

醋酸纤维素/聚乙烯吡咯烷酮/ ϵ -聚赖氨酸纳米纤维膜的制备及其抗菌性能

李可儿, 朱静文, 谢玲珑, 刘玉婷, 庄铭淇, 向宏佳, 王弘, 温棚*
(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要: 采用静电纺丝技术制备了醋酸纤维素/聚乙烯吡咯烷酮/ ϵ -聚赖氨酸 (cellulose acetate/polyvinylpyrrolidone/ ϵ -polylysine, CA/PVP/ ϵ -PL) 抗菌纳米纤维膜, 并对纤维膜进行了结构表征和性能研究。结果表明: 溶液黏度和电导率对纤维形貌有较大影响, 当 CA、PVP 与 ϵ -PL 的质量分数分别为 70、35 和 20 g/L 时, 纤维膜的直径均匀分布在 150~250 nm 之间; 傅里叶红外光谱、X 射线衍射和差示扫描量热仪的结果显示, ϵ -PL 被成功包埋在纤维膜中, 且各组分之间具有强烈的相互作用; 热重分析结果表明 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜的热降解温度升至 441.30 °C, 具有良好的热稳定性; 抑菌实验结果显示 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜的抗菌性优于流延膜, 其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径/膜质量比为 0.53~0.67 cm/mg, 且能延长生鲜肉的贮藏时间 3 d 以上。综上所述, CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜具有良好的抗菌活性, 对生鲜肉具有保鲜作用, 可用于食品的抗菌保鲜。该研究结果为负载 ϵ -PL 纳米抗菌膜的实际应用提供理论依据。

关键词: 静电纺丝; ϵ -聚赖氨酸; 纳米纤维膜; 结构表征; 抗菌性能

文章编号: 1673-9078(2022)05-165-173

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.5.0830

Preparation of Cellulose Acetate/Polyvinylpyrrolidone/ ϵ -Polylysine

Nanofibrous Membrane and Its Antibacterial Property

LI Keer, ZHU Jingwen, XIE Linglong, LIU Yuting, ZHUANG Mingqi, XIANG Hongjia, WANG Hong, WEN Peng*
(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Cellulose acetate/polyvinylpyrrolidone/ ϵ -polylysine (CA/PVP/ ϵ -PL) antibacterial nanofibrous membrane was prepared by electrospinning technology, and its structure and properties were also characterized. The results showed that the solution viscosity and electrical conductivity had a great influence on the fiber morphology. When the mass fractions of CA, PVP and ϵ -PL were 70, 35 and 20 g/L, respectively, the diameter of the fiber membrane was uniformly distributed between 150~250 nm. The results of Fourier transform infrared spectroscopy, X-ray diffraction and differential scanning calorimetry showed that ϵ -PL was successfully encapsulated in the fiber membrane and there were strong interaction among different components. The results of thermogravimetric analysis revealed that the CA/PVP/ ϵ -PL nanofiber membrane had a thermal degradation temperature of 441.30 °C, and exhibited good thermal stability. The results of the antimicrobial test demonstrated that the CA/PVP/ ϵ -PL nanofibrous membrane exhibited a higher antibacterial activity than that of the casting film, and its inhibition zone diameter/membrane massratio against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* ranged from 0.53 cm/mg to 0.67 cm/mg, with the ability to prolong the storage time of fresh meat by more than 3 days. In summary, CA/PVP/ ϵ -PL nanofibrous membrane possessed a good antibacterial

引文格式:

李可儿,朱静文,谢玲珑,等.醋酸纤维素/聚乙烯吡咯烷酮/ ϵ -聚赖氨酸纳米纤维膜的制备及其抗菌性能[J].现代食品科技,2022,38(5):165-173,+23

LI Keer, ZHU Jingwen, XIE Linglong, et al. Preparation of cellulose acetate/polyvinylpyrrolidone/ ϵ -polylysine nanofibrous membrane and its antibacterial property [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(5): 0165-173, +23

收稿日期: 2021-08-01

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32001631); 华南农业大学大学生创新创业训练计划项目 (202010564059); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2020A1515110190)

作者简介: 李可儿 (2000-), 女, 本科生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 429369604@qq.com

通讯作者: 温棚 (1988-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品质量与安全, E-mail: wenpeng100@163.com

activity and fresh-keeping effect on fresh meat, which can be used for antimicrobial and fresh-keeping effects on foods. The results of this research provide a theoretical basis for the practical application of ϵ -PL-loaded antibacterial nanofibrous membrane.

Key words: electrospinning; ϵ -polylysine; nanofibrous membrane; structural characterization; antibacterial property

新鲜食品水分活度高, 营养丰富, 在储藏、运输过程中易受到微生物的污染而腐败变质, 导致货架期缩短^[1]。目前, 抗菌活性包装材料成为食品防腐保鲜的研究热点^[2]。依托包装材料(膜)达到缓释抗菌剂的目的, 可以最大限度地保留食品原有的感官和营养品质, 有效防止食品腐败变质。因此, 为了延长食品的货架期, 亟需构建具有缓释和广谱抗菌性能的天然可降解抗菌膜材料。

对于抗菌剂而言, 虽然纳米 Ag、TiO₂ 等金属离子及其氧化物具有良好的抗菌性, 但这些抗菌物质的安全性有待进一步确证。近年来, 采用天然抗菌剂是食品抗菌包装材料研究的重点, 如茶多酚、植物精油和乳酸链球菌素等^[3]。与其它天然抗菌剂相比, ϵ -聚赖氨酸(ϵ -polylysine, ϵ -PL)是一种安全无毒、具有广谱抗菌性和热稳定性等优点的天然抑菌剂和食品防腐剂(GB2760-2014)^[4]。目前多将 ϵ -PL 涂抹于食物表面或直接添加到食品中^[5,6], 或直接负载于淀粉流延膜^[7]和壳聚糖流延膜^[8]中发挥抗菌作用。但直接涂抹法存在释放快、抗菌时效短的缺点, 而流延膜又不利于抗菌剂的缓释。有研究将 ϵ -PL 包裹在纳米体系如壳聚糖/海藻酸钠纳米粒子^[9]、脂质体^[10]中实现控缓释, 但在实际应用中, 直接将上述纳米溶液体系喷涂到食品表面, 会出现分布不均匀、凝聚等不期望的现象。因此, 需要构建一种合适的膜载体提升 ϵ -PL 的应用稳定性, 并实现长效控缓释。

近年来, 结合纳米材料的抗菌膜受到了广泛的关注。其中, 静电纺丝是一种可连续制备纳米纤维膜的方法, 温和的操作过程有利于活性物质的高效稳定包埋^[11]。利用静电纺丝制备具有抗菌性的食品活性包装是当下的研究热点。目前, 已有研究利用静电纺丝技术将 ϵ -PL 和明胶共混制备纳米抗菌膜^[12], 但蛋白类基材机械性能较差, 限制了膜材料的应用范围。醋酸纤维素(cellulose acetate, CA), 是一类生物相容性好、韧性高、天然可降解的纤维素衍生物^[13], 聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone, PVP)是由 N-乙烯基吡咯烷酮(N-vinylpyrrolidone, NVP)聚合而成的绿色高分子化合物, 具有良好的成膜性, 被广泛应用于食品包装、医药和纺织等领域^[14,15]。目前已有研究将姜黄素负载于 CA/PVP 膜中制备抗菌膜材料^[16], 但将 ϵ -PL 负载于 CA/PVP 纳米纤维膜尚未见报道。因此, 本论文通过静电纺丝技术制备 CA/PVP/ ϵ -PL 抗菌纳米

纤维膜, 研究溶液性质与纤维形貌之间的关系, 并对膜材料进行表征, 分析负载不同浓度 ϵ -PL 的纤维膜对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌性及其对生鲜肉贮藏保鲜的效果。研究结果将为负载 ϵ -PL 的新型食品包装材料的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

ϵ -聚赖氨酸、醋酸纤维素和聚乙烯吡咯烷酮, 购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 营养肉汤, 购于青岛海博生物技术有限公司; 大肠杆菌和金黄色葡萄球菌由广东省微生物所提供; 琼脂, 购于广州赛国生物科技有限公司; 生鲜肉, 购自华南农业大学三角菜市场; 冰醋酸、无水乙醇等均为分析纯试剂。

1.2 仪器与设备

静电纺丝机, 佛山轻子精密测控技术有限公司; SU5000 场发射扫描电镜, 日立高新技术公司; MCR502 模块化智能型高级流变仪, 安东帕商贸有限公司; DDSJ-308F 电导率仪, 上海仪电科学仪器股份有限公司; VERTEX 70 傅里叶红外光谱仪, 德国布鲁克公司; X'pert Powder X 射线衍射仪, 荷兰帕纳科公司; TG 500 热重分析仪, 耐驰科学仪器商贸(上海)有限公司; TA Q200 差示扫描量热分析仪, 上海莱睿科学仪器有限公司; LV-SSR 数字旋转粘度计, 上海方瑞仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 纺丝溶液的制备及表征

按照质量比 1:2、1:1、2:1、4:1 将 CA 和 PVP 分别溶于 20 mL 的乙酸/无水乙醇/水混合溶剂中(体积比为 12:4:4), 搅拌溶解后获得质量浓度为 105 g/L 的聚合物溶液。然后在优化的 CA 与 PVP 的质量比基础上, 分别加入 0.20、0.40、0.60 g 的 ϵ -PL, 获得 CA/PVP/ ϵ -PL 溶液。利用电导仪测试 25 °C 下不同纺丝溶液的电导率, 同种溶液测五组数据取平均值。采用旋转流变仪和数字旋转粘度计测定 25 °C 下不同纺丝溶液的黏度。

1.3.2 纳米纤维膜和流延膜的制备

将纺丝溶液注入注射器中, 调节纺丝参数为: 电

压 17 kV、距离 12 cm (注射器针尖到接受板间距)、进样速率 0.5 mL/h, 在此条件下制备纳米纤维膜。其中, 纺丝温度为 20 ± 3 °C, 相对湿度为 $60\% \pm 5\%$ 。

采用流延的方法将聚合物溶液均匀涂铺在聚四氟乙烯模板上, 常温下自然烘干 24 h 得到流延膜。

1.3.3 形貌表征

采用扫描电镜观察静电纺丝纳米纤维的形貌, 工作距离 10 mm, 加速电压 5 kV。利用 Nano measurer1.2 软件测量纤维直径。

1.3.4 傅里叶变换红外光谱分析

采用傅里叶变换红外光谱仪 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 对样品进行结构分析。分析条件: 扫描范围 $4000 \text{ cm}^{-1} \sim 400 \text{ cm}^{-1}$, 分辨率 4 cm^{-1} 。所有样品测定 3 次。

1.3.5 X 射线衍射分析

采用多位自动进样 X 射线衍射仪 (X-ray diffraction, XRD) 研究纤维膜的结晶度变化。以 $12^\circ/\text{min}$ 的速度在 $5^\circ \sim 60^\circ$ 的 θ 角度范围内进行测试, 步长 0.013° 。

1.3.6 差示扫描量热仪分析

采用差示扫描量热仪 (Differential scanning calorimeter, DSC) 研究不同物质的玻璃化转变温度。参数设置为: 称取 2.90~3.20 mg 样品, 在氮气氛围下以 $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 的加热速率从 30°C 升温到 300°C 。

1.3.7 热重分析

采用热重分析法 (Thermogravimetric Analysis, TGA) 分析纤维膜的热稳定性, 操作条件为: 称取 9~10 mg 的样品, 在氮气环境条件下, 以 $20^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温速率从 40°C 升至 700°C 。

1.3.8 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜和流延膜的抑菌圈测定

将负载不同 ϵ -PL 含量的抗菌膜和流延膜剪成直径为 1.00 cm 的圆片, 紫外灭菌 20 min。然后将大肠杆菌菌种和金黄色葡萄球菌菌种活化 (活化后的菌落数为 $10^8 \text{ CFU}/\text{mL}$), 随后各取 $50 \mu\text{L}$ 的菌液分别涂布在营养琼脂固体培养基中, 再将上述灭菌的膜贴到平板上, 37°C 培养 12 h, 测量抑菌圈的直径^[17]。

1.3.9 扫描电镜检测 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜对菌的处理效果

首先用 50% 乙酸溶解纳米纤维膜得到含 ϵ -PL 的溶解液, 然后将溶解液与 PBS 稀释后的菌液 ($\text{OD}=0.2$) 共培养 8 h。随后离心, 将收集的菌体先用 PBS 缓冲液漂洗、接着用 2.50% 戊二醛对菌体进行固定。PBS 缓冲液漂洗后, 将样品分别置于 30%、50%、60%、70%、80%、90% 和无水乙醇中进行梯度脱水, 每次

各 20 min。最后将样品放置于 37°C 干燥箱中干燥, 用扫描电镜观察膜对菌的处理效果。

1.3.10 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜对生鲜肉的抑菌效果

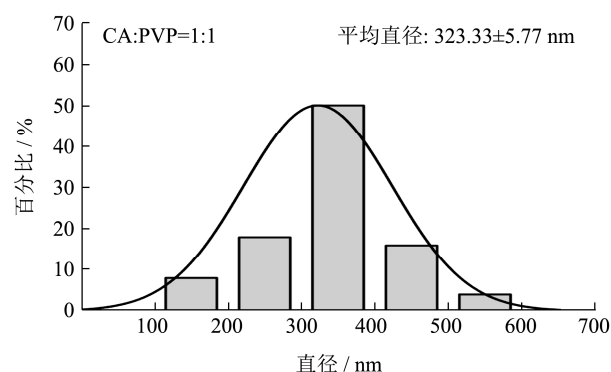
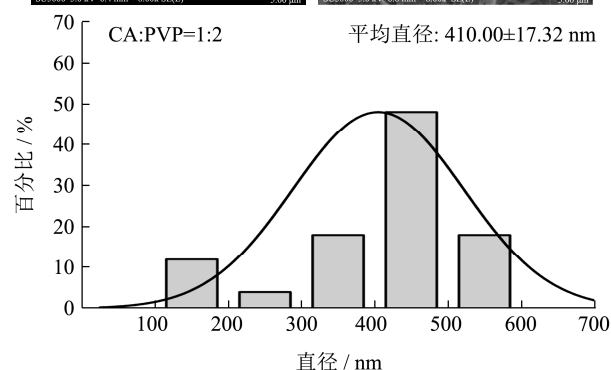
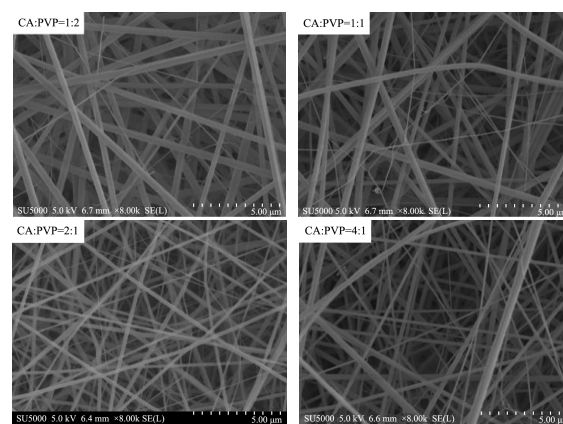
将 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜和保鲜膜 (空白组) 分别包裹生鲜肉, 37°C 放置 24 h 后测菌落总数, 方法按照 GB 4789.2-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验菌落总数测定》。

1.4 数据处理

使用 Origin 9.0 软件进行数据处理。采用 SPSS Statistic 17.0 软件进行方差分析, $p < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与讨论

2.1 CA/PVP 质量对比对纤维形貌的影响



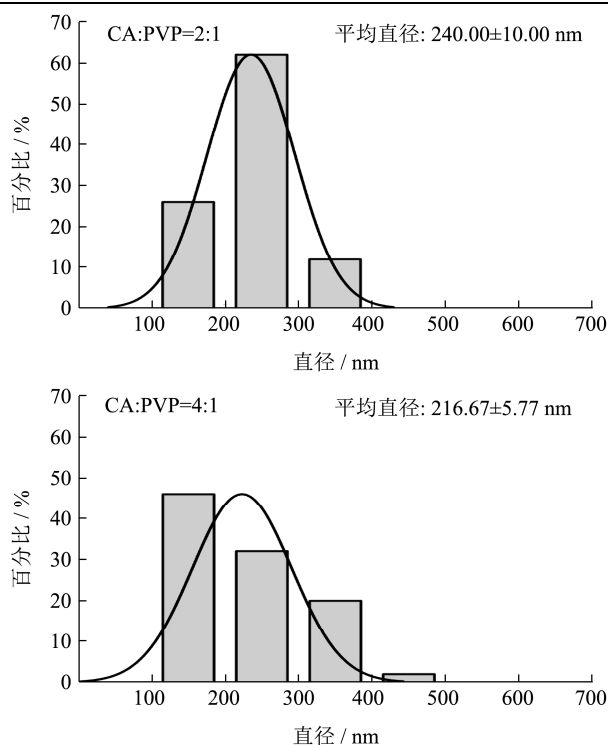


图1 不同CA/PVP纺丝膜的SEM图及其纤维直径分布图

Fig.1 SEM and fiber diameter distributions of different CA/PVP nanofibrous membrane

由图1可知,当CA:PVP质量比为1:2时,所得纤维分布不均;当质量比为1:1时,纤维成纤性增强且平均直径降低,但直径分布仍不均匀;进一步增大到2:1时,纤维形貌良好且直径分布集中;随着质量比继续提升至4:1时,纤维直径分布变得分散,且存在黏连现象。这是由于纤维的可纺性及其形貌与溶液的黏度、电导率有关^[18]。当溶液黏度较低时,分子链之间缠绕程度低,液滴难以克服自身表面张力作用成纤;当溶液黏度较大时,电场力对射流拉伸程度降低,导致纤维直径分布不均匀^[19]。对于电导率而言,在一定范围内,溶液电导率的增加有利于纤维直径的降低。

由图2可知,不同质量比CA/PVP溶液的电导率没有显著性变化($p>0.05$),而黏度的不同是影响纤维形貌的主要因素。随着剪切速率增大,所有CA/PVP共混液的表现黏度减小,呈现“剪切稀化”现象。当CA:PVP质量比小于2:1时,随着PVP含量增加,溶液黏度从0.76 Pa·s增大到0.97 Pa·s,其原因可能是PVP分子链-OH使得CA与PVP之间产生了足够的分子缠结,导致溶液黏度过高未及时被拉伸,使得纳米纤维有部分断裂和弯折。当质量比高于2:1时,溶液黏度为0.51 Pa·s,黏度较小,聚合物缠结不足,溶液不足以形成连续射流,导致形成的纤维粗细不均。因此,下一步采用CA:PVP质量比为2:1的纺丝溶液制

备CA/PVP/ ϵ -PL纳米纤维膜。

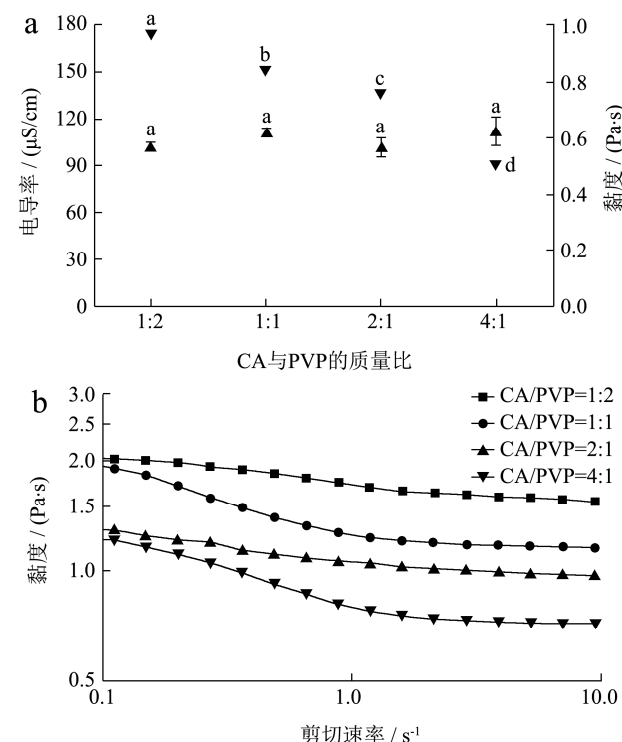


图2 不同质量比CA/PVP溶液的电导率与黏度图(a)和不同剪切速率下黏度的变化曲线图(b)

Fig.2 Conductivity, viscosity (a) and viscosity curves (b) of different CA/PVP blending solution

注:同组小写字母不同,表示差异显著($p<0.05$)。下图4同。

2.2 ϵ -PL添加量对纤维形貌的影响

由图3可知 ϵ -PL添加量对纤维形貌有一定的影响。随着 ϵ -PL添加量增加,纤维的平均直径呈增加趋势,特别地,当 ϵ -PL添加量增加到30 g/L时,部分纤维出现黏连及明显的串珠现象,这主要是由于溶液黏度和电导率的共同影响(图4)。图4结果表明溶液电导率随着 ϵ -PL(阳离子多肽)含量增加而增大,而较高的电导率有利于纤维的拉伸,进而使得纳米纤维直径减小,这与Liu等^[20]的研究结果相类似,其将 ϵ -PL掺入明胶/壳聚糖纳米纤维膜后纳米纤维直径明显减小。此外,虽然溶液呈现“剪切稀化”趋势,但黏度呈先降低再升高趋势。当 ϵ -PL添加量为10 g/L时,溶液黏度为0.78 Pa·s,黏度较高使得分子链缠结程度高,且其电导率较小,部分纤维未被充分拉伸细化,从而导致纤维粗细分布不均;当 ϵ -PL添加量为20 g/L时,溶液黏度为0.62 Pa·s,黏度较低而电导率较大,射流受到的拉伸力和自身的表面张力相平衡,因此纤维直径分布较均匀,平均直径为200.00±10.00 nm;进一步增加 ϵ -PL到30 g/L时,溶液黏度增加到2.73 Pa·s,黏

度和电导率都比较高,使得射流受力不平衡,从而断裂形成珠节或发生黏连现象。因此,适宜的 ϵ -PL 添加量为 20 g/L。

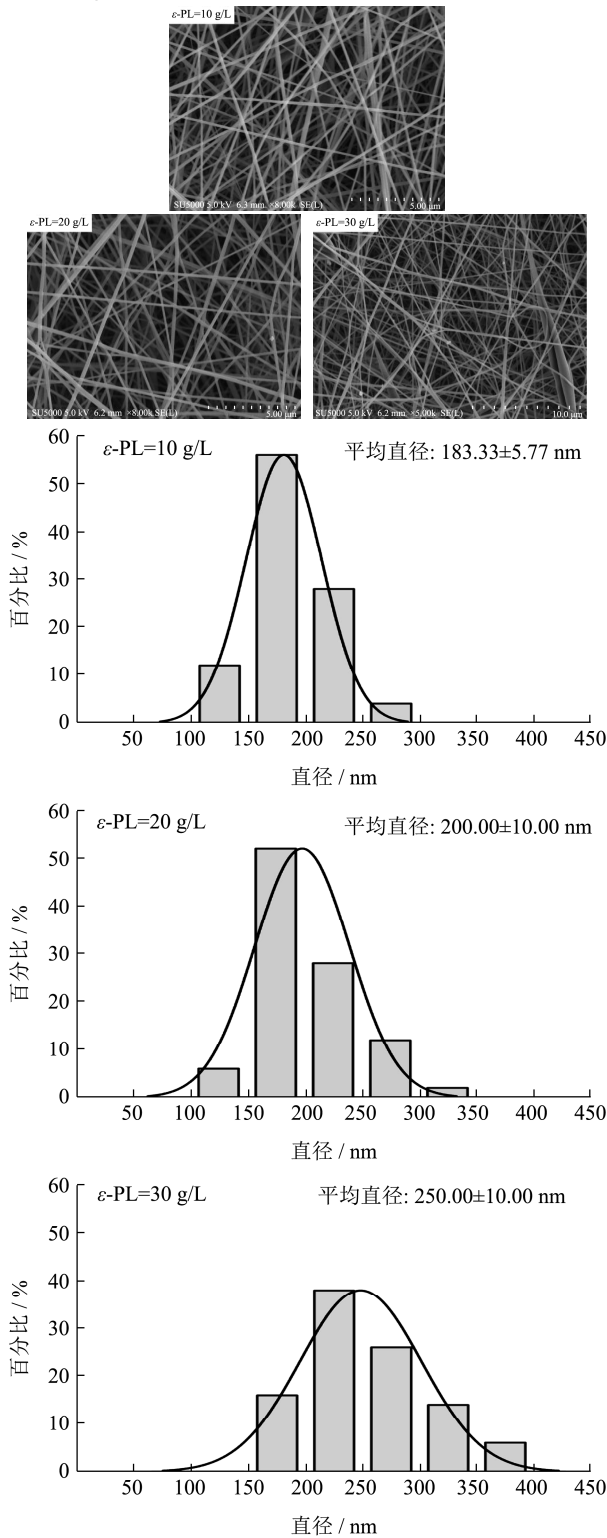


图3 不同质量浓度 ϵ -PL 的 SEM 图和纤维直径分布图

Fig.3 SEM and fiber diameter distributions of CA/PVP/ ϵ -PL nanofibrous membrane with different content of ϵ -PL

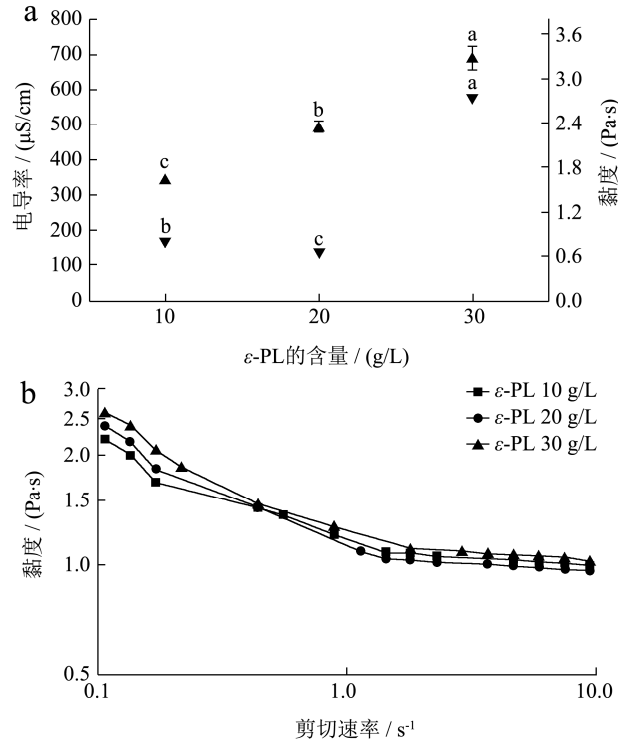


图4 不同质量 ϵ -PL 膜液电导率与黏度图 (a) 和不同剪切速率下膜液黏度的变化曲线图 (b)

Fig.4 Electrical conductivity, viscosity (a) and viscosity curve (b) of CA/PVP/ ϵ -PL blending solution with different content of ϵ -PL

2.3 FT-IR 分析

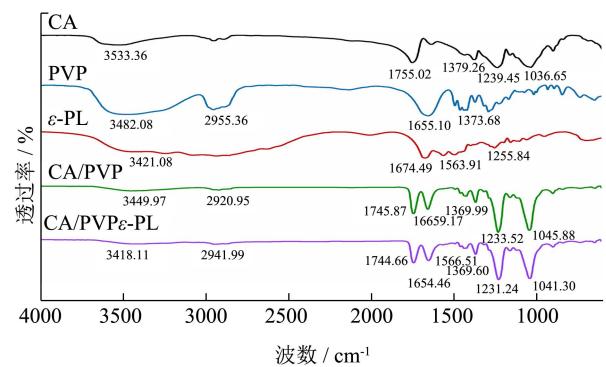


图5 不同样品的 FT-IR 图谱

Fig.5 FT-IR spectra of different samples

傅里叶变换红外光谱可以分析物质的组成和化学结构。CA、PVP、 ϵ -PL 粉末和 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜的红外图谱如图 5 所示。在 3400~3600 cm^{-1} 的区域内, ϵ -PL、CA、PVP 粉末和共纺纳米纤维膜都有着较宽的吸收峰,这归因于 O-H 的伸缩振动,表明分子之间存在大量的氢键。CA 的特征吸收峰分别是位于 1755.02 cm^{-1} 和 1379.26 cm^{-1} 处的 -C=O 伸缩振动峰与

-CH₃ 弯曲振动峰, 以及 1239.45 cm⁻¹ 和 1036.65 cm⁻¹ 处的 C-O-C 的对称振动峰^[21]; PVP 在 2955.36 cm⁻¹、1655.10 cm⁻¹、1373.68 cm⁻¹ 有特征吸收峰, 分别对应着 -CH₂、-C=O、-C-H 伸缩振动^[22]。ε-PL 分别在 1674.49 cm⁻¹、1563.91 cm⁻¹ 与 1255.84 cm⁻¹ 处呈现酰胺 I 带的 C=O 伸缩振动峰、酰胺 II 带 N-H 弯曲振动吸收峰以及酰胺 III 带特征吸收峰^[20]。静电纺丝后, CA/PVP 纳米纤维膜存在 PVP 和 CA 的特征吸收峰, 但有峰位置和峰强度的变化, 表明 CA 和 PVP 存在相互作用, 这与 Hou 等^[23]的实验结果一致。CA/PVP/ε-PL 纳米纤维膜中存在 CA 和 PVP 的特征峰, 但发生了 ε-PL 的酰胺 I 带和酰胺 III 带峰值红移, 酰胺 II 带峰值蓝移, 可能是由于 ε-PL 和 CA 分子之间的相互作用力如静电作用力改变了酰胺带的微环境。李娟等^[17]在静电纺玉米醇溶蛋白/阿拉伯胶纳米纤维膜中也发现由于分子间疏水作用力和静电力导致 zein 的酰胺键发生蓝移。综上所述, 成功制备了负载 ε-PL 的 CA/PVP/ε-PL 纳米纤维膜。

2.4 XRD 分析

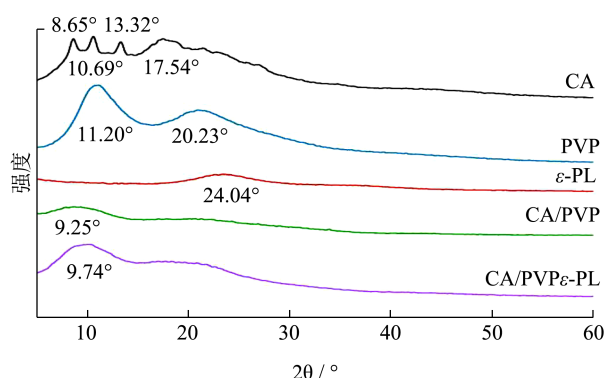


图 6 不同样品的 XRD 曲线

Fig.6 X-ray diffractograms of different samples

XRD 用来分析各物质的结晶度变化。图 6 是 CA、PVP、ε-PL 以及其纳米纤维膜的 XRD 图谱。单独 CA 粉末在 2θ 为 8.65°、10.69°、13.32°、17.54° 处出现衍射峰^[21]; PVP 的衍射峰出现在 2θ=11.20°、20.23° 处^[24]; ε-PL 作为一种无定型物质, 仅在 24.04° 处出现了较宽的衍射峰^[20]。对于 CA/PVP 纳米纤维膜, 其在 9.25° 出现一个较宽的衍射峰, CA/PVP/ε-PL 纳米纤维膜仅在 9.74° 处有衍射峰, 与单组分相比, 纳米纤维膜的 XRD 图谱不是三种物质图谱简单的物理混合, 而是在某些特征峰强度和位置上呈现一定程度的偏移或者消失。这一方面是因为静电纺丝过程溶剂快速挥发, 纤维迅速固化抑制了结晶的形成^[25]; 另一方面, 物质之间的相互作用也会影响原有的晶格结构, 从而使得纤维膜的结晶性发生变化, 与 FT-IR 结果相

呼应。特别地, CA/PVP/ε-PL 纳米纤维膜衍射峰强度更强, 这是因为 CA 与 PVP 混纺形成氢键, 降低了纳米纤维膜的结晶度, 而 ε-PL 的加入破坏了 CA/PVP 形成的原有的氢键网络, 导致结晶度略微增加。

2.5 DSC 分析

差示扫描量热法 (DSC) 可进一步表征纤维膜的结晶性能及玻璃化转变温度, 通过 DSC 曲线的吸热峰和放热峰可以表征物质的熔融温度 (Melting temperature, T_m)、玻璃化转变温度 (Glass transition temperature, T_g)。如图 7a 所示, ε-PL、PVP 和 CA 的 T_g 分别为 128.40、145.50 和 130.07 °C, 其中 CA 的 T_m 峰位于 233.15 °C, 与前人报道一致^[26-28]。CA/PVP 纳米纤维膜和 CA/PVP/ε-PL 纳米纤维膜的 T_g 分别为 132.39 °C 和 136.07 °C, 相比于纯 PVP 有所降低, 这归因于静电纺丝过程中聚合物的迅速固化^[28], 降低了纳米纤维膜的结晶度, 与 XRD 的分析结果一致。除此之外, CA/PVP/ε-PL 纳米纤维膜在 273.65 °C 处有一个明显的吸热峰, 而 CA/PVP 纳米纤维膜除了在 132.39 °C 的玻璃化转变温度外, 没有表现出任何熔融峰, 说明 ε-PL 的添加降低了 CA/PVP/ε-PL 纳米纤维膜的 T_m , 这是由于 ε-PL 的增塑效应减少了链间相互作用, 从而产生更多不完全的晶体结构, 使 CA/PVP/ε-PL 纳米纤维膜在更低温度下熔化^[29]。

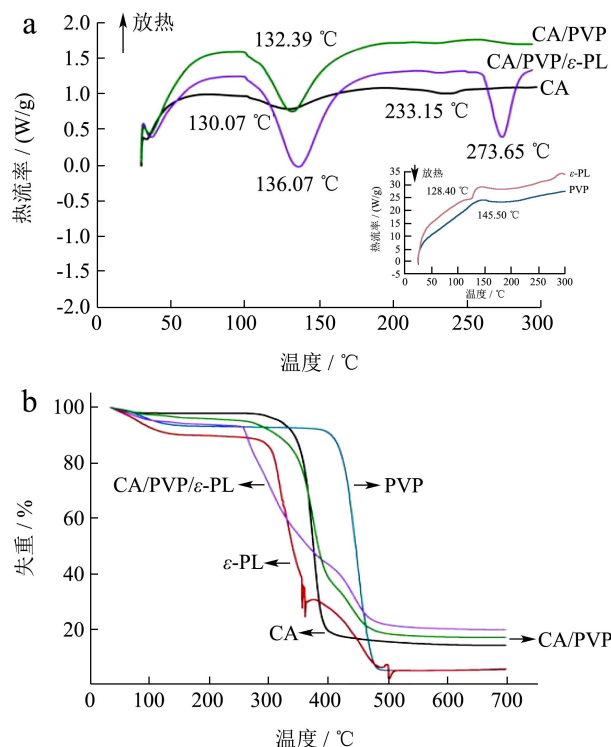


图 7 不同样品的 DSC 曲线 (a) 和 TGA 曲线 (b)

Fig.7 DSC (a) and TGA (b) thermograms of different samples

2.6 TGA 分析

热重分析 (TGA) 可以表征纳米纤维膜的热稳定性。结果如图 7b 所示。所有样品在 70~140 °C 都有一部分质量损失区域, 这主要是由于样品吸附的自由水受热蒸发; CA 和 PVP 粉末的主要失重峰分别在 368.00 °C 和 447.60 °C 附近, 而 CA/PVP 纳米纤维膜的主要失重峰在 381.00 °C, 这主要是因为 CA 与 PVP 分子间形成氢键, 使得复合膜的热分解温度提高, 与 Hou 等^[23]的研究相一致。 ϵ -PL 的主要失重峰在 361.30 °C 附近, 表明 ϵ -PL 具有高的热稳定性。Li 等^[30]的研究也表明 ϵ -PL 经过 120 °C 高温处理 30 min 后仍保持活性。与 CA/PVP 纳米纤维膜一样, 添加了 ϵ -PL 的 CA/PVP 纳米纤维膜的热降解温度升为 441.30 °C, 表明膜的热稳定性升高, 这可能是由于物质间的相互作用以及静电纺丝的包埋作用, Lin 等^[12]在 gelatin/ ϵ -PL 纳米纤维膜中也发现了类似现象。

2.7 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜的抗菌性能分析

2.7.1 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜的抑菌性能

图 8 是含不同浓度的 ϵ -PL 纳米纤维膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈结果。由图 8 可知, 不含 ϵ -PL 的 CA/PVP 空白纤维膜没有观察到抑菌圈, 表明 CA 和 PVP 对两种菌没有抗菌作用; 而负载 ϵ -PL 的 CA/PVP 纤维膜观察到直径约为 1.10~1.60 cm 的抑菌圈, 表明 ϵ -PL 对两种供试菌株均表现出抑制作用。当膜中 ϵ -PL 的质量浓度为 10 g/L 时, 抑菌圈直径较小, 对应的抗菌膜对两种菌均表现出微弱的抑菌性。当 ϵ -PL 的添加量上升到 20 g/L 时, 抑菌圈直径增大, 抑菌效果显著。该定量实验说明 ϵ -PL 可以有效地抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌, 且抑菌效果随其浓度的增大而增强。张伟娜^[31]采用牛津杯法研究得到浓度 ≥ 0.1 g/L 的 ϵ -PL 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌皆有明显的抑菌效果, 且抑菌圈直径 ≥ 0.90 cm, 这与本研究的结论一致。特别地, 本论文对比分析了流延膜和纳米纤维膜的抑菌圈直径/膜质量比 (表 1), 结果可知, 负

载 ϵ -PL 的 CA/PVP 纤维膜的抑菌圈直径/膜质量比为 0.53~0.67 cm/mg, 流延膜的抑菌圈直径/膜质量比为 0.09~0.15 cm/mg, 表明纳米纤维膜的抑菌效果更强。这主要是因为纳米纤维膜具有较高的孔隙率和比表面积, 使得 ϵ -PL 缓释能保持较长时间的抑菌作用。

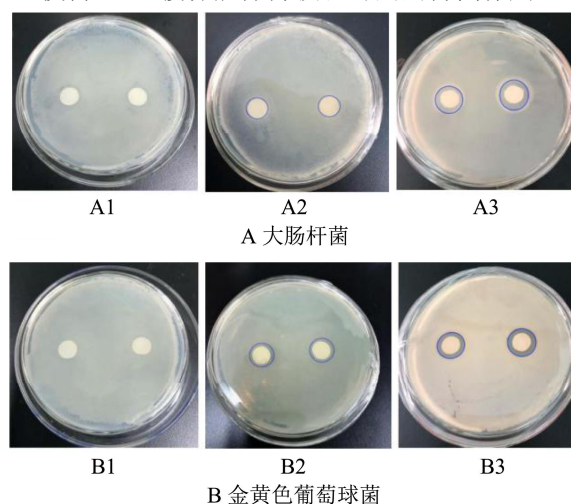


图 8 含不同浓度的 ϵ -PL 纳米纤维膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈图

Fig.8 Inhibition zone of different ϵ -PL-loaded nanofibrous membranes against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*

注: A1~A3 是纳米纤维膜对大肠杆菌抑菌圈图, 其中 ϵ -PL 的质量浓度为 0、10 和 20 g/L; B1~B3 是纳米纤维膜对金黄色葡萄球菌抑菌圈图, 其中 ϵ -PL 的质量浓度为 0、10 和 20 g/L。

进一步借助扫描电镜观察经 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜处理后的菌体形态 (以大肠杆菌为例), 由图 9 可知未作任何处理的大肠杆菌菌体形态饱满, 无内容物溢出; 经抗菌膜处理后, 菌体的形态发生了明显变化, 细胞表面变得不平整, 无饱满感, 且部分细胞内容物外泄并出现黏连现象。这可能是由于 ϵ -PL 是阳离子多肽, 可与带负电荷的脂多糖发生静电相互作用, 导致细胞外膜发生紊乱直至被破坏, 细菌形态崩溃、细胞内容物流出, 最终干扰菌体正常生命活动^[32]。SEM 结果表明所得 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜对大肠杆菌菌体的可能抗菌机理。Li 等^[30]通过测量电导率来确定细菌细胞的细胞泄漏, 结果表明细菌细胞的渗漏可能是 ϵ -PL 与细胞质膜相互作用的结果, 这与本研究的结论类似。

表 1 含不同浓度的 ϵ -PL 膜材料对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌性能

ϵ -PL 质量浓度/(g/L)	流延膜抑菌圈直径/膜质量比(cm/mg)		纳米纤维膜抑菌圈直径/膜质量比(cm/mg)	
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
0 (CK)	0.00	0.00	0.00	0.00
10	0.09±0.01	0.10±0.01	0.53±0.02	0.57±0.03
20	0.15±0.01	0.14±0.01	0.60±0.03	0.67±0.02

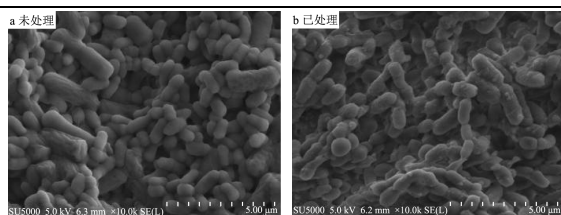


图9 经 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜处理后的大肠杆菌扫描电镜图

Fig.9 Scanning electron microscopy of *Escherichia coli* treated with CA/PVP/ ϵ -PL nanofibrous membrane

2.7.2 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜对生鲜肉的抑菌效果

肉品腐败变质的主要原因是表面细菌的大量滋生。按照 GB 4789.2-2016 规定,当菌落总数高于 1×10^6 CFU/g 时可认为是变质肉。由图 10 可知,生鲜肉最初的菌落总数为 $10^3 \sim 10^4$ CFU/g,表明其为一级新鲜肉。随着时间延长,所有肉样表面菌落总数呈上升趋势。其中,空白组的菌落数上升幅度最快,第 2 d 的菌落总数已超过 10^6 CFU/g,成为变质肉;而 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜包裹的肉样在第 6 d 才超过腐败水平,表明该抗菌膜适用于肉品的保鲜。杨萍萍等人^[33]研究也发现,含有 4% ϵ -PL 的 ϵ -PL/PVA 复合膜包裹的生鲜鸭肉菌落总数到第 8 d 才超过 10^6 CFU/g,相比空白组延长了 4 d,表明复合膜对生鲜鸭肉具有保鲜作用,这与本研究结果相一致。

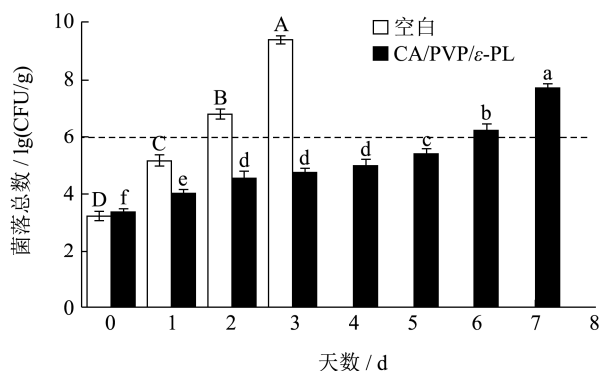


图 10 生鲜肉在贮藏过程中菌落总数的变化

Fig.10 Changes in total bacterial count in pork during storage

注: a~f 为不同时间下 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜处理下的菌落数统计学分析, A~D 为不同时间下空白组的菌落数统计学分析; 同组字母不同, 表示差异显著 ($p < 0.05$)。

3 结论

本论文通过优化纺丝参数成功制备了形貌良好的 CA/PVP/ ϵ -PL 抗菌纳米纤维膜, 当 CA、PVP 与 ϵ -PL 的质量浓度分别为 70、35 和 20 g/L 时纤维膜的形貌良好, 且与 CA/PVP 纤维相比, CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维的平均直径由 240.00 nm 下降至 200.00 nm。FT-IR、

XRD 和 DSC 等手段表征了各组间的相互作用, 实现 ϵ -PL 的成功负载; 热重分析结果表明添加了 ϵ -PL 的纳米纤维膜热降解温度由 381.00 $^{\circ}\text{C}$ 升至 441.30 $^{\circ}\text{C}$, 热稳定性优于单组分的热性能; 抗菌纳米纤维膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都具有较好的抑菌活性, 抑菌圈直径/膜质量比为 0.53~0.67 cm/mg, 抑菌性能随 ϵ -PL 含量的增加而增强, 相比流延膜抑菌效果更佳; 通过扫描电镜可以观察到经纤维膜处理后的菌体形态崩溃, 细胞内容物流出; 经 CA/PVP/ ϵ -PL 纳米纤维膜处理的肉样第 6 d 才超过腐败水平, 相比空白组延长了生鲜肉贮藏期 3 d 以上, 其对生鲜肉有保鲜作用。本研究结果表明 CA/PVP/ ϵ -PL 有望作为一种新型的可食用抗菌包装材料应用于食品工业。

参考文献

- [1] 杨韦杰,肖更生,唐道邦,等.食品生物腐败及新型防腐技术研究进展[J].食品与发酵工业,2011,37(6):141-145
YANG Weijie, XIAO Gengsheng, TANG Daobang, et al. Food biological putrefaction and progression of novel mould proof technique [J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 37(6): 141-145
- [2] Ghaani M, Cozzolino C A, Castelli G, et al. An overview of the intelligent packaging technologies in the food sector [J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 51: 1-11
- [3] Vilela C, Kurek M, Hayouka Z, et al. A concise guide to active agents for active food packaging [J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 80: 212-222
- [4] 柳芬芳,李迎秋. ϵ -聚赖氨酸抗菌特性及应用研究进展[J].中国调味品,2021,46(4):183-186,192
LIU Fenfang, LI Yingqiu. Research progress on the antibacterial properties and application of ϵ -polylysine [J]. China Condiment, 2021, 46(4): 183-186, 192
- [5] 郁杰,谢晶. ϵ -聚赖氨酸和 L-抗坏血酸处理对鲜切菠菜品质的影响[J].食品科学,2019,40(17):277-283
YU Jie, XIE Jing. Effects of ϵ -polylysine and L-ascorbic acid on the quality of fresh-cut spinach [J]. Food Science, 2019, 40(17): 277-283
- [6] 张伟娜,李迎秋. ϵ -聚赖氨酸在食品中应用的进展[J].中国调味品,2012,37(12):5-9
ZHANG Weina, LI Yingqiu. Advance on application of ϵ -poly-L-lysine in food [J]. China Condiment, 2012, 37(12): 5-9
- [7] Zhang L, Li R, Dong F, et al. Physical, mechanical and antimicrobial properties of starch films incorporated with ϵ -poly-L-lysine [J]. Food Chemistry, 2015, 166: 107-114

- [8] Li Y N, Ye Q Q, Hou W F, et al. Development of antibacterial ϵ -polylysine/chitosan hybrid films and the effect on citrus [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118: 2051-2056
- [9] Liu J H, Xiao J, Li F, et al. Chitosan-sodium alginate nanoparticle as a delivery system for ϵ -polylysine: preparation, characterization and antimicrobial activity [J]. Food Control, 2018, 91: 302-310
- [10] Alemán A, Mastrogiacomo I, López-Caballero M E, et al. A novel functional wrapping design by complexation of ϵ -polylysine with liposomes entrapping bioactive peptides [J]. Food and Bioprocess Technology, 2016, 9(7): 1113-1124
- [11] Wen P, Zong M H, Linhardt R J, et al. Electrospinning: a novel nano-encapsulation approach for bioactive compounds [J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 70: 56-68
- [12] Lin L, Gu Y, Cui H. Novel electrospun gelatin-glycerin- ϵ -poly-lysine nanofibers for controlling *Listeria monocytogenes* on beef [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2018, 18: 21-30
- [13] 刘莹,孟凡浩,刘钰娇,等.醋酸纤维素复合膜的改性及应用进展[J].塑料,2020,49(3):127-130,155
LIU Ying, MENG Fanhao, LIU Yujiao, et al. Modification and application progress of cellulose acetate composite membrane [J]. Plastics, 2020, 49(3): 127-130, 155
- [14] 杨青珍,王锋.PVP 对大久保桃贮藏品质和褐变的影响[J].食品科学,2016,37(14):264-269
YANG Qingzhen, WANG Feng. Effect of polyvinyl pyrrolidone on the quality and browning of 'okubo' peach fruits during storage [J]. Food Science, 2016, 37(14): 264-269
- [15] 韩慧芳,崔英德,蔡立彬.聚乙烯吡咯烷酮的应用[J].精细石油化工进展,2003,11:43-48
HAN Huifang, CUI Yingde, CAI Libin. Application of polyvinylpyrrolidone [J]. Advances in Fine Petrochemicals, 2003, 11: 43-48
- [16] Tsekova P B, Spasova M G, Manolova N E, et al. Electrospun curcumin-loaded cellulose acetate/polyvinylpyrrolidone fibrous materials with complex architecture and antibacterial activity [J]. Materials Science and Engineering: C, 2017, 73: 206-214
- [17] 李娟,许雪儿,胡卫成,等.静电纺丝法制备玉米醇溶蛋白基纳米纤维抗菌膜[J].食品与发酵工业,2019,45(10):104-109, 115
LI Juan, XU Xueer, HU Weicheng, et al. Preparation of zein based nanofiber antibacterial films by electrospinning technology [J]. Food and Fermentation Industries, 2019, 45(10): 104-109, 115
- [18] 王西贤,刘展,云付成,等.静电纺醋酸纳米纤维滤膜的制备及性能分析[J].纤维素科学与技术,2020,28(2):18-26
WANG Xixian, LIU Zhan, YUN Fucheng, et al. Preparation and property analysis of electrostatic spinning cellulose acetate nanofiber filter membrane [J]. Journal of Cellulose Science and Technology, 2020, 28(2): 18-26
- [19] Chen C H, Kuo W S, Lai L S. Rheological and physical characterization of film-forming solutions and edible films from tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(8): 2132-2140
- [20] Liu F, Liu Y, Sun Z, et al. Preparation and antibacterial properties of ϵ -polylysine-containing gelatin/chitosan nanofiber films [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 3376-3387
- [21] Ullah A, Saito Y, Ullah S, et al. Bioactive Sambong oil-loaded electrospun cellulose acetate nanofibers: preparation, characterization, and *in-vitro* biocompatibility [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 166: 1009-1021
- [22] Rahma A, Munir M M, Khairurrijal, et al. Intermolecular interactions and the release pattern of electrospun curcumin-polyvinyl (pyrrolidone) fiber [J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2016, 39(2): 163-173
- [23] Hou J, Wang Y, Xue H, et al. Biomimetic growth of hydroxyapatite on electrospun CA/PVP core-shell nanofiber membranes [J]. Polymers, 2018, 10(9): 1032
- [24] Menazea A A, Ahmed M K. Nanosecond laser ablation assisted the enhancement of antibacterial activity of copper oxide nano particles embedded though polyethylene oxide/polyvinyl pyrrolidone blend matrix [J]. Radiation Physics and Chemistry, 2020, 174: 108911
- [25] Koosha M, Mirzadeh H. Electrospinning, mechanical properties, and cell behavior study of chitosan/PVA nanofibers [J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2015, 103(9): 3081-3093
- [26] Li T, Wen C, Dong Y, et al. Effect of ϵ -polylysine addition on κ -carrageenan gel properties: rheology, water mobility, thermal stability and microstructure [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 212-218
- [27] Wang Y, Zhang X, Qiu D, et al. Ultrasonic assisted microwave synthesis of poly (chitosan-co-gelatin)/ polyvinyl pyrrolidone IPN hydrogel [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2018, 40: 714-719

(下转第23页)

