

doi:10.12301/spxb202300568

文章编号:2095-6002(2025)01-0126-11

引用格式:庄良,王平飞,陈立石,等. CuZnAl-MMO 复合纳米抗菌薄膜对樱桃保鲜效果的影响[J]. 食品科学技术学报,2025,43(1):126-136.



ZHUANG Liang, WANG Pingfei, CHEN Lishi, et al. Effect of CuZnAl-MMO composite antimicrobial nanofilms on cherry preservation[J]. Journal of Food Science and Technology, 2025,43(1):126-136.

CuZnAl-MMO 复合纳米抗菌薄膜对樱桃保鲜效果的影响

庄良,王平飞,陈立石,孟童,罗倩,何杉,张桂菊,徐宝财*
(北京工商大学轻工科学技术学院,北京 100048)

摘要: 樱桃采后易腐烂且易被微生物感染,而传统保鲜方法具有潜在毒性和化学残留等缺点。为了解决这一问题,采取有机无机杂化策略,构建由 CuZnAl 复合金属氧化物(CuZnAl-MMO)纳米粒子增强的壳聚糖(CS)和聚乙烯醇(PVA)的复合纳米薄膜。通过分析纳米薄膜的形态结构、力学性能、疏水性能和阻隔性能,证明了 CuZnAl-MMO 与 CS/PVA 发生了自组装,增强了纳米薄膜的力学性能和疏水性。相较于 CS/PVA-0% MMO 纳米薄膜,CS/PVA-6% MMO 纳米薄膜的拉伸强度增加了 35%,接触角从 43.4° 上升到了 67.9°。此外,CS/PVA-6% MMO 纳米薄膜的水蒸气透过率和氧气透过率比 CS/PVA-0% MMO 纳米薄膜分别下降了 43.2% 和 80.3%。这是由于自组装过程导致了薄膜内碳链通道的重组,从而提高了阻隔性能。这种重组促进了有利于樱桃储存的微环境的形成,既提高了纳米薄膜的防潮性,又促进了气体改良气氛的形成。研究发现,随着 CuZnAl-MMO 在纳米薄膜中含量的逐渐增加,纳米薄膜对革兰氏阴性菌大肠杆菌、革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌和灰霉菌的抗菌性能逐渐增强。樱桃保鲜实验结果显示,纳米薄膜能够显著降低坏果率、失重率以及樱桃表面的总菌落数,同时延缓了硬度的下降。纳米薄膜还改善了樱桃的呼吸频率,使得包装袋内的 CO₂ 体积分数升高至 16.1%。在纳米薄膜内成功促进气体改良气氛形成对樱桃的保存非常有利。CuZnAl-MMO 复合纳米薄膜对微生物的抑制效果和对樱桃保鲜性能的提升表明,这种新型保鲜方法具有一定的应用前景。研究旨在为 CuZnAl-MMO 复合纳米薄膜在果蔬保鲜领域的应用提供一定的理论基础。

关键词: 水滑石; 纳米薄膜; 自组装; 多元抗菌中心; 樱桃保鲜

中图分类号: TS255.3; TS206.4

文献标志码: A

樱桃(*Prunus avium*)因其独特的风味、丰富的营养而广受欢迎。然而,由于其高呼吸速率和易受碰伤、腐烂等因素影响,樱桃容易受到微生物感染,限制了其长期供应。传统的采后保鲜技术通过喷洒、熏蒸和浸泡 ClO₂、有机酸、CaCl₂ 和 1-甲基环丙烯等化学品来延长货架期^[1-2],但这些化学品多存在

潜在毒性或残留问题^[3]。因此,构建高效、绿色、安全的防护屏障,防止微生物感染已成为樱桃保鲜亟待解决的问题。

近年来,来源于天然生物聚合物的纳米薄膜作为合成塑料的环保替代品,能有效构建绿色安全的防护屏障,防止樱桃等易腐果蔬被微生物感染,成为

收稿日期:2023-09-11

基金项目:北京市教育委员会科技计划项目(KZ202210011015)。

Foundation: Beijing Municipal Education Commission Science and Technology Plan Project (KZ202210011015).

第一作者:庄良,男,博士研究生,研究方向为有机无机杂化材料在生物食品领域的应用。

*通信作者:徐宝财,男,教授,博士,主要从事有机无机杂化材料在生物食品领域应用方面的研究。

延长果蔬保鲜期的关键技术^[4-7]。生物聚合物纳米薄膜是通过将壳聚糖(CS)、玉米蛋白、淀粉、果胶等生物聚合物与金属纳米粒子结合制备而成的。金属纳米粒子因其可调尺寸和比表面积,能与生物聚合物结合制备纳米复合膜,从而增强复合膜的机械强度并提高抗菌性能,甚至在低浓度下亦能显著发挥作用。因此,这种复合膜在保护易腐水果和蔬菜及延长保质期方面具有重要意义^[8-9]。此外,通过在金属纳米粒子中引入另一种金属,相较于单一金属纳米粒子,可以有效改善和增强其多种有益特性,如抗菌活性^[10]。层状双金属氢氧化物(layered double hydroxides, LDH)或水滑石样材料因其独特的层状结构、可调性质和良好的生物相容性,近年来备受关注^[11-12]。经过简单的焙烧改性,水滑石的晶体结构会发生拓扑转变,形成复合金属氧化物(metal composite oxide, MMO)。这一转变有助于将多种具有抗菌机制的金属氧化物集成在纳米岛结构中,从而显著提高金属氧化物的表面积和活性位点密度,使其即便在极低浓度下,也能展现出优异的抗菌性能^[11]。CuZnAl-MMO纳米粒子具有独特的多金属复合结构,能显著提升薄膜抗菌性能,为樱桃等易腐果蔬提供创新的绿色保鲜方案。

本研究拟构建CuZnAl-MMO纳米粒子增强的壳聚糖和聚乙烯醇(PVA)复合纳米薄膜,通过测定薄膜的力学性能、疏水性、水和氧气的阻隔性能、抗食源性细菌和真菌的能力等,分析其综合性能表现。为了拓展薄膜在果蔬保鲜方面的应用,本研究还将评估薄膜的生物相容性,并通过一系列理化指标(樱桃的坏果率、失重率、硬度、总菌落数、二氧化碳体积分数、抗坏血酸和丙二醛含量)探究其对樱桃保鲜的效果。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

CS(脱乙酰度 $\geq 90\%$, $M_w = 200\ 000$)、PVA($M_w = 47\ 000$)、甘油、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 、乙醇、PBS溶液($\text{pH} = 7.4$)、氯化钠-蛋白胍缓冲液($\text{pH} = 7.0$)、四苯基硼酸钠、2-巯代巴比妥酸、三氯乙酸、聚乙二醇(PEG, $M_n = 200$)、 Na_2CO_3 、NaOH(分析纯),上海麦克林生化科技股份有限公司;盐酸、 NaNO_3 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (分析纯),国药集团化学试剂有限公司;灰霉菌孢子、大肠杆菌、金黄色葡萄球菌,北京工商大学轻工科学技术学院。

新鲜樱桃,北京昌平采摘园。LB肉汤和LB营养琼脂,北京奥博星生物技术有限责任公司;L929小鼠成纤维细胞,长沙艾碧维生物科技有限公司;马铃薯葡萄糖琼脂,广东环凯微生物科技有限公司;RP-MI1640培养基、胎牛血清、双抗(青霉素、链霉素)、胰酶、钙黄绿素AM/PI、CCK-8,北京兰博利德商贸有限公司;6孔板、24孔板、96孔板,美国赛默飞世尔科技有限公司。

1.2 仪器与设备

UV-2550型紫外分光光度计,日本岛津公司;3500型X-射线粉末衍射仪(辐射源为Cu K α 靶),丹东通达科技有限公司;JEM-1200型透射电子显微镜(TEM),日本电子株式会社;S-4800扫描电子显微镜,日立(中国)有限公司;Cary 630型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR),安捷伦科技有限公司;C43.104型拉伸试验机,美特斯工业系统(中国)有限公司;DSA100E型水接触角测试仪,德国克吕士科学仪器上海有限公司;OX-TRAN model2/21型氧气透过率检测仪,美国膜康公司;AX/AX R型激光扫描共聚焦显微镜(laser scanning confocal microscope, CLSM),尼康仪器(上海)有限公司;GAS-II型便携式 O_2/CO_2 测定仪,济南科达尔实业有限公司;GY-3指针式水果硬度计,托普仪器有限公司;SpectraMax Mini多功能微孔板阅读器,美谷分子仪器(上海)有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 CuZnAl-MMO的合成及其物相与表面形态观察

1.3.1.1 CuZnAl-LDH的合成

将 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0.26 g)、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0.87 g)、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (0.69 g)加入100 mL去离子水中,将1 g NaOH与0.1 g Na_2CO_3 加入100 mL水中,将这2种溶液加入含有0.034 g NaNO_3 与10 mL PEG的30 mL水中,调节pH值至7~8,搅拌30 min。离心后,用去离子水洗涤3次,再用乙醇洗涤3次。最后在真空干燥箱中干燥后使用^[13]。此外,按照相同摩尔比例和方法,合成CuMgAl-LDH和ZnMgAl-LDH。

1.3.1.2 CuZnAl-MMO的制备

将制备的CuZnAl-LDH、CuMgAl-LDH和CuZnAl-LDH分别装入石英舟,在管式炉的氩气环境中,将温度升至300℃并保持3 h。升温速率为3℃/min,随后自然冷却,制得CuZnAl-MMO、

CuMgAl-MMO 和 ZnMgAl-MMO^[14]。

1.3.1.3 纳米粒子的相组成分析

室温下使用 X-射线粉末衍射仪以反射模式测量水滑石及其复合金属氧化物的广角 X 射线衍射 (XRD) 图谱, 衍射强度曲线范围为 $2\theta = 5^\circ \sim 80^\circ$, 电压为 40 kV, 电流为 30 mA。

1.3.1.4 纳米粒子的表面形态观察

水滑石及其复合金属氧化物采用透射电子显微镜, 在 100 kV 的加速电压下进行观察。

1.3.2 纳米薄膜的制备及结构特征观察

1.3.2.1 纳米薄膜的制备

取 1 g CS 溶解于稀醋酸水溶液中, 待完全溶解后, 再加入 1 g 的 PVA 和体积分数 1% 的甘油, 80 °C 下搅拌溶解。随后, 分别将 0、0.02、0.04、0.06 g 的 CuZnAl-MMO 加入壳聚糖/聚乙烯醇 (CS/PVA) 混合溶液中。将得到的溶液通过流延工艺制备薄膜, 所得的纳米薄膜分别命名为 CS/PVA-0% MMO、CS/PVA-2% MMO、CS/PVA-4% MMO、CS/PVA-6% MMO。此外, 分别将 0.06 g 的 CuMgAl-MMO 和 ZnMgAl-MMO 加入相同含量的 CS/PVA 混合溶液中, 并通过流延工艺制备薄膜, 所得的纳米薄膜分别命名为 CS/PVA-Cu 和 CS/PVA-Zn。

1.3.2.2 纳米薄膜结构特征观察

使用红外光谱仪在 $500 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ 记录纳米薄膜的红外光谱, 以确定薄膜的化学结构特征。

1.3.3 纳米薄膜的形貌观察

使用扫描电子显微镜在 10 kV 的加速电压下观察纳米薄膜表面形态, 并且在测试前对样品喷金。

1.3.4 纳米薄膜物理特性测定

1.3.4.1 纳米薄膜力学性能测定

薄膜力学性能包括拉伸强度和断裂伸长率, 采用拉伸试验机在室温下进行测量, 应变速率为 500 mm/min。

1.3.4.2 纳米薄膜亲疏水性测定

使用水接触角测试仪, 采用座滴法测量薄膜表面的静态接触角。

1.3.4.3 纳米薄膜氧气透过率测定

在相对湿度为 0 的条件下, 使用氧气透过率检测仪检测薄膜的氧气透过率, 实验重复 3 次。

1.3.4.4 纳米薄膜水蒸气渗透率测定

使用水蒸气透过率测试仪测定薄膜的水蒸气透过率^[15]。将装有水的渗透池 (由直径为 80 mm 的测试薄膜严密密封) 放在装有干燥器的天平上, 温度设

置为 37 °C。根据式(1)计算水蒸气渗透率 (WVP)。

$$WVP = \Delta m / A \Delta t. \quad (1)$$

式(1)中, WVP, g/(m²·d); Δm 表示质量损失, g; A 表示暴露期间 Δt (d) 渗透池上暴露的总面积, m²。

1.3.5 纳米薄膜抗菌性能和细胞毒性测定

1.3.5.1 纳米薄膜抗菌性能测定

将纳米薄膜在无菌操作台中用紫外线灭菌 15 min 后, 切割成直径为 14 mm 的圆形样品。将样品置于 24 孔板中孔底部后, 在样品表面接种菌液 (50 μL , 10^7 CFU/mL)。对照组不添加纳米薄膜。将培养板放入 37 °C 恒温培养箱培养 4 h。培养结束后, 清洗接种细菌的样品, 确保薄膜表面的细菌完全脱附。采用平板计数法分析纳米薄膜的抗菌性能。将金黄色葡萄球菌与纳米薄膜进行共培养。培养完成后, 将细菌悬浮液放入离心机中, 5 000 r/min 离心 10 min 后得到上清液。将上清液分为 2 份, 其中一份使用四苯基硼酸钠测量 K⁺ 含量, 另外一份在 260 nm 波长下读取上清液的吸光度, 确定溢出 DNA 含量。所有抗菌实验均重复 3 次。采用薄膜圆片-孢子液法检测纳米薄膜的抗真菌性能^[16]。在 50 mL 无菌容量瓶中加入少量 PBS, 然后采集灰霉菌孢子进行接种, 制备浓度约为 4×10^5 孢子/mL 的标准孢子菌液。从标准菌液中取 10 mL, 放入 50 mL 无菌三角瓶中, 再加入需要测试的纳米薄膜。30 °C 恒温条件下振荡培养 4 h 后, 取出 100 μL 的菌液, 在显微镜下观察, 统计孢子萌发数, 按式(2)计算孢子萌发率。

$$\text{孢子萌发率} = \text{萌发孢子数} / \text{统计孢子数} \times 100\%。 \quad (2)$$

1.3.5.2 纳米薄膜细胞毒性测定

将纳米薄膜的两面分别在生物安全柜中用紫外线灭菌 15 min, 之后将其切割成直径为 3 mm 的圆形薄片。使用 Cell Counting Kit-8 (CCK-8) 研究薄膜对 L929 小鼠成纤维细胞的细胞毒性。将 L929 小鼠成纤维细胞置于细胞培养瓶中培养, 当细胞生长到一定数量时, 使用移液器将培养基移入 96 孔板 (1×10^4 个细胞/孔)。接着用新鲜培养基取代细胞培养基, 将 3 mm 的圆形薄片放入孔中, 在特定的时间点 (24 h 和 72 h) 培养后, 用 PBS 冲洗细胞 1 次, 再与 CCK-8 培养 1 h, 最后用微孔板阅读器测量 450 nm 处的吸光度, 以获取细胞活性信息。此外, 还对纳米薄膜处理后 L929 小鼠成纤维细胞进行了钙黄绿素 AM/PI 染色, 以识别与纳米薄膜共孵育后的活细胞和死细胞, 并使用激光扫描共聚焦显微镜获得荧光图像, 进一步分析细胞的存活状态。

1.3.6 纳米薄膜的樱桃保鲜性能测定

选取果实饱满、无机械损伤或真菌感染、规格接近的樱桃,清洗沥干后,分为5组,每组5颗。其中1组作为空白对照组,另外4组用复合金属氧化物比例不同的纳米薄膜进行包装。在包装后,尽量保证每组样本都拥有相同的空气体积。将实验用的樱桃置于温度恒定为 (26 ± 1) °C且避光的环境中密封保存,每3 d检测樱桃的失重率、抗坏血酸含量、丙二醛含量,并且在第15天计算樱桃的坏果率、硬度、好氧细菌的菌落总数、酵母菌及霉菌的菌落总数和包装袋中CO₂的体积分数。

1.3.6.1 樱桃坏果率测定

樱桃坏果率计算方法见式(3)。

$$\text{坏果率} = \frac{\text{破裂、腐烂或者受感染的坏果数量}}{\text{该组樱桃的总数量}} \times 100\% \quad (3)$$

1.3.6.2 樱桃失重率测定

通过测定洗净樱桃贮藏前后质量的差值计算樱桃失重率。

1.3.6.3 樱桃硬度测定

樱桃的硬度采用GY-3指针式水果硬度计测定。在测量过程中,硬度计垂直于被测樱桃表面,在均匀力的作用下将压头压入水果中。此时,指针开始旋转,并在到达压头标记时停止。指针指示的刻度值即为樱桃硬度值。

1.3.6.4 樱桃好氧细菌、酵母菌和霉菌菌落总数测定

避光贮藏15 d时,每组选取3颗樱桃放入100 mL烧瓶中,烧瓶中加入25 mL氯化钠-蛋白胨缓冲液。然后将烧瓶中的内容物高速匀浆2 min,所得溶液用于梯度稀释。将稀释液置于琼脂平板上,35 °C培养2 d测定好氧细菌的菌落总数;将稀释液置于马铃薯葡萄糖琼脂上, (28 ± 1) °C持续培育5~7 d测定酵母菌和霉菌的菌落总数^[2,17]。

1.3.6.5 纳米薄膜内部CO₂体积分数测定

使用便携式O₂/CO₂测定仪对薄膜内的气体体积分数进行测量。在测试过程中,需要确保针头垂直插入薄膜内。

1.3.6.6 樱桃抗坏血酸含量测定

建立抗坏血酸标准曲线后,分别选取不同包装处理的樱桃样品,捣碎并加入体积分数1%的盐酸,使用紫外分光光度计快速测定样品在260 nm处的吸光度,并按标准曲线计算抗坏血酸含量。

1.3.6.7 樱桃丙二醛含量测定

选取不同包装处理的樱桃样品,加入100 g/L三

氯乙酸溶液与样品混合。转移混合溶液至试管中,并加入0.67 g/100 mL硫代巴比妥酸溶液在沸水中反应20 min后,测定上清液在450 nm处的吸光度^[18]。

1.4 数据处理

数据使用SPSS 25.0软件进行单因素方差分析(ANOVA),结果以平均值±标准差表示, $P < 0.05$ 表示差异显著,并使用Origin 9.0软件绘图。

2 结果与分析

2.1 CuZnAl-MMO的合成与表征分析

图1展示了CuZnAl-LDH和CuZnAl-MMO的XRD图谱和TEM图像。由图1(a)可知,CuZnAl-LDH的X射线衍射图谱在11.8°、23.7°、34.8°、39.4°、46.8°、60.7°和61.8°处显示出一系列衍射峰,这些特征衍射峰可以归结为CuZnAl-CO₃²⁻-LDH的相。图1(b)显示,CuZnAl-LDH呈现卷曲的纳米片状形态,这种卷曲状态是CuZnAl-LDH的平均厚度在10 nm以下时自发形成的^[13]。经过氩气高温焙烧后,破坏了CuZnAl-LDH的阳离子层和水分子层交替排列的结构,并导致LDH层板中的阳离子发生氧化还原反应,进而导致结构改变^[11]。最终,这种变化导致了拓扑变换,形成了CuZnAl-MMO。由图1(c)可知,CuZnAl-MMO的XRD图谱在36.6°、42.6°、61.8°处从粉末衍射标准联合会(Joint Committee on Powder Diffraction Standards, JCPDS)数据库中可以被索引为CuO的相(PDF#97-006-1323)以及在32.3°、35.1°、36.9°、57.7°处被索引为ZnO的相(PDF#97-015-4490)。通过TEM观察,CuZnAl-MMO呈现出典型纳米片形态[图1(d)],这表明CuO/ZnO复合氧化物CuZnAl-MMO已成功合成,可以用于纳米薄膜制备。

2.2 纳米薄膜化学结构特征分析

图2展示了不同比例(0%、2%、4%、6%)纳米薄膜的FTIR光谱。由图2可知,CS/PVA-0%MMO在1100 cm⁻¹和1243 cm⁻¹处出现红外特征吸收峰,这2个峰是由壳聚糖多糖骨架上的C—O伸缩振动和O—H弯曲振动形成的^[19-21]。壳聚糖侧链的O—H弯曲振动特征吸收峰在1406 cm⁻¹处也被观察到^[20]。此外,还在1343 cm⁻¹处观察到了PVA的C—H弯曲振动^[12]。在3650~3000 cm⁻¹处,宽的特征红外吸收峰归因于PVA和壳聚糖的O—H伸缩振动、壳聚糖的N—H伸缩振动以及分子内氢键

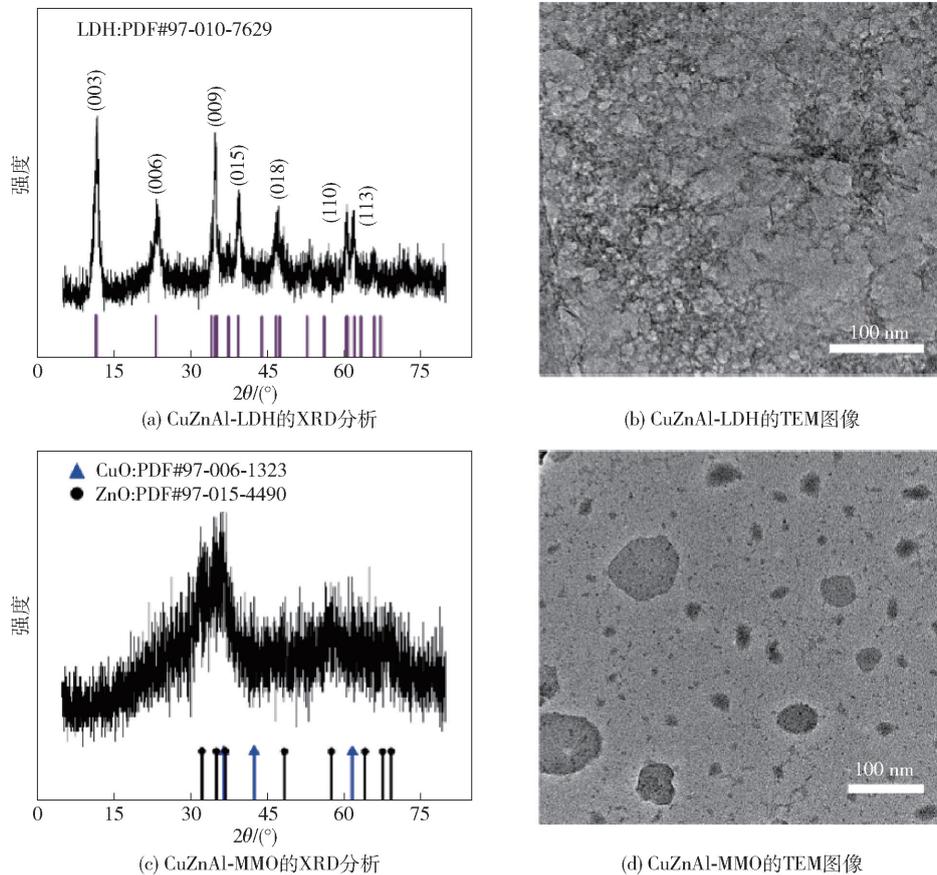


图1 CuZnAl-LDH和CuZnAl-MMO的XRD和TEM分析

Fig. 1 XRD and TEM analysis of CuZnAl-LDH and CuZnAl-MMO

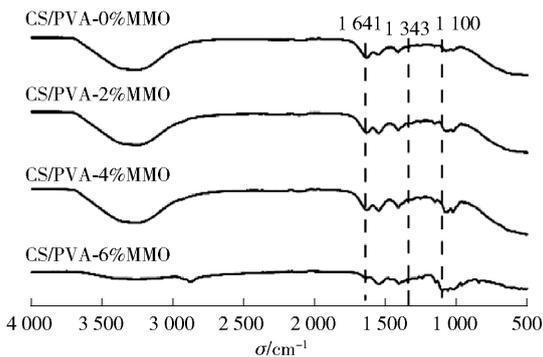


图2 不同比例纳米薄膜的FTIR分析

Fig. 2 FTIR analysis of nanofilms with different ratios

伸缩的耦合^[12,19]。值得注意的是,1 641 cm^{-1} 处的红外吸收峰表示 C=O 的伸缩振动(酰胺 I),1 550 cm^{-1} 处的吸收峰为 N-H 弯曲和伸缩振动(酰胺 II)^[20]。随着薄膜中 CuZnAl-MMO 含量的增加,3 650~3 000 cm^{-1} 处的宽吸收峰和 1 641 cm^{-1} 处吸收峰强度增大,这表明薄膜内部的氢键和酰胺键被 CuZnAl-MMO 增强了。然而,1 343 cm^{-1} 和 1 100 cm^{-1} 处PVA的 C-H 弯曲振动消失和壳聚糖

C-O 伸缩振动吸收峰蓝移,这表明 CuZnAl-MMO 与薄膜内的 CS/PVA 发生了自组装。此外,1 100 cm^{-1} 处的吸收峰强度没有变化,这表明 MMO 不断掺入薄膜中但没有发生解聚现象^[21]。

2.3 纳米薄膜的形貌分析

纳米薄膜的微观结构见图3。由图3可知,CS/PVA-0% MMO 的表面呈现出光滑平整的特征,这表明 CS/PVA 之间通过自组装形成了较好的膜形态。随着薄膜中 CuZnAl-MMO 含量的升高,纳米薄膜逐渐变得粗糙且致密,这表明 CuZnAl-MMO 可以很好地分散在壳聚糖和 PVA 分子链中,并通过氢键与 CS/PVA 发生自组装,增强了分子间的相互作用。结果表明,纳米薄膜具有良好的微观结构,为其在樱桃保鲜中的应用奠定了良好的基础。

2.4 纳米薄膜的物理特性分析

纳米薄膜的力学性能、接触角和阻隔性能分析见图4。薄膜的力学性能在很大程度上决定了其在实际应用中的性能和稳定性。根据拉伸强度-应变曲线可知,与 CS/PVA-0% MMO 薄膜相比,纳米复

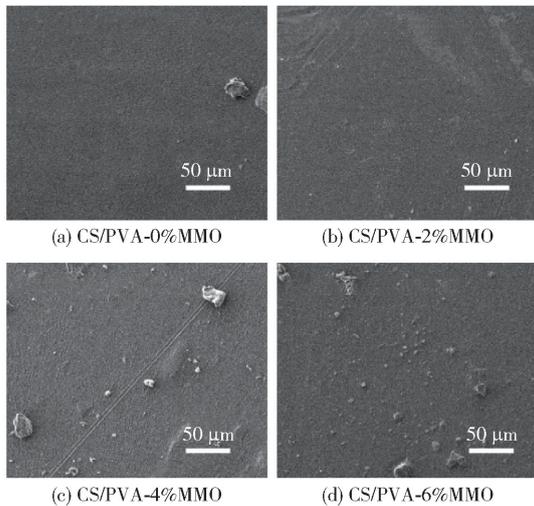


图3 纳米薄膜的SEM分析

Fig.3 SEM analysis of nanofilms

合膜的力学性能更优越[图4(a)]。随着CuZnAl-
MMO质量分数从0增加到6%,拉伸强度增加,断
裂伸长率降低。值得注意的是,CS/PVA-6%MMO
纳米薄膜拉伸强度提升了35%。结果表明,无机复
合金属氧化物的刚性和天然聚合物的柔韧性在薄膜
中结合表现出的薄膜力学性能的增强,这可能是由
于CuZnAl-
MMO与CS/PVA之间的自组装提升了
薄膜的整体性能^[21]。进一步研究了CuZnAl-
MMO与CS/PVA之间的自组装对薄膜亲疏水性能
和阻隔性能的影响,接触角大小揭示了薄膜的亲水
性或疏水性。由图4(b)可知,薄膜的疏水性能是
CuZnAl-
MMO浓度依赖性的,随着CuZnAl-
MMO含量的增加,接触角也随之上升。当CuZnAl-
MMO的质量分数分别为0、2%、4%、6%时,接
触角分别上升至43.4°、51.2°、57.1°和67.9°。
这种变化可能是由于纳米粒子与CS/PVA之间的
自组装导致亲水的基团向内曲折,疏水的多碳长
链向外裸露在薄膜表面。此外,CuZnAl-
MMO
纳米薄膜也表现出薄膜水蒸气

和氧气阻隔性的增强作用[图4(c)]。与CS/PVA-
0%MMO薄膜相比,CS/PVA-2%MMO、CS/PVA-
4%MMO和CS/PVA-6%MMO纳米薄膜的水蒸气
透过率显著下降,下降程度具体取决于CuZnAl-
MMO含量。尤其是CS/PVA-6%MMO纳米薄膜
的水蒸气透过率相较于CS/PVA-0%MMO薄膜下
降了约43.2%。这可能是由于CuZnAl-
MMO的掺入
导致水分子沿着更长且更复杂的路径扩散通过
纳米复合材料。随着CuZnAl-
MMO含量的增加,薄膜的氧气阻隔性能表现出
逐渐下降的趋势。与CS/PVA-
0%MMO薄膜相比,CS/PVA-6%MMO纳米薄膜
的氧气透过率下降了80.3%。氧气阻隔的明显
增强进一步验证了纳米粒子与CS/PVA自组装发
生强吸引力相互作用,从而导致氧气被迫沿着更
长、更曲折的路径扩散。结果表明,CuZnAl-
MMO与CS/PVA的结合可以有效改善薄膜的力学
性能,并且有能力调节薄膜亲疏水性能和氧气阻
隔性能,有助于防止樱桃在运输和贮藏期间遭受
机械损伤、水分流失以及出现生理恶化。

2.5 纳米薄膜的抗菌性能和细胞毒性分析

纳米薄膜的抗菌性能和细胞毒性见图5。微生
物感染往往是导致果实腐败的重要因素^[22]。由
图5(a)可知,CS/PVA-0%MMO纳米薄膜对大肠
杆菌和金黄色葡萄球菌繁殖有一定的抑制作用,
这是因为壳聚糖能够与细菌表面发生静电吸引作
用,导致细菌膜的破坏^[23]。此外,随着薄膜中
CuZnAl-
MMO含量的增加,薄膜的抗菌作用呈现出递增
趋势,尤其是CS/PVA-6%MMO纳米薄膜对金
黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抗菌率几乎接近了
100%。为了进一步探究纳米薄膜杀死细菌的
抗菌活性位,探讨了CS/PVA-Cu、CS/PVA-Zn
和CS/PVA-6%MMO纳米薄膜杀死大肠杆菌
和金黄色葡萄球菌的

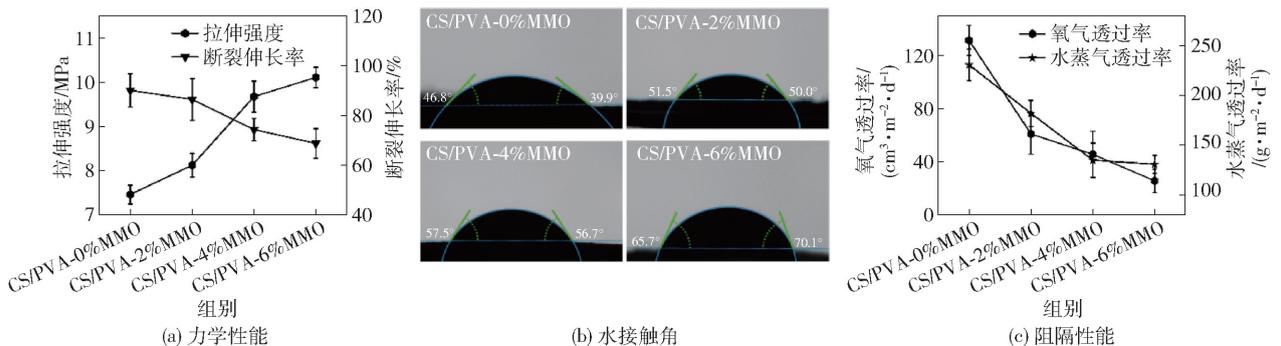
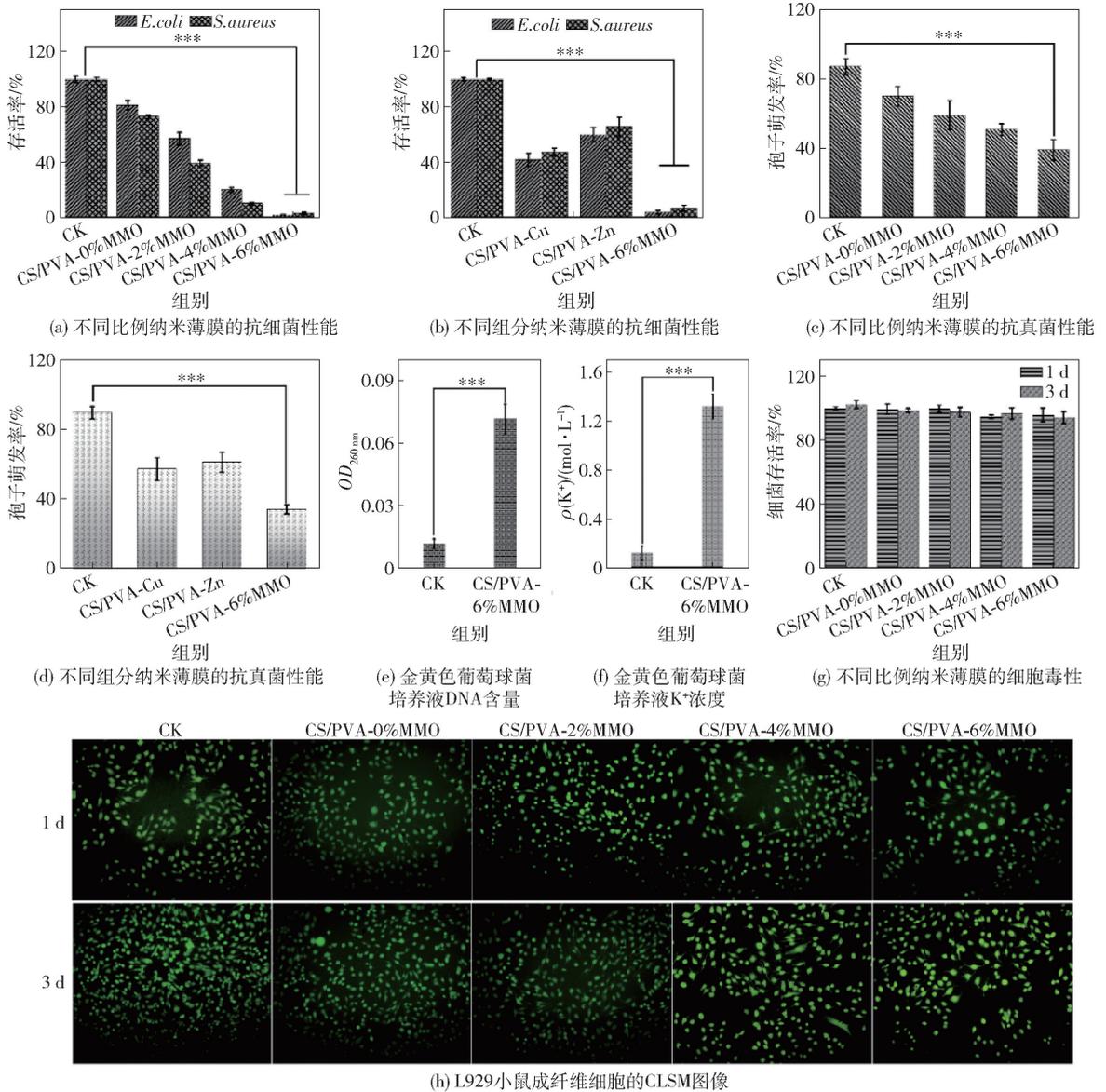


图4 纳米薄膜的物理特性
Fig.4 Physical properties of nanofilms



*** 表示 $P < 0.001$, 图(h)中活、死 L929 小鼠成纤维细胞分别为绿色、红色。

图5 纳米薄膜的抗菌性能和细胞毒性

Fig. 5 Antibacterial properties and cytotoxicity of nanofilms

效果。由图 5(b) 可知, CS/PVA-Cu 和 CS/PVA-Zn 具有一定抗菌效果。值得关注的是, CS/PVA-6% MMO 纳米薄膜的抗菌效果远高于 CS/PVA-Cu 和 CS/PVA-Zn 纳米薄膜, 这表明了 CuO 和 ZnO 在 CS/PVA-6% MMO 中起到了共同抗菌作用。由图 5(c) 可知, CS/PVA-0% MMO 纳米薄膜由于不含有 CuZnAl-MMO, 灰霉菌的孢子萌发率约为 70%。随着薄膜中 CuZnAl-MMO 质量分数从 2% 增加到 6%, 灰霉菌孢子的萌发率从约 59% 下降至约 39%, 表明 CuZnAl-MMO 对灰霉菌具有显著的抑制作用。为了分析 CuZnAl-MMO 纳米薄膜的抗真菌活性位点, CS/PVA-Cu、CS/PVA-Zn 和 CS/PVA-6% MMO

纳米薄膜对真菌的抑制效果被进一步研究。由图 5(d) 可知, 就对孢子萌发率的抑制效果而言, CS/PVA-6% MMO 纳米薄膜最为显著, 其次是 CS/PVA-Cu 纳米薄膜, 最后是 CS/PVA-Zn 纳米薄膜。结果表明, CuZnAl-MMO 的抗真菌效果是 CuO 和 ZnO 共同贡献的。此外, 对 CS/PVA-6% MMO 纳米薄膜处理后金黄色葡萄球菌培养液中的 K⁺ 和 DNA 的含量进行检测, 以研究 CS/PVA-6% MMO 纳米薄膜抗菌机制。由图 5(e) 和图 5(f) 可知, CS/PVA-6% MMO 纳米薄膜处理后金黄色葡萄球菌培养液中的 K⁺ 和 DNA 的含量显著升高, 这是因为 CuO 和 ZnO 可以通过破坏细菌的膜结构, 导致细菌细胞质泄漏,

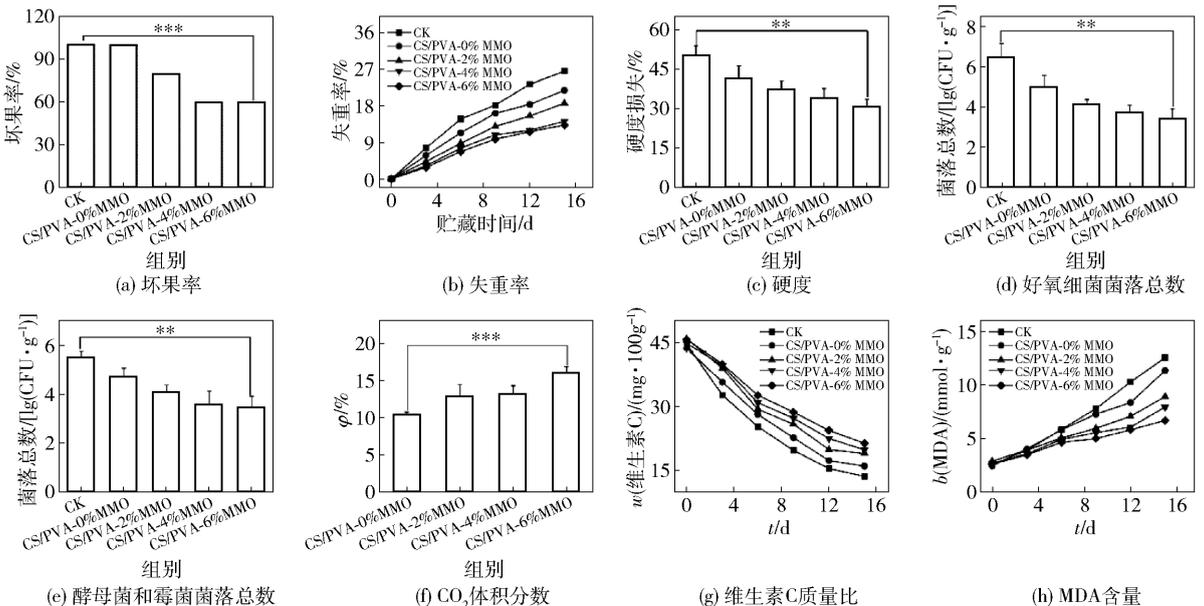
使其失去与外界交换物质的能力,最终增强了薄膜的抗菌效果^[24]。本研究结果表明,构建的以壳聚糖、CuO 和 ZnO 为抗菌中心的活性纳米薄膜对食源性致病菌和真菌起到了有效的抑制作用。

为了进一步扩大纳米薄膜在食品包装领域的应用,采用 CCK-8 在细胞水平上研究了纳米薄膜的生物相容性。将 L929 小鼠成纤维细胞与不同 CuZnAl-MMO 纳米薄膜分别孵育 1、3 d。结果表明,即使共同孵育 3 d,纳米薄膜对 L929 小鼠成纤维细胞的活力也没有任何影响[图 5(c)]。采用钙黄绿素 AM/PI 活死细胞染色剂对共同孵育后的 L929 小鼠成纤维细胞染色,也没有发现任何的细胞损伤。结果表明,CuZnAl-MMO 纳米薄膜具有良好的生物相容性,可以用于接下来的果蔬保鲜实验。

2.6 纳米薄膜的樱桃保鲜效果分析

在樱桃的成熟过程中,呼吸作用相关的酶与果胶物质的催化分解密切相关,同时樱桃还会发生蒸腾作用,这些因素最终导致了樱桃逐渐软化、衰老,硬度下降^[25]。因此,为了进一步探索纳米薄膜的保鲜效果,进行了包裹实验,结果见图 6。由图 6(a)可知,相比于 CK 和 CS/PVA-0% MMO 组的 100% 的坏果率,CS/PVA-2% MMO、CS/PVA-4% MMO、CS/PVA-6% MMO 组的坏果率有所降低。这初步表明了纳米薄膜对樱桃保鲜具有良好的潜力。此外,随着时间的延长,樱桃的质量损失率逐渐增加。

与没有经过薄膜包裹的 CK 组相比,使用 CS/PVA-6% MMO 薄膜包裹的樱桃失重率表现出明显减缓的趋势[图 6(b)]。同时,在第 15 天,CS/PVA-6% MMO 薄膜包裹的樱桃的硬度损失率也显著下降[图 6(c)]。随着薄膜中 CuZnAl-MMO 含量的升高,樱桃的质量损失率和硬度损失率被进一步抑制。CuZnAl-MMO 含量的升高挽回了一部分质量损失和硬度损失的原因可能是 CuZnAl-MMO 通过促使水分子沿着更长、更曲折的路径扩散,降低了水蒸气透过率。贮藏期间樱桃的好氧细菌、酵母菌和霉菌菌落总数的变化见图 6(d)至图 6(e)。结果显示,随着 MMO 质量分数的增加,纳米薄膜抑制微生物数量的效果逐渐增强。霉菌引发的感染通常被认为是樱桃腐烂的重要原因,最终导致了樱桃保质期的缩短。CS/PVA-6% MMO 纳米薄膜针对霉菌和酵母菌的抑制率大约达到了 99%,表现出了优异的抑制效果。在收获后,果蔬通过呼吸为内部过程供能,直至完全腐烂。为保持其新鲜,必须尽可能长时间地控制其持续呼吸。为了评估樱桃在贮藏期间呼吸频率的变化,第 15 天检测了包装袋内的二氧化碳的体积分数。由图 6(f)可知,随着纳米薄膜中 CuZnAl-MMO 含量增加,二氧化碳体积分数逐渐增加,升高至 16.1%。这可能是由于 CuZnAl-MMO 增强了薄膜的氧气阻隔,调控了呼吸频率,形成了高二氧化碳和低氧气的自发气调微环境。此外,果实中维生素



** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$ 。

图 6 纳米薄膜对樱桃品质的影响

Fig. 6 Effect of nanofilms on quality of cherries

C 含量和 MDA 含量分别可以用于反映樱桃新鲜程度和细胞膜脂过氧化程度^[25]。因此,进一步测定了纳米薄膜对包裹后的樱桃维生素 C 含量和 MDA 含量的影响[图 6(g)、图 6(h)]。随着贮藏时间的延长,樱桃中的维生素 C 含量整体呈下降趋势,这可能是因为维生素 C 在樱桃成熟过程中被分解或流失。同时,随着细胞膜通透性的增加,MDA 不断积累,表明细胞膜脂过氧化程度增加。然而,与 CK 组相比,使用 CS/PVA-0% MMO 薄膜有效地阻止了维生素 C 的流失,并减缓了 MDA 的升高。这表明 CS/PVA-0% MMO 薄膜能够一定程度上保护樱桃的细胞膜,减少脂质过氧化,并保持较高的维生素 C 含量,从而维持樱桃的新鲜程度。随着薄膜中 CuZnAl - MMO 含量的升高,对樱桃维生素 C 损失和 MDA 升高的抑制作用进一步增强。这可能是因为随着 CuZnAl - MMO 含量的增加,薄膜的阻隔性能对氧气和水蒸气有更强的阻碍作用。这种阻碍作用降低了外部环境因素对樱桃内部的影响,从而减少了维生素 C 的损失,并减缓了 MDA 的升高。本研究结果表明,纳米复合薄膜在樱桃保鲜方面具有较好的应用潜力,可以帮助延长樱桃的货架期并保持其优良的品质。

3 结 论

通过有机无机杂化策略制备的 CuZnAl - MMO 复合纳米薄膜,在抗菌性能和樱桃保鲜效果方面展现出优异的性能。通过 XRD 和 TEM 对 CuZnAl - LDH 和 CuZnAl - MMO 进行表征,确认了材料的结构和形貌变化,揭示了 CuZnAl - LDH 由层状水滑石结构在焙烧过程中经历去水和去阴离子后,转变为 MMO 结构。FTIR 分析表明,CuZnAl - MMO 的引入导致了纳米薄膜内部氢键和酰胺键的增强,证实 CuZnAl - MMO 与 CS/PVA 之间发生了自组装,同时并未引发 CS 和 PVA 长链的解聚现象。SEM 结果显示,CuZnAl - MMO 的加入使薄膜变得更加粗糙和致密,为其在樱桃保鲜中的应用提供了有利的微观结构。力学性能、亲疏水性能和阻隔性能方面的分析显示,CuZnAl - MMO 的加入显著提高了薄膜的拉伸强度(增强了 35%),同时调节了薄膜的亲疏水性能和阻隔性能。在疏水性能方面,相比于不含 CuZnAl - MMO 的薄膜,当质量分数 6% 的 CuZnAl - MMO 掺入薄膜时,接触角提升了 24.5°。在阻隔水分和氧气方面,CuZnAl - MMO 与 CS/PVA 的自组装效应大幅

优化了阻隔效果。这些性能的提升有助于防止樱桃在运输和贮藏期间受到机械损伤、出现水分流失和生理恶化。抗菌性能和生物相容性方面的研究表明,CuZnAl - MMO 纳米薄膜通过破坏细菌结构,对食源性致病菌和真菌表现出显著的抑制效果。此外,CuZnAl - MMO 纳米薄膜对 L929 小鼠成纤维细胞没有明显的毒性影响,这为该薄膜在食品包装领域的广泛应用前景提供了有力支撑。将 CuZnAl - MMO 纳米薄膜应用于樱桃保鲜实验中,结果显示 CuZnAl - MMO 的引入有效降低了樱桃的坏果率、失重率和硬度损失率。同时,纳米薄膜对樱桃的好氧细菌、酵母菌和霉菌的生长产生了抑制作用。纳米薄膜的气调效应控制了樱桃的呼吸频率,使得包装袋内的 CO₂ 体积分数升高至 16.1%,从而延缓了果实新鲜度的损失。CuZnAl - MMO 纳米薄膜对维生素 C 的损失和 MDA 的升高起到了有效的抑制作用,进一步证实了其在樱桃保鲜中的优越性能。CuZnAl - MMO 复合纳米薄膜通过改善薄膜的结构和性能,展现了在食品保鲜领域的应用潜力。本研究旨在为延长樱桃货架期、保持樱桃品质提供一种新的环保、高效、安全的保鲜技术。

参考文献:

- [1] ZHAO H D, FU M R, DU Y M, et al. Improvement of fruit quality and pedicel color of cold stored sweet cherry in response to pre-storage 1-methylcyclopropene and chlorine dioxide treatments [J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 277: 109806.
- [2] HASSENBERG K, SCHUHMAN F, ULRICH S C, et al. Effects of acetic acid vapour on the microbial status of 'Merchant' and 'Oktavia' sweet cherries (*Prunus avium* L.) [J]. *Food Control*, 2018, 90: 422 - 428.
- [3] 黄青山, 刘冰雁. 樱桃贮藏保鲜技术研究进展[J]. *安徽农学通报*, 2022, 28(10): 55 - 59.
- [4] HUANG Q S, LIU B Y. Research progress on storage and preservation technology of cherries [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2022, 28(10): 55 - 59.
- [5] ALI ARFAT Y, BENJAKUL S, PRODPRAN T, et al. Properties and antimicrobial activity of fish protein isolate/fish skin gelatin film containing basil leaf essential oil and zinc oxide nanoparticles [J]. *Food Hydrocolloids*, 2014, 41: 265 - 273.
- [6] YADAV S, MEHROTRA G K, DUTTA P K. Chitosan based ZnO nanoparticles loaded Gallic-acid films for ac-

- tive food packaging [J]. Food Chemistry, 2021, 334: 127605.
- [6] 王倩婷, 钟昔阳, 马汝悦, 等. 茶多酚对普鲁兰-明胶膜理化及抗氧化、抗菌性能的影响[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(6): 93-102.
- WANG Q T, ZHONG X Y, MA R Y, et al. Effects of tea polyphenols on physicochemical, antioxidant and antibacterial properties of pullulan-gelatin films [J]. Journal of Food Science and Technology, 2022, 40(6): 93-102.
- [7] 雷桥, 张文惠. 负载天然色素的生物基智能包装指示器研究进展 [J]. 食品科学技术学报, 2024, 42(1): 20-31.
- LEI Q, ZHANG W H. Research progress of bio-based intelligent packaging indicator loaded with natural pigments [J]. Journal of Food Science and Technology, 2024, 42(1): 20-31.
- [8] PRASHANTH K S, REVATHI V. Antimicrobial and antifungal studies of polymer nanocomposites with 2D nanomaterials [J]. Materials Today: Proceedings, 2022, 49: 593-596.
- [9] ABD-ELSALAM K. Copper nanostructures next-generation of agrochemicals for sustainable agroecosystems [M]. Amsterdam: Elsevier, 2022: 535-563.
- [10] KONG J, ZHANG S F, SHEN M, et al. Evaluation of copper(I)-doped zinc oxide composite nanoparticles on both gram-negative and gram-positive bacteria [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2022, 643: 128742.
- [11] WANG Q, O'HARE D. Recent advances in the synthesis and application of layered double hydroxide (LDH) nanosheets [J]. Chemical Reviews, 2012, 112(7): 4124-4155.
- [12] KIM H J, CHAROENSRI K, KO J A, et al. Effects of layered double hydroxides on poly(vinyl alcohol)/poly(acrylic acid) films for green food packaging applications [J]. Progress in Organic Coatings, 2022, 163: 106634.
- [13] ZHANG G J, LI K L, HE S, et al. Electron donor-acceptor effect-induced organic/inorganic nanohybrids with low energy gap for highly efficient photothermal therapy [J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2021, 13(15): 17920-17930.
- [14] GAO Y S, ZHANG Z, WU J W, et al. Comprehensive investigation of CO₂ adsorption on Mg-Al-CO₃ LDH-derived mixed metal oxides [J]. Journal of Materials Chemistry A, 2013, 1(41): 12782-12790.
- [15] ZHUANG L, ZHI X J, DU B, et al. Preparation of elastic and antibacterial chitosan-citric membranes with high oxygen barrier ability by *in situ* cross-linking [J]. ACS Omega, 2020, 5(2): 1086-1097.
- [16] 陈丽, 李喜宏, 成国祥, 等. 防霉保鲜膜对灰霉菌的抑制效应研究 [J]. 中国塑料, 2002, 16(8): 71-73.
- CHEN L, LI X H, CHENG G X, et al. Studies on effect of plastic film with Ag anti-bacteria material on inhibition of gray mould [J]. China Plastics, 2002, 16(8): 71-73.
- [17] JIANG T J, FENG L F, WANG Y B. Effect of alginate/nano-Ag coating on microbial and physicochemical characteristics of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) during cold storage [J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 954-960.
- [18] 蒋金勇, 唐海兵, 栾东磊, 等. 聚乳酸/聚丁二酸-己二酸丁二酯可降解抗氧化薄膜对鲜切西兰花的保鲜效果 [J]. 食品科学, 2019, 40(13): 274-280.
- JIANG J Y, TANG H B, LUAN D L, et al. Effect of polylactic acid/poly (butylene succinate-co-adipate) biodegradable film containing different essential oils in preserving quality and extending shelf-life of fresh-cut broccoli [J]. Food Science, 2019, 40(13): 274-280.
- [19] YADOLLAHI M, NAMAZI H, BARKHORDARI S. Preparation and properties of carboxymethyl cellulose/layered double hydroxide bionanocomposite films [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 108: 83-90.
- [20] SHANKAR S, RHIM J W. Preparation of sulfur nanoparticle-incorporated antimicrobial chitosan films [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 82: 116-123.
- [21] WANG Y, ZHANG D. Bioinspired assembly of layered double hydroxide/carboxymethyl chitosan bionanocomposite hydrogel films [J]. Journal of Materials Chemistry B, 2014, 2(8): 1024-1030.
- [22] 刘锦渊, 刘晓丽, 夏文水. 负载丁香酚的改性纳米粒对玉米醇溶蛋白膜性能的影响 [J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(5): 123-135.
- LIU J Y, LIU X L, XIA W S. Effects of modified nanoparticles loaded with eugenol on properties of zein films [J]. Journal of Food Science and Technology, 2023, 41(5): 123-135.
- [23] 刘梦琪, 吕瑞, 陈菊, 等. 壳聚糖的抗菌作用及在抑菌活性包装中的应用进展 [J]. 食品科学, 2024, 45(1): 261-271.
- LIU M Q, LÜ R, CHEN J, et al. A review of the antibacterial activity of chitosan and its application in antibacterial packaging [J]. Food Science, 2024, 45(1): 261-271.

- [24] SINGH A K. Flower extract-mediated green synthesis of bimetallic CuZn oxide nanoparticles and its antimicrobial efficacy in hydrocolloid films[J]. *Bioresource Technology Reports*, 2022, 18: 101034.
- [25] 贾瑞, 赵路苹, 王文涛, 等. 淀粉复合膜包装对樱桃贮藏品质的影响[J]. *包装工程*, 2018, 39(11): 48–53.
- JIA R, ZHAO L P, WANG W T, et al. Effects of starch-based composite film on storage quality of cherry [J]. *Packaging Engineering*, 2018, 39(11): 48–53.

Effect of CuZnAl–MMO Composite Antimicrobial Nanofilms on Cherry Preservation

ZHUANG Liang, WANG Pingfei, CHEN Lishi, MENG Tong, LUO Qian,
HE Shan, ZHANG Guiju, XU Baocai*

(*School of Light Industry, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China*)

Abstract: In post-harvest processing, cherries face challenges such as decay and microbial infections. Traditional preservation methods pose potential toxicity and chemical residue issues. To address these issues, an organic-inorganic hybrid strategy was employed to construct a nanofilm composed of chitosan (CS) and polyvinyl alcohol (PVA) reinforced with CuZnAl–MMO nanoparticles. Through analyzing the morphology, mechanical properties, hydrophobicity, and barrier performance of nanofilms, the self-assembly of CuZnAl–MMO with CS/PVA was demonstrated, resulting in enhanced mechanical strength and hydrophobicity of nanofilm. Especially, compared to CS/PVA–0% MMO nanofilm, the tensile strength of CS/PVA–6% MMO nanofilm was mildly enhanced by 35%, and the contact angle was increased from 43.4° to 67.9°. Additionally, the water vapor transmission rate and oxygen transmission rate of CS/PVA–6% MMO nanofilm decreased by 43.2% and 80.3%, respectively, compared to CS/PVA–0% MMO nanofilm. This was attributed to the self-assembly process, leading to the reorganization of carbon chain channels within the film, thereby enhancing barrier performance. This restructuring facilitated the creation of a microenvironment conducive to cherry storage, enhancing both moisture resistance of the nanofilms and the development of a gas-modified atmosphere. The study revealed that as the content of CuZnAl–MMO in the nanofilm gradually increased, the antimicrobial properties of nanofilms against Gram-negative bacteria (*E. coli*), Gram-positive bacteria (*S. aureus*), and gray mold fungus sequentially strengthened. Furthermore, results from the cherry preservation experiment indicated that the nanofilm significantly reduced the rate of decay, weight loss, and the total bacterial count on the surface of cherries, while also slowed down the decrease in hardness. The nanofilm improved the respiration rate of cherries, leading to a rise in CO₂ concentration to 16.1% within the packaging bag. The successful promotion of gas-modified atmosphere within the nanofilm proved advantageous for cherry preservation. In conclusion, the inhibitory effects of CuZnAl–MMO nanofilm on microorganisms and the enhancement of cherry preservation performance suggested that this novel preservation method had certain application prospects. The research aimed to provide theoretical basis for the application of CuZnAl–MMO composite antimicrobial nanofilms in the field of fruit and vegetable preservation.

Keywords: hydrotalcite; nanofilms; self-assembly; multiple antimicrobial centers; cherry preservation