

pH 响应壳聚糖薄膜的制备及抗菌性能

王英泮^{1,2}, 洪大卫¹, 董 硕¹, 刘絮瑶¹, 胡 煌¹, 殷茂力¹

[1. 安徽工程大学 纺织服装学院, 安徽 芜湖 241000; 2. 复旦大学 聚合物分子工程国家重点实验室(复旦大学), 上海 200438]

摘要: 为开发适宜的食品包装用薄膜解决食源性致病菌污染问题, 以 1,3-二氯-5,5-二甲基乙内酰脲 (DCDMH) 和姜黄素为添加剂、壳聚糖为基材、丙三醇为脱泡剂, 采用流延法制备了具有 pH 响应和抗菌性能的壳聚糖基复合薄膜。采用 SEM 和 FTIR 对壳聚糖基复合薄膜进行了表征, 通过力学性能、透光率、水蒸气阻隔性能、含水率、水溶性、pH 响应性、常态和光动力条件下的抗菌性能测试, 考察了 DCDMH 和姜黄素的添加对壳聚糖基复合薄膜的物性参数、pH 响应和抗菌性能的影响。结果表明, DCDMH 和姜黄素可与壳聚糖大分子均匀混合, 并形成了致密的膜结构。由 $m(\text{姜黄素}) : m(\text{DCDMH})=1 : 1$ 和 $3 : 7$ 制备的壳聚糖基复合薄膜 CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 的厚度 (0.071 mm) 在得到一定增加的同时, 断裂应力 (32.00 和 54.46 N) 也得到了进一步的增强, 其中, 姜黄素 0.15 g。CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 均具有明显的 pH 响应性, 随着环境 pH 的提升, CS-Cur- I 的色泽不断变深, 从黄色逐渐转变为红棕色; 壳聚糖基复合薄膜具有优异的常态及光动力抗菌性能, 常规条件下和光动力条件下, CS-Cur- II 均能在 30 min 内杀灭全部的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌。

关键词: 壳聚糖; 姜黄素; 卤胺; pH 响应性; 抗菌性能; 功能材料

中图分类号: TS206.4; TB383.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2025) 05-1037-08

Preparation and antibacterial properties of pH-responsive chitosan films

WANG Yingfeng^{1,2}, HONG Dawei¹, DONG Shuo¹, LIU Xuyao¹, HU Huang¹, YIN Maoli¹

[1. School of Textile and Garment, Anhui Polytechnic University, Wuhu 241000, Anhui, China; 2. State Key Laboratory of Molecular Engineering of Polymers (Fudan University), Fudan University, Shanghai 200438, China]

Abstract: In order to develop suitable food packaging film to solve the problem of foodborne pathogen contamination, chitosan-based composite films with pH responsiveness and antibacterial properties were prepared by casting method using 1,3-dichloro-5,5-dimethylhydantoin (DCDMH) and curcumin as additives, chitosan as substrate, and glycerol as antifoaming agent, and characterized by SEM and FTIR. The effects of addition of DCDMH and curcumin on the physical properties, pH responsiveness and antibacterial performance of chitosan-based composite films were analyzed via measurements on the mechanical properties, light transmittance, water vapor barrier property, moisture content, water solubility, pH response, and antibacterial properties under normal and photodynamic conditions. The results showed that DCDMH, curcumin and chitosan were uniformly mixed, resulting in a tight film structure. The thickness (0.071 mm) of CS-Cur- I and CS-Cur- II composite films prepared at $m(\text{curcumin}) : m(\text{DCDMH})=1 : 1$ and $3 : 7$ with 0.15 g curcumin were increased to a certain extent, and the fracture stress was also increased to 32.00 and 54.46 N, respectively. Both CS-Cur- I and CS-Cur- II showed visible pH-responsive properties. As the environmental pH increased, the color of CS-Cur- I deepened continuously, shifting from yellow to reddish-brown. The chitosan-based composite films showed good antibacterial properties under normal and photodynamic conditions, and 100% of *E. coli* and *S. aureus* were inactivated within 30 min.

Key words: chitosan; curcumin; halamines; pH response; antibacterial properties; functional materials

收稿日期: 2024-03-04; 定用日期: 2024-06-03; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240184

基金项目: 聚合物分子工程国家重点实验室(复旦大学)开放研究课题(K2023-20); 安徽工程大学校级科研项目(Xjky2022073); 国家级大学生创新创业训练计划项目(202310363054)

作者简介: 王英泮(1989—)男, 副教授, E-mail: wangyingfeng@ahpu.edu.cn.

食源性致病菌是影响食品安全的重要因素, 既对食品带来严重安全隐患, 又对医疗卫生等领域具有严重危害性。食物中丰富的营养物质使其更易滋生细菌, 导致腐烂变质, 给食物的运输、存储及保存过程带来巨大挑战^[1-2]。因此, 对食品实际状态实现动态监测具有十分重要的现实意义。

食品在腐败变质过程中会释放氨类等物质, 导致食品表面 pH 的变化。因此, 具有一定的 pH 响应性能的食品用包装薄膜有望实现对食品状态的智能监控。壳聚糖 (CS) 是自然界中第二大类多糖高聚物, 已广泛应用于纺织、废水净化、组织工程学、伤口愈合等领域, 并取得了良好的发展^[3-6]。壳聚糖形成的半透膜具有气体选择透过性和广谱抗菌性能, 被广泛地应用于食品包装领域^[7-8]。然而, 由于自身的化学结构, 壳聚糖的抗菌性能一般较弱, 无法满足食品包装材料实际应用中的抗菌需求。因此, 亟需一种高效的抗菌剂来解决上述问题。根据结构, 抗菌剂可以分为无机、有机和天然抗菌剂三类。其中, 有机抗菌剂具有高效的抗菌性能、广泛的来源和较低的使用成本, 已大量应用于抗菌整理中。卤胺化合物 (N—X, X 通常为 Cl、Br) 作为一种由酰胺、亚酰胺和胺结构卤化得到的聚合物, 其结构中的活性卤素可以引发细菌蛋白质变性, 从而起到破坏细菌细胞膜、杀死细菌的作用^[9-10]。作为一种新型的高效抗菌剂, 卤胺化合物已广泛应用于食品包装领域, 并取得了较好的实际应用效果^[11-13]。基于不同的卤胺结构设计, 可有效控制卤胺化合物性能, 满足不同使用场景。此外, 当卤胺化合物在抗菌过程中消耗殆尽, 可通过简单的次卤酸溶液处理实现抗菌性能的可再生, 达到循环使用的目的。姜黄素 (Curcumin) 是一种多酚类黄色色素, 不但具有很好的指示剂作用, 其光电子性能还使其具有优异的光动力抗菌效果, 可与卤胺化合物形成协同抗菌作用, 提升抗菌效果^[14-17]。

本文拟以壳聚糖为基材、小分子卤胺化合物为协同抗菌剂, 通过流延法来制备壳聚糖基包装用薄膜材料, 将其中加入姜黄素, 构建具有 pH 响应性

的壳聚糖基复合薄膜材料。通过设计和工艺调整, 制备不同比例的卤胺小分子/姜黄素薄膜材料, 考察其机械性能、热性能、通透性能及抗菌性能。以期探究具有协同抗菌性能的薄膜材料在食品包装领域的应用价值, 并为后续智能化指示用食品包装薄膜材料的研发提供思路和参考。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

1,3-二氯-5,5-二甲基乙内酰脲 (DCDMH)、姜黄素, AR, 壳聚糖 (脱乙酰度 $\geq 80\%$), 其余试剂, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 冰醋酸, AR, 国药集团化学试剂有限公司; LB 营养琼脂、LB 肉汤、Typic Soy 营养琼脂、Typic Soy 肉汤, 美国 BD 公司; 金黄色葡萄球菌 (ATCC 538)、大肠杆菌 (ATCC 8739), 上海维塔化学试剂有限公司; 所有试剂使用前未进一步纯化, 直接使用。

Nicolet iS5 型傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR), 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; S-4800 型场发射扫描电子显微镜 (SEM), 日本 Hitachi 公司; Datacolor Spectro 1050 型台式测色配色仪, 德国 Bruker 公司; YG141 型数字式织物厚度仪, 武汉国量仪器有限公司; UV-2550 型紫外-可见分光光度计, 日本 Shimadzu 公司。

1.2 制备方法

在一个烧杯中加入 2.00 g CS 及 100 mL 质量分数为 1% 的醋酸水溶液, 搅拌充分溶解后得到 CS 溶液; 另一个烧杯中加入质量均为 0.15 g 的姜黄素、DCDMH [$m(\text{姜黄素}) : m(\text{DCDMH}) = 1 : 1$] 和 10 mL 体积分数 80% 乙醇水溶液, 搅拌充分溶解后得到姜黄素-DCDMH 溶液; 随后, 将姜黄素-DCDMH 溶液加入到 CS 溶液中继续搅拌溶解, 待溶解完成, 加入 0.64 g 丙三醇至上述混合液中, 继续搅拌 1 h; 然后, 将混合溶液超声 3 min 进行脱泡; 最后, 采用流延法将上述混合液倒入模具 (直径 85 mm, 高 14 mm), 室温干燥 24~30 h 后得到薄膜, 记为 CS-Cur-I (图 1)。

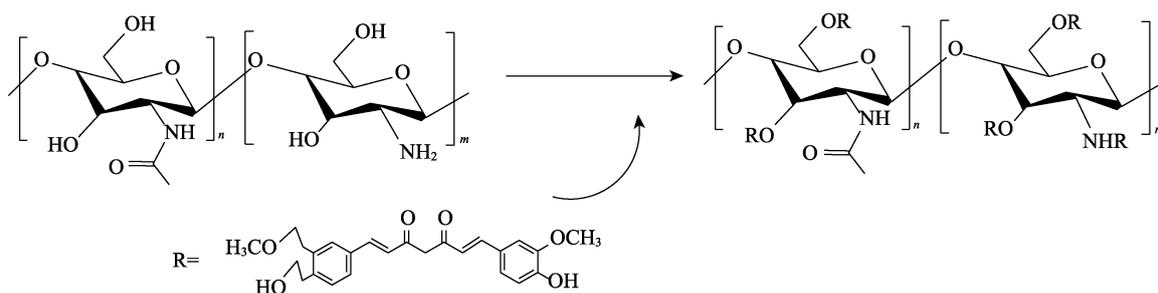


图 1 CS 与姜黄素作用过程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of action process of CS and curcumin

按照上述步骤和方法, 调整姜黄素和 DCDMH 质量分别为 0.15、0.35 g [$m(\text{姜黄素}) : m(\text{DCDMH}) = 3 : 7$], 将所得薄膜记为 CS-Cur- II。将未添加 DCDMH、姜黄素质量为 0.15 g 的薄膜记为 CS-Cur; 将不添加 DCDMH 及姜黄素的薄膜记为 CS 膜; 将不添加 DCDMH、姜黄素及丙三醇的薄膜记为 CS 膜 (未加丙三醇); 上述 3 种样品作为对照样进行后续测试。

1.3 表征方法与性能测试

1.3.1 表征方法

SEM 测试: 加速电压 5 kV。FTIR 测试: 测试前将样品于 30 °C 烘箱中干燥 12 h 备用, 波数范围 4000~500 cm^{-1} 。

1.3.2 pH 响应性的测试

利用台式测色配色仪测试样品的亮度 (L)、红度 (a)、黄度 (b) 值。根据式 (1) 和 (2) 分别计算总色差 (ΔE) 和白色指数 (WI) 评价样品颜色变化:

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L)^2 + (a^* - a)^2 + (b^* - b)^2} \quad (1)$$

$$\text{WI} = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2} \quad (2)$$

式中: L 、 a 和 b 分别为薄膜样品的颜色值; $L^* = 92.64$ 、 $a^* = -0.30$ 、 $b^* = -0.21$, 分别代表标准白板的颜色值。

1.3.3 机械性能测试

依照 GB/T 13022—1991 测试样品的拉伸断裂强度和断裂伸长率 (样品裁剪大小为 6 mm×60 mm, 预加张力 100 cN, 夹持长度 50 mm, 拉伸速率 50 mm/min, 测试次数为 10), 使用数字式织物厚度仪测定膜厚度。

1.3.4 活性氯质量分数的测试

剪取一定质量薄膜材料样品剪碎并加入 20 mL 去离子水中, 随后加入一定量的 KI 和少量淀粉溶液。采用硫代硫酸钠标准溶液进行滴定, 待溶液颜色完全消失, 记录所用的硫代硫酸钠溶液的体积, 并根据式 (3) 计算样品活性氯质量分数:

$$\text{Cl}^+/\% = \frac{c \times (V - V_0) \times 35.45}{m \times 2} \times 100 \quad (3)$$

式中: Cl^+ 为抗菌纤维膜释放在溶液中活性氯的质量分数, %; m 为抗菌纳米纤维膜的质量, g; V 和 V_0 分别为滴定中硫代硫酸钠的最终体积和初始体积, L; c 为硫代硫酸钠的标准液的浓度, 0.0001 mol/L。

1.3.5 姜黄素释放性能的测试

配制姜黄素标准溶液, 并在 425 nm 处测试其吸光度, 制作吸光度 (y)-姜黄素质量浓度 (x , g/L) 标准曲线, 并拟合得到标准曲线方程: $y = 1.61x - 0.0069$, $R^2 = 0.99$ 。

称取 0.05 g 样品若干份, 分别添加 20 mL 无水乙醇, 于恒温培养摇床中, 分别振荡一定时间后于 425 nm 处测试溶液的吸光度, 根据吸光度-姜黄素浓度标准曲线方程计算测定溶液吸光度对应的姜黄素的质量浓度。

1.3.6 水蒸气阻隔性能的测试

将样品紧贴于含无水硅胶颗粒的测试杯杯口, 记录测试杯质量 (m_0 , g)。将测试杯置于 40 °C、相对湿度 100% 环境中, 每隔 4 h 记录测试杯质量 (m_t , g)。根据式 (4) 计算水蒸气渗透率 [WVP, $\text{g}/(\text{m} \cdot \text{s} \cdot \text{Pa})$]:

$$\text{WVP} = (m_t - m_0) \times x / (t \times A \times \Delta p) \times 10^{-3} \quad (4)$$

式中: x 为膜厚度, mm; t 记录测试杯质量的间隔时间, s; A 表示膜样品的渗透面积, m^2 ; Δp 为分蒸汽压差, Pa。

1.3.7 透光、透气性能的测试

透光性能测试: 将试样剪成 3 mm×30 mm 形状, 置于紫外-可见分光光度计中测试, 并在 200~800 nm 范围内扫描薄膜样品。根据式 (5) 计算透光率 (T , %):

$$T/\% = (1 - \text{Abs}_{600/x}) \times 100 \quad (5)$$

式中: Abs_{600} 为样品在 600 nm 处的膜吸光度; x 为膜的厚度, mm。

透气性能测试: 取两片薄膜样品分别密封装有浓盐酸 (HCl) 及浓氨水 (NH_4OH) 的样品瓶瓶口; 将两样品瓶靠近放置于通风橱中观察白色烟雾生成情况, 以实现客观表征薄膜材料透气性能。

1.3.8 含水率的测试

称取一定质量 (m'_0 , g) 的薄膜样品, 于 110 °C 下将其干燥至恒定质量 (m'_t , g)。根据式 (6) 计算薄膜的含水率 (MC, %):

$$\text{MC}/\% = (m'_0 - m'_t) / m'_0 \times 100 \quad (6)$$

1.3.9 水溶性测试

称取一定质量 (m''_0 , g) 样品, 将样品浸入 50 mL 磷酸钠缓冲液 (PBS, pH=7.0) 中, 于 20 °C 下连续搅拌 1 d 后, 将剩余薄膜样品置于 110 °C 下干燥至恒定质量 (m''_t , g) 后, 根据式 (7) 计算薄膜的水溶性 (MS, %):

$$\text{MS}/\% = [m''_0 \times (1 - \text{MC}) - m''_t] / [m''_0 \times (1 - \text{MC})] \times 100 \quad (7)$$

1.3.10 抗菌性能测试

采用大肠杆菌和金黄色葡萄球菌检测试样的抗菌效果, 大肠杆菌的接种含量 1×10^7 CFU/样品, 金黄色葡萄球菌的接种含量 1×10^7 CFU/样品。

常规抗菌性能测试: 按照文献[17-18]方法, 采用“三明治法”进行测试。经测定, CS-Cur- I 活性氯质量分数为 $0.15\% \pm 0.05\%$; CS-Cur- II 活性氯质量

分数为 0.60%±0.05%。

裁取 2.54 cm×2.54 cm 大小薄膜样品，滴加 25 μL 菌液于样品中央，再放置一片相同的样品以“三明治”的形式覆盖其上，压上盖玻片保证样品与菌液充分接触。待一定接触时间后，将上述样品放入 5 mL 浓度 0.01 mol/L 的硫代硫酸钠溶液中淬灭样品残留活性氯，然后使用 PBS (pH=7.0) 对上述溶液进行梯度稀释并滴加至琼脂板表面，于 37 °C 下培养 20~24 h 后计算菌落数。根据式 (8) 和 (9) 计算抗菌率 (%) 和细菌对数减少值：

$$\text{抗菌率}/\%=(N_0-N_1)/N_0 \times 100 \quad (8)$$

$$\text{细菌对数减少值}=\lg N_0-\lg N_1 \quad (9)$$

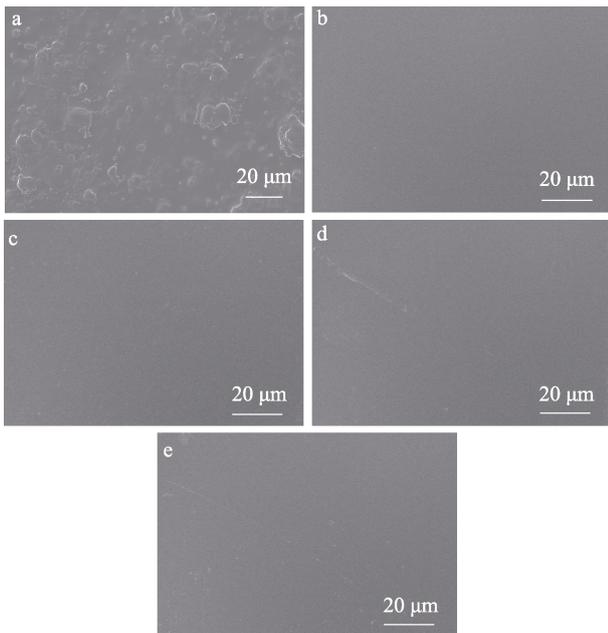
式中： N_1 为样品细菌菌落数； N_0 为空白样细菌菌落数。

光动力抗菌性能测试：将薄膜样品 (1 cm×1 cm) 放入一个 12 孔板中，在膜中心添加 15 μL 细菌悬浮液，并用同样大小 PE 薄膜覆盖样品。随后，将样品置于可见光 [(515±5) nm、功率密度 1.8 mW/cm²] 下 30 和 60 min。待照射结束后，孔中加入 2 mL PBS (pH=7.0)，超声处理 3 min，以释放样品黏附细菌。使用 PBS (pH=7.0) 对上述溶液进行梯度稀释后取 100 μL 滴加至对应琼脂板上。待于 37 °C 下培养 20~24 h 后，根据式 (8) 和 (9) 计算抗菌率和细菌对数减少值。

2 结果与讨论

2.1 样品的表征

图 2 为壳聚糖基复合薄膜的 SEM 图。



a—CS 膜 (无丙三醇)；b—CS 膜；c—CS-Cur；d—CS-Cur-I；e—CS-Cur-II

图 2 壳聚糖基复合薄膜的 SEM 图

Fig. 2 SEM images of chitosan-based composite films

从图 2 可以看出，当壳聚糖溶液未添加丙三醇脱泡形成的铸膜液制备的薄膜表面较为粗糙 (图 2a)；而壳聚糖溶液经加入丙三醇脱泡后，形成的铸膜液制备的薄膜材料表面致密，且具有很好的光泽度 (图 2b)；当加入 m (姜黄素)： m (DCDMH)=1：0、1：1、3：7 的姜黄素和 DCDMH 至壳聚糖溶液经加入丙三醇脱泡后形成铸膜液，其制备的薄膜 (图 2c~e) 在表面形态方面与壳聚糖薄膜并未发生较大变化，仍保持着良好的致密结构。结果表明，姜黄素、DCDMH 和壳聚糖具有良好的相容性。

图 3 为壳聚糖基复合薄膜的 FTIR 谱图。

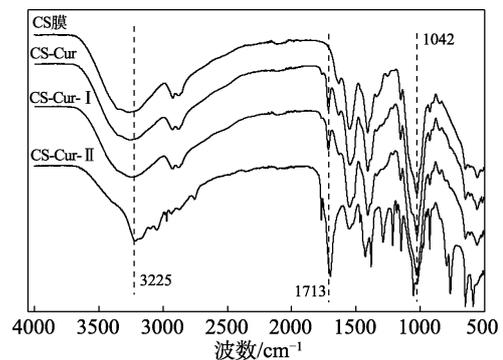


图 3 壳聚糖基复合薄膜的 FTIR 谱图

Fig. 3 FTIR spectra of chitosan-based composite films

从图 3 可以看出，CS 膜、CS-Cur、CS-Cur-I 和 CS-Cur-II 均在 1042、3225 cm⁻¹ 处出现了明显的特征峰。1042 cm⁻¹ 处的吸收峰为壳聚糖结构中的糖苷键 C—O—C 的伸缩振动；3225 cm⁻¹ 处的吸收峰为壳聚糖结构中 N—H 键以及 O—H 键的伸缩振动叠加^[19]。此外，随着姜黄素以及 DCDMH 的加入，CS-Cur、CS-Cur-I 及 CS-Cur-II 均在 1713 cm⁻¹ 处出现了羰基的伸缩振动吸收峰，表明姜黄素及 DCDMH 与壳聚糖的成功复合。

2.2 机械性能分析

图 4 为壳聚糖基复合薄膜的应力-应变曲线和厚度。

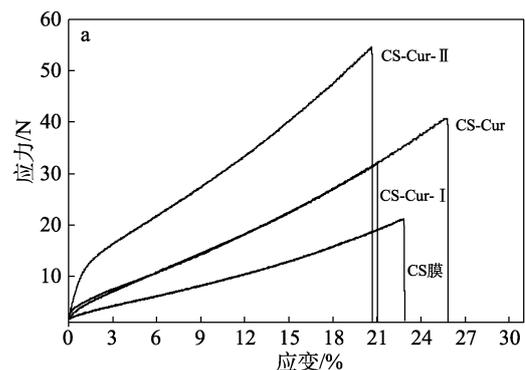


Fig. 2 SEM images of chitosan-based composite films

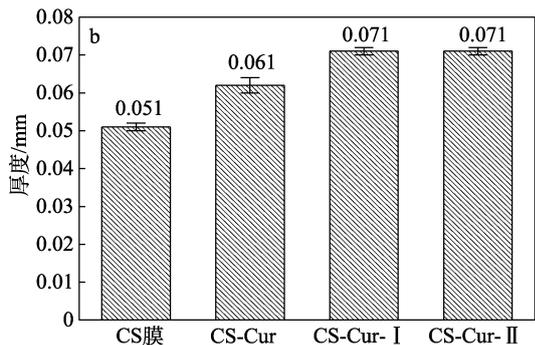


图 4 壳聚糖基复合薄膜的应力-应变曲线(a)和厚度(b)
Fig. 4 Stress-strain curves (a) and thickness (b) of chitosan-based composite films

从图 4 可以看出, CS 膜具有最低的厚度 (0.051 mm) 及断裂应力 (21 N); 当添加姜黄素或添加姜黄素和 DCDMH 后, CS-Cur、CS-Cur-I 和 CS-Cur-II 的厚度在得到一定增加的同时, 断裂应力也得到了增强。这是因为, 在丙三醇存在的情况下, 其结构中大量的羟基与壳聚糖长链、姜黄素及 DCDMH 形成了较强的分子间作用力, 进而提高了材料的断裂应力^[20]。此外, 姜黄素及 DCDMH 的加入使薄膜总质量增加, CS-Cur-I 和 CS-Cur-II 的厚度 (0.071 mm) 在得到一定增加的同时, 断裂应力 (32.00 和 54.46 N) 也得到了增强。

2.3 pH 响应性分析

图 5a 为 CS-Cur-I 的 pH 颜色响应性测试结果。

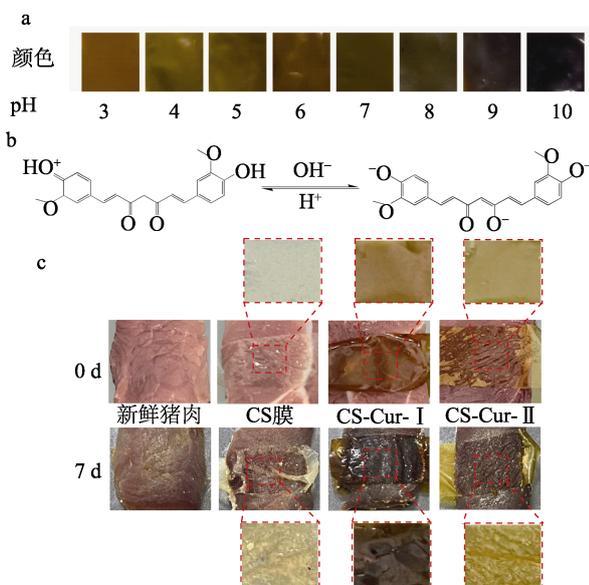


图 5 CS-Cur-I 在不同 pH 条件下的显色图 (a)、显色机理 (b) 及壳聚糖基复合薄膜在猪肉新鲜度检测上的应用 (c)

Fig. 5 Colorful pictures at different pH of CS-Cur-I (a), color development mechanism (b) and application of pork freshness detection by chitosan-based composite films (c)

从图 5a 可以看出, CS-Cur-I 在酸性及中性条件下呈黄色, 在碱性条件下逐渐转变为红棕色。这是因为, 姜黄素分子结构中的羟基在碱性条件下发生电子云偏移, 产生共轭效应, 进而导致了颜色的变化^[21] (图 5b)。

图 5c 为使用猪肉作为研究对象对复合膜的保鲜检测测试结果。从图 5c 可以看出, 复合膜的颜色随着储藏时间的增加显著提升。这是由于猪肉腐败过程中产生的氨、二甲胺等物质导致了 pH 的提升, 从而可通过膜的颜色变化达到对食品新鲜度检测的目的。当 DCDMH 添加量过高时, 由于其与姜黄素之间的相互作用, CS-Cur-II 的显色性能受到了一定的抑制。

表 1 为不同 pH 下 CS-Cur-I 的色泽及白度。

表 1 不同 pH 下 CS-Cur-I 的色泽及白度

Table 1 Color and whiteness of CS-Cur-I at different pH

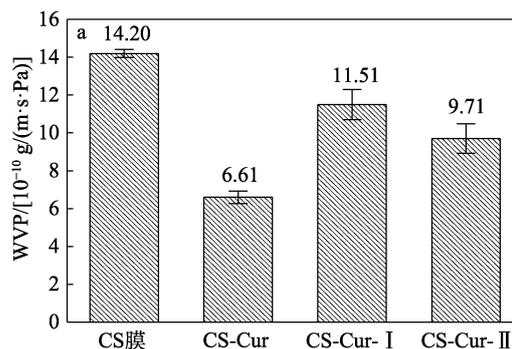
pH	L	a	b	ΔE	WI
3	44.01	17.73	30.23	5.49	33.95
4	41.17	13.82	20.35	4.51	36.23
5	40.81	10.50	19.52	4.42	36.79
6	44.68	15.20	25.08	5.01	37.39
7	38.80	13.38	18.26	4.27	34.75
8	39.31	5.51	12.89	3.59	37.71
9	33.59	5.06	10.59	3.25	32.56
10	29.00	6.88	5.66	2.38	28.44

从表 1 可以看出, 随着环境 pH 的提升, CS-Cur-I 的 L、a、b、 ΔE 以及 WI 均在不断降低, 表明其色泽在不断变深, 证实 CS-Cur-I 具有较好的 pH 响应性和较高的颜色区分度。

2.4 水蒸气阻隔性能及透光性能分析

图 6 为壳聚糖基复合薄膜的水蒸气阻隔性能及透光性能测试结果。

从图 6a 可以看出, 样品的水蒸气透过率在姜黄素的添加后有所降低, 这是由姜黄素与壳聚糖发生了交联, 提高了膜的致密程度造成的。



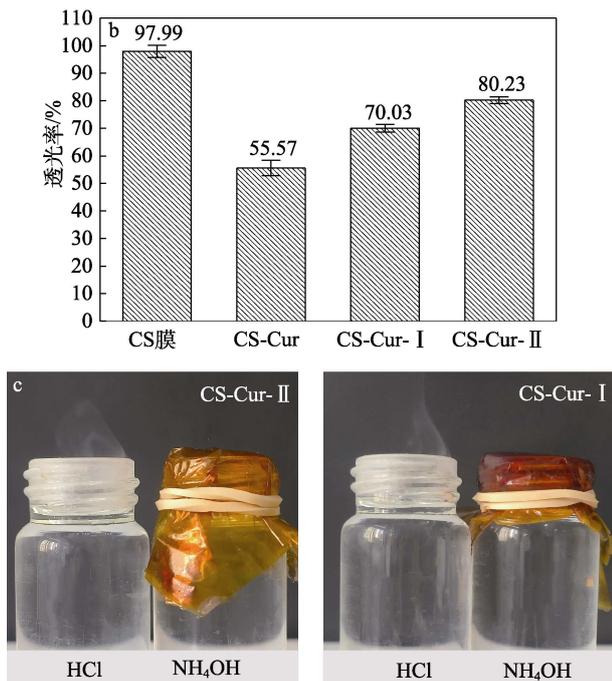


图 6 壳聚糖基复合薄膜的透水气 (a)、透光 (b) 和透气 (c) 性能

Fig. 6 Water vapor permeability (a), light transmittance (b) and air permeability (c) of CS-based composite films

当 DCDMH 添加后, 小分子卤胺对膜的致密性造成了一定的影响, 进而提高了 CS-Cur-I 的水蒸气透过性能; 当 DCDMH 进一步添加后, CS-Cur-II 的整体水蒸气透过性能有所降低, 但与 CS-Cur-I 相差不多。

从图 6b 可以看出, CS 膜的透光性较高, 达到了 97.99%; 当姜黄素加入后, CS-Cur 的透光率显著降低, 为 55.57%, 这是由姜黄素结构中的双酮结构对光的吸收造成的^[22]。随着 DCDMH 的不断加入, CS-Cur-I 和 CS-Cur-II 的透光率不断增高。这是因为, CS 膜的通透性较高, 当姜黄素引入后, 对壳聚糖起到了交联及接枝改性的作用, 提高了膜的致密程度; 而 DCDMH 的加入在一定程度上降低了膜的致密性, 进而导致了 CS-Cur-I 和 CS-Cur-II 通透性的提高。利用浓盐酸及浓氨水反应生成的氯化铵白色烟雾也能直观地表现 CS-Cur-I 和 CS-Cur-II 的透气性能 (图 6c)。

2.5 姜黄素释放性能分析

图 7 为 CS-Cur-I 和 CS-Cur-II 姜黄素释放性能测试结果。

从图 7 可以看出, CS-Cur-I 及 CS-Cur-II 的姜黄素释放量均较低, 释放平衡后其累积释放质量浓度 ≤ 0.10 mg/L。表明薄膜结构中, 姜黄素与壳聚糖大分子和 DCDMH 的氢键结合力较强, 对姜黄素的释放具有很好的控制作用。CS-Cur-II 的累积释放质

量浓度要略低于 CS-Cur-I, 可能是由于 CS-Cur-II 结构中更多的 DCDMH 小分子加强了姜黄素与其分子结构之间的氢键作用。

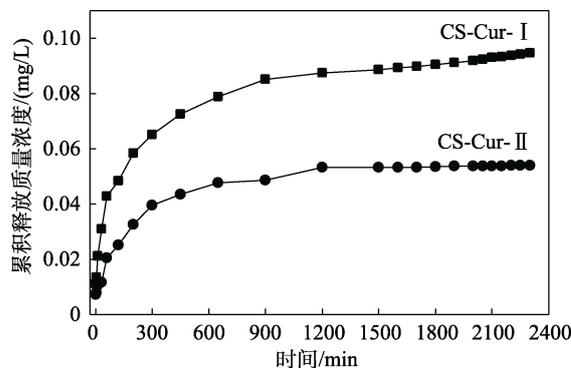


图 7 复合薄膜姜黄素的累积释放曲线

Fig. 7 Accumulative release curves of curcumin from composite films

2.6 含水率及水溶性分析

图 8 为壳聚糖基复合薄膜的含水率及水溶性测试结果。

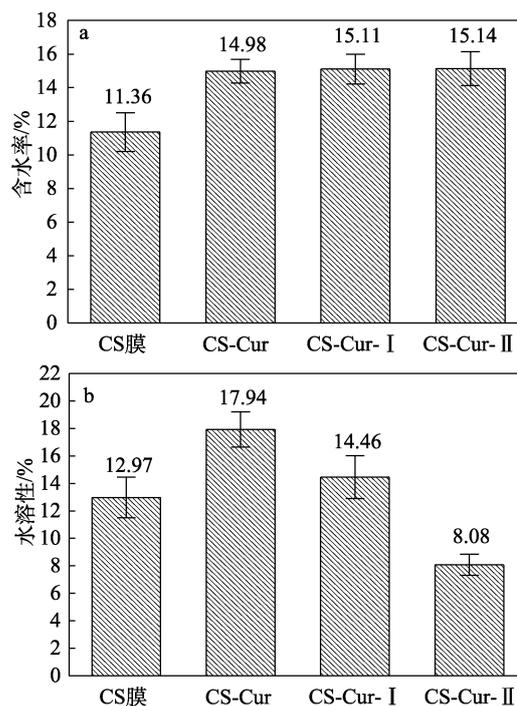


图 8 壳聚糖基复合薄膜的含水率 (a) 和水溶性 (b)
Fig. 8 Moisture content (a) and water solubility (b) of chitosan-based composite films

从图 8 可以看出, 添加姜黄素后, CS-Cur、CS-Cur-I 和 CS-Cur-II 的含水率较 CS 膜有一定的提升 (图 8a)。这是由姜黄素结构中的亲水羟基对水分子的吸附所造成的, DCDMH 的添加对样品的含水率变化作用不大。然而, DCDMH 及姜黄素的添加对样品的水溶性能存在一定的影响 (图 8b)。添加姜黄素后, CS-Cur 水溶性从 CS 膜的 12.97% 提

升至 17.94%。这是因为, 姜黄素扰乱了壳聚糖的有序结构, 破坏了羟基间形成的氢键, 从而降低了壳聚糖大分子链之间的分子间及分子内作用力, 并提高了 CS-Cur 的水溶性^[23]。但随着 DCDMH 的添加, CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 样品的水溶性不断下降, 这是由于 DCDMH 作为一种疏水性添加剂, 其添加量的增加会提高膜材料疏水性; 此外, DCDMH 结构中卤胺化合物的强正电性会与壳聚糖结构中的亲水基团(羟基)形成静电吸附, 进一步减少羟基与水分子接触的机会, 从而造成水溶性降低。综上所述, DCDMH 降低了薄膜材料的亲水性, 并且 DCDMH 添加量越多, 薄膜材料的水溶性下降越明显。

2.7 抗菌性能分析

表 2 为常规条件下壳聚糖基复合薄膜的抗菌性能。

表 2 常规条件下壳聚糖基复合薄膜的抗菌性能

Table 2 Antibacterial property of chitosan-based composite films under normal conditions

薄膜	时间/ min	大肠杆菌		金黄色葡萄球菌	
		抗菌率/ %	细菌对数 减少值	抗菌率/ %	细菌对数 减少值
CS 膜	60	28.64	0.17	35.27	0.18
CS-Cur	60	31.84	0.16	38.87	0.21
CS-Cur- I	5	99.74	2.58	95.07	1.31
	10	99.74	2.58	99.34	2.18
	30	99.74	2.58	99.67	2.48
	60	100	7.00	100	7.00
CS-Cur- II	5	99.48	2.28	99.01	2.01
	10	99.74	2.58	99.67	2.48
	30	100	7.00	100	7.00
	60	100	7.00	100	7.00

从表 2 可以看出, CS 膜及 CS-Cur 在 60 min 的接触时间内存在一定数量的细菌减少, 这主要是由细菌在样品表面的黏附造成的^[24], 表明壳聚糖及姜黄素存在一定的抗菌效果, 但在细菌浓度较高的情况下抗菌性能不佳, 不能达到很好的抗菌效果。当添加 DCDMH 后, CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 分别可在 60 和 30 min 内杀灭全部的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌, 表现出优异的抗菌效果。这是因为, CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 的抗菌性能主要来自于 DCDMH 的卤胺结构, 溶液中的水分子可与 DCDMH 中卤胺结构发生水解反应, 生成次卤酸, 这种活性卤素的释放可起到很好的抗菌效果^[25]。

表 3 为光动力条件下聚糖基复合薄膜的抗菌性能。以 CS-Cur-N 代表 CS-Cur 膜未进行光照并作为对照样。

从表 3 可以看出, CS-Cur-N 在正常情况下抗菌

性能较差, 60 min 内仅能杀灭 36.58% 的大肠杆菌和 41.69% 的金黄色葡萄球菌。而在光动力条件下, CS-Cur 表现出优异的抗菌效果, 可在 30 min 内杀灭全部的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌。这主要是由姜黄素结构在光照情况下释放的单线态氧造成的^[26]。CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 在 30 min 内即可杀灭全部的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌, 其抗菌性能要略优于未光照样品, 这与姜黄素产生的单线态氧以及 DCDMH 中卤胺结构释放的活性卤素有关。DCDMH 的添加可以极大提高薄膜材料常态下的抗菌效果; 而姜黄素的存在不但可以起到 pH 指示的作用, 同样赋予材料在光照条件下优异的抗菌性能。DCDMH 和姜黄素两者在壳聚糖基薄膜材料的抗菌应用中起到了很好的协同、互补效果。

表 3 光动力条件下聚糖基复合薄膜的抗菌性能

Table 3 Antibacterial properties of chitosan-based composite films under photodynamic condition

薄膜	时间/ min	大肠杆菌		金黄色葡萄球菌	
		抗菌率/ %	细菌对数 减少值	抗菌率/ %	细菌对数 减少值
CS-Cur-N	30	30.79	0.16	37.50	0.20
	60	36.58	0.20	41.69	0.23
CS-Cur	30	100	7.00	100	7.00
	60	100	7.00	100	7.00
	60	100	7.00	100	7.00
CS-Cur- I	30	100	7.00	100	7.00
	60	100	7.00	100	7.00
CS-Cur- II	30	100	7.00	100	7.00
	60	100	7.00	100	7.00

3 结论

采用流延法制备了一种壳聚糖基薄膜, 并通过添加 DCDMH 和姜黄素实现了薄膜对 pH 响应及高效的抗菌性能。

(1) DCDMH 和姜黄素的添加对壳聚糖的成膜性未造成影响, 其与壳聚糖大分子之间具有很好的相容性。

(2) CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 的厚度(0.071 mm)在得到一定增加的同时, 断裂应力(32.00 和 54.46 N)也得到了增强。

(3) CS-Cur- I 具有较好的 pH 响应性和较高的颜色区分度, 随着环境 pH 的提升, CS-Cur- I 的色泽在不断变深, 从黄色逐渐转变为红棕色。

(4) DCDMH 的添加对 CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 含水率影响不大, 但降低了其姜黄素释放性能、水蒸气渗透率及水溶性, 膜的透光率得到一定的提高。

(5) CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 表现出优异的常态

抗菌及光动力抗菌效果, 常规条件下, CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 分在 60 和 30 min 内杀灭全部的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌, 而在光动力条件下, 它们均在 30 min 内杀灭全部的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌。

本文制备的 pH 响应性的抗菌 CS-Cur- I 和 CS-Cur- II 在食品卫生、医疗卫生、包装领域具有较为广阔的应用前景。

参考文献:

- [1] DU C H, LI S X, FAN Y N, *et al.* Preparation of gelatin-chitosan bilayer film loaded citral nanoemulsion as pH and enzyme stimulative antibacterial material for food packaging[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 254: 127620.
- [2] WU Y M, MA Y, GAO Y L, *et al.* Poly(lactic acid)-based pH responsive membrane combined with chitosan and alizarin for food packaging[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 214: 348-359.
- [3] BHATT P, JOSHI S, BAYRAM G M U, *et al.* Developments and application of chitosan-based adsorbents for wastewater treatments[J]. Environmental Research, 2023, 226: 115530.
- [4] CHOWDHURY F, AHMED S, RAHMAN M, *et al.* Chronic wound-dressing chitosan-polyphenolic patch for pH responsive local antibacterial activity[J]. Material Today Communications, 2022, 31: 103310.
- [5] MIRHAJI S S, SOLEIMANPOUR M, DERAKHSHANKHAH H, *et al.* Design, optimization and characterization of a novel antibacterial chitosan-based hydrogel dressing for promoting blood coagulation and full-thickness wound healing: A biochemical and biophysical study[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 241: 124529.
- [6] WANG L Q, XU Z H, ZHANG H, *et al.* A review on chitosan-based biomaterial as carrier in tissue engineering and medical applications[J]. European Polymer Journal, 2023, 191: 112059.
- [7] SREELAKSHMI K R, MOHAN C O, REMYA S, *et al.* Intrinsic properties of chitosan on the characteristics of gold nanoparticles and its application as smart packaging device[J]. Food Science and Technology International, 2022, 30(2): 169-181.
- [8] YANG B, YIN S N, BIAN X F, *et al.* Preparation and properties of monomethoxyl polyethylene glycol grafted *O*-carboxymethyl chitosan for edible, fresh-keeping packaging materials[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2022, 33: 100874.
- [9] AN L, PERKINS P, YI R L, *et al.* Development of polylactic acid based antimicrobial food packaging films with *N*-halamine modified microcrystalline cellulose[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 242: 124685.
- [10] WANG Y F, ZHANG W Y, HONG J, *et al.* Removal of bacteria from air and aqueous phase based on *N*-halamine decorated polyacrylonitrile nanofiber membrane[J]. ChemistrySelect, 2023, 8(23): e202300168.
- [11] SHI Y Q, HE Y J, TANG X, *et al.* High-efficacy antimicrobial acyclic *N*-halamine-grafted polyvinyl alcohol film[J]. Polymer Bulletin, 2023, 80(11): 11845-11859.
- [12] WANG X D (王潇栋), KONG Y Z (孔阳芷), ZHANG Y L (张艳玲), *et al.* Mechanism of sterilization technology and its application in food field[J]. China Brewing (中国酿造), 2022, 41(2): 1-8.
- [13] LIU M, WANG F, LIANG M G, *et al.* In situ green synthesis of rechargeable antibacterial *N*-halamine grafted poly(vinyl alcohol) nanofibrous membranes for food packaging applications[J]. Composites Communications, 2020, 17: 147-153.
- [14] LI X X, XIAO H, LIN C W, *et al.* Synergistic effects of liposomes encapsulating atorvastatin calcium and curcumin and targeting dysfunctional endothelial cells in reducing atherosclerosis[J]. International Journal of Nanomedicine, 2019, 14: 649-665.
- [15] GONG C, LI Y J, GAO R C, *et al.* Preservation of sturgeon using a photodynamic non-thermal disinfection technology mediated by curcumin[J]. Food Bioscience, 2020, 36: 100594.
- [16] HE C, ZHANG L, LIU W Z, *et al.* Albumin-based nanoparticles combined with photodynamic therapy enhance the antitumor activity of curcumin derivative C086[J]. Dyes and Pigments, 2021, 189: 109258.
- [17] ZHANG S M, DEMIR B, REN X H, *et al.* Synthesis of antibacterial *N*-halamine acryl acid copolymers and their application onto cotton[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2019, 136(16): 47426.
- [18] YIN M L, LIN X H, REN T, *et al.* Cytocompatible quaternized carboxymethyl chitosan/poly(vinyl alcohol) blend film loaded copper for antibacterial application[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 992-998.
- [19] ZHANG Q L (张群利), LUO H (罗灏), CUI L L (崔琳琳), *et al.* Preparation and performance of fish scale gelatin/chitosan/lavender essential oil antibacterial composite film[J]. Fine Chemicals (精细化工), 2022, 39(11): 2259-2267.
- [20] WANG X C, YONG H M, GAO L, *et al.* Preparation and characterization of antioxidant and pH-sensitive films based on chitosan and black soybean seed coat extract[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 56-66.
- [21] LI H Y, ZHANG X H, ZHAO C R, *et al.* Entrapment of curcumin in soy protein isolate using the pH-driven method: Nanoencapsulation and formation mechanism[J]. LWT, 2022, 153: 112480.
- [22] NGUYEN T D, BUI V C, TRAN B A, *et al.* Research, influence of curcumin-modified graphene oxide on antibacterial properties of polyurethane coating[J]. Journal of Coatings Technology and Research, 2021, 18: 1379-1387.
- [23] ZHANG L Y, DING X W, KHAN I M, *et al.* Preparation and characterization of curcumin/chitosan conjugate as an efficient photodynamic antibacterial agent[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 313: 120852.
- [24] WANG Y F, SHEN Y Z, YANG G, *et al.* *N*-halamine modified poly(amidoxime) nanofibrous antibacterial adsorbents for the extraction of copper ions and dyes from aqueous medium[J]. Journal of Molecular Liquids, 2024, 395: 123860.
- [25] CAO Y H, WANG S, SU Y, *et al.* Rapid and persistent bactericidal cotton fabrics finished facilely with reactive *N*-halamine[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 240: 124495.
- [26] FENG Y, XIAO K C, HE Y Y, *et al.* Tough and biodegradable polyurethane-curcumin composited hydrogel with antioxidant, antibacterial and antitumor properties[J]. Materials Science and Engineering: C, 2021, 121: 111820.