

聚乙烯醇/纳米纤维素/石榴皮多酚复合 抗菌薄膜性能研究

Study on properties of polyvinyl alcohol/nanocellulose/pomegranate peel polyphenol composite antibacterial films

李 慧¹ 田家瑶¹ 庞姗姗¹ 龚国利²

LI Hui¹ TIAN Jia-yao¹ PANG Shan-shan¹ GONG Guo-li²

(1. 陕西科技大学设计与艺术学院, 陕西 西安 710021; 2. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西 西安 710021)

(1. School of Art and Design, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an, Shaanxi 710021, China;

2. School of Food and Bioengineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an, Shaanxi 710021, China)

摘要:目的: 开发绿色抗菌抗氧化食品包装薄膜。方法: 以石榴皮多酚为功能活性物质, 采用共混法制备聚乙烯醇/纳米纤维素晶体/石榴皮多酚复合抗菌薄膜, 并对其性能进行表征。结果: 石榴皮多酚的添加影响了薄膜表面的连续性; 当石榴皮多酚添加量为 5 倍最小抑菌浓度时, 薄膜的透水气性增加了 28.79%, 拉伸强度、断裂伸长率、疏水性及透光率分别降低了 44.97%, 29.37%, 36.36%, 22.35%, 同时总酚含量为 (5.92 ± 0.17) mg/L, DPPH 自由基清除率达到 (13.31 ± 0.22)%; 薄膜表现出良好的抑菌性, 对白色念珠菌的抑菌效果最好, 其次为金黄色葡萄球菌、大肠杆菌。结论: 聚乙烯醇/纳米纤维素晶体/石榴皮多酚复合抗菌薄膜是一种新型活性食品包装材料。

关键词: 石榴皮多酚; 聚乙烯醇; 纳米纤维素晶体; 抗氧化; 抗菌复合薄膜

Abstract: Objective: This study aimed to develop a kind of green antibacterial and antioxidant food packaging film. **Methods:** Polyvinyl alcohol/nanocellulose crystal/pomegranate peel polyphenol composite antibacterial films were prepared by blending method with pomegranate peel polyphenol as functional active substance, and their properties were characterized. **Results:** The continuity of the film surface was affected by the addition of pomegranate peel polyphenols. When the addition of polyphenols in pomegranate peel was 5 times the minimum

bacteriostatic concentration, the water permeability of the film increased by 28.79%, and the tensile strength, elongation at break, hydrophobicity and light transmittance decreased by 44.97%, 29.37%, 36.36% and 22.35%, respectively. The total phenol content was (5.92 ± 0.17) mg/L, and the DPPH radical scavenging rate was (13.31 ± 0.22)%. The film showed good bacteriostasis, and had the best bacteriostasis effect on *Candida albicans*, followed by *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. **Conclusion:** The PVA/CNC/PPE composite antibacterial film has good performance and is a new active food packaging material. composite antibacterial film is a new type of active food packaging material.

Keywords: pomegranate peel polyphenols; polyvinyl alcohol; nanocellulose crystal; antioxidant; antibacterial composite film

近几年,在可持续发展理念的带动下,人们越来越重视塑料包装对食品安全及环境保护的危害,可降解、无毒无害的功能性食品包装材料成为研究热点,其中,食品活性包装薄膜的开发主要围绕环保、抗菌、抗氧化等,通过改变储存条件保持食品质量,改善食品安全性,延长食品的货架期^[1-2]。应用于环保活性包装薄膜的主要材料有淀粉、聚乙烯醇、壳聚糖、明胶等^[3-6],其中聚乙烯醇(PVA)是一种成膜性良好的水溶性高分子聚合物,PVA薄膜对氧气具有一定的阻隔性,透明度高,在食品包装领域应用广泛^[7]。然而,纯 PVA 薄膜存在耐水性较差、力学性能不足等缺陷,有学者^[8-10]将 PVA 与其他天然高分子材料共混以改善其相关性能。纳米纤维素晶体(CNC)是一种纤维素衍生物,常被用作聚合物纳米复合材料的增强补强填料^[11-12]。CNC 可与 PVA 形成分子间氢键作用,提高 PVA 薄膜的稳定性,由此得到的 PVA/CNC 复

基金项目: 陕西省科技厅重点项目(编号:2019NY-194); 陕西省西安市未央区科技计划项目(编号:202038); 陕西省重点研发计划项目(编号:2021NY-124)

作者简介: 李慧(1976—),女,陕西科技大学副教授,硕士生导师,博士。E-mail: lihui@sust.edu.cn

收稿日期: 2022-07-24 **改回日期:** 2023-02-10

合薄膜的机械性能、热稳定性和耐水性均有所提高^[13]。

抗菌包装薄膜主要由成膜基材和抗菌剂组成,天然抗菌剂由于其来源广泛,无毒无害,被大量应用于食品活性包装的研究中,其中植物多酚类提取物如茶多酚、秦冠叶多酚、菱茎多酚、石榴皮多酚等对食源性致病菌的抑菌效果良好,且具有一定的抗氧化活性,在食品保存保鲜领域有潜在的应用价值^[14-15]。石榴皮多酚(PPE)是石榴皮中多酚羟基化合物的总称,具有多种潜在的生物和药理活性,例如抑菌性、抗氧化、抗突变、抗癌、抗炎、抗遗传病毒和保肝等,相比合成化合物,PPE作为天然活性物质具有安全性、生物相容性和来源丰富等众多优点^[16-17]。已有研究报道了PPE作为涂层材料对食品的保鲜作用,证明了PPE可以作为活性添加剂加入食品包装材料,用于食品抗菌及抗氧化。Cui等^[18]研究了壳聚糖/石榴皮提取物/玉米醇溶蛋白活性复合膜的抗菌性能,与对照组相比,复合膜在猪肉样品冷藏过程中能有效抑制单核细胞增生性乳杆菌的生长。齐昭京等^[19]研究了不同配比的壳聚糖、石榴皮提取物、 γ -氨基丁酸复合涂膜液对蓝莓果实的保鲜效果,该复合涂膜液有效地抑制了贮藏期蓝莓果实的腐烂,并提高了果实黄铜的含量,维持了蓝莓的品质。Nubya等^[20]以聚乙烯醇、淀粉及聚丙烯酸为成膜基材,石榴皮提取物为抗菌剂,制备了具有抗菌活性的生物创面敷料,试验结果表明,该膜对表皮葡萄球菌和金黄色葡萄球菌具有良好的抑菌活性,石榴皮提取物的加入有利于提高聚合物体系的相容性和稳定性。PPE的应用研发可以减少石榴皮资源的浪费,并可替代合成抗菌剂、抗氧化剂,在绿色天然活性添加剂的应用领域有良好的前景。研究以PVA和CNC为主要原料,PPE为活性添加剂,采用共混法制备具有抗氧化活性的复合抗菌薄膜,探讨活性成分对复合抗菌薄膜结构及功能特性的影响,旨在为PVA抗菌抗氧化薄膜的研制提供试验依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

聚乙烯醇(1788):分析纯,山东西亚化学工业有限公司;

纳米纤维素晶体:长度100~500 nm,7%固含量,桂林奇宏科技有限公司;

石榴皮多酚:多酚含量40%,陕西金康泰生物科技有限公司;

戊二醛、丙三醇、甲醇、碳酸钠:分析纯,天津市天立化学试剂有限公司;

DPPH:分析纯,上海笛医生物科技有限公司;

福林酚:分析纯,上海麦克林生化科技有限公司;

营养肉汤培养基、营养琼脂培养基:北京博星生物技术有限责任公司。

1.2 试验仪器

集热式磁力搅拌器:ZNCL-TS型,巩义予华仪器有

限公司;

傅里叶红外光谱仪:Vertex70型,德国布鲁克公司;

场发射扫描电镜:Q45型,美国FEI公司;

数显游标卡尺:MNT-150型,上海美耐特实业有限公司;

材料多功能高低温控制试验机:AI-7000-NGD型,高特威尔检测仪器有限公司;

水蒸气透过率测试仪:W3/060型,济南兰光机电技术有限公司;

紫外分光光度计:UV-5200型,上海元析仪器有限公司;

光学接触角测量仪:DSA100型,德国KRUSS公司。

1.3 复合抗菌薄膜的制备

称取一定量PVA加入去离子水中,水浴95℃搅拌溶解,得到质量浓度为8 g/mL的PVA溶液,继续搅拌冷却至室温,根据PVA质量分别加入质量分数为6%的CNC悬浮液、12%的丙三醇及7%的戊二醛,按照PPE最小抑菌浓度(MIC),向成膜液中加入1~5倍MIC的PPE粉末,室温下搅拌1 h充分溶解,静置消泡。在培养皿中倒膜,50℃下真空干燥24 h,在室温环境下冷却揭膜,放置48 h后进行相关性能测试。

1.4 性能测试方法

1.4.1 PPE最小抑菌浓度(MIC)的测定 采用二倍稀释法将PPE配制成3.125、1.560、0.780、0.390、0.190、0.095、0.048、0.024 mg/mL的PPE溶液。将100 μ L配制好的 10^8 CFU/mL菌悬液均匀涂抹在冷却凝固的琼脂培养基上,待培养基表面晾干后用8 mm的无菌打孔器打孔,将50 μ L不同浓度PPE溶液分别注入含有菌悬液的培养皿中,每个浓度做3组平行试验,置于37℃恒温培养箱中培养24 h,出现最小抑菌的浓度即为MIC。

1.4.2 红外光谱测试 采用傅里叶红外光谱仪对样品薄膜进行测试,波数范围为4 000~400 cm^{-1} ,测试分辨率4 cm^{-1} ,扫描速度16次/s。

1.4.3 SEM形貌测试 使用场发射扫描电镜对样品进行测试,将样品干燥后进行表面喷金处理,在30 kV的加速电压下进行测试。

1.4.4 薄膜厚度的测定 使用数显游标卡尺对样品薄膜进行膜厚度测试,等距取5点测量,求平均值。

1.4.5 力学性能测定 根据GB/T 1040.3—2006,使用伺服材料多功能高低温控制试验机对样品薄膜进行拉伸强度和断裂伸长率测试。将均匀、平整、无破损的薄膜样品剪裁成100 mm \times 10 mm的矩形样条,固定初始距离为50 mm,在50 mm/min的速度下测试样品的拉伸断裂强度和断裂伸长率,平行测试同一张薄膜的5个样品,求平均值。

1.4.6 水蒸气透过率测定 根据GB/T 26253—2010,采用水蒸气透过率测试仪测定样品的水蒸气透过率。

1.4.7 水接触角测定 采用动态接触角仪,在室温条件

下测试样品接触角(θ),将 5 μ L 去离子水滴在试样表面,静置 10 s 至接触角 θ 不再变化,用软件拍下照片并对接触角 θ 进行计算,每个样品平行测定 5 次取平均值。

1.4.8 透光率的测定 使用紫外分光光度计测试样品的吸光度值。将均匀、平整、无破损的薄膜剪裁成 10 mm \times 50 mm 的矩形样条,紧贴于比色皿内壁,以干燥洁净的空白比色皿为对照,在 $\lambda=600$ nm 处测试样品吸光度值,每组试验重复 5 次,取平均值,按式(1)计算薄膜的透光率。

$$L = \left(1 - \frac{A_{600 \text{ nm}}}{d}\right) \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

L ——透光率,%;

$A_{600 \text{ nm}}$ ——样品在 $\lambda=600$ nm 下的吸光度值;

d ——样品的厚度,mm。

1.4.9 总酚含量的测定

(1) 标准曲线绘制:参考王丹苗等^[21]的方法并适当改进,精确称取 20 mg 没食子酸用去离子水定容至 200 mL,得到质量浓度为 0.1 mg/mL 没食子酸标准母液。精确吸取不同量的没食子酸标准母液,加入 5 mL 10% 的福林酚试剂,充分混合后加入 4 mL 7.5% 的 Na_2CO_3 溶液,混合均匀后于室温下避光反应 60 min,使用紫外分光光度计于 $\lambda=765$ nm 的条件下,以去离子水为空白对照,测定溶液的吸光度值,绘制标准曲线。得到标准曲线方程为: $y=0.0681x-0.0469$, $R^2=0.9672$,其中 x 表示质量浓度(mg/mL), y 表示吸光度值。

(2) 总酚含量:将 25 mg 薄膜样品溶解于 3 mL 去离子水中,同上述方法,根据没食子酸标准曲线计算样品的相对总酚含量,每组试验重复 3 次,取平均值。

1.4.10 抗氧化活性测定 参考张智宏^[22]的方法并适当改进,采用 DPPH 自由基清除法测定薄膜的抗氧化活性。在避光条件下,称取 4 mg DPPH 溶于 100 mL 无水甲醇,配制成 0.1 mmol/L 的 DPPH 甲醇溶液,放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中冷藏备用。将薄膜剪裁成 40 mm \times 40 mm 的大小,置于盛有 100 mL 去离子水的烧杯中,置于恒温磁力搅拌器上 25 $^{\circ}\text{C}$ 下搅拌。准确量取 1 mL 样品溶液与 3 mL 的 DPPH 甲醇溶液均匀混合,室温下避光静置反应 30 min,然后采用紫外分光光度计在 $\lambda=517$ nm 处测定混合溶液的吸光度值,每组试验重复 3 次,取平均值,按式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$P = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

P ——自由基清除率,%;

A_i ——3 mL DPPH 甲醇溶液+1 mL 薄膜样品溶液的吸光度值;

A_j ——3 mL 甲醇溶液+1 mL 薄膜样品溶液的吸光

度值;

A_0 ——3 mL DPPH 甲醇溶液+1 mL 甲醇溶液的吸光度值。

1.4.11 复合抗菌薄膜的抑菌性能测定 参考张智宏^[22]的方法并适当改进,将 100 μ L 配制好的 10^8 CFU/mL 菌悬液均匀涂抹在冷却凝固的琼脂培养基上,待培养基表面晾干后用 8 mm 的无菌打孔器打孔,向每个孔中注入 1~5 MIC 的 PVA/CNC/PPE 复合抗菌薄膜溶液 50 μ L,每个浓度 3 组平行试验,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中培养 24 h,测量抑菌圈的大小,取平均值。

1.4.12 数据分析 每个样品设置 5 个平行对照组,使用 SPSS 18 对试验数据进行处理,使用 Origin 2018 进行图像绘制。

2 结果与分析

2.1 PPE 的最小抑菌浓度

由表 1 可知,PPE 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的 MIC 为 0.095 mg/mL,对白色念珠菌的 MIC 为 0.048 mg/mL,表明 PPE 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌及白色念珠菌均表现出良好的抑制效果,取 0.095 mg/mL 为 MIC 加入复合薄膜进行性能测试。PPE 含有丰富的多酚物质,其中包括单宁、鞣花酸、绿原酸、儿茶素等,这些多酚具有抗菌活性,能够抑制微生物蛋白合成、引起代谢功能障碍、破坏细胞质膜、分解细胞壁等,进而导致细胞裂解死亡^[23]。Sun 等^[24]认为,不同试验研究测得的 PPE 对微生物的最小抑菌浓度不同,这与 PPE 的提取方式、提取果实部位以及生长地区、季节等因素密切相关。石榴皮粗提取物的抑菌活性较好,与植物中复合成分的协同作用有关。

2.2 红外光谱分析

图 1 为 PPE、PVA/CNC 复合薄膜、PVA/CNC/PPE 复合抗菌薄膜的傅里叶红外光谱。在 PVA/CNC 红外光

表 1 PPE 最小抑菌浓度(MIC)的确定[†]

Table 1 Determination of minimum inhibitory concentration (MIC) for PPE

PPE 质量浓度/ (mg \cdot mL ⁻¹)	抑菌圈直径/mm		
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	白色念珠菌
3.125	21.76	20.74	25.88
1.560	20.78	19.56	22.95
0.780	17.85	17.66	16.78
0.390	14.68	13.27	14.83
0.190	12.04	10.79	12.49
0.095	9.98	9.36	10.67
0.048	—	—	9.46
0.024	—	—	—

[†] “—”表示无抑菌圈出现。

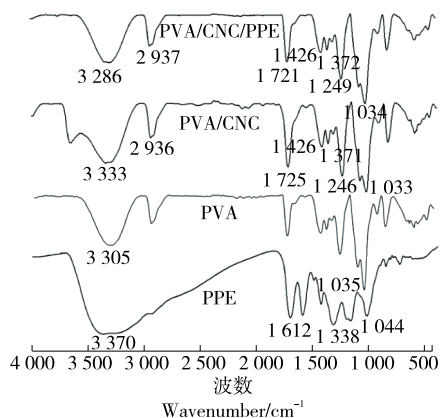


图 1 样品膜与对照样的红外光谱图

Figure 1 FTIR spectra of the sample film and its counterpart

谱中, 3 333 cm^{-1} 附近的宽吸收峰为 O—H 的伸缩振动峰; 2 936 cm^{-1} 附近为 C—H 的伸缩振动; 1 725 cm^{-1} 附近为 —OCOCH₃ 中 C=O 的伸缩振动; 1 426, 1 371 cm^{-1} 附近为 C—H 弯曲振动峰; 1 237 cm^{-1} 附近为 C—O 的弯曲振动峰; 1 033 cm^{-1} 附近为 C—O 的伸缩振动吸收峰。在 PPE 红外光谱中, 3 370 cm^{-1} 附近为 —OH 的伸缩振动峰, 1 612 cm^{-1} 处为 C=C 的伸缩振动峰, 1 338 cm^{-1} 附近为 O—H 的弯曲振动峰, 1 044 cm^{-1} 附近为 C—O—C 的伸缩振动峰^[25]。

对比添加 PPE 前后红外光谱可以看出, O—H 的伸缩振动峰向低波数移动, 为 3 286 cm^{-1} 处, 这是由于分子间相互作用力增强, 说明 PPE 与 PVA/CNC 分子间形成了新的氢键作用。1 034 cm^{-1} 处较明显的 C—O 的伸缩振动吸收峰的强度随着 PPE 添加到 PVA/CNC 基质中变得更加强烈, 是因为 PPE 组分中 C—O 伸缩振动峰的作用。可以推测在共混复合抗菌薄膜制备过程中, PPE 与 PVA/CNC 通过氢键作用结合, 从而影响了 O—H 在光谱中的吸收峰, 这也可能是影响抗氧化活性的原因^[26-27]。

2.3 复合抗菌薄膜 SEM 形貌

由图 2 可知, PVA/CNC 复合抗菌薄膜表面较为平整, CNC 在 PVA 基体中分散均匀, 表明 CNC 与 PVA 的相容性良好。当 PPE 添加量为 1 MIC 时, 复合抗菌薄膜表面变得粗糙, PPE 颗粒嵌入 PVA/CNC 复合抗菌薄膜, 未出现分相。随着 PPE 添加量的增加, 复合抗菌薄膜表面逐渐出现大量孔洞, 说明 PPE 的加入影响了复合抗菌薄膜的连续性。PPE 作为分散相加入 PVA/CNC 复合薄膜, 与复合薄膜组分形成新的氢键, 但随着 PPE 添加量的增加, 过量的 PPE 分子间会发生团聚, 削弱了薄膜组分间的相互作用, 因此 PPE 破坏了薄膜结构^{[22][28]}。Zahra 等^[29] 的研究中也发现类似结果, 向酪蛋白薄膜中加入石榴皮提取物使得薄膜形成了海绵状结构, 多酚与蛋白质

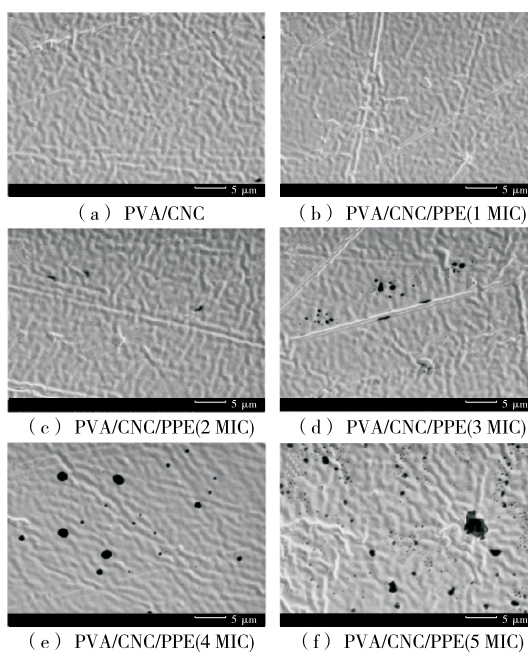


图 2 不同 PPE 添加量复合薄膜的扫描电镜图

Figure 2 SEM images of composite films with different PPE addition levels

的键合削弱了薄膜各组分之间的相互作用, 破坏了薄膜结构, 导致其力学性能下降。

2.4 复合抗菌薄膜力学性能

由图 3 可知, 未添加 PPE 的 PVA/CNC 复合薄膜的拉伸强度和断裂伸长率分别为 35.78 MPa 和 286.95%; PVA/CNC/PPE 复合抗菌薄膜的拉伸强度和断裂伸长率均随 PPE 添加量的增加而降低, 其中 PPE 添加量为 5 MIC 时, 复合抗菌薄膜的拉伸强度为 19.69 MPa, 较 PVA/CNC 复合薄膜降低了 44.97%, 断裂伸长率为 202.67%, 较 PVA/CNC 复合薄膜降低了 29.37%。出现这种变化趋势的原因可能是 PPE 酚类化合物含有的羟基与 PVA 和 CNC 之间形成了分子间氢键作用, 影响了

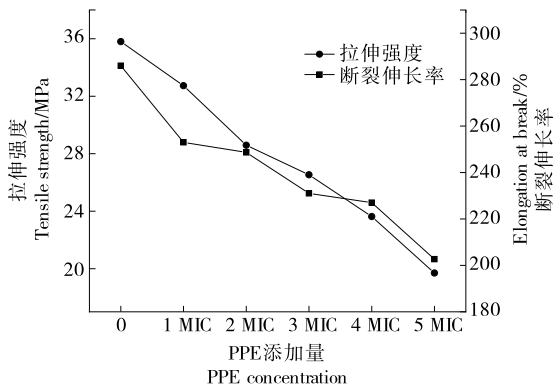


图 3 PPE 添加量对复合薄膜力学性能的影响

Figure 3 Effects of different PPE addition levels on mechanical properties of composite films

PVA 与 CNC 之间氢键的形成,从而破坏了 PVA/CNC 分子间的连续性,导致复合抗菌薄膜力学性能下降^[30]。如图 2(d)和图 2(f)所示,随着 PPE 添加量的增加,薄膜表面出现了不均匀、不规则的孔洞,部分 PPE 发生团聚,限制了 PVA 分子链的自由滑移,造成应力集中,复合抗菌薄膜呈现出一定的脆性,使得复合抗菌薄膜的力学性能下降,断裂伸长率下降^[27-28]。

2.5 复合抗菌薄膜水蒸气透过率

由图 4 可知,PVA/CNC 复合薄膜的水蒸气透过率为 $632.61 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$,PVA/CNC/PPE 复合抗菌薄膜的水蒸气透过率随 PPE 添加量的增加逐渐增大,当 PPE 添加量为 5 MIC 时,PVA/CNC/PPE 复合抗菌薄膜的水蒸气透过率达到 $814.75 \text{ g}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$,较 PVA/CNC 复合薄膜增加了 28.79%。原因可能是因为:① PPE 作为分散相加入到 PVA/CNC 复合薄膜中,破坏了复合薄膜基体的连续性,薄膜结构中出现部分孔洞,导致水蒸气分子更容易透过,与 SEM 结果一致;② PPE 中含有的大量亲水性酚类化合物也会导致复合抗菌薄膜的水蒸气透过率增加^[21]。Nubya 等^[20]认为,PPE 的加入会使得薄膜厚度增加,可能是因为 PPE 官能团体积较大所致,厚度是影响薄膜阻隔性的重要参数,可以影响膨胀、溶解度和水蒸气渗透性等测试结果。

2.6 复合抗菌薄膜水接触角

由图 5 可知,随着 PPE 添加量的增加,复合抗菌薄膜水接触角 θ 逐渐减小,复合抗菌薄膜亲水性增强,这是因为一方面,PPE 中含有的大量的亲水基—OH,导致复合抗菌薄膜易与水分子结合,另一方面,PPE 的添加不同程度地改变了薄膜的表面结构(见图 2),如裂痕或孔洞,使得薄膜表面的粗糙度增加,从而进一步增加了复合抗菌薄膜的亲水性^[27-28]。

2.7 复合抗菌薄膜透光率

由图 6 可知,PVA/CNC 复合抗菌薄膜的透光率为 85.12%,随着 PPE 添加量的增加,PVA/CNC/PPE 复合

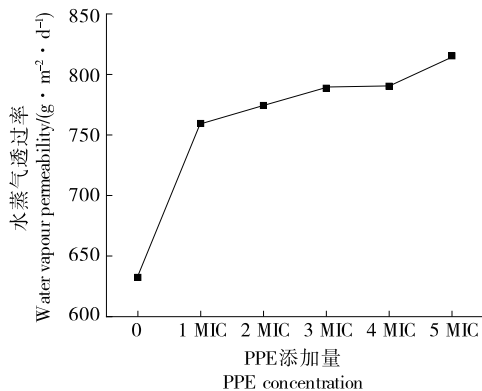


图 4 PPE 添加量对复合薄膜透水性影响

Figure 4 Effects of different PPE addition amount on water permeability of composite films

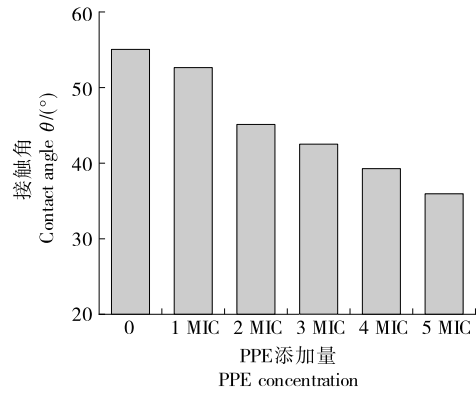


图 5 PPE 添加量对复合薄膜疏水性的影响

Figure 5 Effects of different PPE addition levels on hydrophobicity of composite films

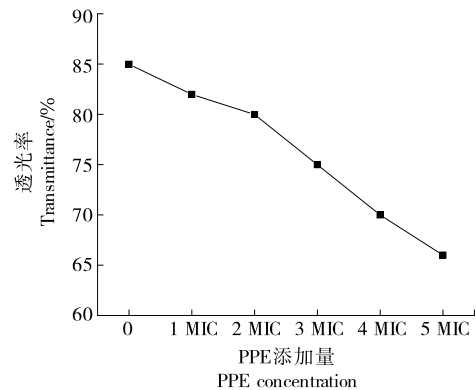


图 6 PPE 添加量对复合薄膜透光率的影响

Figure 6 Effects of different PPE addition amount on transmittance of composite films

抗菌薄膜的透光率逐渐下降,当 PPE 添加量为 5 MIC 时,复合抗菌薄膜透光率为 66.73%,相较 PVA/CNC 薄膜下降了 22.35%。原因为 PPE 本身是一种呈黄褐色的粉末,PPE 的添加加深了复合抗菌薄膜的色泽,降低了复合抗菌薄膜的透光率。此外,PPE 的添加增加了薄膜表面的粗糙度,增强了薄膜对光线的散射作用,从而增加了 PVA/CNC/PPE 复合抗菌薄膜对光的阻隔性能^[31],基于上述原因,PPE 抗菌复合薄膜更适用于色泽较深或需避光保存的食材保鲜。

2.8 复合抗菌薄膜抗氧化活性

复合抗菌薄膜的抗氧化活性主要受多酚含量的影响,安石榴苷是 PPE 的主要成分,其分子结构中含有 16 个可解离的—OH 基团,具有极高的抗氧化活性。从石榴皮废料中提取石榴皮多酚,可代替合成抗氧化剂在食品工业、化妆品、药物生产等领域被广泛有效利用^[27]。由表 2 可知,随着 PPE 添加量的增加,复合抗菌薄膜中的总酚含量逐渐增加,同时复合抗菌薄膜的 DPPH 自由基清除率也逐渐提高。当 PPE 添加量为 5 MIC 时,复合抗菌薄膜中的总酚含量增加到 $(5.92 \pm 0.17) \text{ mg}/\text{L}$,DPPH

表 2 PPE 添加量对复合薄膜总酚含量和 DPPH 自由基清除率的影响

Table 2 Effects of different PPE supplemental levels on total phenol content and DPPH free radical scavenging rate of composite films

PPE 添加量	总酚含量/(mg · L ⁻¹)	DPPH 自由基清除率/%
1 MIC	3.80±0.52	1.87±0.25
2 MIC	3.99±0.56	3.41±0.35
3 MIC	4.07±0.33	5.63±0.32
4 MIC	4.90±0.28	8.95±0.27
5 MIC	5.92±0.17	13.31±0.22

自由基清除率提高到(13.31±0.22)%。随着 PPE 添加量的不断增加,复合抗菌薄膜的亲水性不断增强,溶解过程中在水分子的溶剂化作用下,复合抗菌薄膜更易发生溶胀,氢键作用被破坏,薄膜中更多的 PPE 被释放出来,因此,测定出的复合抗菌薄膜的抗氧化活性不断提高^[20-21]。总体来看,复合抗菌薄膜总酚含量和 DPPH 自由基清除率与 PPE 添加量呈正相关,PPE 的添加有利于提高复合抗菌薄膜的抗氧化活性。

2.9 复合抗菌薄膜抑菌能力

由表 3 可知,PPE 添加量为 1 MIC 时,对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和白色念珠菌的抑菌圈大小分别为(18.62±0.32),(18.32±0.23),(20.45±0.26) mm,随着 PPE 添加量的增加,抑菌圈直径逐渐增大,所有复合抗菌薄膜均表现出良好的抑菌活性。对比不同浓度 PPE 对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌圈大小可以看出,金黄色葡萄球菌的抑菌圈较大,是因为革兰氏阳性菌比革兰氏阴性菌对抗菌化合物更敏感,革兰氏阴性菌的双层细胞壁较革兰氏阳性菌的单层细胞壁结构相对复杂,且革兰氏阴性菌的细胞壁含有脂多糖,脂多糖会阻碍活性物质到达细胞膜,因此革兰氏阴性菌对 PPE 的耐药性较高。Khalid 等^[28]研究了填充石榴皮提取物颗粒(PR)的聚己内酯/淀粉薄膜对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌效果,结果显示,复合薄膜对金黄色葡萄球菌的抑菌性随

表 3 PPE 添加量对复合薄膜抗菌性的影响

Table 3 Effects of different PPE supplemental levels on antibacterial properties of composite films

PPE 添加量	抑菌圈直径/mm		
	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	白色念珠菌
1 MIC	18.62±0.32	18.32±0.23	20.45±0.26
2 MIC	20.46±0.20	18.56±0.15	20.27±0.33
3 MIC	19.70±0.12	19.45±0.09	20.68±0.24
4 MIC	21.64±0.14	19.74±0.21	21.37±0.18
5 MIC	21.78±0.27	20.67±0.16	21.72±0.11

PR 浓度的增加而增强,对大肠杆菌均未检测到抑菌活性。Melendez 等^[32]使用扩散法测试了石榴皮提取物对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性,测得对两种菌的抑菌圈大小分别为 11,20 mm。而 PVA/CNC/PPE 复合抗菌薄膜对 3 种菌的抑制效果依次为:白色念珠菌>金黄色葡萄球菌>大肠杆菌。

3 结论

研究以聚乙烯醇/纳米纤维素晶体复合薄膜为基膜,加入不同倍数最小抑菌浓度的石榴皮多酚,采用流延成膜法制备聚乙烯醇/纳米纤维素晶体/石榴皮多酚复合抗菌薄膜,分析不同石榴皮多酚添加量对复合抗菌薄膜物理特性、抗氧化活性和抑菌性能的影响。试验结果表明,石榴皮多酚赋予了复合薄膜良好的抗氧化活性和抗菌活性,随着石榴皮多酚添加量的增加,复合抗菌薄膜的力学性能、透光率、水接触角均下降,水蒸气透过率、抗氧化活性、抗菌性均增加。聚乙烯醇/纳米纤维素晶体/石榴皮多酚复合抗菌薄膜具有良好的综合性能,后续可探索其对于易氧化变质蔬果的包装保鲜效果,未来有望作为绿色活性包装材料在食品包装领域得到广泛应用。

参考文献

- [1] MARIÑO C S, STANZIONE M, ANDRADEM A, et al. Development of active films utilizing antioxidant compounds obtained from tomato and lemon by-products for use in food packaging[J]. Food Control, 2022, 140: 109128.
- [2] NAIR M S, SAXENA A, KAUR C, et al. Characterization and antifungal activity of pomegranate peel extract and its use in polysaccharide-based edible coatings to extend the shelf-life of capsicum (Capsicum annum L.) [J]. Food and Bioprocess Technology, 2018, 11(7): 1 317-1 327.
- [3] TAÍLA V O, PEDRO A V F, CÍCERO C P, et al. Development and optimization of antimicrobial active films produced with a reinforced and compatibilized biodegradable polymers [J]. Food Packaging and Shelf Life, 2020, 24: 100459.
- [4] 梁真真,白绘宇,张胜文,等.载银聚乙烯醇/纳米晶纤维素/氧化石墨烯复合膜的制备及性能研究[J].化工新型材料,2019,47(1): 87-91.
- [5] LIANG Z Z, BAI H Y, ZHANG S W, et al. Preparation and properties of silver loaded polyvinyl alcohol/nanocrystalline cellulose/GO composite film[J]. New Chemical Materials, 2019, 47(1): 87-91.
- [6] 朱明秀,黄崇杏,蓝鸿雁,等.茶多酚对壳聚糖/聚乙烯醇复合膜性能的影响[J].包装工程,2018,39(5): 110-114.
- [7] ZHU M X, HUANG C X, LAN H Y, et al. Effects of tea polyphenols on the properties of chitosan/polyvinyl alcohol composite films[J]. Packaging Engineering, 2018, 39(5): 110-114.
- [6] OYEOKA H C, EWULONU C M, NWUZOR I C, et al. Packaging

- and degradability properties of polyvinyl alcohol/gelatinnanocomposite films filled water hyacinth cellulose nanocrystals[J]. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 2021, 6(2): 168-185.
- [7] 朱清梅, 陈秀琼, 李东泽, 等. 食品软包装用透明高阻隔涂料: PVA 涂料研究进展[J]. *精细化工*, 2022, 39(9): 1 729-1 738, 1 746.
- ZHU Q M, CHEN X Q, LI D Z, et al. Transparent high barrier coatings for flexible food packaging: Research progress of PVA coatings[J]. *Fine Chemical Industry*, 2022, 39(9): 1 729-1 738, 1 746.
- [8] NATALIYA E K, NIKOLAYD L. Structure and properties of biodegradable maize starch/chitosan composite films as affected by PVA additions [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 157: 377-384.
- [9] 丁蕊蕊, 陈志琪, 冯泳婷, 等. 淀粉/PVA/木糖醇改性材料制备及其黏附性能研究[J]. *合成材料老化与应用*, 2022, 51(3): 52-54.
- DING R R, CHEN Z Q, FENG Y T, et al. Preparation and adhesion of starch /PVA/ xylitol modified materials[J]. *Aging and Application of Synthetic Materials*, 2022, 51(3): 52-54.
- [10] 张创, 刘欣, 常会奇, 等. 水溶性聚乙烯醇薄膜应用及生产工艺[J]. *塑料科技*, 2021, 49(6): 101-105.
- ZHANG C, LIU X, CHANG H Q, et al. Application and production process of water-soluble polyvinyl alcohol film [J]. *Plastic Science and Technology*, 2021, 49(6): 101-105.
- [11] HANIEH K, MARCOS M, JIN H, et al. Recent developments onnanocellulose reinforced polymer nanocomposites: A review[J]. *Polymer: The International Journal for the Science and Technology of Polymers*, 2017, 132: 368-393.
- [12] KARGARZADEH H, HUANG J, LIN N, et al. Recent developments innanocellulose-based biodegradable polymers, thermoplastic polymers, and porous nanocomposites[J]. *Progress in Polymer Science*, 2018, 87: 197-227.
- [13] YOUNAS M, NOREEN A, SHARIF A, et al. A review on versatile applications of blends and composites of CNC with natural and synthetic polymers with mathematical modeling [J]. *International Journal of Biological Macromolecules: Structure, Function and Interactions*, 2019, 124: 591-626.
- [14] 张杰, 党斌, 杨希娟. 植物多酚的生理活性、抑菌机理及其在食品保鲜中的应用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(24): 460-468.
- ZHANG J, DANG B, YANG X J, et al. Research progress on physiological activity, bacteriostatic mechanism and application of plant polyphenols in food preservation[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(24): 460-468.
- [15] 费鹏, 赵胜娟, 陈曦, 等. 植物多酚抑菌活性、作用机理及应用研究进展[J]. *食品与机械*, 2019, 35(7): 226-230.
- FEI P, ZHAO S J, CHEN X, et al. Research progress on antibacterial activity, action mechanism and application of plant polyphenols[J]. *Food & Machinery*, 2019, 35(7): 226-230.
- [16] SINGH B, SINGH J P, KAUR A, et al. Antimicrobial potential of pomegranate peel: A review [J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2019, 54(4): 959-965.
- [17] GULLON B, PINTADO M E, ALVAREA J P, et al. Assessment ofpolyphenolic profile and antibacterial activity of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-product of juice extraction[J]. *Food Control*, 2016, 59: 94-98.
- [18] CUI H, SURENDRHIRAN D, LI C, et al. Biodegradablezein active film containing chitosan nanoparticle encapsulated with pomegranate peel extract for food packaging[J]. *Food Packaging and Shelf Life*, 2020, 24: 100511.
- [19] 齐昭京, 夏秀英. 壳聚糖复合涂膜对蓝莓贮藏品质及抗氧化系统的影响[J]. *北方园艺*, 2020(24): 97-106.
- QI S J, XIA X Y. Effects of chitosan composite coating on storage quality and antioxidant system of Blueberry [J]. *Northern Horticulture*, 2020(24): 97-106.
- [20] NUBYA C N, LOHANNA D F L, DAIANA F F, et al. Polymeric films containing pomegranate peel extract based on PVA/starch/PAA blends for use as wound dressing: In vitro analysis and physicochemical evaluation[J]. *Materials Science & Engineering C*, 2020, 109: 110643.
- [21] 王丹苗, 黄炳钰, 张兴超, 等. 石榴皮提取物抑菌与抗氧化作用研究[J]. *安徽农业科学*, 2014(35): 12 682-12 684.
- WANG D M, HUANG B Y, ZHANG X C, et al. Study on bacteriostasis and antioxidant activity of pomegranate peel extract [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2014(35): 12 682-12 684.
- [22] 张智宏. 壳聚糖/石榴皮提取物复合膜的制备及性能研究[D]. 云南: 昆明理工大学, 2013.
- ZHANG Z H. Preparation and properties of chitosan/pomegranate peel extract composite membrane[D]. Yunnan: Kunming University of Science and Technology, 2013.
- [23] ENDO E, CORTEZ D, UEDA N T, et al. Potent antifungal activity of extracts and pure compound isolated from pomegranate peels and synergism with fluconazole against *Candidaalbicans* [J]. *Research in Microbiology*, 2010, 161(7): 534-540.
- [24] SUN S W, HUANG S Q, SHI Y N, et al. Extraction, isolation, characterization and antimicrobial activities of non-extractable polyphenols from pomegranate peel [J]. *Food Chemistry*, 2021, 351: 129232.
- [25] XU J T, CHEN X Q, SHEN W H, et al. Sphericalvs rod-like cellulose nanocrystals from enzymolysis: A comparative study as reinforcing agents on polyvinyl alcohol[J]. *Carbohydrate Polymers: Scientific and Technological Aspects of Industrially Important Polysaccharides*, 2021, 256: 117493.
- [26] 王保营, 卢芳芳, 李潇潇, 等. PVA/石榴皮粉复合薄膜的制备及性能研究[J]. *塑料科技*, 2019, 47(3): 65-69.
- WANG B Y, LU F F, LI X X, et al. Preparation and properties of PVA/ pomegranate peel powder composite films[J]. *Plastic Science and Technology*, 2019, 47(3): 65-69.

(下转第 177 页)

- [21] 蒋丽婷, 李理. 豆腐乳质构与其成分相关性研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(8): 797-800, 854.
JIANG L T, LI L. The relation of chemical component to texture of White Sufu[J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 26(8): 797-800, 854.
- [22] 殷俊, 梅灿辉, 陈斌, 等. 肉丸品质的质构与感官分析[J]. 现代食品科技, 2011, 27(1): 50-55.
YIN J, MEI C H, CHEN B, et al. Sensory evaluation and instrumental measurement of meatballs[J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(1): 50-55.
- [23] 孙啸, 尤金杰, 周颀, 等. 添加木质素的火腿肠品质特性分析[J]. 现代食品科技, 2020, 36(8): 153-159.
SUN X, YOU J J, ZHOU D, et al. Analysis on quality characteristics of ham sausage with woody breast[J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(8): 153-159.
- [24] 徐晨, 诸永志, 葛庆丰, 等. 不同外源蛋白对小龙虾丸品质的影响[J]. 肉类研究, 2020, 34(4): 20-26.
XU C, ZHU Y Z, GE Q F, et al. Effect of exogenous proteins on the quality of crayfish balls[J]. Meat Research, 2020, 34(4): 20-26.
- [25] 赵子科, 曹文红, 何啸峰. 中国毛虾丸的研制[J]. 食品科技, 2013, 38(11): 142-152.
ZHAO Z K, CAO W H, HE X F. Development of the Shrimp Ball based on *Acetes chinensis*[J]. Food Science and Technology, 2013, 38(11): 142-152.
- [26] 刘岩, 李翔宇, 李成会. 色氨酸营养研究进展[J]. 中国饲料, 2019(5): 50-53.
LIU Y, LI X Y, LI C H. The research of tryptophan nutrition[J]. China Feed, 2019(5): 50-53.
- [27] FAO/WHO/UNU. Energy and protein requirements, report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation, world health organization technical report series 724[R]. Geneva: WHO, 1985: 121-123.
- [28] 张泽生, 高山, 郭擎, 等. 棕榈油酸的研究现状及展望[J]. 中国食品添加剂, 2016(9): 198-202.
ZHANG Z S, GAO S, GUO Q, et al. Processing and comprehensive utilization of palmitoleic acid [J]. China Food Additives, 2016(9): 198-202.
- [29] DEMAN J M, FINLEY J W, HURST W J, et al. Principles of Food Chemistry[M]. [S.l.]: Springer, Cham, 2018.
- [30] KATSUMI K, EMI H, HIROMI K, et al. Taste-masking effects of various foods on crude drug products[J]. Japanese Journal of Food Chemistry and Safety, 2019, 26(1): 68-76.
-
- (上接第 109 页)
- [27] HE L, LAN W, AHMED S, et al. Electrospun polyvinyl alcohol film containing pomegranate peel extract and sodium dehydroacetate for use as food packaging[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2019, 22: 100390.
- [28] KHALID S, YU L, FENG M, et al. Development and characterization of biodegradable antimicrobial packaging films based on polycaprolactone, starch and pomegranate rind hybrids[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2018, 18: 71-79.
- [29] ZAHRA E D, AREZOO M, SEYED A, et al. Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel extract, physical, mechanical, barrier and antimicrobial properties of pomegranate peel extract-incorporated sodium caseinate film and application in packaging for ground beef[J]. Packaging Technology and Science, 2015, 28(10): 869-881.
- [30] HANANI Z A N, YEE F C, NOR-KHAIZURA M A R. Effect of pomegranate (*Punica granatum L.*) peel powder on the antioxidant and antimicrobial properties of fish gelatin films as active packaging[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 89: 253-259.
- [31] 户帅锋, 谢庆超, 梁贤波, 等. 含石榴皮提取物的活性薄膜在猪肉保鲜中的应用研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(5): 131-136.
LU S F, XIE Q C, LIANG X B, et al. Application of active film containing pomegranate peel extract in pork preservation[J]. Food & Machinery, 2016, 32(5): 131-136.
- [32] MELENDEZ P A, CAPRILES V A. Antibacterial properties of tropical plants from puerto rico [J]. Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology, 2006, 13(4): 272-276.
-
- (上接第 116 页)
- [13] ROUILLARD V, SEK M A. Creating transport vibration simulation profiles from vehicle and road characteristics [J]. Packaging Technology and Science, 2013, 26: 82-95.
- [14] 高德, 吴朝武, 陆俊杰. 运输包装系统振动行为研究与发展趋势分析[J]. 包装工程, 2020, 41(15): 51-58.
GAO D, WU C W, LU J J. Dynamic behavior research and dynamic development of transportation packaging system [J]. Packaging Engineering, 2020, 41(15): 51-58.
- [15] 王立军. 产品运输包装系统的加速随机振动试验研究[D]. 广州: 暨南大学, 2019: 2-4.
WANG L J. Investigation on accelerated random vibration test of product transportation packaging system [D]. Guangzhou: Jinan University, 2019: 2-4.
- [16] 宋卫生, 薛阳, 边文慧, 等. 瓦楞纸板楞形参数对力学性能的影响[J]. 包装工程, 2020, 41(17): 147-151.
SONG W S, XUE Y, BIAN W H, et al. Influence of corrugated parameters of corrugated board on mechanical properties [J]. Packaging Engineering, 2020, 41(17): 147-151.
- [17] 石岩, 张括, 王芳, 等. 全瓦楞纸板的红酒包装内衬设计及跌落分析[J]. 包装工程, 2017, 38(9): 135-140.
SHI Y, ZHANG K, WANG F, et al. Design and dropping analysis of package lining for red wine with all corrugated board [J]. Packing Engineering, 2017, 38(9): 135-140.