

## 纳米银/壳聚糖复合膜的制备及性能

辛宜聪, 于嘉伦, 徐丹  
(西南大学, 重庆 400715)

**摘要:** 目的 将纳米银 (AgNPs) 加入到壳聚糖 (CS) 中制备 AgNPs 复合膜, 探究 AgNPs 的含量 (质量分数为 0.5%, 1%, 2%) 对复合膜的结构与性能的影响。方法 采用柑橘皮提取液还原合成 AgNPs 粒子, 与 CS 通过共混流延法制备复合膜, 测定复合膜的红外光谱、微观形貌、溶胀率、溶解度、拉伸性能和抑菌效果等。结果 采用柑橘皮提取液还原合成的 AgNPs 在 CS 基材中具有较好的分散性。当 AgNPs 的质量分数为 1% 及以上时, 复合膜的结晶度降低, 溶胀率和溶解度显著增加, 拉伸强度和断裂伸长率均显著降低。复合膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长抑制效果均随 AgNPs 含量的增加而显著增强。结论 AgNPs 在 CS 基材中分散良好, 并大大增强了复合膜的抗菌活性。

**关键词:** 纳米银; 壳聚糖; 复合膜; 抗菌活性

中图分类号: TB484.9 文献标识码: A 文章编号: 1001-3563(2017)19-0020-05

## Preparation and Performance of Nano-silver/chitosan Composite Films

XIN Yi-cong, YU Jia-lun, XU Dan  
(Southwest University, Chongqing 400715, China)

**ABSTRACT:** The work aims to prepare the AgNPs composite films by adding the nano-silver (AgNPs) to chitosan (CS), so as to investigate the effect of AgNPs content (mass fraction: 0.5%, 1% and 2%) on the structure and performance of the composite films. AgNPs were firstly synthesized via reduction by citrus peel extract, and then were incorporated into CS to prepare the composite films through blending casting. The FTIR spectra, micro-morphologies, swelling ratio and solubility, tensile properties and antibacterial effects of the composite films were measured. AgNPs synthesized via reduction with citrus peel extract showed good dispersion in chitosan matrix. When the mass fraction of AgNPs was 1% or above, the degree of crystallinity of the composite films was decreased. Therefore, the swelling ratio and solubility of the composite films were significantly increased, and the tensile strength and elongation at break were remarkably decreased. However, the inhibition effect of the composite films toward the growth of *E. coli* and *S. aureus* was significantly enhanced with the increasing content of AgNPs. AgNPs are well dispersed in chitosan matrix, and significantly improve the antibacterial activities of the composite films.

**KEY WORDS:** nano-silver; chitosan; composite film; antibacterial activity

近年来, 具有抑菌作用的包装材料被认为是最具发展前景的活性包装材料之一。抗菌包装可通过与食品接触来抑制食品表面微生物的生长繁殖, 从而达到延长食品货架期、保证食品质量安全和延长食品贮藏时间的目的<sup>[1]</sup>。壳聚糖是一种具有良好成膜性、生物可降解性和生物相容性的天然高分子材料, 对细菌和

真菌等微生物的生长均有一定的抑制作用。近年来, CS 被作为食品抗菌包装受到了广泛关注<sup>[2-3]</sup>, 但 CS 的力学性能较差, 且其抑菌效果受细菌种类、环境因素以及本身的分子结构等多种因素的影响<sup>[4]</sup>。在 CS 等基材中添加具有抗菌性的纳米粒子, 例如纳米银 (AgNPs), 一方面可增强其抗菌效果, 扩大抗菌谱;

收稿日期: 2017-08-17

基金项目: 重庆市社会事业与民生保障专项一般项目 (cstc2015shmszx80011); 中央高校基本科研业务费专项 (XDKJ2016E115)  
作者简介: 辛宜聪 (1996—), 女, 西南大学本科生, 主攻纳米复合材料。

通讯作者: 徐丹 (1983—), 女, 西南大学副教授, 主要研究方向为纳米复合包装材料。

另一方面也可利用纳米粒子良好的力学性能,使复合材料的强度等性能得到改善<sup>[5]</sup>。AgNPs具有高比表面积,良好的热稳定性、力学性能,以及广谱抑菌性能,且对人体的毒性较小<sup>[6]</sup>,因此在生物医学和抗菌包装等领域具有较高的应用潜力。

目前,通常采用化学还原剂还原银离子来制备AgNPs。这些化学还原剂大多具有一定的毒性,为后续使用带来了安全隐患。采用从天然植物(如黄连<sup>[7]</sup>、紫苏<sup>[8]</sup>、绿茶<sup>[9]</sup>等)中提取的还原性物质来合成纳米粒子,一方面可减少有毒试剂的使用,另一方面也可进一步提高AgNPs的安全性<sup>[8,10]</sup>。文中将柑橘皮提取物制备的AgNPs与CS进行共混,得到复合膜,以考察AgNPs的添加量对复合膜结构、拉伸性能及抗菌性的影响。

## 1 实验

### 1.1 材料

材料: CS(脱乙酰度为90.1%,粘度为1020 mPa·s,相对分子质量为180 000),购自潍坊海之源生物制品有限公司;新鲜天草柑,购于本地市场;氢氧化钠(分析纯),购自成都科龙化工试剂厂;大肠杆菌(BNCC 133264)和金黄色葡萄球菌(BNCC 186335),均购自苏州北纳创联生物技术公司;硝酸银和冰乙酸均为分析纯,购自成都科龙化工试剂厂。

### 1.2 试样制备

1) AgNPs的制备。参照前期实验方法<sup>[11]</sup>,称取10 g天草柑的橘皮加入80 mL纯水中,用榨汁机打碎后,在90 °C条件下热浸提20 min,抽滤得到柑橘皮提取液。将浓度为10 mmol/L的硝酸银与柑橘提取液以1:2的体积比混合后,90 °C条件下搅拌2 h,得到分散液。

2) 复合膜的制备。称取一定量的CS于体积分数为1%的乙酸溶液中,搅拌至完全溶解,配成质量分数为1%的CS溶液。分别加入一定量的上述AgNPs分散液,使得AgNPs的质量分数分别为CS的0%,0.5%,1%和2%的AgNPs,搅拌24 h。将完全溶解的CS溶液进行超声处理20 min后,静置24 h后,倒入培养皿中,放入干燥箱中40 °C干燥至溶剂挥发完全。将膜取出后用1 mol/L的氢氧化钠溶液浸泡20 min,再用纯水反复清洗,室温下晾干后放入干燥皿中保存备用。

### 1.3 性能与测试

1) 膜的红外光谱测定。将厚度约为5 μm的复合膜采用IR Prestige-21傅里叶变换红外光谱仪(FTIR,日本岛津公司)进行扫描,扫描范围为400~4000 cm<sup>-1</sup>。

2) 薄膜的溶胀率与溶解度测试。首先将样品在40 °C环境中烘干至恒质量,称量该初始质量为m<sub>0</sub>,之

后将膜在23 °C的纯水中浸泡24 h。取出后用滤纸吸干水分进行称量,得到质量为m<sub>1</sub>,采用式(1)计算溶胀率。再将膜烘干至恒质量,此时记质量为m<sub>2</sub>,采用式(2)计算溶解度。每种样品至少重复测定3次。

$$\text{溶胀率} = \frac{m_1 - m_0}{m_0} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{溶解度} = \frac{m_2 - m_0}{m_0} \times 100\% \quad (2)$$

3) 薄膜表面的形貌测定。裁取小块样品固定并喷金后,采用扫描电镜(SEM,日本电子JEOLJEM-2100)对薄膜表面进行显微图片拍摄。

4) 薄膜的结晶形貌测定。采用日本SHIMADZU XRD-7000衍射仪(Cu, Kα辐射)测定样品的X射线衍射谱图,λ=1.5418 Å(1 Å=0.1 nm)。

5) 薄膜的拉伸性能测定。薄膜的力学性能测试采用智能电子拉力机(XLW-PC型,济南兰光机电技术有限公司),参照GB/T 1040.3进行测试,样品宽度为10 mm,夹具间距为50 mm,拉伸速度为50 mm/min。每种样品至少重复测定10次。

6) 复合膜抗菌性能测试。将大肠杆菌与金黄色葡萄球菌进行活化培养,测得大肠杆菌的菌液浓度为1.5×10<sup>7</sup> CFU,金黄色葡萄球菌菌液浓度为2.2×10<sup>7</sup> CFU。分别吸取100 μL活化后的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌液加入到凝固的琼脂培养基平板上,均匀涂布。用直径为6 mm的打孔器对薄膜进行取样,将得到的圆形膜片在紫外灯下灭菌30 min后,用无菌镊子夹取至培养基平板表面,每个平板均匀分布3个膜片。然后将平板放入37 °C的恒温培养箱中培养24 h后取出,用游标卡尺测量抑菌圈直径。每种样品至少重复测定3次。

### 1.4 数据处理

数据均以平均值±均方差的形式给出,采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行显著性分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 复合膜的红外光谱图

AgNPs、CS膜与各复合膜的红外光谱见图1。从图1中可以看出,由柑橘皮提取物还原制备的AgNPs在1063, 1384, 1636 cm<sup>-1</sup>,以及3000~3600 cm<sup>-1</sup>处均有较强的吸收峰。由于柑橘皮提取物中含有丰富的类黄酮、酚酸和维生素C等有机分子<sup>[11]</sup>,在合成AgNPs时,这些有机分子很有可能会吸附在AgNPs粒子表面,从而使得AgNPs中含有丰富的醛、酮和酚酸等活性基团,而产生上述吸收峰。同样,CS中也具有大量的C—O键以及羟基和胺基等活性基团,因此在1068, 1589, 1646 cm<sup>-1</sup>以及3300 cm<sup>-1</sup>处出现了吸收峰,分别对应于C—O—C骨架、酰胺II带、酰胺I带以及O—H

和 N—H 的吸收峰<sup>[12]</sup>。一般而言，通过红外光谱图可以观察到添加的纳米粒子与 CS 膜之间的相互关系，但图 1 中不同 AgNPs 含量的复合膜与 CS 膜的红外吸收谱图非常接近。这一方面可能是由于柑橘皮提取物还原制备的 AgNPs 与 CS 两者的红外特征峰位置比较接近，另一方面 AgNPs 的添加量相对较少，因此在复合膜中难以观察到二者的相互作用。

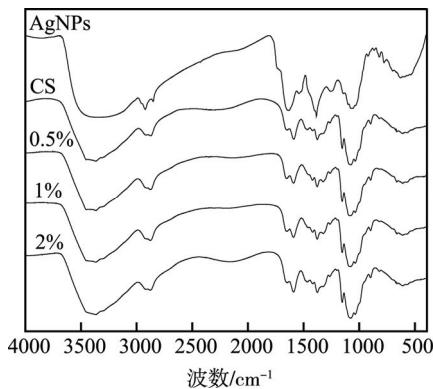


图 1 纳米银、壳聚糖膜以及不同含量 AgNPs 复合膜的红外光谱

Fig.1 FTIR spectra of AgNPs, chitosan films (CS), and composite films with different contents of AgNPs

## 2.2 AgNPs 对复合膜结晶形貌的影响

AgNPs、壳聚糖膜以及各复合膜的 X 射线衍射谱见图 2。其中，AgNPs 在  $2\theta$  为  $38.2^\circ$ ,  $44.2^\circ$ ,  $64.5^\circ$  和  $77.4^\circ$  处出现较强的吸收峰，分别对应于银的 (111), (200), (220) 和 (311) 晶面衍射<sup>[13]</sup>。纯 CS 膜的衍射峰分别出现在  $11^\circ$  和  $20^\circ$  左右，分别对应于具有 Form I 和 Form II 等 2 种晶体形态<sup>[14—15]</sup>。在复合膜的谱图中，随着 AgNPs 含量的增加，一方面，在  $38.2^\circ$  处出现了 AgNPs 的特征峰，并随着 AgNPs 含量的增加而增强；另一方面， $11^\circ$  处的衍射峰强度逐渐减弱。由此说明，AgNPs 的加入在一定程度上阻碍了 CS 分子链的有序排列，减少了 Form I 晶型的形成，降低了其结晶度<sup>[16]</sup>。

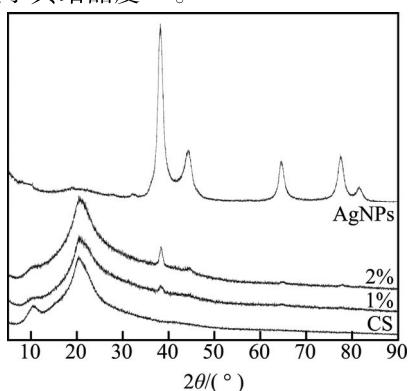


图 2 纳米银、壳聚糖膜以及不同含量 AgNPs 复合膜的 X 射线衍射谱

Fig.2 XRD patterns of AgNPs, chitosan films (CS), and composite films with different contents of AgNPs

## 2.3 AgNPs 对复合膜表面微观形貌的影响

壳聚糖膜和各复合膜表面的电镜扫描图见图 3。由图 3 中可看出，CS 膜表面具有均匀致密的结构。AgNPs 的加入使得膜中出现了少量尺寸很小 ( $<100$  nm) 的颗粒，即 AgNPs。该方法制备的 AgNPs 的尺寸较小，平均粒径约为  $23$  nm<sup>[11]</sup>。由此说明，当复合膜中 AgNPs 含量较低时，AgNPs 在 CS 中的分布较少。当 AgNPs 含量增加至 2% 时，复合膜中 AgNPs 粒子的数量显著增加。虽然出现了部分团聚，但总体分布较为均匀。

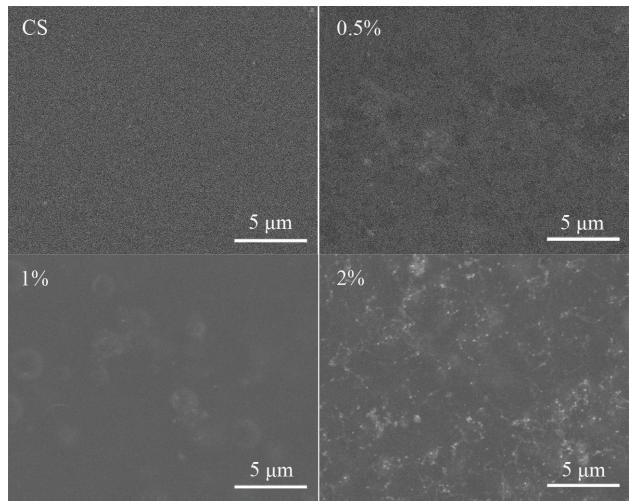


图 3 纳米银、壳聚糖膜以及不同含量 AgNPs 复合膜表面的电镜扫描图

Fig.3 Surface SEM images of AgNPs, chitosan films (CS) and composite films with different contents of AgNPs

## 2.4 AgNPs 对复合膜溶胀率和溶解度的影响

壳聚糖膜 (CS) 和各复合膜的溶胀率和溶解度见图 4，同条曲线中的数据点所标字母中无相同字母，则表示组间差异明显 ( $P<0.05$ )。随着 AgNPs 质量分数的增加，复合膜溶胀率和溶解度也随之增加。当 AgNPs 质量分数达到 1% 时，复合膜溶胀率和溶解度均显著高于 CS 膜。CS 的溶胀和溶解主要发生在其无定形区<sup>[17]</sup>。AgNPs 的加入降低了其结晶度，导致无

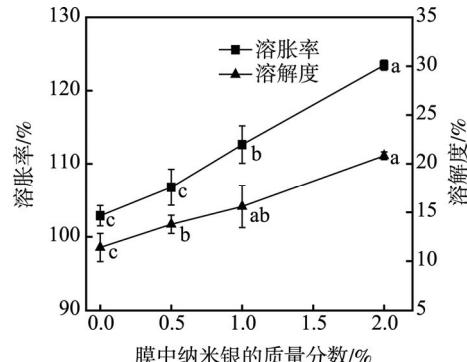


图 4 AgNPs 的质量分数对复合薄膜溶胀率和溶解度的影响

Fig.4 Effects of AgNPs mass fraction on the swelling ratio and solubility of the composite films

定形区的增加, 从而使得复合膜的溶胀率、溶解度也随之提高。

## 2.5 AgNPs 对复合膜拉伸性能的影响

壳聚糖膜与各复合膜的拉伸性能见图 5, 同条曲线中的数据点所标字母中无相同字母, 则表示组间差异明显 ( $P < 0.05$ )。从图 5 中可看出, 复合膜的拉伸强度随着 AgNPs 质量分数的增加而降低, 这可能也与复合膜结晶度的降低有关。同时, 复合膜的断裂伸长率也随 AgNPs 质量分数的增加而降低。尤其是当 AgNPs 的质量分数为 2% 时, 断裂伸长率急剧下降。这可能是由于较多的纳米粒子在膜中阻碍了 CS 分子链的运动, 因此增加了其脆性<sup>[18]</sup>。

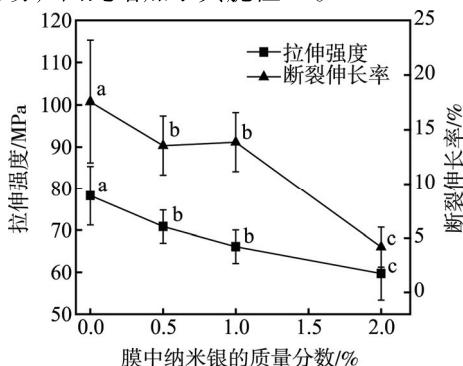


图 5 AgNPs 的质量分数对复合膜拉伸强度和断裂伸长率的影响

Fig.5 Effects of AgNPs mass fraction on the tensile strength and elongation at break of the composite films

## 2.6 AgNPs 对复合膜的抗菌性能的影响

复合膜对大肠杆菌的抑菌效果见图 6。从图 6 可

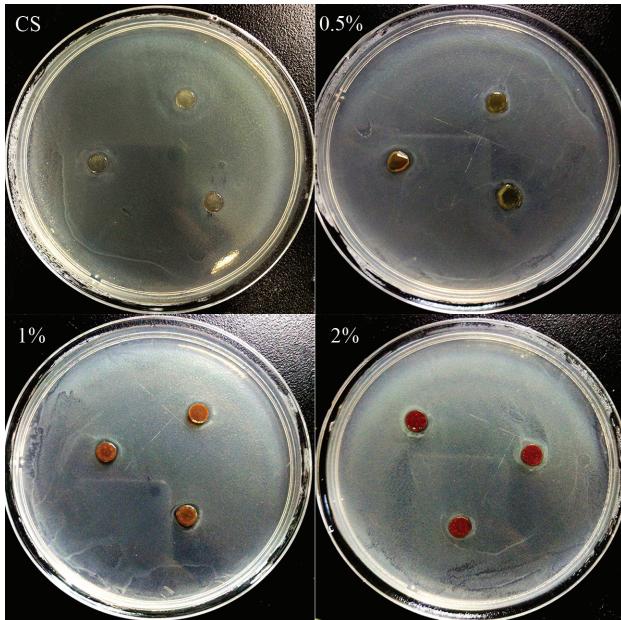


图 6 壳聚糖膜和不同含量 AgNPs 复合膜对大肠杆菌的抑菌效果

Fig.6 Inhibitory effects of CS films and composite films with different contents of AgNPs against *E. coli*

观察到, CS 膜的膜表面及边缘没有长出菌落, 但抑菌圈不明显, 说明 CS 对大肠杆菌有一定的抑菌作用但并不明显。随着 AgNPs 加入量的增加, 圆膜周围开始出现明显的抑菌圈, 且直径随着 AgNPs 质量分数的增加而增加。CS 膜和 AgNPs 复合膜对金黄色葡萄球菌的抑菌圈大小与此类似(图片未给出)。

CS 膜和 AgNPs 复合膜对 2 种细菌的抑菌圈直径见表 1。从表 1 中数据可看出, 复合膜对 2 种细菌的抑菌圈的直径大小均随着膜中 AgNPs 含量的增加而显著增大, 说明 AgNPs 的添加可显著提高复合膜的抑菌效果。同时, CS 膜对金黄色葡萄球菌的抑制效果要弱于大肠杆菌。这可能是由于 CS 的抗菌机理主要通过其分子中的氨基阳离子与细菌的细胞膜结合, 从而破坏其细胞膜结构, 导致细菌内容物流出而死亡<sup>[4]</sup>, 但金黄色葡萄球菌为革兰氏阳性菌, 其细胞膜表面带正电荷, 因此 CS 与之结合力较差。AgNPs 对革兰氏阳性菌和阴性菌的生长均具有很强的抑制作用<sup>[19–20]</sup>, 因此, 当复合膜中 AgNPs 的质量分数为 2% 时, 复合膜对 2 种菌的生长均有良好的抑制作用, 且对二者作用效果相近。

表 1 CS 膜和 AgNPs 复合膜对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌圈直径

Tab.1 Inhibitory zone diameter of CS films and AgNPs composite films against *E. coli* and *S.aureus*

膜中 AgNPs 的质量分数/%	抑菌圈直径/mm	
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
0	5.95±0.08 <sup>d</sup>	3.03±0.04 <sup>d</sup>
0.5	7.78±0.24 <sup>c</sup>	7.22±0.19 <sup>c</sup>
1	8.40±0.3 <sup>b</sup>	7.78±0.29 <sup>b</sup>
2	9.21±0.27 <sup>a</sup>	9.42±0.33 <sup>a</sup>

注: 同一列数据上标字母中无相同字母, 则表示组间差异明显 ( $P < 0.05$ )

## 3 结语

将 AgNPs 加入到 CS 中制得 AgNPs 复合膜, 纳米粒子分散在 CS 分子中影响聚合物的交联结构, 使复合膜的结晶度降低, 溶胀率、溶解度增加, 拉伸性能降低。由于 AgNPs 具有良好的抑菌性能, 因此复合膜的抑菌性能增加。当 AgNPs 的质量分数为 1% 时, 纳米粒子在 CS 中发生少量团聚, 因此 AgNPs 的质量分数过高会导致纳米粒子团聚, 从而影响其性质。

CS 作为可降解的包装材料, 加入 AgNPs 可以显著提高其抑菌性, 且采用生物还原的方法制备 AgNPs 较为环保, 因此生物纳米复合包装材料在未来包装的应用中具有巨大的潜力。

## 参考文献:

- [1] KAPETANAKOU A E, SKANDAMIS P N. Applica-

- tions of Active Packaging for Increasing Microbial Stability in Foods: Natural Volatile Antimicrobial Compounds[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2016(12): 1—12.
- [2] PHILIBERT T, LEE B H, FABIEN N. Current Status and New Perspectives on Chitin and Chitosan as Functional Biopolymers[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2017, 181(4): 1314—1337.
- [3] CAZ N P, VELAZQUEZ G, RAM REZ J A, et al. Polysaccharide-based Films and Coatings for Food packaging: A review[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 68: 136—148.
- [4] KONG M, CHEN X G, XING K, et al. Antimicrobial Properties of Chitosan and Mode of Action: A State of the Art Review[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2010, 144(1): 51—63.
- [5] KUMAR N, KAUR P, BHATIA S. Advances in Bio-nocomposite Materials for Food Packaging: a Review[J]. *Nutrition & Food Science*, 2017, 47(4): 591—606.
- [6] SHAHID UL I, BUTOLA B S, MOHAMMAD F. Silver Nanomaterials as Future Colorants and Potential Antimicrobial Agents for Natural and Synthetic Textile Materials[J]. *Rsc Advances*, 2016, 6(50): 44232—44247.
- [7] AHMAD A, WEI Y, SYED F, et al. The Effects of Bacteria-nanoparticles Interface on the Antibacterial Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 102: 133—142.
- [8] RAMKUMAR G, KARTHI S, SUGANYA R, et al. Evaluation of Silver Nanoparticle Toxicity of Coleus Aromaticus Leaf Extracts and Its Larvicidal Toxicity against Dengue and Filariasis Vectors[J]. *Bionanosciences*, 2016, 6(4): 308—315.
- [9] RONAVARI A, KOVACS D, IGAZ N, et al. Biological Activity of Green-synthesized Silver Nanoparticles Depends on the Applied Natural Extracts: a Comprehensive Study[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12: 871—883.
- [10] AHMAD H, RAJAGOPAL K, SHAH A H. The Green Route of Silver Nanotechnology: Phytosynthesis and Applications[J]. *International Journal of Nano Dimension*, 2016, 7(2): 97—108.
- [11] 王婷, 陈晓, 于嘉伦, 等. 橘皮中抗氧化成分含量与纳米银还原率的关系[J]. 包装工程, 2017, 38(15): 41—46.
- WANG Ting, CHEN Xiao, YU Jia-lun, et al. Relationship between the Content of Antioxidant Components in Citrus Peels and Their Reduction Efficiency Towards Nano-silver[J]. *Packaging Engineering*, 2017, 38(15): 41—46.
- [12] 邹小波, 王圣, 石吉勇, 等. 天然花青素提取物与壳聚糖明胶复合膜的制备和表征[J]. 农业工程学报, 2016, 32(17): 294—300.
- ZHOU Xiao-bo, WANG Sheng, SHI Ji-yong, et al. Preparation and Characterization of Chitosan/gelatin Composite Films Incorporated with Four Natural Pigments[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2016, 32(17): 294—300.
- [13] VARADAVENKATESAN T, VINAYAGAM R, SELVARAJ R. Structural Characterization of Silver Nanoparticles Phyto-mediated by a Plant Waste, Seed Hull of Vigna Mungo and Their Biological Applications[J]. *Journal of Molecular Structure*, 2017, 1147 (Supplement C): 629—635.
- [14] WANG Z, ZHENG L, LI C, et al. Modification of Chitosan with Monomethyl Fumaric Acid in an Ionic Liquid Solution[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 117: 973—979.
- [15] GAMIZ-GONZALEZ M A, PISKIN A E, PANDIS C, et al. Determining the Influence of N-acetylation on Water Sorption in Chitosan Films[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 133: 110—116.
- [16] KANG S G H J H, KIM C K. Morphology and Mechanical Properties of Nanocomposites Fabricated from Organoclays and a Novolac Phenolic Resin via Melt Mixing[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2010, 49(23): 11954—11960.
- [17] ZHU Y X H, REN J, ET AL. Self-healing Multilayer Polyelectrolyte Composite Film with Chitosan and Poly(Acrylic Acid)[J]. *Soft Matter*, 2015, 11(43): 8452—8459.
- [18] DADFAR S M M, KAVOOSI G. Mechanical and Water Binding Properties of Carboxymethyl Cellulose/multiwalled Carbon Nanotube Nanocomposites[J]. *Polymer Composites*, 2015, 36(1): 145—152.
- [19] DALLAS P, SHARMA V K, ZBORIL R. Silver Polymeric Nanocomposites as Advanced Antimicrobial Agents: Classification, Synthetic Paths, Applications, and Perspectives[J]. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2011, 166(1): 119—135.
- [20] WANG J, LI J, GUO G, et al. Silver-nanoparticles-modified Biomaterial Surface Resistant to Staphylococcus: New Insight into the Antimicrobial Action of Silver[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 32699.