

# 壳聚糖型 SO<sub>2</sub> 缓释材料的制备及性质表征

杨晓君<sup>1,2</sup>, 周静<sup>1</sup>, 谢元<sup>1</sup>, 王秋平<sup>1</sup>, 丁泽人<sup>1</sup>, 赵立艳<sup>3</sup>, 金鹏<sup>3</sup>

(1. 新疆农业大学食品科学与药学学院, 新疆乌鲁木齐 830052) (2. 新疆果品采后科学与技术重点实验室, 新疆乌鲁木齐 830052) (3. 南京农业大学食品科学技术学院, 江苏南京 210000)

**摘要:** 采用金属离子配位反应、硫化反应和包埋技术, 制备壳聚糖型 SO<sub>2</sub> 缓释材料 (Chitosan type SO<sub>2</sub> sustained release material, CS-SO<sub>2</sub>SM), 以期从分子结构着手研发出 SO<sub>2</sub> 新型葡萄保鲜剂。通过单因素实验, 筛选最佳金属离子和硫化剂, 结合析因实验设计, 采用碘量法测定 SO<sub>2</sub> 释放量和抑菌圈试验测定其抑菌性; 并以 SO<sub>2</sub> 释放曲线、释放天数为主要考察指标, 抑菌性为辅助指标, 优化 CS-SO<sub>2</sub>SM 的制备工艺; 通过场发射环境扫描电子显微镜-能谱仪对其形态进行观察, 傅里叶红外光谱仪考察其官能团的变化。最佳工艺为选择 Cu<sup>2+</sup>, 四硫化双五亚甲基秋兰姆 (TRA) 0.5 g, 焦亚硫酸钠 0.5 g, 搅拌 1.5 h, 制备得到的 CS-SO<sub>2</sub>SM 为黑褐色粉末, 电镜下为絮云状, 主要官能团-OH、-NH、-CONH 的特征吸收峰与壳聚糖相比均出现蓝移, SO<sub>2</sub> 释放曲线呈先上升后缓慢下降。该条件下制备得到的材料抑菌圈平均直径为 19.25 mm, 具有最佳抑菌效果。研究表明通过配位反应、硫化反应及包埋技术制备而成的 CS-SO<sub>2</sub>SM 有望成为具有一定应用前景的 SO<sub>2</sub> 新型保鲜剂。

**关键词:** 壳聚糖; 配位反应; 析因实验; 二氧化硫缓释材料

文章编号: 1673-9078(2021)08-176-183

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.8.1158

## Preparation and Characterization of Chitosan-type SO<sub>2</sub>

### Sustained-release Material

YANG Xiao-jun<sup>1,2</sup>, ZHOU Jing<sup>1</sup>, XIE Yuan<sup>1</sup>, WANG Qiu-ping<sup>1</sup>, DING Ze-ren<sup>1</sup>, ZHAO Li-yan<sup>3</sup>, JIN Peng<sup>3</sup>

(1. College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

(2. Xinjiang Key Laboratory of Postharvest Science and Technology, Urumqi 830052, China)

(3. College of Food Science and Technology, Nanjing Agriculture University, Nanjing 210000, China)

**Abstract:** In this study, chitosan-type SO<sub>2</sub> sustained-release material (CS-SO<sub>2</sub>SM) was prepared by metal ion complexation reaction, vulcanization reaction and embedding technology, in order to develop a new SO<sub>2</sub> preservative for grapes based on molecular structure. Through single factor experiments, the best metal ion(s) and vulcanizing agent(s) were screened. In combination with the factorial experiment design, the amount of released SO<sub>2</sub> and the antibacterial activity were determined by the iodometric method and inhibition zone test, respectively. The preparation process of CS-SO<sub>2</sub>SM was optimized through taking the SO<sub>2</sub> release curve and release days as the main examination indices. Its morphology was observed by the field emission environmental scanning electron microscope-energy spectrometer, and the changes of its functional groups were examined by a Fourier infrared spectrometer. The optimal process conditions: Cu<sup>2+</sup> as the metal ion, 0.5 g of dipentamethylenethiuram tetrasulfide (TRA), 0.5 g of sodium pyrosulfite, and preparation duration (with stirring) as 1.5 h. The prepared CS-SO<sub>2</sub>SM was a dark brown powder which appeared as flocculated clouds under the electron microscope. The characteristic absorption peaks of the main functional groups, -OH, -NH and -CONH showed blue shifts compared with chitosan. The SO<sub>2</sub> release curve showed a rise first and then a slow decline. The materials prepared under these conditions had an average diameter of 19.25 mm for the

引文格式:

杨晓君,周静,谢元,等.壳聚糖型 SO<sub>2</sub> 缓释材料的制备及性质表征[J].现代食品科技,2021,37(8):176-183

YANG Xiao-jun, ZHOU Jing, XIE Yuan, et al. Preparation and characterization of chitosan-type SO<sub>2</sub> sustained-release material [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(8): 176-183

收稿日期: 2020-12-13

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (KYYJ201707)

作者简介: 杨晓君 (1971-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物功能性评价

通讯作者: 金鹏 (1981-), 男, 教授, 博士, 研究方向: 果蔬贮藏保鲜技术

inhibition zone and exhibited the strongest antibacterial effect. The research has shown that CS-SO<sub>2</sub>SM prepared by coordination reaction, vulcanization reaction and embedding technology is expected to be a new type of SO<sub>2</sub> preservative with a certain application prospect.

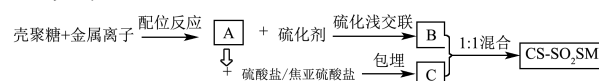
**Key words:** chitosan; complexing reaction; factorial experiment; SO<sub>2</sub> sustained-release material

壳聚糖是一种广泛存在于自然界中的可再生、无毒副作用、生物相容性和降解性良好的天然氨基多糖,其自身及其衍生物具有许多独特的生理、药理功能性质,被广泛应用于医药<sup>[1,2]</sup>、食品<sup>[3-6]</sup>、农业<sup>[7]</sup>等多种行业领域中。壳聚糖的水溶性和成膜性一直是限制其在保鲜上应用的关键问题<sup>[8,9]</sup>,其吡喃环上含有活泼的-OH、-NH<sub>2</sub>,在N或O上可引入其他活性基团,改善其溶解性和生物活性;还可以利用O或N原子的孤对电子配位抑或利用交联剂交联以致产生新的活性功能和新的材料特性;拓展壳聚糖及其衍生物的应用领域以及壳聚糖的配位化学研究,开展壳聚糖及其衍生物金属配合物的制备<sup>[10]</sup>、结构<sup>[11]</sup>、理化性质<sup>[12]</sup>和功能活性研究<sup>[13]</sup>是重要的研究方向之一。近年来,壳聚糖在不同领域的应用研究日益增多,并且都取得了一定的进展,各学科的相互渗透与交叉,不断拓展了壳聚糖的改性方法,提高了壳聚糖的生物活性,同时赋予其更多功能。壳聚糖改性产物已经在果蔬保鲜<sup>[14]</sup>、纺织<sup>[15]</sup>、环境微生物污染防治<sup>[16,17]</sup>、患者周围神经损伤修复<sup>[18]</sup>等方面展现出了很好的应用前景,各种改性方法的不断改进是壳聚糖发挥重要作用的基础保障。

SO<sub>2</sub>保鲜是葡萄贮藏化学保鲜的主要方法<sup>[19]</sup>,传统的SO<sub>2</sub>处理保鲜是使用亚硫酸盐潮解释放出SO<sub>2</sub>气体,若总投放量低则保鲜效果不佳;若总投放量高则会出现SO<sub>2</sub>残留高、葡萄易漂白的现象<sup>[20]</sup>。因此,亟需开发SO<sub>2</sub>残留少、使用方便、释放稳定的SO<sub>2</sub>葡萄保鲜剂以满足当下葡萄采后保鲜的市场需求。近年来,国内外学者开发出多种葡萄贮藏保鲜技术,如贾晓昱等<sup>[21]</sup>采用脉冲式防腐设备精准定量控制SO<sub>2</sub>循环熏蒸,贮藏180 d时,腐烂率仅为3.9%,漂白指数为0.3,且SO<sub>2</sub>残留量为3.1 mg/kg。焦旋等<sup>[22]</sup>研制的二氧化硫精准释放葡萄保鲜片皆在追求低残留和稳定释放的SO<sub>2</sub>保鲜技术。

本研究以壳聚糖为主要原料,选择能在食品上应用的、安全性高的有机金属盐,利用金属离子络合配位法对壳聚糖改性,制备具有SO<sub>2</sub>催化释放中心的壳聚糖骨架分子A。一方面以胶体硫、二氯代烷烃与多硫化钠反应制得的聚硫胶为硫化剂对A进行硫化浅交联及壳聚糖分子骨架硫化掺杂,形成含硫壳聚糖骨架大分子B,作为葡萄保鲜贮藏前期较高浓度SO<sub>2</sub>缓释剂;另一方面将A作为包埋剂,选择非水极性溶剂分散共混、固相捏合、两相高速剪切分散对亚硫酸

盐、焦亚硫酸盐<sup>[23]</sup>进行包埋,制备改性壳聚糖SO<sub>2</sub>缓释包埋产物C,作为葡萄保鲜贮藏中后期SO<sub>2</sub>平稳长效缓释剂;最后采用高速剪切法将B与C混合,乙醇/丙酮沉淀制备壳聚糖型SO<sub>2</sub>缓释材料。本研究选择用安全性高的金属离子改性壳聚糖结合传统的亚硫酸盐包埋制作能够缓释SO<sub>2</sub>的材料相对于其他产品增加了一定抑菌性以及缓释SO<sub>2</sub>的效果。CS-SO<sub>2</sub>SM制作工艺如下。



依据上述制备工艺,筛选金属离子和硫化剂,应用析因实验设计,以SO<sub>2</sub>释放量、释放曲线及抑菌圈直径为综合考察指标,通过场发射环境扫描电子显微镜-能谱仪对其形态进行观察,傅里叶红外光谱仪考察其官能团的变化,确定壳聚糖型SO<sub>2</sub>缓释材料制备工艺,为后续将该材料应用于葡萄保鲜提供物质和理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

壳聚糖(脱乙酰度97%),江苏瑞多生物有限公司;焦硫酸钠(分析纯),天津市光复精细化工研究所;硫代硫酸钠(分析纯),天津市北联精细化学品开发有限公司;四硫化双五亚甲基秋兰姆(TRA,纯度≥98%)、二硫化四甲基秋兰姆(TMTD,纯度≥98%),上海麦克林生化科技有限公司;沉淀硫(化学纯),天津市福晨化学试剂厂;灰葡萄孢,北纳创联生物技术有限公司。

### 1.2 仪器与设备

Quanta 250-EDS 场发射环境扫描电子显微镜,美国FEI仪器公司; Nicolet 6700 傅立叶变换红外光谱仪,赛默飞世尔科技公司; 85-2 控温磁力搅拌器,江苏金怡仪器科技有限公司; XH-D 旋涡混合器,上海左乐仪器有限公司; pHs-3E 酸度计,天津市赛得利斯实验分析仪器制造厂。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 CS-SO<sub>2</sub>SM 制备工艺的考察

##### 1.3.1.1 金属离子筛选

按照课题组壳聚糖型  $\text{SO}_2$  缓释材料的制备方法<sup>[24]</sup>, 以 50 和 150 ku 壳聚糖为原料, 硫化剂为四硫化双五亚甲基秋兰姆 (TRA), 设定金属离子为  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ , 采用碘量法测定  $\text{SO}_2$  释放量, 连续测定 60 d, 选出合成 CS- $\text{SO}_2$ SM 的最佳金属离子。

### 1.3.1.2 硫化剂筛选

以 50 和 150 ku 壳聚糖为原料, 金属离子为 1.3.1.1 实验选出, 设定硫化剂为 TRA、二硫化四甲基秋兰姆 (TMTD), 同 1.3.1.1 方法测定  $\text{SO}_2$  释放量, 选出合成 CS- $\text{SO}_2$ SM 的最佳硫化剂。

## 1.3.2 析因实验优化 CS- $\text{SO}_2$ SM 制备工艺

前期研究表明, 硫化剂和焦亚硫酸钠用量、含硫壳聚糖骨架大分子 B 与改性壳聚糖  $\text{SO}_2$  缓释包埋产物 C 的混合时间对  $\text{SO}_2$  释放的影响较大, 所以采用 3 因子 3 水平的完全析因实验设计, 以  $\text{SO}_2$  释放曲线、释放天数为主要考察指标, 进行综合评分, 优化 CS- $\text{SO}_2$ SM 制备工艺, 综合评分公式如下:

综合评分= $\text{SO}_2$  释放曲线占 50 分+ $\text{SO}_2$  释放天数占 50 分

(1)  $\text{SO}_2$  释放曲线评分方法: 先上升后逐渐下降较为符合葡萄保鲜的曲线记为 4~5 分, 基本符合记 2~3 分, 有  $\text{SO}_2$  释放记 0~1 分。

(2)  $\text{SO}_2$  释放天数评分方法: 总释放天数为 40 d, 释放天数/40×5。

3×3×3 析因实验因素水平表见表 1, 完全的 3×3×3 析因实验共进行 27 次实验, 以确定每个因素的贡献率。

表 1 3×3×3 析因实验因素水平表

Table 1 3×3×3 Factorial experimental factor level

水平因素	硫化剂加入量 (A) /g	焦亚硫酸钠加入量 (B) /g	混合搅拌时间 (C) /h
1	0.1	0.1	1.0
2	0.3	0.3	1.5
3	0.5	0.5	2.0

## 1.3.3 CS- $\text{SO}_2$ SM 的结构表征

### 1.3.3.1 场发射环境扫描电子显微镜

取 0.5 mg 样品置于样品舱中, 在压力 130 Pa, 保压时间 30  $\mu\text{s}$  下进行检测分析。

### 1.3.3.2 红外光谱检测

将样品与溴化钾按质量比 1:100 充分混合压制溴化钾片, 置于样品室中进行检测分析。

### 1.3.4 $\text{SO}_2$ 释放量测定

按照如下方法测定在室温环境下每天释放的  $\text{SO}_2$  变化量及变化趋势: 将 1 g 样品置于磨口锥形瓶中, 室温放置 48 h 后取出, 然后在磨口锥形瓶中迅速加入

去离子水 100 mL 和 10.5 mol/L NaOH 溶液 1 mL, 放置 30 min, 淀粉指示剂 2 mL, 0.1 mol/L 碘标准液滴定, 记录体积, 计算  $\text{SO}_2$  释放量, 同法做空白实验。公式如下:

$$\text{SO}_2 \text{ 释放量} = N \times (V_1 - V_0)$$

式中 N 为碘标准溶液的浓度 (mol/L);  $V_1$  为滴定试样时消耗的碘标准溶液的体积 (L);  $V_0$  为滴定空白试样消耗的碘标准溶液的体积 (L)。

## 1.3.5 抑菌实验

参考了 Tan 等<sup>[25]</sup>的方法并加以修改, 采用析因实验的结果选取较优配方, 使用灰葡萄孢菌进行抑菌试验。

### 1.3.5.1 菌悬液的制备

使用菌用接种环挑取少许菌落置于装有无菌水的试管内, 涡旋混匀, 制成菌悬液, 待用。

### 1.3.5.2 抑菌圈实验

取直径 6 mm 的灭菌滤纸放入不同配方、相同浓度的保鲜剂 (1%甲酸溶液作溶剂) 中浸泡。取上述菌悬液 40  $\mu\text{L}$  均匀涂布于培养基, 用无菌镊子将浸有保鲜剂溶液的滤纸贴于培养皿中, 每个培养皿贴 4 片, 并用浸有 1%甲酸溶液的滤纸作对照, 在 28  $^{\circ}\text{C}$  恒温培养箱中培养。7 d 后取出观察并测定其抑菌圈直径。

## 1.4 统计学分析

实验结果用均值±标准差 ( $\bar{X} \pm \text{SD}$ ) 表示, 用 SPSS 21.0 版统计软件中的多因素方差分析进行统计学处理,  $p < 0.05$  为差异显著,  $p < 0.01$  为差异极显著。用 Origin9.1 作图软件进行图形绘制。

## 2 结果与讨论

### 2.1 金属离子对 CS- $\text{SO}_2$ SM 释放 $\text{SO}_2$ 的影响

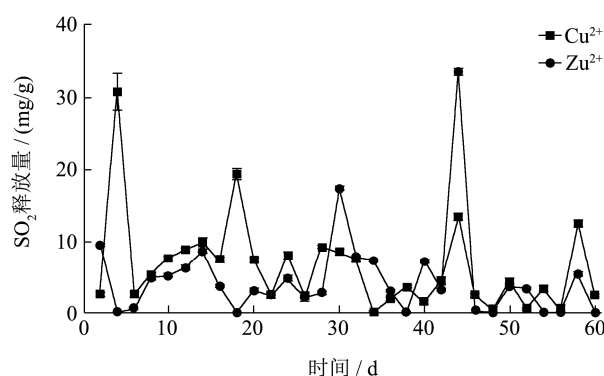


图 1 不同金属离子缓释材料的  $\text{SO}_2$  释放量

Fig.1  $\text{SO}_2$  release from different metal ion sustained-release materials

在室温条件下连续测样 60 d 内的最大温差为

14.6 °C，最大湿差为 25%。由图 1 可知，Cu<sup>2+</sup>合成的 CS-SO<sub>2</sub>SM 释放曲线呈先上升后下降的趋势，在第 4 d 释放量最大，其释放量为 31.36 mg/g，5~60 d 呈现缓慢下降的趋势，并且整个释放过程中 SO<sub>2</sub> 的释放量随着环境温湿度的改变较为稳定；Zn<sup>2+</sup>合成的 CS-SO<sub>2</sub>SM 释放曲线在第 40 d 释放量最大，其释放量为 32.64 mg/g，在整个释放过程中 SO<sub>2</sub> 的释放量随着温湿度的改变而出现忽高忽低的现象较多，其中有 16 d 无 SO<sub>2</sub> 的释放。通过对比上述两种金属离子络合产物 SO<sub>2</sub> 的释放曲线可知，选择 Cu<sup>2+</sup>对络合配位改性壳聚糖合成 CS-SO<sub>2</sub>SM，其 SO<sub>2</sub> 释放曲线符合葡萄保鲜曲线特征<sup>[26]</sup>。

### 2.2 硫化剂对 CS-SO<sub>2</sub>SM 释放 SO<sub>2</sub> 的影响

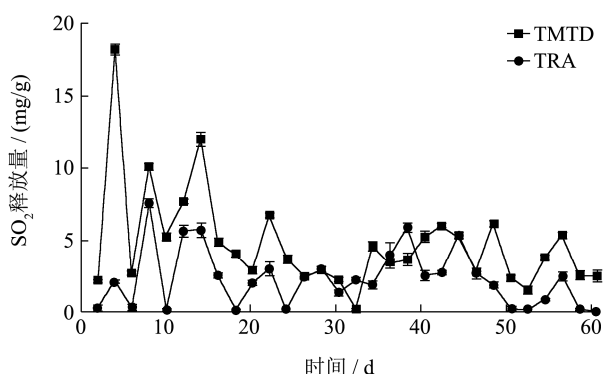


图 2 不同硫化剂缓释材料的 SO<sub>2</sub> 释放量

Fig.2 SO<sub>2</sub> release from different sulfur release agents

由图 2 可知，TRA 合成的 CS-SO<sub>2</sub>SM 释放曲线有先上升后下降的趋势，第 4 d 释放量最大，其释放量为 18.56 mg/g，5~60 d 呈现缓慢下降的趋势；TMTD 合成的 CS-SO<sub>2</sub>SM 释放曲线呈现忽高忽低的现象，其中有 18 d 无 SO<sub>2</sub> 的释放。通过对比上述两条 SO<sub>2</sub> 的释放曲线可知，在使用 Cu<sup>2+</sup>络合配位改性壳聚糖时，TRA 合成的 CS-SO<sub>2</sub>SM 更加稳定且能持久释放 SO<sub>2</sub>。

### 2.3 析因实验结果

由表 2 可知，最大的综合值为 10，其对应的组合水平是 A3B3C2，即 TRA 加入量 0.5 g、焦硫酸钠加入量 0.5 g 与混合搅拌时间 1.5 h 的制备工艺为最佳。

由表 3 可以看出，TRA 加入量，焦亚硫酸钠加入量和混合搅拌时间对 SO<sub>2</sub> 释放量的影响极显著 ( $p < 0.01$ )，且三者均有显著交互作用 ( $p < 0.01$ )。

壳聚糖可通过化学法、物理法及生物方法等改性<sup>[27-29]</sup>，本研究利用析因实验法对硫化改性的壳聚糖配方进行优化。析因实验设计主要用于分析各因素和交

互作用，寻找最佳组合。从实验结果可知，TRA 加入量，焦亚硫酸钠加入量和混合搅拌时间对 CS-SO<sub>2</sub>SM 制备有显著影响，通过析因实验得到最佳制备工艺为 50 和 150 ku 壳聚糖 1 g 溶于甲酸溶液中，磁力搅拌下滴加与壳聚糖等摩尔质量的硫酸铜溶液，搅拌 3 h，加氨水调 pH 至 6 左右继续搅拌 3 h，即得产物 A；然后加入 0.5 g TRA 沉淀硫混合物 (1:1) 和 1 mL 乳化剂，60 °C 搅拌 1 h 即得产物 B；产物 A 中加入 0.5 g 硫代硫酸钠、0.5 g 焦硫酸钠和 1 mL 乳化剂，60 °C 搅拌 1 h，即得产物 C；最后将产物 B 与 C 按 1:1 (V/V) 混合，60 °C 搅拌 1.5 h，加入乙醇/丙酮 (1:1, V/V) 混合溶液，放置，抽滤，沉淀物用 75%、95%、100% 乙醇依次洗涤，60 °C 烘干，即得 CS-SO<sub>2</sub>SM。

表 2 综合评分表

Table 2 Scoring table

试验号	曲线评分(5分)	天数评分(5分)	综合评分
1	2 3 2	3 2 3	5 5 5
2	1 2 2	2 2 2	3 4 4
3	1 2 1	2 1 2	3 3 3
4	3 2 3	3 3 2	6 5 5
5	2 2 2	2 2 3	4 4 5
6	2 2 2	2 2 2	4 4 4
7	2 2 2	2 2 2	4 4 4
8	2 2 2	3 2 2	5 4 4
9	2 2 2	3 2 2	5 4 4
10	2 3 2	3 2 3	5 5 5
11	3 3 3	3 3 3	6 6 6
12	3 3 3	3 3 3	6 6 6
13	3 2 3	3 4 3	6 6 6
14	2 3 2	3 2 3	5 5 5
15	3 4 3	4 3 4	7 7 7
16	3 3 3	3 3 3	6 6 6
17	3 3 3	3 3 3	6 6 6
18	2 3 2	3 2 3	5 5 5
19	3 3 3	3 3 3	6 6 6
20	3 4 3	4 3 4	7 7 7
21	3 3 3	3 3 3	6 6 6
22	4 3 3	3 4 4	7 7 7
23	3 3 4	4 4 3	7 7 7
24	3 3 3	3 3 3	6 6 6
25	4 4 4	4 4 4	8 8 8
26	5 5 5	5 4 5	10 9 10
27	4 5 4	4 3 4	8 8 8

表 3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance

源	III型平方和	df	均方	F	Sig
校正模型	10873.302a	26	418.204	96.784	.000
截距	389930.864	1	389930.864	90241.143	.000
TRA 加入量	7874.228	2	3937.114	911.161	.000
焦亚硫酸钠加入量	263.580	2	131.790	30.500	.000
搅拌时间	141.358	2	70.679	16.357	.000
TRA 加入量*焦硫酸钠加入量	247.994	4	61.998	14.348	.000
TRA 加入量*搅拌时间	631.327	4	157.832	36.527	.000
焦硫酸钠加入量*搅拌时间	748.920	4	187.230	43.330	.000
TRA 加入量*焦硫酸钠加入量*搅拌时间	965.895	8	120.737	27.942	.000
误差	233.333	54	4.321		
总计	401037.500	81			
校正的总计	11106.636	80			

注: \*R 方=0.979 (调整 R 方=0.969); 因变量: 综合值。

## 2.4 CS-SO<sub>2</sub>SM 的结构表征

材料表征主要分为元素分析、分子与固态分析、表面表征技术,常用的检测方法有原子吸收光谱、X-衍射、红外光谱、拉曼光谱、热分析、紫外光谱、电子显微镜等<sup>[30,31]</sup>,本研究应用红外光谱、场发射扫描电子显微镜-能谱仪进行结构表征。

### 2.4.1 场发射环境扫描电子显微镜-能谱检测

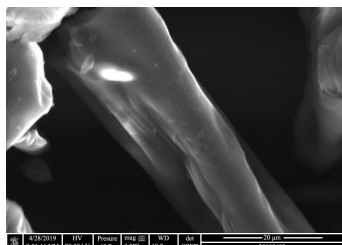


图 3 壳聚糖电镜图 (3000×)

Fig.3 Chitosan electron micrograph (3000×)

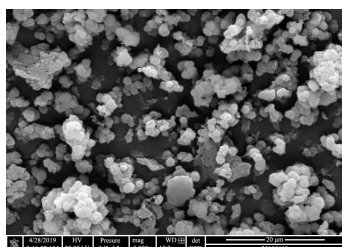


图 4 产物 A 电镜图 (3000×)

Fig.4 Electron micrograph of compound A (3000×)

在扫描电镜下,合成中间产物 A (图 4)与壳聚糖原料 (图 3)相比较,A 不再是常见壳聚糖高分子无定形玻璃态,而是转化为类半结晶性的团粒状,这可能是因为经过 Cu→N 配位后改变了壳聚糖链的极性,利于结晶。产物 B (图 5)的形态从 A 的半结晶

态转化为类低聚橡胶常表现出的片絮状结构,产物 B 是在产物 A 基础上进一步交联硫化的结果。产物 C (图 6)是产物 A 将硫酸盐包埋,结构上类似于产物 A,CS-SO<sub>2</sub>SM 为半结晶与片絮状的无定混合态,这与终产物即是产物 B 与产物 C 共混的结果相关。

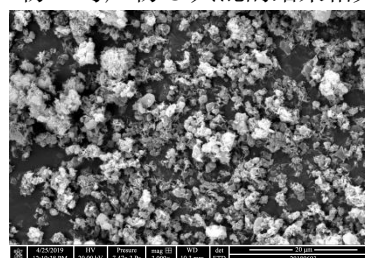


图 5 产物 B 电镜图 (3000×)

Fig.5 Electron micrograph of compound B (3000×)

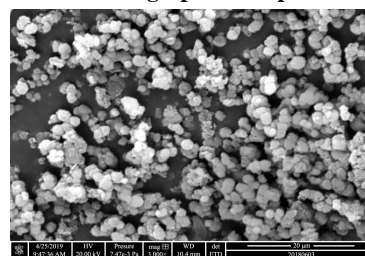


图 6 产物 C 电镜图 (3000×)

Fig.6 Electron micrograph of compound C (3000×)



图 7 CS-SO<sub>2</sub>SM

Fig.7 Chitosan type SO<sub>2</sub> sustained material

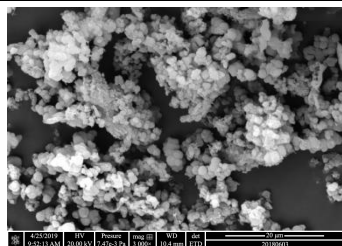


图8 CS-SO<sub>2</sub>SM 电镜图 (3000×)

Fig.8 Electron micrograph of CS-SO<sub>2</sub>SM (3000×)

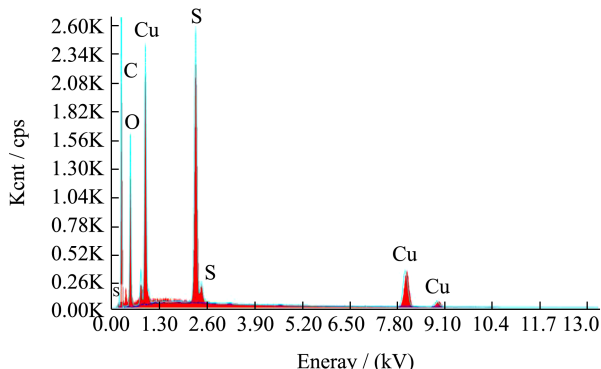


图9 CS-SO<sub>2</sub>SM 能谱图

Fig.9 CS-SO<sub>2</sub>SM spectrum

产品 CS-SO<sub>2</sub>SM 为黑褐色固体粉末 (图 7)。由壳聚糖原料合成壳聚糖型 SO<sub>2</sub> 缓释材料的各中间产物, 在电镜下的形态发生了相应的改变 (图 8)。由能谱仪元素分析 (图 9) 可知, C、O、Cu、S 的原子含量分别是 69.68%、22.70%、2.92%、4.70%; 归一化质量分别是 54.48%、23.65%、12.07%、9.81%。

### 2.4.2 红外光谱检测

CS-SO<sub>2</sub>SM 红外光谱图中 (图 10), 与 50、150 ku 壳聚糖相比, 壳聚糖的特征吸收峰峰 I (-OH 和-NH 伸缩振动吸收峰)、峰 II (C-H 伸缩振动吸收峰) 和峰 III、IV (酰胺吸收峰) 均出现<sup>[32]</sup>, 并发生不同程度的蓝移, 且透过率明显增大, 这是 Cu→N 配位产生吸收峰向高波数移动的结果。综合扫描电镜-能谱仪和 FT-IR 分析, 结果表明成功合成了以壳聚糖为骨架的缓释材料 CS-SO<sub>2</sub>SM。

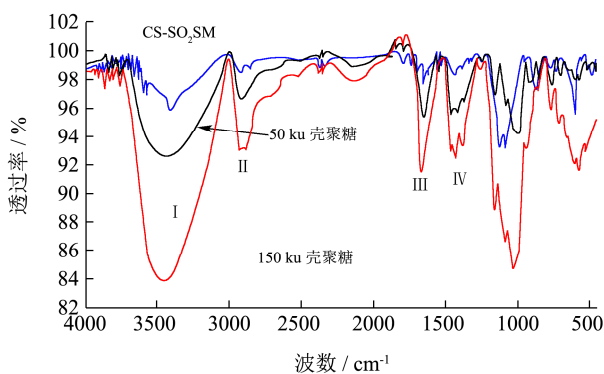


图10 CS-SO<sub>2</sub>SM 红外光谱

Fig.10 Infrared spectrum of CS-SO<sub>2</sub>SM

## 2.5 抑菌实验

表4 抑菌效果

Table 4 Bacteriostatic effect

样品	抑菌圈平均直径/mm
空白	8.67±0.58
25	14.00±2.65*
26	20.33±4.04**
27	12.00±1.00

注: \**p*<0.1, \*\**p*<0.01 与空白组比较。

通过析因实验选取三个较优配方做抑菌试验。由表 4 可知, 三者均有抑菌作用, 其中 26 号 (A3B3C2) 抑菌圈最大 (*p*<0.01), 抑菌性能为最佳, 与析因实验结果基本一致。

## 3 结论

本研究选用壳聚糖为原料, 采用金属离子配位反应、硫化反应和包埋技术通过共混、交联制备了壳聚糖型 SO<sub>2</sub> 缓释材料。通过单因素试验筛选出 Cu<sup>2+</sup> 与 TRA 分别作为金属离子和硫化剂, 3×3×3 析因实验对制备工艺进行优化, 确定了适合该材料的配方为 TRA 0.5 g、焦亚硫酸钠 0.5 g、搅拌 1.5 h。综合扫描电镜-能谱仪和 FT-IR 分析, CS-SO<sub>2</sub>SM 是以壳聚糖为骨架, 经过铜离子配位反应、胶硫化和硫酸盐包埋形成的黑褐色固体粉末。抑菌实验表明抑菌圈平均直径为 20.33 mm, 具有最佳抑菌效果, 与析因结果相同。本研究中制备的 CS-SO<sub>2</sub>SM 的 SO<sub>2</sub> 释放曲线具备葡萄保鲜曲线特征, 有望成为一种新型 SO<sub>2</sub> 保鲜剂。

## 参考文献

- [1] 王浩.壳聚糖及其衍生物在医药领域的应用研究进展[J].发酵科技通讯,2015,44(1):58-61  
WANG Hao. Research progress on the application of chitosan and its derivatives in medicine field [J]. Newsletter of Fermentation Technology, 2015, 44(1): 58-61
- [2] Arafa Mona G, Mousa Hadeel A, Afifi Nagia N. Preparation of PLGA-chitosan based nanocarriers for enhancing antibacterial effect of ciprofloxacin in root canal infection [J]. Drug Delivery, 2020, 27(1): 26-29
- [3] 毕继才,姜宗伯,张亚征,等.壳聚糖在食品工业中的应用[J].河南科技学院学报(自然科学版),2018,46(5):34-39  
BI Ji-cai, JIANG Zong-bo, ZHANG Ya-zheng, et al. Application of chitosan in food industry [J]. Journal of Henan Institute of Science and Technology (Natural Sciences Edition), 2018, 46(5): 34-39

- [4] Safoura Akbari-Alavijeh, Rezvan Shaddel, Seid Mahdi Jafari. Encapsulation of food bioactives and nutraceuticals by various chitosan-based nanocarriers [J]. Food Hydrocolloids, 2020, 105(5): 1-11
- [5] Shivayogi S Narasagoudr, Veena G Hegde, Vinayak N Vanjeri, et al. Ethyl vanillin incorporated chitosan/poly (vinyl alcohol) active films for food packaging applications [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 236(15): 116049
- [6] ZHAO Jia-yi, WEI Feng, XU Wei-li, et al. Enhanced antibacterial performance of gelatin/chitosan film containing capsaicin loaded MOFs for food packaging [J]. Applied Surface Science, 2020, 510(3): 1-9
- [7] 蒋小妹,莫海涛,苏海佳,等.甲壳素及壳聚糖在农业领域方面的应用[J].中国农学通报,2013,29(6):170-174  
JIANG Xiao-shu, MO Hai-tao, SU Hai-jia, et al. The application of chitin and chitosan in agriculture [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2013, 29(6): 170-174
- [8] Balti Rafik, Mansour Mohamed Ben, Sayari Nadhem, et al. Development and characterization of bioactive edible films from spider crab (*Maja crispata*) chitosan incorporated with *Spirulina* extract [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 38(105): 1464-1472
- [9] Barreto Tainá A, Andrade Sonalle C A, Maciel Janeeyre F, et al. A chitosan coating containing essential oil from *Origanum vulgare* L. to control postharvest mold infections and keep the quality of cherry tomato fruit [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 11(7): 17-24
- [10] Li R, Pingan J, Zhanyong G. Preparation, antifungal and antioxidant properties of a novel chitosan derivative [C]// International Conference on Bioinformatics & Biomedical Engineering, IEEE Xplore, 2010
- [11] K Rambabu, G Bharath, Fawzi Banat, et al. Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 126: 1234-1243
- [12] 李佳睿.聚乙烯醇/壳聚糖医用缓释材料的研究[D].哈尔滨:哈尔滨理工大学,2014  
LI Jia-rui. Investigation on the polyvinyl alcohol/ chitosan microspheres as medical delivery materials [D]. Harbin: Harbin University of Science and Technology, 2014
- [13] Khamis Youssef, Admilton G de Oliveira, Cesar Augusto Tischer, et al. Synergistic effect of a novel chitosan/silica nanocomposites-based formulation against gray mold of table grapes and its possible mode of action [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 40(141): 247-258
- [14] 祁文彩,张金国,王丹,等.壳聚糖复合膜在果蔬保鲜应用中的研究进展[J].北方园艺,2018,41(21):169-175  
QI Wen-cai, ZHANG Jin-guo, WANG Dan, et al. Research progress of chitosan composite film applied in freshness preservation of fruits and vegetables [J]. Northern Horticulture, 2018, 41(21): 169-175
- [15] Mohamed E Abd El-Hack, Mohamed T El-Saadony, Manal E Shafi, et al. Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan and its derivatives and their applications: a review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164(1): 2726-2744
- [16] Jiaojiao Zhang, Xiaolei Hao, Xihong Li, et al. Effect of chitosan coating combined with sulfur dioxide fumigation on the storage quality of fresh areca nut [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(3): e12974
- [17] 马捷,胡慧敏,孙琰,等.壳聚糖涂膜对鲜切哈密瓜品质的影响[J].食品工业科技,2016,37(24):346-349,375  
MA Jie, HU Hui-min, SUN Yan, et al. Effect of chitosan coating on quality of fresh-cut Hami melons [J]. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(24): 346-349, 375
- [18] 戎梦瑶,昌震,欧佳伟,等.包埋 NGF 的壳聚糖-PLGA 双壁微球制备及其相关性能研究[J].中国修复重建外科杂志,2020, 34(1):102-108  
RONG Meng-yao, CHANG Zhen, OU Jia-wei, et al. The fabrication and related properties study of chitosan-poly (lactide-co-glycolide) double-walled microspheres loaded with nerve growth factor [J]. Chinese Journal of Reparative and Reconstructive Surgery, 2020, 34(1): 102-108
- [19] Xiaoyu Chen, Zhiqiang Zhu, Xiaoshuan Zhang, et al. Modeling the microbiological shelf life of table grapes and evaluating the effects of constant concentrations of sulfur dioxide [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2017, 41(4): e13058
- [20] 周江.二氧化硫(SO<sub>2</sub>)间歇熏蒸对红地球葡萄采后品质的影响[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2016  
ZHOU Jiang. Effects of sulfur dioxide intermittent fumigation on postharvest quality of red globe grapes during storage [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2016
- [21] 贾晓昱,杨维巧,潘艳芳,李喜宏,赵志永,杜美军,李悦明.红提葡萄 SO<sub>2</sub> 脉冲式防腐保鲜技术[J].包装工程,2019,40(9): 22-27  
JIA Xiao-yu, YANG Wei-qiao, PAN Yan-fang, et al. SO<sub>2</sub> pulsed antiseptic and fresh-keeping technology of red grape [J]. Packaging Engineering, 2019, 40(9): 22-27

- [22] 焦旋,高振峰,冯志宏,等.二氧化硫精准释放葡萄保鲜片的研制与应用[J/OL].食品工业科技:1-11 [2021-01-16].  
<https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070254>  
JIAO Xuan, GAO Zheng-feng, FENG Zhi-hong, et al. Development and evaluation of grape preservative tablets with precise sulfur dioxide release [J/OL]. Science and Technology of Food Industry: 1-11[2021-01-16].  
<https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020070254>
- [23] 宫言佩.葡萄微胶囊型保鲜剂的制备及其缓释性能的研究[D].青岛:青岛农业大学,2010  
GONG Yan-pei. Study on preparation craft of grape antistaling agent microcapsules and its slow-release ability [D]. Qingdao: Qingdao Agricultural University, 2010
- [24] 王秋平,杨晓君,王宇杰,等.不同分子量壳聚糖型 SO<sub>2</sub> 缓释材料性能研究[J].食品工业科技,2020,2(41):183-188  
WANG Qiu-ping, YANG Xiao-jun, WANG Yu-jie, et al. Properties of chitosan-type SO<sub>2</sub> sustained-release materials with different molecular weights [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 2(41): 183-188
- [25] Yinfeng Tan, Hao Wu, Tianzhi Xie, et al. Characterization and antibacterial effect of quaternized chitosan anchored cellulose beads [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155(15): 1325-1332
- [26] 韩洁,陈存坤,王文生,等.保鲜剂不同组合对袋内 SO<sub>2</sub> 积累及葡萄保鲜质量的影响[J].食品科学,2015,36(24):319-325  
HAN Jie, CHEN Cun-kun, WANG Wen-sheng. Effects of different combinations of preservatives on SO<sub>2</sub> accumulation in packaging bags and quality preservation of grapes [J]. Food Science, 2015, 36(24): 319-325
- [27] 杨艳玲.两种不同胶原/壳聚糖复合材料的制备及性能对比研究[J].化工时刊,2019,33(10):29-31  
YANG Yan-ling. Study on preparation and performance comparison of two different collagen/chitosan composites [J]. Chemical Industry Times, 2019, 33(10): 29-31
- [28] Arezoo Mirzaie, Mohammad Hasanzadeh, Abolghasem Jouyban. Cross-linked chitosan/thiolated graphene quantum dots as a biocompatible polysaccharide towards aptamer immobilization [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 1091-1105
- [29] 郭顾,郭元龙,赵腾飞,等.壳聚糖改性聚氨酯的研究进展[J].山东化工,2019,48(19):86-87,95  
GUO Gu, GUO Yuan-long, ZHAO Teng-fei, et al. Research progress of chitosan-modified polyurethane [J]. Shandong Chemical Industry, 2019, 48(19): 86-87, 95
- [30] WANG Shuai, ZHANG Duo, MA Yan-yun, et al. Aqueous solution synthesis of Pt-M (M=Fe, Co, Ni) bimetallic nanoparticles and their catalysis for the hydrolytic dehydrogenation of ammonia borane [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(15): 12429-12435
- [31] S Jayanth Kumar, Anjana Jain. Development and characterisation of polyvinylidene fluoride-polyaniline films for piezoelectric power generation [J]. ISSS Journal of Micro and Smart Systems, 2017, 6(1): 67-75
- [32] 薛娟琴,王温桥,孙祺鑫,等.分层电沉积制备聚吡咯/壳聚糖/氧化石墨烯复合电极及其在 CDI 技术中的应用[J].功能材料,2020,51(9):9151-9158  
XUE Juan-qin, WANG Wen-qiao, SUN Qi-xin, et al. Preparation of polypyrrole/chitosan/graphene oxide composite electrode by layered electrodeposition and its application in CDI technology [J]. Journal of Functional Materials, 2020, 51(9): 9151-9158

---

(上接第 13 页)

- [19] 刘君雯,刘文锋,汤长发,等.补充 L-赖氨酸对急性力竭运动大鼠肾细胞凋亡及凋亡调控基因蛋白表达的影响[J].中国运动医学杂志,2008,6:723-726,718  
LIU Jun-wen, LIU Wen-feng, TANG Chang-fa, et al. Effects of L-lysine supplementation on renal cell apoptosis and apoptosis-regulating gene protein expression in rats with acute exhaustive exercise [J]. Chinese Journal of Sports Medicine, 2008, 6:723-726, 718
- [20] 黄开华,高新华,陈伟,等.鹿血抗氧化活性肽分子量测定及其氨基酸组成分析[J].应用技术学报,2017,17(1):37-40  
HUANG Kai-hua, GAO Xin-hua, CHEN Wei, et al. Molecular weight determination and amino acid composition analysis of deer blood antioxidant peptides [J]. Journal of Applied Technology, 2017, 17(1): 37-40
- [21] 职玉娟.当归补血汤及有效成分对动脉粥样硬化及心肌细胞凋亡的影响[D].广州:广州中医药大学,2013  
ZHI Yu-juan. Effect of Danggui Buxue decoction and its active ingredients on atherosclerosis and cardiomyocyte apoptosis [D]. Guangzhou: Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2013