5:5。

### 2.3.2 ZN 添加量对复合膜机械性能的影响

如图 8 所示, 复合膜的抗拉强度和断裂伸长率随 ZN 的加入有一定程度的下降, 通过对拉伸数据进行比较可知, 在添加少于 30% (相对于纤维) 的蛋白颗粒时, TS 和 EAB 值与不含颗粒的 BC-TH 纤维膜的机械性能无显著差异 ( $p > 0.05$ ), 分别从 171.4 MPa 变化为 157.5 MPa, 从 2.11% 变化为 2.08%, 而进一步增加 ZN 的添加量则会明显降低复合膜的机械性能。Ahmadizadegan 等<sup>[22]</sup>研究的以氨基苯甲酸为原料合成

的双氢氧化物纳米颗粒对聚酰亚胺膜抗拉强度的影响和 Li 等<sup>[23]</sup>研究的玉米醇溶蛋白纳米颗粒对纤维素膜的机械性能的影响都得出了纳米颗粒先增强后减弱膜基质机械性的结论。这主要是由于过量纳米颗粒的加入使部分颗粒在纤维间隙填充饱和的状态下被迫聚集, 这些以简单物理堆积的形式组成的膜机械性能弱于以氢键形式结合的膜, 因而呈现削弱复合膜机械性能的效果。

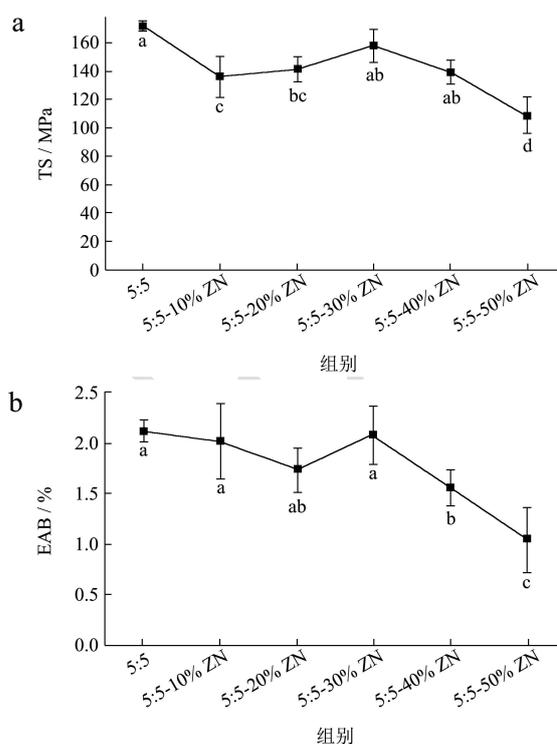


图 8 含有不同 ZN 含量的 BC-CH-ZN 复合膜的机械性能

Fig.8 Mechanical properties of BC-CH-ZN composite membranes with different ZN concentrations

注: a 抗拉强度; b 断裂伸长率; 其中 BC 与 CH 的质量比为 5:5; 不同字母表示具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

### 2.3.3 ZN 添加量对复合膜接触角的影响

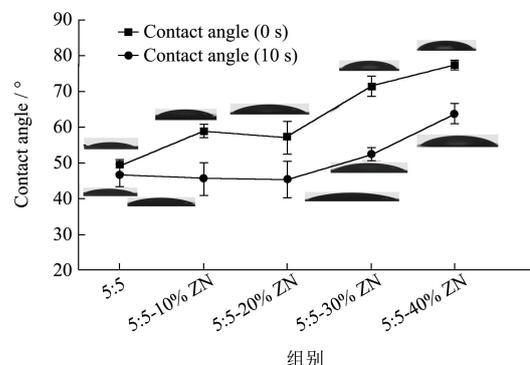


图 9 含有不同 ZN 含量的 BC-CH-ZN 复合膜在 0 s 和 10 s 的接触角数据及对应外观图

Fig.9 Contact angle (0 and 10 s) values and corresponding images of BC-CH-ZN composite membranes with different ZN concentrations

由图 9 可知,随着 ZN 含量的增加,纤维复合膜的接触角(0 s)从 49.15°增加至 77.28°,这是由于分布在纤维间的蛋白纳米颗粒部分暴露在膜表面,使膜的亲水性降低,因而能进一步改善纤维素复合膜过于亲水的缺陷<sup>[24]</sup>。

### 2.4 复合膜的红外光谱

FT-IR 进一步用于表征复合膜的表面化学结构。如图 10 所示,纯 BC 膜的 FT-IR 图中出现了-OH 的伸缩振动峰(3 334 cm<sup>-1</sup>),CH<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub> 基团的 C-H 伸缩振动峰(2 900 cm<sup>-1</sup>),以及 C-O-C 伸缩振动峰(1 018 cm<sup>-1</sup>)。在纯 CH 膜的红外光谱图中,除了观察到-OH、-C-H、-C-C 的振动峰,也可观察到 N-H 伸缩振动峰(3 456 cm<sup>-1</sup>)。相对纯 BC 膜和 CH 膜,BC-CH 复合膜的羟基伸缩振动峰向较低的波数移动(3 286 cm<sup>-1</sup>),说明 BC 和 CH 之间形成了分子间氢键。此外,与 BC-CH 膜相比,添加 ZN 的复合膜在 1 531 cm<sup>-1</sup> 处出现新的吸收峰,这是由蛋白颗粒的酰胺 II 键产生<sup>[25]</sup>,进一步说明 zein 颗粒已成功合并入复合膜中。同样,与 BC-CH 膜相比,BC-CH-ZN 复合膜的羟基伸缩振动峰往较低的波数移动,说明 ZN 与 BC、CH 之间也形成了氢键作用。此外,TH 对复合膜的红外光谱没有明显影响,说明其被很好地包裹在蛋白颗粒 ZN 中。

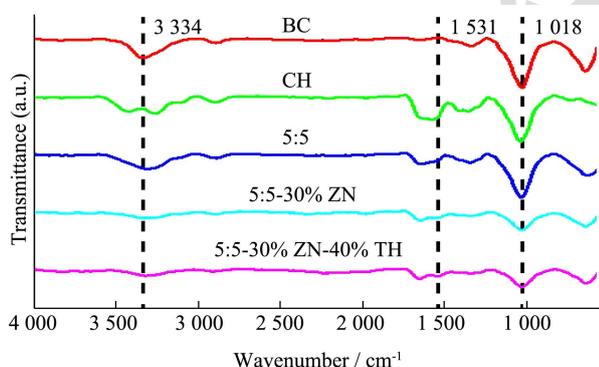


图 10 不同 BC-CH-ZN/TH 复合膜的红外光谱图

Fig.10 FT-IR spectra of different BC-CH-ZN-TH composite membranes

注:从上到下依次为 BC、Chitin、5:5、5:5-30% ZN、5:5-30% ZN-40% TH。

### 2.5 复合膜的热稳定性

材料的热稳定性是评价材料能否稳定发挥功能性质的指标,图 11a 是复合膜质量随温度升高而变化的曲线,可以看到初始受热阶段由于膜中残留的水分挥发,膜质量略微下降,当温度升高到 300 °C 左右,膜质量由于纤维素降解,糖基碳化等开始急剧下降,这与 Gao 等<sup>[26]</sup>关于 BC 热重分析结果的趋势一致;继

续升温,残留的灰分不再进一步降解因而维持一定的重量。对照纯 BC 膜,加入 CH 纳米纤维复合的膜降解后最终质量大于其原始质量的 20%,蛋白颗粒的添加不影响该结果,而纯 BC 膜仅为 9.80%。此外,从图 11b 可以看出,BC 膜的减重率高于含甲壳素纤维的复合膜,因此,甲壳素纤维的加入对复合膜的热稳定性具有一定的促进作用。

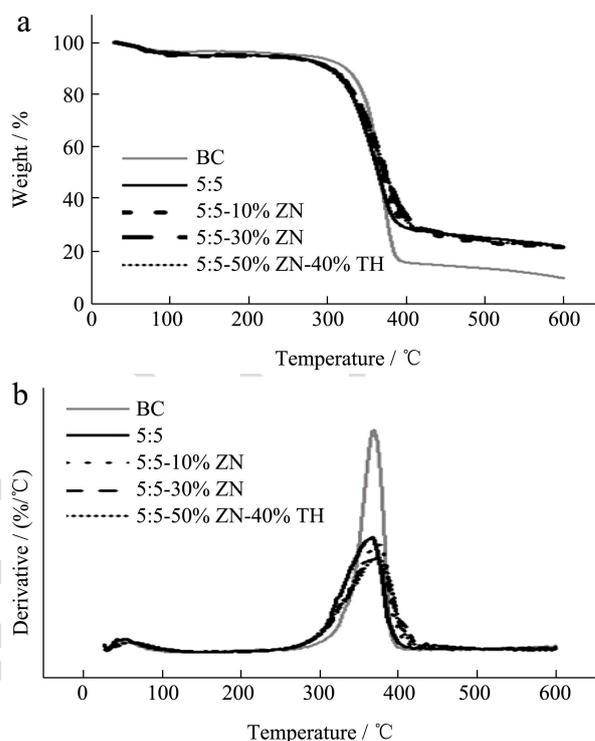


图 11 不同 BC-CH-ZN-TH 复合膜的 TGA 曲线和 DTG 曲线

Fig.11 TGA and the DTG curves of the BC-CH-ZN-TH composite membranes

### 2.6 复合膜的抗菌性能

由图 12 可知,相对纯 BC 膜而言,BC-CH 复合膜对金黄色葡萄球菌有一定的抑制效果,这归因于 CH 本身的抗菌作用<sup>[7]</sup>。同时,当复合膜中添加了百里香酚(TH)时,OD<sub>600</sub> 值进一步降低,且随着 TH 含量的增加而减小,说明 TH 能提高复合膜对金黄色葡萄球菌的抑制效果。值得注意的是,所有的膜材料皆对大肠杆菌的抗菌效果不明显。Domenico 等<sup>[27]</sup>研究证实金黄色葡萄球菌对 TH 的敏感性高于大肠杆菌,并推测 TH 的抗菌作用是由于细菌质膜脂质组分的扰动导致细胞内物质的泄漏。Mathela 等<sup>[28]</sup>的研究结果有类似的结论,即金黄色葡萄球菌是实验菌种中对 TH 最敏感的微生物,抑菌圈为(25±0.98) mm, MIC 值为 62.51 g/mL,而大肠杆菌对 TH 的抑菌活性较低。本实验制得的复合膜通过添加荷载 TH 抗菌剂的颗粒具有较强的抗菌功能,对金黄色葡萄球菌的抑制效果明显。

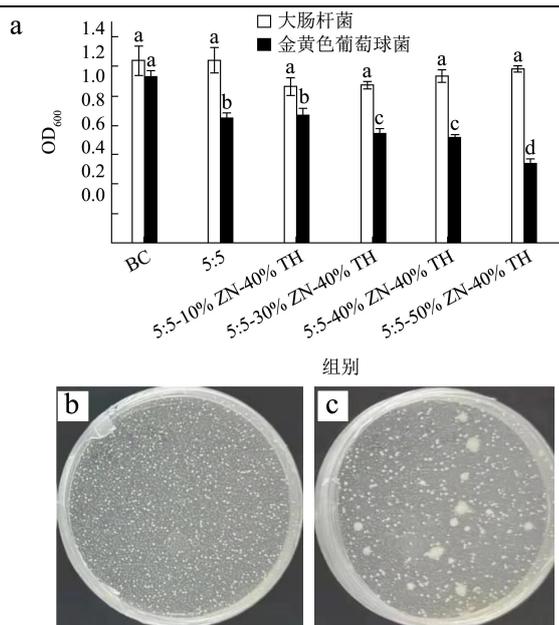


图12 不同BC-CH-ZN-TH复合膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌生长抑制图(a)及金黄色葡萄球菌经BC(b)和5:5-50% ZN(c)膜处理12 h后形成的细菌菌落照片

Fig.12 Growth inhibition of *E. coli* and *S. aureus* after treatment with different BC/CH/ZN/TH composite membranes for 12 h (a), and photographs of bacterial colonies formed by *S. aureus* treated with BC (b) and 5:5-50% ZN (c) membranes for 12 h

注: 不同字母表示具有显著性差异 ( $p < 0.05$ )。

### 3 结论

本实验以细菌纤维素(BC)、甲壳素纳米纤维(CH)、玉米醇溶蛋白纳米颗粒(ZN)为原料,使用快速抄纸法制备了一种纯天然纤维基功能性复合膜。重点探究了BC和CH的质量比以及ZN添加量的变化对复合膜的微观结构、机械性能、接触角和热稳定性的影响。研究表明,BC:CH纤维质量比的减小会降低BC-CH复合膜的厚度。当纤维质量比不低于5:5时,复合膜的机械性能无显著变化;但低于5:5时,复合膜的机械强度显著减弱。CH的加入可以改善纯BC膜亲水性过强的缺点,也能提升膜的热稳定性。此外,ZN能均匀的分布在纤维网络中,且ZN能轻微增加BC-CH-ZN复合膜的厚度,提高复合膜的表面疏水性。当ZN添加量少于30%时(相对于总纤维质量),复合膜的TS和EAB值无显著变化,但ZN添加量过高时会导致颗粒聚集,从而明显降低复合膜的机械性能。加入荷载TH的ZN可使复合膜对金黄色葡萄球菌有更明显的抑制效果。本研究可为多功能BC基复合膜的开发提供指导价值。

### 参考文献

- [1] Goel V, Luthra P, Kapur G S, et al. Biodegradable/bio-plastics: myths and realities [J]. Journal of Polymers and the Environment, 2021, 29: 3079-3104
- [2] Berkkan A, Kondolot S E, Asman G. Starch-based membranes for controlled release of 5-fluorouracil *in vitro* [J]. Chemistry Select, 2021, 6(23): 5678-5684
- [3] Wang X Z, Xia Q Q, Jing S S, et al. Strong, hydrostable, and degradable straws based on cellulose-lignin reinforced composites [J]. Small, 2021, 17(18): 2008011
- [4] Galiano F, Ghanim A H, Rashid K T, et al. Preparation and characterization of green polylactic acid (PLA) membranes for organic/organic separation by pervaporation [J]. Clean Technologies and Environmental Policy, 2018, 21(1): 109-120
- [5] Reiniati I, Hrymak A N, Margaritis A. Recent developments in the production and applications of bacterial cellulose fibers and nanocrystals [J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2017, 37(1/8): 510-524
- [6] Wan Z L, Wang L Y, Yang X Q, et al. Enhanced water resistance properties of bacterial cellulose multilayer films by incorporating interlayers of electrospun zein fibers [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61: 269-276
- [7] Yang N Y, Lu K Y, Wang P, et al. Development of bacterial cellulose/chitin multi-nanobers based smart films containing natural active microspheres and nanoparticles formed in situ [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 228: 115370-115370
- [8] 陈西广.甲壳素/壳聚糖结构形态与生物材料功效学研究[J].中国海洋大学学报(自然科学版),2020,50(9):126-140
- [9] 王丽英.玉米醇溶蛋白修饰细菌纤维素基复合膜材料的制备及其应用研究[D].广州:华南理工大学,2015
- [10] Ifuku S, Nogi M, Abe K, et al. Preparation of chitin nanofibers with a uniform width as  $\alpha$ -chitin from crab shells [J]. Biomacromolecules, 2009, 10(6): 1584-1588
- [11] Patel A, Hu Y, Tiwari J K, et al. Synthesis and characterisation of zein-curcumin colloidal particles [J]. Soft Matter, 2010, 6(24): 6192-6199
- [12] 黎亢抗.玉米醇溶蛋白纳米粒子的制备及其抗菌膜材料的研究[D].广州:华南理工大学,2013
- [13] GB/T 1040.3-2006,塑料拉伸性能的测定第3部分:薄膜和薄片的试验条件[S]
- [14] GB 4789.2-2016,食品微生物学检验菌落总数测定[S]
- [15] Zhao X, Zhang H, Gao Y X, et al. A simple injectable

- moldable hydrogel assembled from natural glycyrrhizic acid with inherent antibacterial activity [J]. ACS Applied Nano Materials, 2020, 3: 648-653
- [16] Hai L V, Zhai L, Kim J W, et al. Properties of micro-nanofibrillated-chitin/bamboo-nanofiber nanocomposite [J]. Nano-, Bio-, Info-Tech Sensors and 3D Systems II, 2018, 10597
- [17] Shams M I, Ifuku S, Nogi M, et al. Fabrication of optically transparent chitin nanocomposites [J]. Applied Physics A, 2011, 102(2): 325-331
- [18] Wang X Z, Pang Z Q, Chen C J, et al. All-natural, degradable, rolled-up straws based on cellulose micro- and nano-hybrid fibers [J]. Advanced Functional Materials, 2020, 30: 1910417
- [19] Li H, Wang D F, Liu C Z, et al. Fabrication of stable zein nanoparticles coated with soluble soybean polysaccharide for encapsulation of quercetin [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 87: 342-351
- [20] Li K K, Yin S W, Yang X Q, et al. Fabrication and characterization of novel antimicrobial films derived from thymol-loaded zein-sodium caseinate (SC) nanoparticles [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 60(46): 11592-11600
- [21] Chen L P, Peng X S. Silver nanoparticle decorated cellulose nanofibrous membrane with good antibacterial ability and high water permeability [J]. Applied Materials Today, 2017, 9: 130-135
- [22] Ahmadzadegan H, Esmailzadeh S. Novel high performance mixed matrix nanocomposites membranes: its structural, morphology, thermal stabilities, mechanical properties, gas permeation and gas selectivity studies [J]. Nanochemistry Research, 2020, 5(1): 77-93
- [23] Li Q, Gao R H, Wang L Y, et al. Nanocomposites of bacterial cellulose nanofibrils and zein nanoparticles for food packaging [J]. ACS Applied Nano Materials, 2020, 3: 2899-2910
- [24] Wan A K, Ahmad A L, Seng O B, et al. Biomimetic hydrophobic membrane: A review of anti-wetting properties as a potential factor in membrane development for membrane distillation (MD) [J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2020, 91: 15-36
- [25] Wan Z L, Wang L Y, Ma L L, et al. Controlled hydrophobic biosurface of bacterial cellulose nanofibers through self-assembly of natural zein protein [J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2017, 3: 1595-1604
- [26] Gao W H, Chen K F, Yang R D, et al. Properties of bacterial cellulose and its influence on the physical properties of paper [J]. Bio Resources, 2011, 6: 144-153
- [27] Domenico T, Francesco C, Grazia S M, et al. Mechanisms of antibacterial action of three monoterpenes [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2005, 49(6): 2474-2478
- [28] Mathela C S, Singh K K, Gupta V K. Synthesis and *in vitro* antibacterial activity of thymol and carvacrol derivatives [J]. Acta Poloniae Pharmaceutica, 2010, 67(4): 375-380