



基于壳聚糖双胍盐的复合薄膜制备及其性能分析

何智敏¹,时均浩¹,杨雅静¹,杨晗宇¹,栾亮²,张权¹

(1. 浙江理工大学材料科学与工程学院,杭州 310018;2. 北部战区总医院检验科,沈阳 110016)

摘要: 为了阻止食品微生物污染和延长食品保质期,以壳聚糖双胍盐(Chitosan biguanidine hydrochloride, CSG)为主体原料,将其与普鲁兰多糖(Pullulan, PLL)和聚乙烯醇(Polyvinyl alcohol, PVA)混合后经溶液浇注法制备复合薄膜。分析制备所得复合薄膜的形貌和结构,探究复合薄膜的水汽屏障性、水稳定性、力学性能、热稳定性、抗菌性能以及生物相容性等性能。结果表明:通过氢键相互作用形成的复合薄膜内部结构均匀且紧密;PLL和PVA的引入不仅增强了复合薄膜的透光率和力学性能,还能提高其水蒸气阻隔性和热稳定性;复合薄膜表现出显著的抗菌效果和良好的生物相容性,对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌的抑菌率可达99.90%。该复合薄膜在阻止微生物污染和延长食品保质期的包装薄膜制备中具有良好的应用前景。

关键词: 壳聚糖双胍盐;普鲁兰多糖;聚乙烯醇;包装薄膜;抗菌

中图分类号: TB324

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2025)03-0185-13

引文格式: 何智敏,时均浩,杨雅静,等. 基于壳聚糖双胍盐的复合薄膜制备及其性能分析[J]. 浙江理工大学学报(自然科学),2025,53(2):185-197.

Reference Format: HE Zhimin, SHI Junhao, YANG Yajing, et al. Preparation and performance analysis of a composite film based on chitosan biguanidine hydrochloride[J]. Journal of Zhejiang Sci-Tech University, 2025, 53(2): 185-197.

Preparation and performance analysis of a composite film based on chitosan biguanidine hydrochloride

HE Zhimin¹, SHI Junhao¹, YANG Yajing¹, YANG Hanyu¹, LUAN Liang², ZHANG Quan¹

(1. School of Materials Science & Engineering, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China; 2. Department of Laboratory Medical Center, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110016, China)

Abstract: To prevent microbial contamination and improve food preservation, a composite film was developed by blending chitosan biguanidine hydrochloride (CSG) with pullulan (PLL) and polyvinyl alcohol (PVA) using the solution casting method. The morphology and structure of the prepared composite film were analyzed, and various properties including water vapor barrier, water stability, mechanical properties, thermal stability, antibacterial efficacy, and biocompatibility were investigated. The results showed that the composite film, formed through hydrogen bonding interactions, possessed a cohesive and dense structure. Furthermore, the incorporation of PLL and PVA not only enhanced transparency and mechanical robustness of the film, but also improved water vapor barrier and thermal stability. The composite film exhibited significant antibacterial activity and excellent biocompatibility, achieving antibacterial rates of 99.90% against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. This composite film shows great potential for packaging applications aimed at safeguarding food products against microbial contamination and extending their shelf-life.

Key words: chitosan biguanidine hydrochloride; pullulan; polyvinyl alcohol; packaging film; antibacterial

收稿日期: 2024-04-17 网络出版日期: 2024-09-13

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LY20B020001)

作者简介: 何智敏(1998—),女,杭州人,硕士研究生,主要从事生物医用材料方面的研究。

通信作者: 张权, E-mail: quanzhang@zstu.edu.cn

0 引言

据统计,每年有超过三分之一的果蔬在食用前就发生了腐烂变质,导致严重的食物浪费和经济损失^[1-2]。果蔬在运输、储存过程中的水分流失和微生物滋生会显著影响果蔬的新鲜度^[3],使得果蔬腐烂变质。目前商业上常采用打蜡^[4]、冷藏^[5]和气调包装^[6]等方式来延长果蔬的储存时间。然而,打蜡的水果表面蜡残留难以除净,会对人体健康产生危害。制冷保鲜和气调包装保鲜方式需要专用设备,能源消耗量大,成本高^[7]。长时间的低温储存不仅会冻伤水果,而且会引起耐寒细菌的繁殖^[8-9]。由于微生物污染是导致果蔬变质的主要原因,因此开发具有抗菌性能的保鲜薄膜成为了食品科技领域的研究热点。

近年来,以天然大分子为主要原料制备保鲜薄膜受到广泛关注^[10-11]。天然大分子具有优异的阻隔性、可生物降解性和抗菌性能,使薄膜不仅能阻隔水分,而且能抑制细菌和霉菌的生长,从而延长果蔬的保质期^[12-13]。壳聚糖(Chitosan, CS)是一种低毒性的天然阳离子多糖,其分子链上的氨基在酸性条件下质子化后具有强抗菌活性,因此在食品包装工业中CS作为原料制备薄膜具有潜在的应用价值^[14]。然而,CS的水溶性较差,薄膜制备过程中需要将其在酸性条件下溶解^[15-16],导致薄膜中酸残留并产生异味,影响果蔬口感。为了提高CS的水溶性,科研人员开发了几种CS改性技术,如季铵化^[16]、羧甲基化^[17]和胍基化^[18]。在这些改性方法中,胍基化改性因合成方法简单,而且可以增加CS的正电荷数量,有助于提高抗菌性,因而受到关注^[19]。研究表明,壳聚糖双胍盐(Chitosan biguanidine hydrochloride, CSG)作为一种功能性阳离子聚合物,可用于制造薄膜和涂层等抗菌保鲜材料^[20-21]。

聚乙烯醇(Polyvinyl alcohol, PVA)是一种低细胞毒性的水溶性聚合物,具有优异的成膜性能和力学性能,在生物医学和食品包装等领域应用广泛^[22]。然而,PVA具有线性的碳主链结构,在土壤中的生物降解率有限^[23]。研究表明,PVA与可生物降解聚合物共混能够增加聚合物/PVA复合材料表面的吸水能力,提高复合材料水溶性,促进微生物附着生长,从而显著加快材料的降解^[24]。因此,将PVA与CSG复合有望制得兼具优异力学强度和可生物降解的复合薄膜^[25]。另外,普鲁兰多糖(Pullulan, PLL)也是一种常用于制备薄膜的多糖原料,基于PLL的薄膜透明度高^[26]。但是,PLL具

有亲水性,易溶胀,导致制备的薄膜机械强度低^[27]。因此,将PLL引入复合薄膜中能提高透明度。此外,PVA和PLL富含羟基基团,将PVA、PLL和CSG复合通过氢键相互作用形成致密的结构^[23],有望制得兼具优异力学性能和高透明度的可生物降解复合薄膜。

本文将CSG分别与PVA和PLL复合,通过溶液浇注法制备双组分(PVA/CSG和PLL/CSG)与三组分(PLL/PVA/CSG)复合薄膜。通过复合薄膜的透光率、水汽屏障性能、微观结构和力学性能等理化性质的评价,探究优异性能的复合薄膜组合配比。通过抗菌和生物相容性实验的评价,优选制备具有良好抗菌性能的复合薄膜组分。本文提出的复合薄膜制备方法简单,在食品包装领域中实现抗菌保鲜功效具有潜在应用价值。

1 实验部分

1.1 实验材料

普鲁兰多糖(PLL,山东康纳馨生物科技有限公司);聚乙二醇(PVA,1788型,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);壳聚糖(CS,黏度100~200 mPa·s,上海麦克林生化科技股份有限公司);二氰二胺、甘油(上海泰坦科技股份有限公司);2,3-环氧丙基三甲基氯化铵(上海阿达玛斯试剂有限公司);海藻酸钠(ALG,1%黏度1000~1200 mPa·s,上海麦克林生化科技股份有限公司);盐酸(12 mol/L,浙江理工大学危化品库);无水乙酸(99.50%,上海麦克林生化科技股份有限公司);无水乙醇(99%,杭州米克化工仪器有限公司);氘代水、氘代盐酸(中国阿达玛斯试剂有限公司);超纯水(由上海市富诗特仪器设备有限公司的超纯水净化仪制备而得)。所有试剂均为分析纯。

菌株:金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)来源于ATCC库25923菌株,大肠埃希菌(*E. coli*)来源于ATCC库25922菌株。

1.2 实验方法

1.2.1 CSG与QCS的合成

取2 g CS溶于200 mL体积分数为1%的盐酸溶液中,60℃下搅拌4 h。随后将100 mL二氰二胺溶液(质量浓度为0.05 g/mL)在60℃下滴加到CS溶液中。滴加完成后将反应温度提高至95℃,反应4 h后冷却至25℃。用过量的冰无水乙醇沉淀产物并通过离心收集,随后用超纯水溶解收集的沉淀,透析3 d以去除未反应的物质。最后冷冻干燥得到

壳聚糖双胍盐(CSG)。

将 2 g CS 溶解于 100 mL 体积分数 0.50% 的乙酸溶液中,在 55 °C 下搅拌 30 min。准备 5 mL 2,3-环氧丙基三甲基氯化铵溶液(质量浓度为 1.13 g/mL)并滴加到 CS 溶液中。反应体系在 55 °C 下搅拌 24 h 后冷却至室温。通过离心分离沉淀和上清,取上清液透析 3 d 以去除杂质。最后通过冷冻干燥得到季铵化壳聚糖(QCS)。

1.2.2 复合薄膜的制备

参照文献[20],采用溶液浇注法制备薄膜,具体方法如下:先在 1 mL 的 ALG 溶液(质量浓度为 20 mg/mL)中加入占总聚合物质量 40% 的甘油,搅拌 1 h。随后滴加入等体积等浓度的 CSG 溶液,混

合物继续搅拌 2 h,得到 ALG/CSG 成膜液。将成膜液浇注于模具中,在 40 °C 下鼓风干燥 12 h。采用相同的步骤制备 PLL/CSG 和 PVA/CSG 薄膜。

PLL/PVA/CSG 复合薄膜的制备流程及作用机理示意图见图 1,具体方法如下:先分别准备质量浓度为 20 mg/mL 的 PLL、PVA、CSG 和 QCS 溶液各 1 mL,接着将 0.50 mL PLL 溶液与 0.50 mL PVA 溶液混合均匀并加入占聚合物总质量 40% 的甘油作为增塑剂,搅拌 1 h 后向混合物中滴加 1 mL CSG 溶液,继续搅拌 2 h。随后将混合液浇注到模具中,在 40 °C 下鼓风干燥 12 h 得到 PLL/PVA/CSG 复合薄膜。PLL/PVA/QCS 复合薄膜采用同样的方法制备。

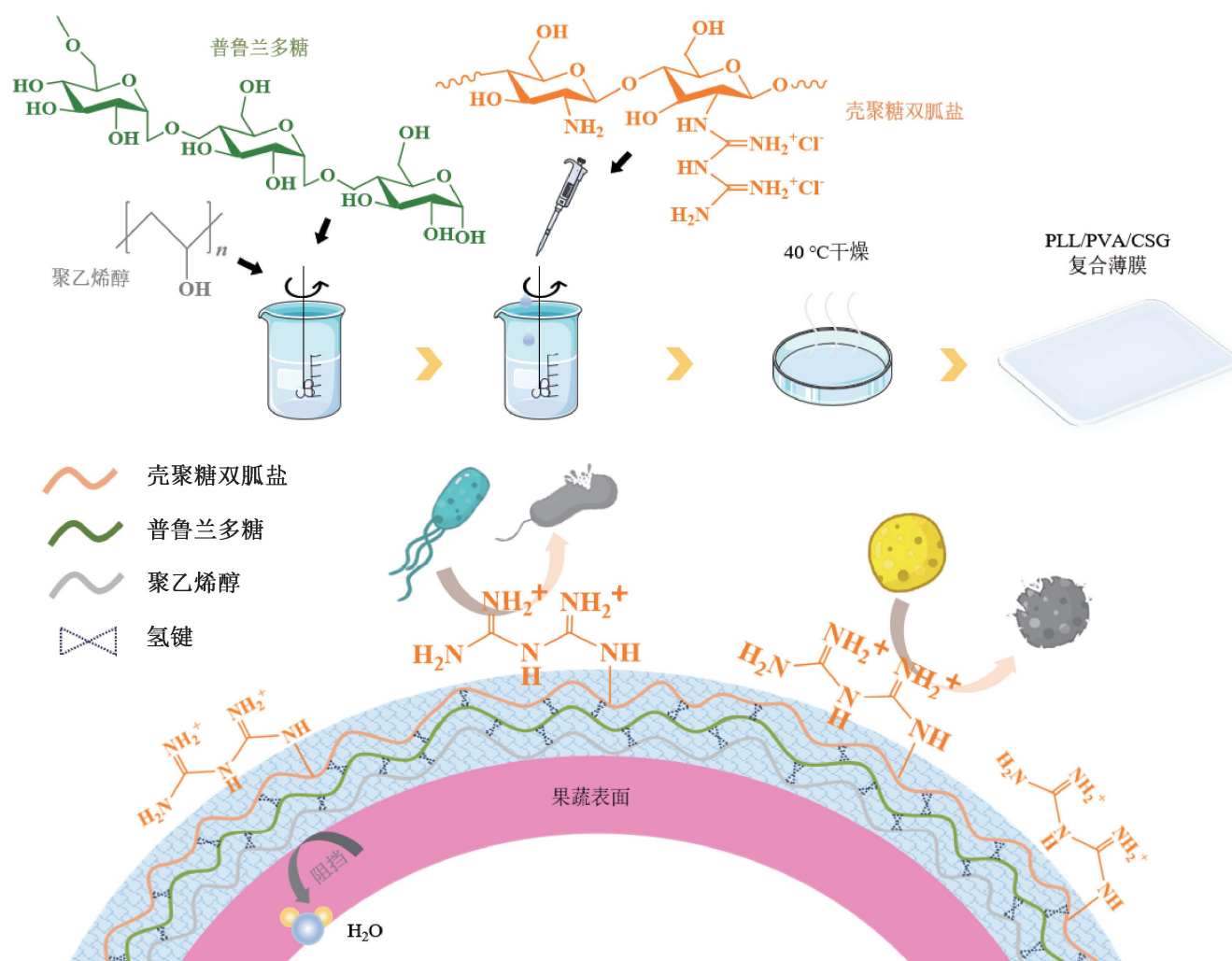


图 1 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的制备流程及作用机理示意图

1.3 测试与表征

1.3.1 化学结构表征

以氘代水为溶剂分别溶解 CSG 和 QCS,以 1% 的氘代盐酸为溶剂溶解 CS,使用核磁共振波谱仪对 CS、CSG 和 QCS 进行核磁共振氢谱(¹H Nuclear magnetic resonance spectra, ¹H NMR)测试。

1.3.2 光学性能测试

采用紫外分光光度计(UV-Vis, MAPADA P7,

中国上海美谱达仪器有限公司)对薄膜的透光率进行分析,波长范围为 200~800 nm,以空气作为基准,获得了 ALG/CSG、PLL/CSG、PVA/CSG 和 PLL/PVA/CSG 薄膜的透过率曲线。通过式(1)计算薄膜的透明度 T :

$$T/\% = \frac{T_{600}}{d} \times 100 \quad (1)$$

其中: T_{600} 为 600 nm 处的透光率,%; d 为薄膜厚

度,mm。

1.3.3 水汽屏障测试

采用干燥剂增重法测试 ALG/CSG、PLL/CSG、PVA/CSG 和 PLL/PVA/CSG 薄膜的水汽渗透性^[28]。具体利用内径为 12 mm、暴露面积为 113.04 mm² 的离心管进行实验。称取 1 g 完全干燥的无水氯化钙置于管内,用薄膜样品封住瓶口,使水分只能通过薄膜进入管内。记录薄膜与管的初始质量,并将其置于含有饱和 NaCl 水溶液的干燥器中,控制温度在 25 ℃。在此条件下,管内的相对湿度接近 0%,管外由 NaCl 饱和溶液提供 75% 的相对湿度。每隔 2 h 测量并记录瓶重的变化,直至增重质量超过无水氯化钙初始质量的 1% 停止实验。由水渗透性反面表征水汽屏障性,根据式(2)计算水汽渗透率 m :

$$m = \frac{w \times d}{A \times t \times p \times (R_1 - R_2)} \quad (2)$$

其中: m 为在一定温度和压力下水蒸气在单位时间内透过单位面积薄膜的质量,代表了薄膜的水汽渗透率,g/(m·h·kPa); w 为增加的质量,g; d 为薄膜厚度,m; t 为经过的时间,h; A 为薄膜的水汽透过面积,m²; p 为水的饱和蒸汽压(25 ℃时为 3.17 kPa); R_1 为管外的相对湿度,%; R_2 为管内的相对湿度,%。

1.3.4 力学性能测试

采用万能试验机(UTM,MOXIN MX-0350,中国江苏摩信工业系统有限公司)对 ALG/CSG、PLL/CSG、PVA/CSG 与 PLL/PVA/CSG 薄膜的力学性能进行测试,拉伸速率设置为 2 mm/min。

1.3.5 形貌观测

采用场发射扫描电子显微镜(SEM,GeminiSEM 500,德国 Carl Zeiss 公司)观察相同体积制备的 PLL/CSG、PVA/CSG 和 PLL/PVA/CSG 薄膜的微观形貌和内部结构。将干燥后的薄膜样品进行喷金处理(1 min)后在 3 kV 的工作电压下进行形貌观测。

1.3.6 薄膜溶胀率和溶解率测试

根据文献[29]描述的方法,测定 PLL/CSG、PVA/CSG 和 PLL/PVA/CSG 薄膜的溶胀率和溶解率。准备直径 16 mm 的各类薄膜样品并称重,此初始质量记为 M_0 。在 60 ℃(二次干燥)烘箱中干燥 1 d 后,称得无水干膜的质量记为 M_1 。再将薄膜浸入蒸馏水中,25 ℃下放置 1 d。取出膜,用滤纸擦拭表面水,记录薄膜质量,记为 M_2 。最后在 60 ℃

下重新烘干薄膜并称重,得到最终薄膜的质量记为 M_3 。采用式(3)~(4)对薄膜的溶胀率(r_{DS})和溶解率(r_{WS})进行计算:

$$r_{DS}/\% = \frac{M_2 - M_1}{M_1} \times 100 \quad (3)$$

$$r_{WS}/\% = \frac{M_1 - M_3}{M_1} \times 100 \quad (4)$$

其中: M_1 为无水的纯薄膜质量,g; M_2 为溶胀平衡后薄膜质量,g; M_3 为薄膜浸泡在水中 1 d 后烘干的质量,g。

1.3.7 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的热稳定性测试

用热分析仪(DSC,HENVEN HCT-1,中国北京恒久实验设备有限公司)测定薄膜的热稳定性。将样品置于氮气气氛中,以 10 ℃/min 的加热速率从 30 ℃加热到 700 ℃。

1.3.8 结构分析测试

采用傅里叶红外光谱仪(FT-IR,Nicolte iS50,美国 Thermo Electron Scientific)对 CSG、PLL、PVA 与 PLL/PVA/CSG 复合薄膜进行结构分析,波长范围设置为 4000~500 cm⁻¹,每次测试前均进行背景采集及基线校正。

1.3.9 PLL/PVA/CSG 复合薄膜 X 射线衍射测试

采用 X 射线粉末衍射仪(XRD,A8 Advance,美国 Bruker AXS GMBH)对 CSG、PLL、PVA 与 PLL/PVA/CSG 复合薄膜进行结构分析及晶体结构分析。衍射角 2θ 范围为 5°~90°,扫描速度 0.20 步/s。

1.3.10 PLL/PVA/CSG 复合薄膜抗菌性能测试

抗菌性能评价依照《中华人民共和国卫生行业标准》(WS/T 650—2019)标准,采用涂板计数的方法评价 PLL/PVA/CSG 复合薄膜对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的接触抗菌效果。将薄膜制备在 48 孔板中,每孔加入 0.40 mL 细菌浓度为 1×10^6 个/mL 的菌液,孵育 24、48 h 后分别稀释 10^5 和 10^6 倍进行平板涂布。同时将细菌与磷酸盐缓冲液(Phosphate buffer saline, PBS)共培养设置为空白对照组。最终使用图像处理软件(ImageJ)进行单菌落计数,并计算抗菌率。

1.3.11 PLL/PVA/CSG 复合薄膜生物相容性测试

采用 MTT 比色法评价复合薄膜的生物相容性的活性。将复合膜以 10 mg/mL 的质量浓度浸泡在高糖培养基中,24 h 后取出上清。以小鼠成纤维细胞(NCTC clone 929, L929)为细胞模型进行薄膜的生物相容性评价。将生长状态良好的细胞以 1.20×10^4 个/孔的密度接种于 96 孔板中,细胞贴壁

后将不同薄膜的浸提液与 L929 分别共培养 24、48 h 和 72 h 后,使用 MTT 比色法评估细胞的活性。

2 结果与讨论

2.1 CSG 的化学结构分析

图 2 为 CS、CSG 和 QCS 的¹H NMR 图谱。图 2 中 a 处的特征峰对应 CS 的 N-乙酰基甲基质子的化学位移^[30]。相比于 CS 图谱,CSG 的谱图在 b 处的峰信号降低,表明壳聚糖双胍的成功合成^[31]。此外,QCS 的谱图在 c 处显示出一个独特的单峰证明季铵盐已成功接枝到 CS 骨架上^[9]。

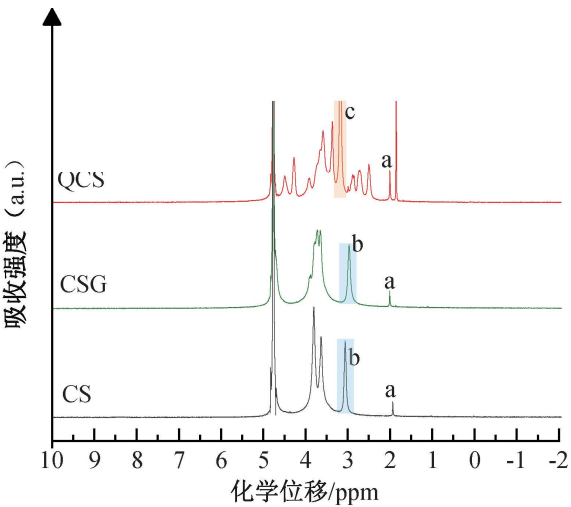


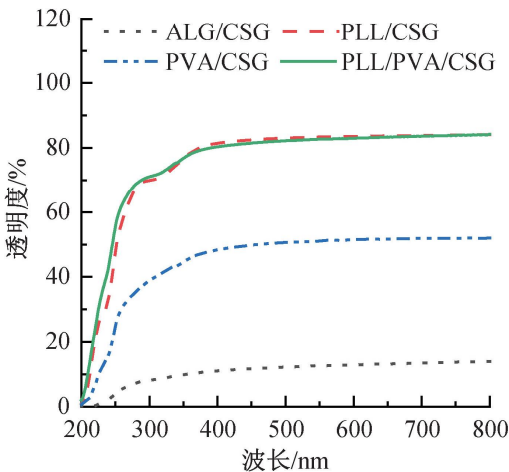
图 2 CS、CSG 和 QCS 的¹H NMR 谱图

2.2 CSG 基薄膜的光学性能分析

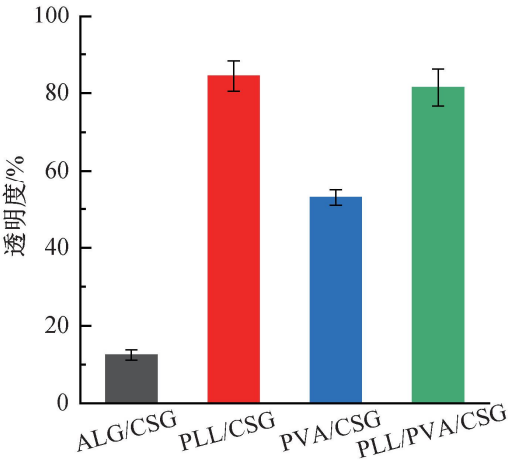
海藻酸钠(ALG)是一种天然的阴离子多糖。利用 ALG 的负电性,已有研究将其与 CSG 通过静电相互作用复合制备薄膜^[32]。以 ALG/CSG 复合薄膜作为对照,与 PLL/CSG、PVA/CSG 和 PLL/PVA/CSG 复合薄膜进行性能比较。图 3(a)展示了不同 CSG 基薄膜覆盖在校徽上的遮挡效果。根据光学图像结果可知,4 种复合薄膜中 ALG/CSG 的透明度最低,而含有 PLL 的薄膜透明度最高。图 3 (b)和图 3(c)分别为 CSG 基薄膜在 200~800 nm 波长范围内的光谱扫描曲线和 600 nm 波长下的透光率。紫外-可见光谱图进一步证明了上述结果,与文献[26]报道的 PLL 具有高透明度一致。此外,PLL/PVA/CSG 薄膜在 200~400 nm 的紫外线波长范围内透光率有所下降,这是由于薄膜的主要成分为天然多糖。研究表明许多天然多糖薄膜(如甲氧基果胶、壳聚糖、海藻酸钠、普鲁兰和卡拉胶等)对紫外线的透过率均低于 65%^[33]。紫外线辐射会加速果蔬光氧化,损害光敏物质(如色素和维生素),因此降低此波段的透光率有利于果蔬的保存。以上光学测试结果表明,PLL/PVA/CSG 复合薄膜不仅能阻挡部分紫外线保护果蔬,同时具有良好的透明度,便于消费者更好地观察包装内的果蔬。



(a) 不同CSG基薄膜透明度的光学照片



(b) 不同CSG基薄膜的透射率曲线



(c) 不同CSG基薄膜的透明度统计

图 3 不同 CSG 基薄膜的光学性能

2.3 CSG 基薄膜的水汽屏障性分析

图 4 为不同薄膜的水汽渗透结果。由图 4 可

知,不同 CSG 基薄膜的水汽渗透率分别为 ALG/CSG (1.59×10^{-3} g/(m·h·kPa)), PLL/CSG

($6.15 \times 10^{-4} \text{ g}/(\text{m} \cdot \text{h} \cdot \text{kPa})$), PVA/CSG ($4.34 \times 10^{-4} \text{ g}/(\text{m} \cdot \text{h} \cdot \text{kPa})$) 和 PLL/PVA/CSG ($7.47 \times 10^{-4} \text{ g}/(\text{m} \cdot \text{h} \cdot \text{kPa})$)。4 种复合薄膜中, ALG/CSG 的水汽渗透率最高, 这是由于 CSG 与 ALG 之间的静电相互作用弱, 导致薄膜微观相分离, 从而水汽渗透率值增加^[34]。相比之下, PVA/CSG 薄膜具有更低的水蒸气渗透率, 这是由于 PVA 与 CSG 复合紧密, 阻碍水分子在薄膜内部运动。当 PLL、PVA 和 CSG 复合制成薄膜后水汽渗透率值上升, 这可能是由于 PLL 的引入, 羟基含量增加, 提高了薄膜的亲水性, 导致薄膜水汽渗透性提升^[35-36]。总体来说, PLL/PVA/CSG 复合薄膜具较高的水汽屏障性能, 有助于减缓果蔬水分流失, 从而延长保质期。

2.4 CSG 基薄膜的力学性能分析

图 5(a)一(c)分别为薄膜的平均应力-应变曲线、弹性模量、拉伸强度和断裂伸长率结果。由应力-应变曲线可知, 4 种复合薄膜的抗拉强度相近, 但 ALG/CSG 断裂伸长率最低。由图 5(b)可得 ALG/CSG 薄膜弹性模量最大, 其余 3 种复合薄膜

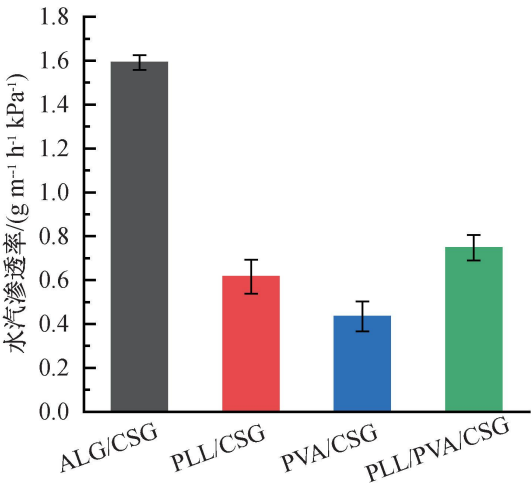
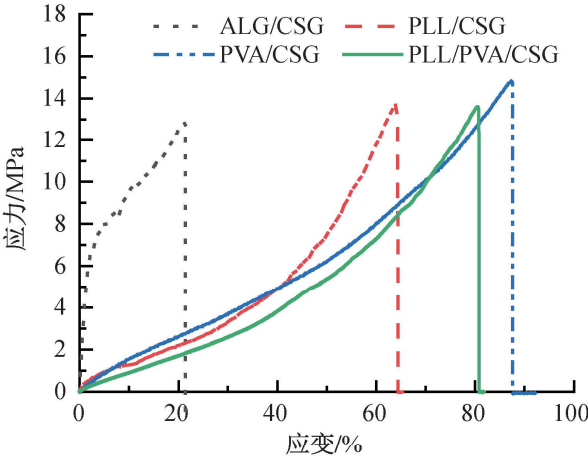
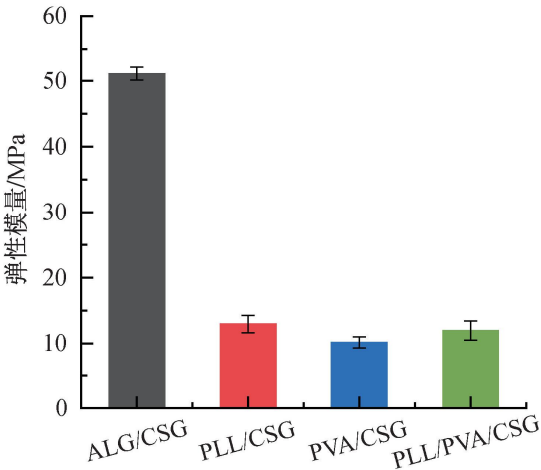


图 4 不同 CSG 基薄膜的水汽渗透率

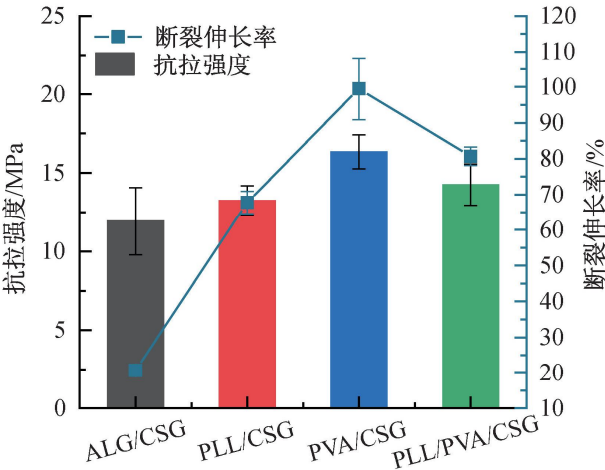
弹性模量大小相近且远小于 ALG/CSG 薄膜, 表明静电相互作用制得的薄膜脆性大, 延展性差, 在受到外力时更易破裂。图 5(c)结果显示含有 PVA 的薄膜, 抗拉强度和断裂伸长率均高于 PLL/CSG 薄膜。表明 PVA 的引入对薄膜的力学性能具有积极影响, 不仅增强了薄膜的机械强度, 还提升了柔韧性, 使薄膜承受应力时不易破裂。



(a) 不同薄膜的拉伸应力-应变曲线



(b) 不同薄膜的弹性模量



(c) 不同薄膜的抗拉强度及断裂伸长率

图 5 不同 CSG 基薄膜的力学性能

弯折实验的结果(见图 6)进一步证明了薄膜的柔韧性。如图 6 所示,将薄膜对折两次后展开,观察薄膜表面形貌。4 种复合薄膜中,ALG/CSG 薄膜在折叠后产生了明显的裂纹,PLL/CSG 薄膜具有

明显折痕。相比之下,PLL/PVA/CSG 薄膜没有出现破裂,并且折痕最轻。综上所述,PLL/PVA/CSG 复合薄膜具有良好的机械性能,保证了其在用作包装时的牢固性。

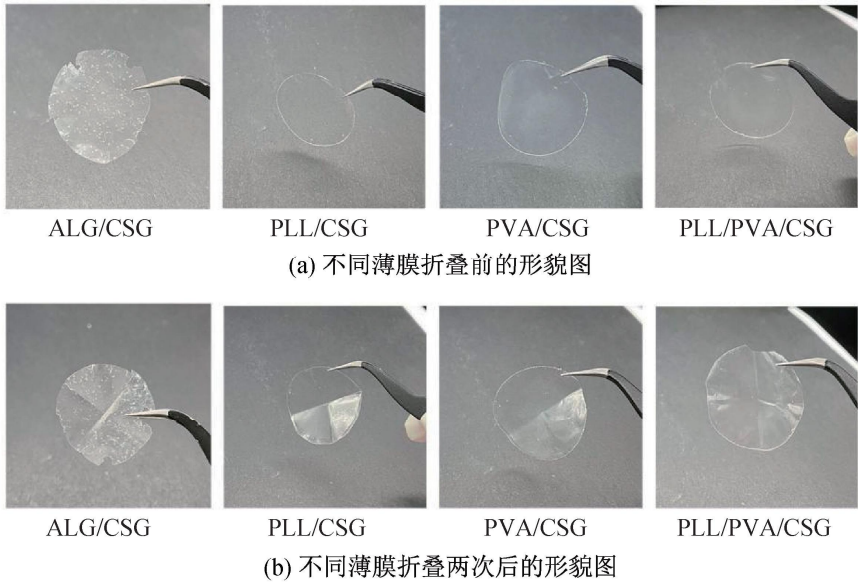


图 6 不同 CSG 基薄膜折痕实验光学照片

2.5 CSG 基薄膜的微观形貌和内部结构分析

基于之前的测试结果,ALG/PLL 薄膜各项性能都表现不佳,无法作为果蔬保鲜薄膜的优选材料,本文选择复合薄膜 PLL/CSG、PVA/CSG 和 PLL/PVA/CSG 进行进一步的测试评价。通过扫描电镜 (SEM) 观察了这 3 种薄膜的表面微观形貌和截面内部结构。如图 7(a) 所示,PLL/CSG 薄膜表面光滑,PVA/CSG 薄膜表面粗糙,PLL/PVA/CSG 薄膜表面粗糙度介于 PLL/CSG 与 PVA/CSG 之间。图 7(b) 的截面形貌显示:PLL/CSG 薄膜内部存在许多细小的裂纹,这些裂纹可能是由于 PLL 本身的脆性特性所导致;PVA/CSG 薄膜内部呈现出孔洞结构;PLL/PVA/CSG 薄膜内部结构均匀致密,无明显裂纹。这说明三组分 PLL/PVA/CSG 复合薄膜有效结合 PLL 与 PVA 的优点,削弱其缺点。SEM 结果显示 PLL/PVS/CSG 复合薄膜表面均匀平整,内部结构致密,无明显孔隙和裂纹,表明各聚合物之间共混均匀,相互作用紧密。

2.6 CSG 基薄膜的溶胀率和溶解率分析

为了探究薄膜在水环境下的稳定性,将薄膜浸泡于水中,对其吸水溶胀率和水溶解率进行了分析,结果如表 1 所示。由结果可知:PLL/CSG 薄膜的溶胀率最高,约为 1806.90%;PVA/CSG 薄膜溶胀率相比于 PLL/CSG 薄膜显著降低,约为 849.00%;PLL/PVA/CSG 复合膜溶胀程度最低,约为 777%,这归因于 PVA 的引入。高溶胀率导致薄膜遇水形

变严重,薄膜形态发生改变甚至破裂。溶解率结果显示 PLL/CSG 和 PVA/CSG 薄膜水溶解率相似,且都高于 PLL/PVA/CSG 薄膜。薄膜在水中的溶解率体现了薄膜的耐水性,薄膜溶解率越高表明遇水后膜结构坍塌越严重。Mathew 等^[37]在研究中发现,膜的溶胀率和溶解率与氢键的变化、氨基或羧基的电离以及膜结构有关。在本文中,薄膜所用材料皆为亲水性聚合物,具有良好的水溶性。但是由于复合膜中 PLL、PVA 与 CSG 三者之间氢键作用力强,分子链相互联结形成紧密结构,使得三组分复合薄膜的溶胀率与溶解率均低于双组分薄膜^[34]。图 8 展示了 3 种薄膜溶胀平衡后的状态,根据光学图像可得,吸水平衡后的 PLL/CSG 薄膜和 PVA/CSG 薄膜均出现不同程度的破裂,薄膜变得易碎,但 PLL/PVA/CSG 薄膜仍保持完整的形貌。

表 1 不同 CSG 基薄膜的溶胀率和溶解率		
薄膜种类	溶胀率/%	溶解率/%
PLL/CSG	1806.90±152.98	75.30±3.12
PVA/CSG	849.00±105.62	74.50±2.33
PLL/PVA/CSG	777.20±72.68	63.70±1.01

2.7 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的热稳定性分析

图 9 为复合薄膜 PLL/CSG、PVA/CSG 和 PLL/PVA/CSG 的 TGA 和 DTG 曲线,表征薄膜的热稳定性。由图 9(a)所示的质量损失曲线可知,所有薄膜在 50~150 ℃左右出现小幅的质量损失,约占总质量 10%,这归因于薄膜内部水分的蒸发。由

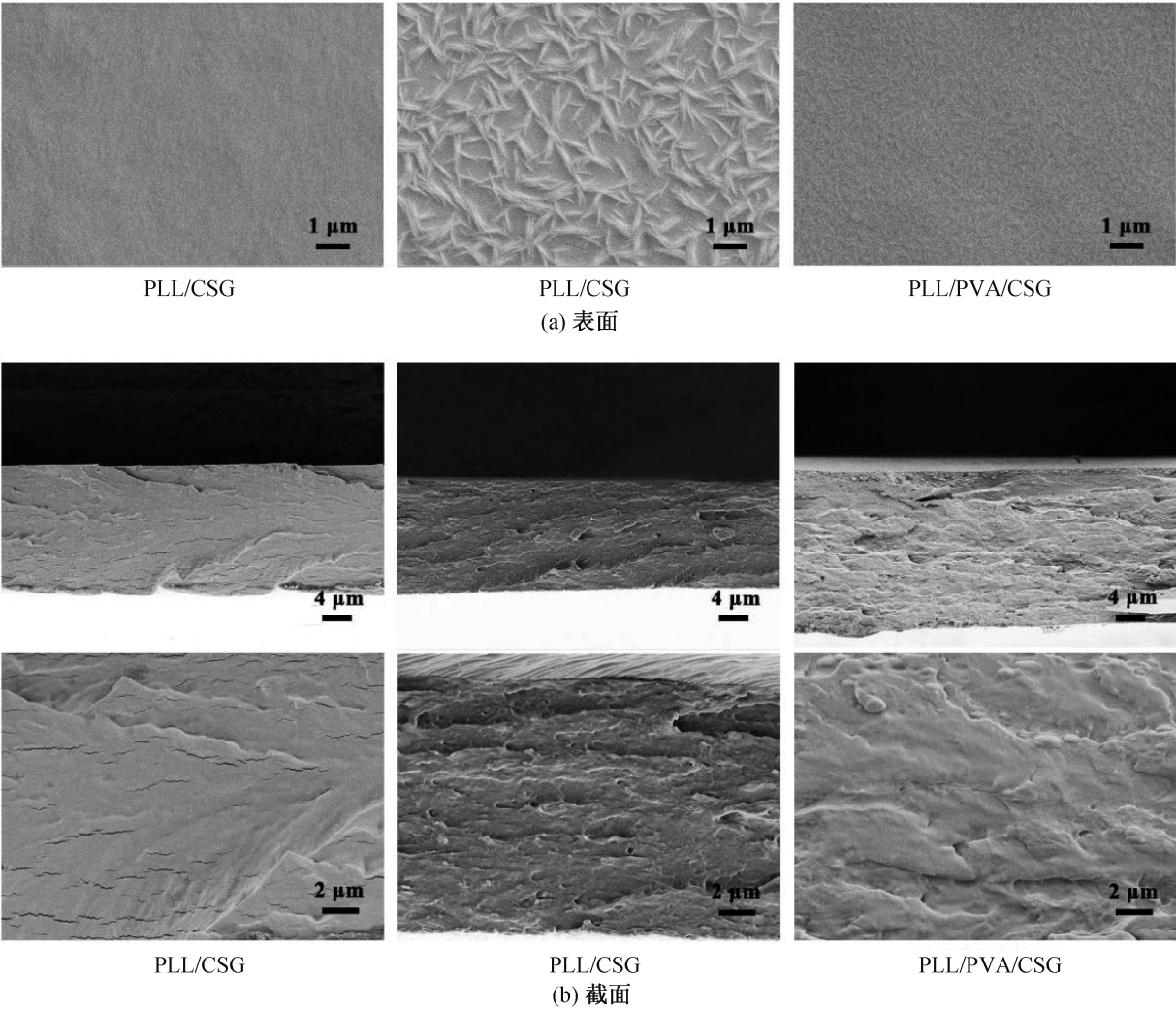


图 7 不同 CSG 基薄膜的表面和截面 SEM 图

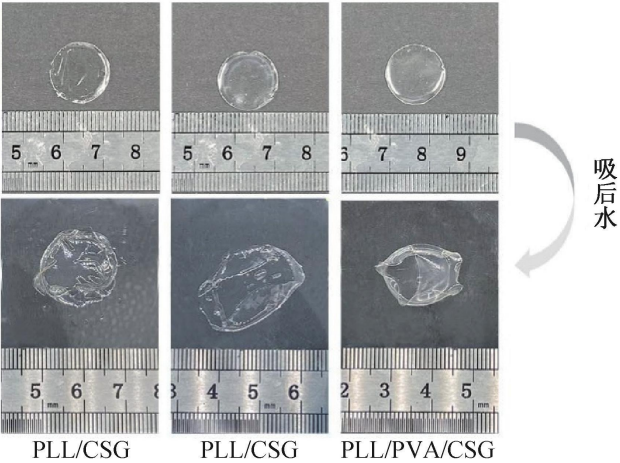


图 8 不同 CSG 基薄膜吸水后形貌变化的光学照片

于所有薄膜在制备和干燥过程中均控制了相同的实验条件,所以薄膜具有相似的含水量。3 种薄膜在 150~388 ℃开始热分解的第二阶段,所有薄膜在此阶段都经历了快速且最大的质量损失,约占总质量的 55%~60%。该阶段的质量损失是由于甘油和聚合物分子的热分解造成的^[38]。PVA/CSG 和 PLL/PVA/CSG 复合薄膜在 388 ℃左右开始第三阶段的质量损失,这是由于 PVA 产生的一些副产物热降解所致^[39]。图 9(b)的 DTG 曲线显示,PLL/CSG 和 PVA/CSG 薄膜的最大失重峰分别出现在

224.50 ℃和 243.80 ℃,而 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的最大失重峰出现在 233.00 ℃。由于 PVA 的存在,三组分 PLL/PVA/CSG 复合薄膜最大失重峰向高温方向移动。一般来说,具有结晶性质的材料具有更高的热稳定性,因为需要更高的温度才能破坏高度有序的晶体结构^[17,23]。PVA 的晶体结构以及聚合物之间的氢键相互作用,使得分子链的排列更加有序,从而提高了三组分 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的热稳定性。PLL/PVA/CSG 复合薄膜在热稳定性方面的改善可以保证材料在高温条件下应用时的完整性。

2.8 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的结晶性能与化学结构分析

图 10 为 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的 XRD 图谱。PVA 在 $2\theta=19.30^\circ$ 附近有一个明显的衍射峰,这是由于半结晶的 PVA 结晶部分的(101)平面所致^[17],证实了 PVA 具有较高的结晶度。多糖聚合物通常结晶度低,PLL 和 CSG 分别在 $2\theta=19^\circ$ 和 $2\theta=25^\circ$ 附近呈现一个宽衍射峰,表明了其无定形结构。而 PLL/PVA/CSG 复合薄膜在 $2\theta=19^\circ$ 附近出现明显的衍射峰,但衍射强度低于 PVA。这种现象产生

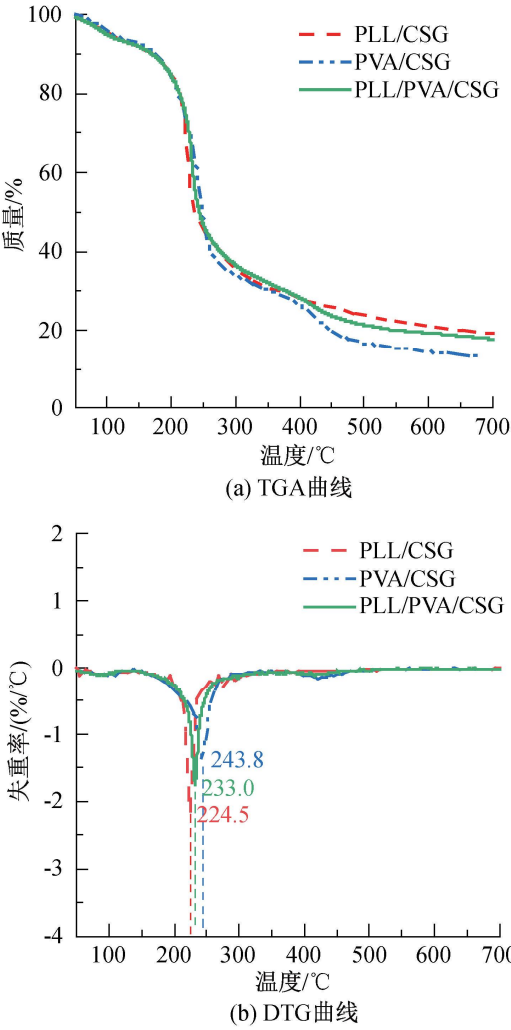


图 9 CSG 基薄膜的 TGA 曲线和 DTG 曲线的原因是由于 PVA 的加入提高了复合薄膜的结晶度。此外 PVA、PLL 与 CSG 之间的氢键作用促进分子链的有序排列,有助于复合薄膜中形成结晶区域^[40]。

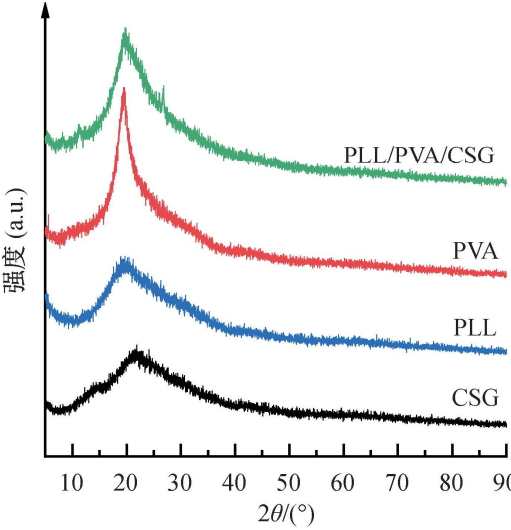


图 10 PLL、PVA 和 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的 XRD 谱图

图 11(a) 为 CSG、PVA、PLL 和 PLL/PVA/CSG 薄膜的 FT-IR 谱图。由于引入胍基,CSG 的红外光谱在 1618 cm^{-1} 和 1525 cm^{-1} 处出现了吸收峰,分别对应 —C=N— 的伸缩振动峰和 —C=NH_2^+ 的伸缩振动峰^[32]。PLL 在 3350 cm^{-1} 处的

宽特征峰对应其分子链上的 —OH ,在 1156 cm^{-1} 处的峰则是由于 $(\alpha\text{--}1\text{--}4)$ 糖苷键的伸缩振动引起的^[41]。在 PVA 的红外光谱中, 2930 cm^{-1} 处和 $1300\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰分别归因于 —CH_2 和 —CH/CH_2 的伸缩振动^[42], 1730 cm^{-1} 和 1425 cm^{-1} 处的吸收峰则归因于羧基 (—C=O) 和羧酸基 (—COO—) 的伸缩振动。PLL/PVA/CSG 复合薄膜的红外光谱与纯聚合物相似,特征峰除了轻微偏移外无明显变化^[43]。结果表明,以氢键为主的非共价相互作用是薄膜各组分相互结合的主要驱动因素,各氢键类型如图 11(b) 所示。

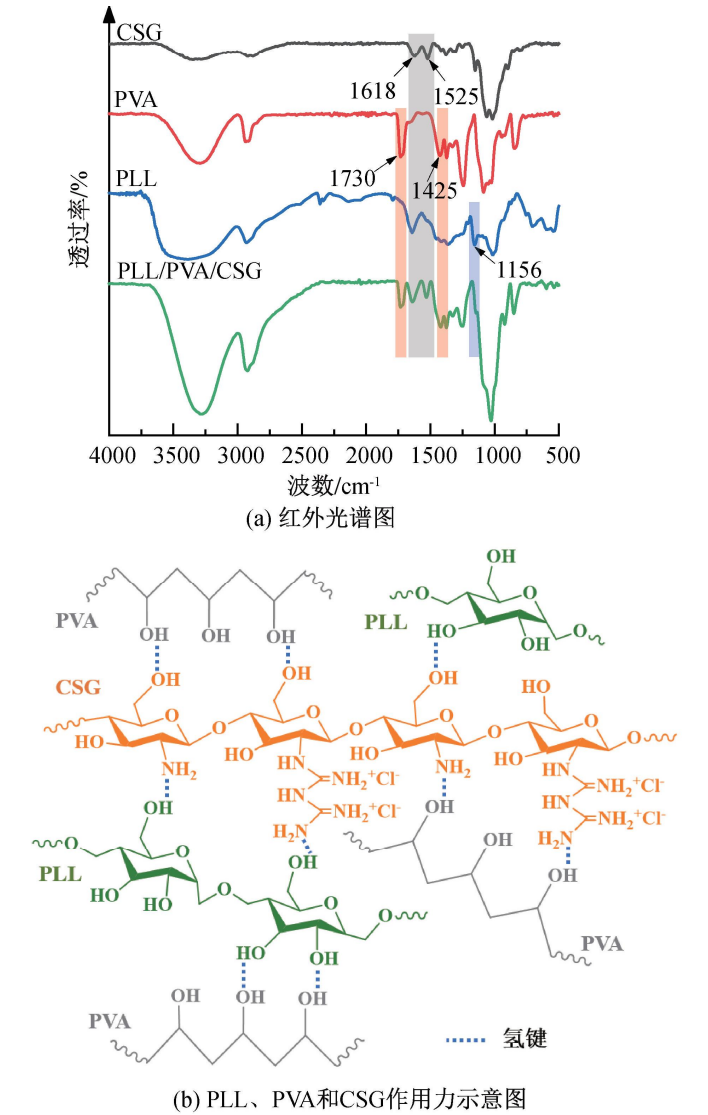


图 11 PLL、PVA 和 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的红外光谱图及聚合物作用力示意图

2.9 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的抗菌性能及生物相容性评价

基于上述实验结果,选用 3 组分复合薄膜作为研究对象,并且对比商用保鲜膜和 PLL/PVA/QCS 与 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的抗菌性能差异。3 种薄膜对 *S. aureus* 和 *E. coli* 的接触抗菌效果如图 12—图 13 所示。

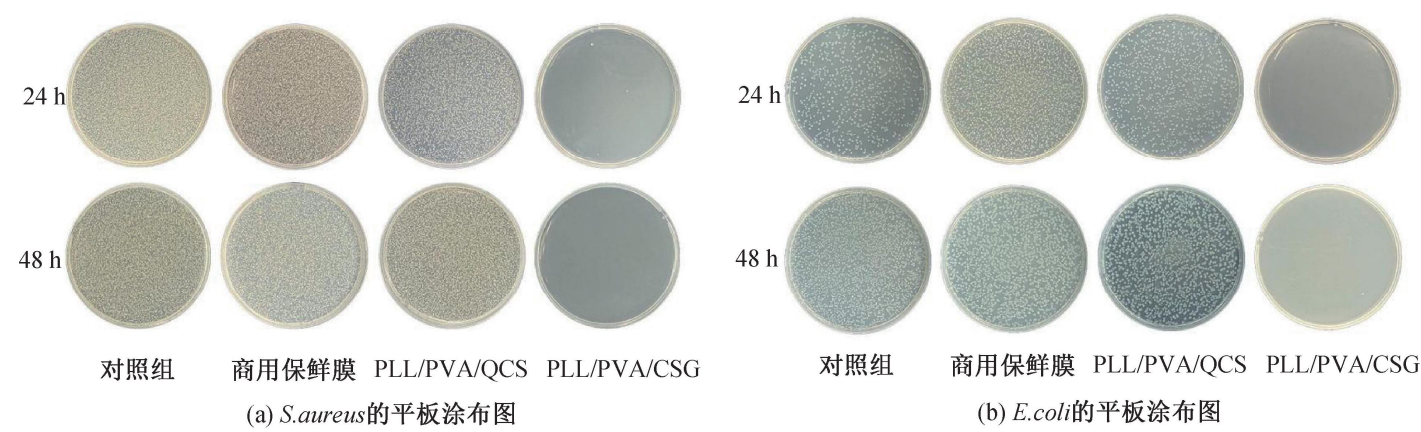


图 12 *S. aureus* 和 *E. coli* 与不同薄膜共培养后的平板涂布图

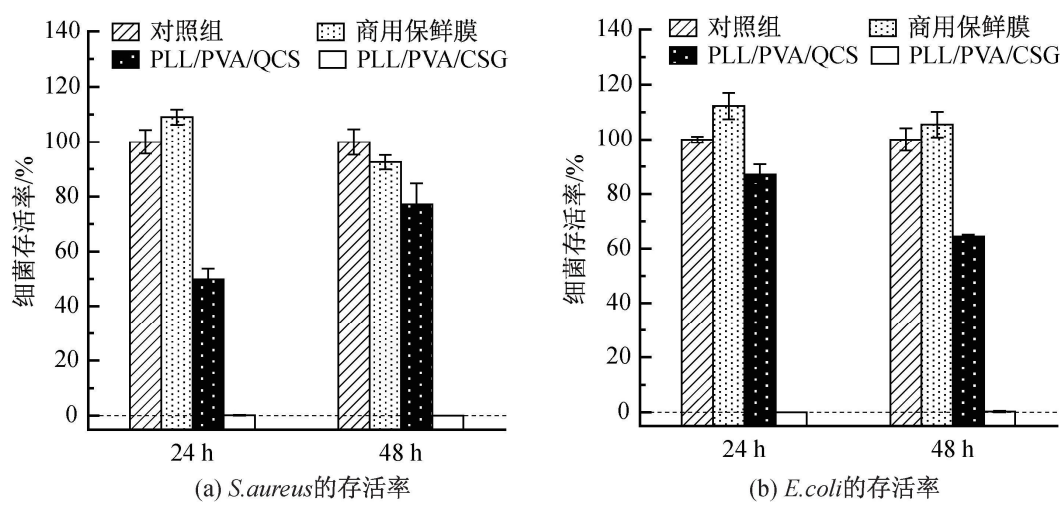


图 13 *S. aureus* 和 *E. coli* 与不同薄膜共培养后的细菌存活率

平板涂布结果(图 12)显示在商用保鲜膜组中, *S. aureus* 和 *E. coli* 的菌落数与对照组相近,表明商用保鲜膜几乎不具备抗菌性。在 PLL/PVA/QCS 组中, *S. aureus* 和 *E. coli* 的菌落数量较对照组未见明显减少,表明其抗菌效果不显著。相比之下, PLL/PVA/CSG 组中 *S. aureus* 和 *E. coli* 的菌落数量远小于对照组,表明 PLL/PVA/CSG 复合薄膜对两种细菌具有显著的抗菌效果。细菌存活率结果(图 13)显示 PLL/PVA/CSG 复合薄膜抗菌率达到 99.90%。

图 14 为与不同薄膜共培养 24 h 之后的细菌 SEM 图,其中黄色圆圈标识为被破坏的细菌。细菌的 SEM 结果显示,与商用保鲜膜组共培养后的细菌形态正常,结构完整, *S. aureus* 呈球形结构,表面光滑, *E. coli* 细胞膜结构完整,边界清晰,进一步证实商用保鲜膜没有杀菌能力。在 PLL/PVA/QCS 组中,只有小部分的 *S. aureus* 和 *E. coli* 形态发生变化,少数细菌的细胞膜出现变形和凹陷的情况。在 PLL/PVA/CSG 组中可以明显观察到大量 *S. aureus* 和 *E. coli* 的形态和结构发生严重变形, *S. aureus* 已不具有光滑的球型结构,菌体破碎,

E. coli 出现膜融合现象,细菌结构坍塌。综上可知, PLL/PVA/CSG 复合薄膜对两种细菌膜结构的破坏作用更为显著,具有良好的抗菌性能。

QCS 与 CSG 的抗菌性能主要归因于其阳离子基团与带负电的细菌细胞膜之间的静电相互作用。这种相互作用破坏了细菌细胞膜,导致渗透压失衡,电解质从细菌细胞中泄漏。然而, QCS 与 CSG 被制备成薄膜后表现出不同的抗菌效果。这种差异可能源于制备薄膜过程中分子链重排, QCS 和 CSG 的阳离子基团在薄膜表面的暴露程度不同,进而导致薄膜表面的正电荷密度不同。为此通过水接触角测试来评估薄膜表面的亲疏水性,从而间接判断薄膜表面电荷密度的差异。表面电荷状态可以影响固体表面能,表面能的变化直接影响固液界面的润湿性^[44]。一般而言,表面电荷密度越高,表面能越大,液滴更容易湿润表面,导致接触角变小。由图 15 可知, PLL/PVA/CSG 复合薄膜的接触角明显小于 PLL/PVA/QCS 复合薄膜,说明 PLL/PVA/CSG 复合薄膜的表面电荷密度大于 PLL/PVA/QCS 复合薄膜。这一结果支持了本文关于薄膜表面阳离子基团暴露程度与其抗菌效果之间关系的假设。

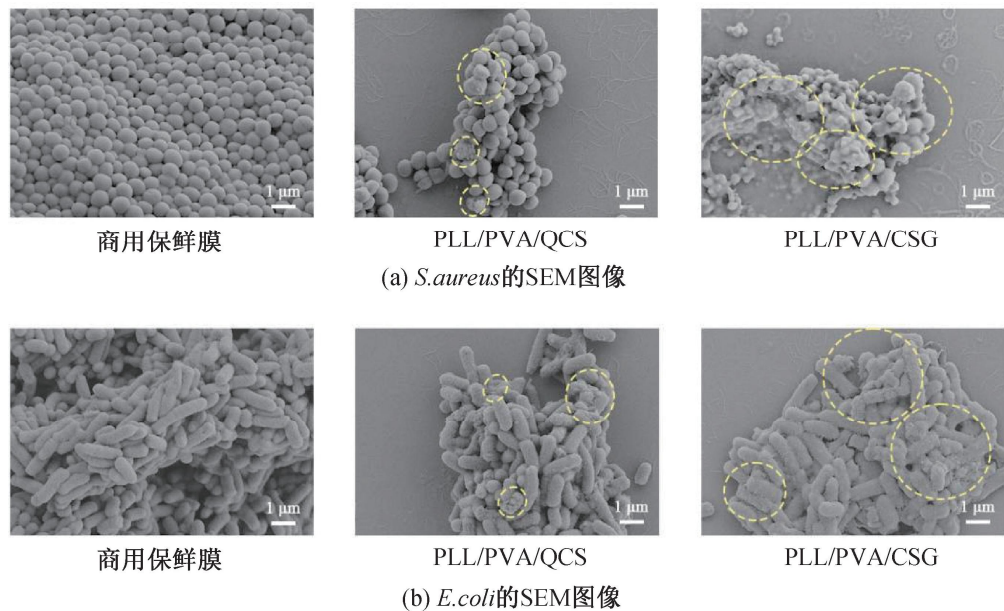


图 14 细菌与不同薄膜共培养 24 h 后的 SEM 图

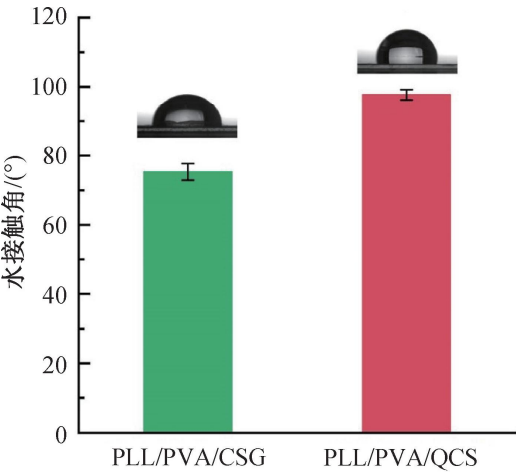


图 15 PLL/PVA/CSG 与 PLL/PVA/QCS 复合薄膜的水接触角

图 16 为细胞与商用保鲜膜和 PLL/PVA/CSG 复合薄膜浸提液共培养 24、48 h 和 72 h 后的存活率结果。结果显示,随着时间的延长,PLL/PVA/CSG 复合薄膜组的细胞活性无明显下降,细胞存活率均维持在 94% 以上,与商用保鲜膜组的结果相似。这表明 PLL/PVA/CSG 复合薄膜生物相容性良好,具有潜在的应用前景。

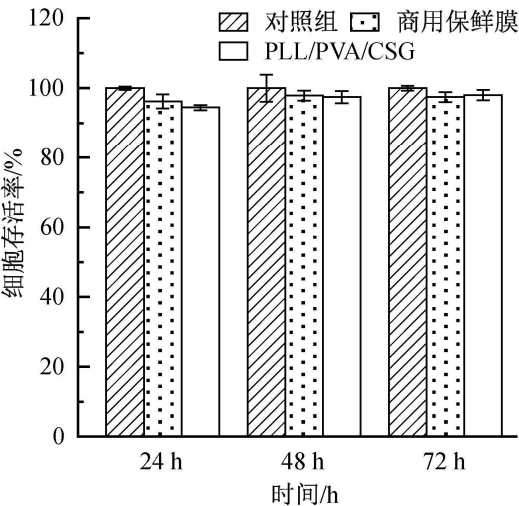


图 16 不同薄膜浸提液与 L929 共培养不同时间后的细胞存活率

3 结 论

本文以阳离子壳聚糖衍生物 CSG 作为主材料,与其他聚合物(PLL、PVA)通过溶液浇注法制备复合薄膜,并分析复合膜的形貌、结构以及透光率、水汽屏障性、水稳定性、热稳定性、力学性能、抗菌性能和生物相容性等性能。所得主要结论如下:

a)与双组分薄膜相比,三组分 PLL/PVA/CSG 复合薄膜具有高透明度和水汽屏障性能,溶胀率和溶解率低。PLL/PVA/CSG 复合薄膜的抗拉强度达到 14.4 MPa,热分解温度为 233 ℃,热稳定性良好。

b)PLL/PVA/CSG 复合薄膜由 PLL、PVA 和 CSG 通过氢键相互作用复合成膜,薄膜结构均匀致密,表面与内部无明显孔隙与裂纹。

c)与 PLL/PVA/QCS 复合薄膜相比,PLL/PVA/CSG 复合薄膜由于 CSG 暴露在薄膜表面的正电荷密度高,对金黄色葡萄球菌和大肠埃希菌均具有良好的抗菌效果,抗菌率达 99.9%。

d)细胞毒性评价结果显示,PLL/PVA/CSG 复合薄膜细胞毒性低,表明其具有良好的生物相容性。

本文制备的 PLL/PVA/CSG 复合薄膜理化性质稳定、抗菌性能优异、生物相容性良好,在抗菌薄膜包装领域具有潜在的应用价值。

参考文献:

[1] Schmidt-Traub G, Obersteiner M, Mosnier A. Fix the broken food system in three steps[J]. Nature, 2019, 569: 181-183.
[2] Burek J, Nutter D W. Environmental implications of perishables storage and retailing[J]. Renewable and Sustainable Energy

- Reviews, 2020, 133: 110070.
- [3] Zhou C M, Bai J R, Zhang F T, et al. Development of mussel-inspired chitosan-derived edible coating for fruit preservation[J]. Carbohydrate Polymers, 2023, 321: 121293.
- [4] Huang G H, Huang L S, Geng C, et al. Green and multifunctional chitosan-based conformal coating as a controlled release platform for fruit preservation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 219: 767-778.
- [5] Kishore K, Pathak K A, Shukla R, et al. Effect of storage temperature on physico-chemical and sensory attributes of purple passion fruit (*Passiflora edulis* Sims)[J]. Journal of Food Science and Technology, 2011, 48(4): 484-488.
- [6] Ali S, Sattar Khan A, Ullah Malik A, et al. Modified atmosphere packaging delays enzymatic browning and maintains quality of harvested litchi fruit during low temperature storage [J]. Scientia Horticulturae, 2019, 254: 14-20.
- [7] Qu P, Zhang M, Fan K, et al. Microporous modified atmosphere packaging to extend shelf life of fresh foods: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(1): 51-65.
- [8] Yong Y Y, Dykes G, Lee S M, et al. Effect of refrigerated storage on betacyanin composition, antibacterial activity of red pitahaya (*Hylocereus polyrhizus*) and cytotoxicity evaluation of betacyanin rich extract on normal human cell lines[J]. LWT, 2018, 91: 491-497.
- [9] 王金鑫. 鲜切荸荠保鲜包装及抗菌聚乙烯包装薄膜的研究与应用[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019: 518-583.
- [10] Onyeaka H, Obileke K, Makaka G, et al. Current research and applications of starch-based biodegradable films for food packaging[J]. Polymers, 2022, 14(6): 1126.
- [11] 赵玉韩, 王涵, 张宇, 等. 生物基可降解抑菌食品包装膜的研究进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(6): 362-371.
- [12] Janik W, Jakubski Ł, Kudła S, et al. Modified polysaccharides for food packaging applications: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 258 (Part 1): 128916.
- [13] 王正敏, 张朋, 邓松林, 等. 生物基抗菌指示膜的研究进展 [J]. 现代化工, 2024, 44(6): 45-48.
- [14] Jin J, Luo B D, Xuan S M, et al. Degradable chitosan-based bioplastic packaging: design, preparation and applications[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 266 (Part 1): 131253.
- [15] Tanpichai S, Thongdonson K, Boonmahitthisud A. Enhancement of the mechanical properties and water barrier properties of thermoplastic starch nanocomposite films by chitin nanofibers: Biodegradable coating for extending banana shelf life[J]. Journal of Materials Research and Technology, 2023, 26: 5617-5625.
- [16] Sarfraz M H, Hayat S, Siddique M H, et al. Chitosan based coatings and films: A perspective on antimicrobial, antioxidant, and intelligent food packaging[J]. Progress in Organic Coatings, 2024, 188: 108235.
- [17] Wen L S, Liang Y T, Lin Z H, et al. Design of multifunctional food packaging films based on carboxymethyl chitosan/polyvinyl alcohol crosslinked network by using citric acid as crosslinker[J]. Polymer, 2021, 230: 124048.
- [18] Salama H E, Abdel Aziz M S. Optimized carboxymethyl cellulose and guanidinylated chitosan enriched with titanium oxide nanoparticles of improved UV-barrier properties for the active packaging of green bell pepper[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165(Pt A): 1187-1197.
- [19] Xu B, Jacobs M I, Kostko O, et al. Guanidinium group remains protonated in a strongly basic arginine solution[J]. Chemphyschem: A European Journal of Chemical Physics and Physical Chemistry, 2017, 18(12): 1503-1506.
- [20] Jiao X Y, Xie J X, Hao M D, et al. Chitosan biguanidine/PVP antibacterial coatings for perishable fruits[J]. Polymers, 2022, 14(13): 2704.
- [21] Salama H E, Abdel Aziz M S, Alsehli M. Carboxymethyl cellulose/sodium alginate/chitosan biguanidine hydrochloride ternary system for edible coatings[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 139: 614-620.
- [22] Zhang W L, Khan A, Ezati P, et al. Advances in sustainable food packaging applications of chitosan/polyvinyl alcohol blend films[J]. Food Chemistry, 2024, 443: 138506.
- [23] Eze F N, Jayeoye T J, Eze R C, et al. Construction of carboxymethyl chitosan/PVA/chitin nanowhiskers multicomponent film activated with *Cotylelobium lanceolatum* phenolics and in situ SeNP for enhanced packaging application [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 255: 128073.
- [24] Abdullah Z W, Dong Y, Davies I J, et al. PVA, PVA blends, and their nanocomposites for biodegradable packaging application[J]. Polymer-Plastics Technology and Engineering, 2017, 56(12): 1307-1344.
- [25] Das Adhikary N, Bains A, Sridhar K, et al. Recent advances in plant-based polysaccharide ternary complexes for biodegradable packaging[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 253(Pt 2): 126725.
- [26] Li S B, Yi J J, Yu X M, et al. Preparation and characterization of pullulan derivative/chitosan composite film for potential antimicrobial applications[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 148: 258-264.
- [27] Khaliq T, Sohail M, Shah S A, et al. Bioactive and multifunctional keratin-pullulan based hydrogel membranes facilitate re-epithelization in diabetic model [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 209(Pt B): 1826-1836.
- [28] Chen J L, Zhao Y Y. Effect of molecular weight, acid, and plasticizer on the physicochemical and antibacterial properties of β -chitosan based films[J]. Journal of Food Science, 2012, 77(5): E127-E136.
- [29] Gan M Y, Guo C Y, Liao W Y, et al. Development and characterization of chitosan/bacterial cellulose/pullulan bilayer film with sustained release curcumin [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 226: 301-311.
- [30] Shaabani A, Sedghi R. Preparation of chitosan biguanidine/PANI-

- containing self-healing semi-conductive waterborne scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 264: 118045.
- [31] Zhang S S, Zhang H, Wang L, et al. Microwave-assisted synthesis of chitosan biguanidine hydrochloride and its regulation on InsR and GLUT2 in insulin resistant HepG2 cells [J]. *RSC Advances*, 2017, 7(17): 10108-10117.
- [32] Salama H E, Abdel Aziz M S, Sabaa M W. Novel biodegradable and antibacterial edible films based on alginate and chitosan biguanidine hydrochloride [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 116: 443-450.
- [33] Ureña M, Phùng T T T, Gerometta M, et al. Potential of polysaccharides for food packaging applications. Part 1/2: An experimental review of the functional properties of polysaccharide coatings[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 144: 108955.
- [34] Lian H, Shi J Y, Zhang X Y, et al. Effect of the added polysaccharide on the release of thyme essential oil and structure properties of chitosan based film[J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2020, 23: 100467.
- [35] Bajer D, Burkowska-But A. Innovative and environmentally safe composites based on starch modified with dialdehyde starch, caffeine, or ascorbic acid for applications in the food packaging industry[J]. *Food Chemistry*, 2022, 374: 131639.
- [36] Zhang Y, Han Y, Zhou Z J. A novel multifunctional composite film of oxidized dextran crosslinked chitosan and ϵ -polylysine incorporating protocatechuic acid and its application in meat packaging[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 146: 109186.
- [37] Mathew S, Brahmakumar M, Abraham TE. Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal, and swelling properties of starch-chitosan blend films [J]. *Biopolymers*, 2006, 82(2): 176-187.
- [38] Feng S S, Liu L P, Li H Y, et al. Characterization, antioxidant and antibacterial activities of chitosan/flaxseed soluble dietary fiber/sesamol blend films and their application in pork preservation [J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 147: 109370.
- [39] Yang W, Fortunati E, Bertoglio F, et al. Polyvinyl alcohol/chitosan hydrogels with enhanced antioxidant and antibacterial properties induced by lignin nanoparticles[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 181: 275-284.
- [40] Zhang S K, Fu Q B, Li H S, et al. Polydopamine-coated lignin nanoparticles in polysaccharide-based films: A plasticizer, mechanical property enhancer, anti-ultraviolet agent and bioactive agent[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 147: 109325.
- [41] Roy S, Rhim J W. Effect of chitosan modified halloysite on the physical and functional properties of pullulan/chitosan biofilm integrated with rutin[J]. *Applied Clay Science*, 2021, 211: 106205.
- [42] Abu Hurayra-Lizu K M, Bari M W, Gulshan F, et al. GO based PVA nanocomposites: Tailoring of optical and structural properties of PVA with low percentage of GO nanofillers[J]. *Heliyon*, 2021, 7(5): e06983.
- [43] Li L H, Zhao Z L, Wei S Y, et al. Development and application of multifunctional films based on modified chitosan/gelatin polyelectrolyte complex for preservation and monitoring[J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 147: 109336.
- [44] Koopal L K. Wetting of Solid Surfaces: Fundamentals and Charge effects[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2012, 179/180/181/182: 29-42.

(责任编辑:刘国金)