

壳聚糖的抗菌作用及在抑菌活性包装中的应用进展

刘梦琪¹, 吕瑞¹, 陈菊¹, 矫芮文¹, 米春孝¹, 李想^{1,2,3}, 任丹丹^{1,2,3}, 武龙^{1,2,3}, 汪秋宽^{1,2,3}, 周慧^{1,2,3,*}
(1.大连海洋大学食品科学与工程学院, 辽宁 大连 116023; 2.国家海藻加工技术分中心, 辽宁 大连 116023;
3.辽宁水产品加工及综合利用重点实验室, 辽宁 大连 116023)

摘要: 壳聚糖因其良好的生物降解性、成膜性及广谱抗菌活性, 可作为活性抗菌剂或成膜基材应用到食品中, 目前已成为合成塑料聚合物有力的替代品。但单一壳聚糖薄膜存在水溶性差、机械性能较弱等局限性, 在一定程度上限制了其在食品抗菌材料中的应用。为了更好地发挥壳聚糖抗菌特性, 近年来关于壳聚糖抗菌活性在食品中的应用安全性备受瞩目, 本文对壳聚糖的抗菌机制、提高壳聚糖抑菌性能的方法进行阐述, 并综述了壳聚糖与多糖、蛋白以及脂质复合膜在食品保鲜应用的研究现状, 以期壳聚糖抗菌复合材料的开发利用提供思路。

关键词: 壳聚糖; 抗菌; 复合材料; 应用

A Review of the Antibacterial Activity of Chitosan and Its Application in Antibacterial Packaging

LIU Mengqi¹, LÜ Rui¹, CHEN Ju¹, JIAO Ruiwen¹, MI Chunxiao¹, LI Xiang^{1,2,3}, REN Dandan^{1,2,3}, WU Long^{1,2,3}, WANG Qiukuan^{1,2,3}, ZHOU Hui^{1,2,3,*}
(1. College of Food Science and Engineering, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;
2. National R&D Branch Center for Seaweed Processing, Dalian 116023, China;
3. Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Utilization of Liaoning Province, Dalian 116023, China)

Abstract: Chitosan can be used as an active antibacterial agent or film-forming substrate in foods, and has become a powerful substitute for synthetic plastic polymers because of its good biodegradability, film-forming capacity and antibacterial activity. However, chitosan films have several limitations such as poor water solubility and weak mechanical properties, which limit its application in antibacterial food packaging materials to a certain degree. The safety of applying the antibacterial activity of chitosan in foods has attracted much attention in recent years. In order to provide new ideas for further development and utilization of chitosan-based antibacterial composite materials, this paper expounds the antibacterial mechanism of chitosan and the methods to improve its antibacterial performance, and summarizes the current status of the application of chitosan-polysaccharide, protein or lipid composite films in food preservation.

Keywords: chitosan; antibacterial; composite materials; application

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230119-146

中图分类号: TS206

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 01-0261-11

引文格式:

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.
DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230119-146. <http://www.spkx.net.cn>

LIU Mengqi, LÜ Rui, CHEN Ju, et al. A review of the antibacterial activity of chitosan and its application in antibacterial packaging[J]. Food Science, 2024, 45(1): 261-271. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230119-146. <http://www.spkx.net.cn>

壳聚糖是由甲壳素部分脱乙酰基得到的天然多功能生物聚合物^[1], 其结构如图1所示, 2-乙酰氨基葡萄糖胺和2-氨基葡萄糖壳二糖组成了复杂的双螺旋结构。壳聚

糖广泛存在于虾蟹等甲壳类动物、藻类植物和蘑菇等大型真菌中, 来源广, 资源丰富, 是仅次于纤维素的第二大类高分子化合物^[2]。壳聚糖具有良好的抑菌性、生物

收稿日期: 2023-01-19

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32101861); 辽宁省教育厅面上项目(JYTMS20230460); 辽宁省科技厅联合基金项目(2023-MSLH-009)

第一作者简介: 刘梦琪(1999—)(ORCID: 0000-0001-8222-5606), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品加工与安全。

E-mail: lmq1729139776@163.com

*通信作者简介: 周慧(1981—)(ORCID: 0000-0002-6471-2715), 女, 讲师, 博士, 研究方向为多孔材料改性及其在食品分离领域的应用。E-mail: zhouhui@dlou.edu.cn

相容性、成膜性和生物可降解性,以壳聚糖为基质制得的膜表现出了良好的抑菌性、水蒸气和氧气阻隔性能。壳聚糖分子链含有丰富的活性氨基(—NH₂)和羟基(—OH),其抑菌性、生物相容性、机械性能等都可以通过化学修饰得到改善^[3]。因此,近年来壳聚糖在食品包装中的应用案例日益增加。

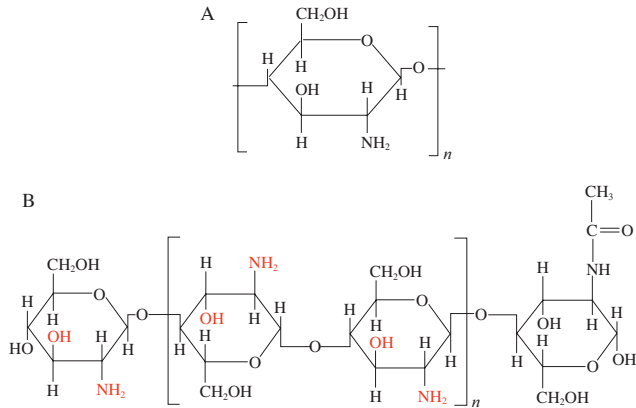


图1 壳聚糖的单糖组成(A)和长链分子结构(B)

Fig. 1 Monosaccharide composition (A) and long-chain molecular structure (B) of chitosan

微生物污染是造成食物腐败的主要原因^[4]。目前传统抑菌食品包装材料大多以塑料等高分子化合物为原料,可降解性差,易造成严重的环境污染,且塑料来源于石油等不可再生资源,成本较高^[5],因此开发资源丰富、环保、无毒、可生物降解的抗菌包装材料已成为研究热点。

壳聚糖及其衍生物对大多细菌和真菌均具有显著的抗菌活性^[6],广泛应用于鱼类^[7]、肉类^[8]以及果蔬^[9]等食品包装和涂层中,以延长食品保质期。壳聚糖可通过分子内或分子间氢键形成具有黏性的成膜液,经流延成膜、干燥后,可制成高透明度的包装薄膜^[10]。这种包装膜不但可以阻挡外来微生物和污染物的进入,而且安全无毒,可以食用。壳聚糖涂膜是通过浸染、喷涂、涂刷等方法在食物表面形成的一种均匀的薄膜,该涂膜可以阻隔细胞内外物质的交换,降低水分代谢,减少果蔬呼吸作用消耗的营养物质,从而有效地抑制微生物的繁殖,延长食品货架期^[11]。

壳聚糖的抗菌活性与温度、浓度、有机酸、添加剂及微生物种类等因素密切相关,此外还与分子质量、乙酰化程度、聚合物黏度等理化性质有关^[12]。壳聚糖的水溶性和机械性能较差,在一定程度上限制了其抑菌活性。故近些年来,研究人员在壳聚糖改性、与其他抗菌剂协同等方面进行了大量研究,使其在食品、生物医药、功能材料等领域具有巨大发展前景。Zhao Yuan等^[13]概述了壳聚糖等绿色抗菌剂在多糖基质可持续抗菌材料的最新进展,对其物理化学特性以及不同材料的功效和

局限性进行探讨。同样,Rajoka等^[14]详细介绍了壳聚糖在食品、医疗行业的潜在应用,并着重介绍了壳聚糖与各种微生物之间的作用机制和影响其抗菌作用的主要因素。Chen Qizhou等^[15]系统地总结了壳聚糖常见的化学改性技术及其衍生物所具备的功能特性,为其在各领域的应用与研发提供借鉴。

壳聚糖作为天然高分子材料,其较为优异的成膜性能、广谱抗菌性、可生物降解性有利于研发绿色食品包装,将有望替代传统聚乙烯膜应用于食品的抗菌保鲜中。因此,如何提高壳聚糖抗菌效率,精准研制抗菌活性强、安全性能高的壳聚糖抗菌膜已成为目前的热点研究方向。因此本文主要概述了壳聚糖的抑菌机制、抑菌活性功能的强化,尤其对壳聚糖可食性抗菌包装在食品行业中的应用进行了详细阐述,如图2所示,通过从基础研究到实际应用等多视角总结壳聚糖作为抑菌剂的研究进展,以为壳聚糖在食品包装中的应用提供参考。



图2 壳聚糖抗菌功能强化和应用

Fig. 2 Enhancement and application of antibacterial function of chitosan

1 壳聚糖的抗菌机制

壳聚糖具有广谱抗菌性,对细菌、真菌等多种微生物均具有明显的抑制作用,如图3所示,其抗菌机制主要包括破坏细胞膜通透性、影响细菌细胞磷脂和蛋白质合成、螯合金属离子等^[16-17]。

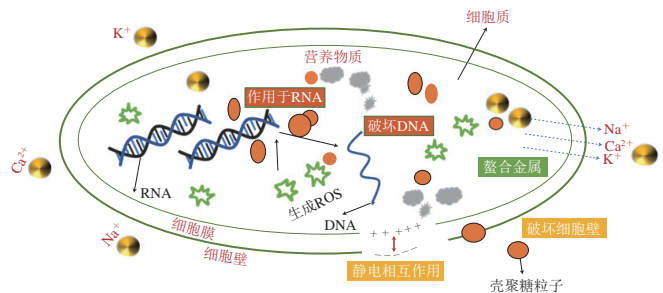


图3 壳聚糖抗菌机制

Fig. 3 Antibacterial mechanism of chitosan

1.1 破坏细菌细胞壁, 改变细胞膜通透性

细菌的细胞壁和细胞膜具有保护微生物免受机械损伤、维持渗透压、维持细胞外形等作用^[18]。壳聚糖分子中的一NH₃⁺带有正电荷, 通过静电相互作用, 可吸附到带负电荷的细菌上, 从而破坏细胞壁的完整性, 提高细胞膜的通透性, 进而造成渗透不平衡, 导致细胞内容物渗出, 使细胞生物活性下降^[1]。Yildirim-Aksoy等^[19]通过细菌细胞溶液的电导率变化发现, 壳聚糖及壳聚糖衍生物可以吸附在细菌表面, 破坏细胞膜, 使细胞内离子穿过受损细胞膜渗透到溶液中, 最终导致细菌细胞死亡。超高分子量壳聚糖的超长分子链可以包裹和结合大肠杆菌和金黄色葡萄球菌, 导致细胞逐渐破裂分解, 大大增强了其抗菌活性^[20]。

1.2 影响细菌细胞核酸复制和蛋白质合成

蛋白质和mRNA的合成是细菌细胞生长过程中最基本的生命活动^[18]。壳聚糖进入细胞后可与带负电荷的蛋白质、核酸吸附结合, 抑制蛋白质和mRNA的合成, 使细菌细胞正常的生理功能受到影响, 从而抑制细菌的生长和繁殖^[21]。Meng Di等^[22]在微观结构和转录组水平上发现壳聚糖通过损害细胞表面结构, 影响RNA转移、翻译等过程, 从而破坏蛋白质生物合成的完整性, 抑制曲霉的生长和发育。此外, Tantala等^[23]利用透射电子显微镜和傅里叶变换红外光谱发现壳聚糖可破坏李斯特菌的细胞壁, 干扰营养物质进入到细胞内, 导致胞内蛋白质变性, 核苷酸结构改变, 从而发挥抑菌作用。

1.3 螯合金属离子

壳聚糖中的一NH₂和—OH具有一定的金属吸附能力, 而革兰氏阴性菌外膜含有由Mg²⁺、Ca²⁺等二价阳离子构成的多阴离子脂多糖^[24], 因此, 壳聚糖可选择性结合细菌中的金属离子和必需营养素, 进而对细菌毒素的产生和微生物的生长发育起到抑制作用^[25]。Lee等^[26]研究发现壳聚糖破坏细胞壁后可结合真菌生长所需的Ca²⁺, 破坏Ca²⁺梯度, 发挥抑菌作用。徐昊洋等^[27]发现在高pH值条件下, 壳聚糖与金属离子的螯合会抑制微生物生长所必需的营养素摄取, 引起细胞壁缺失和破裂, 细胞膜通透性增加, 细胞壁结构发生不可逆地损伤, 最终造成细胞死亡。

2 提高壳聚糖抗菌性能的主要途径

2.1 化学改性

壳聚糖为碱性多糖, 其水溶性较差, 这极大地限制了壳聚糖的应用。通过羧甲基化、烷基化、磺化、季铵化反应可以为壳聚糖表面引入带电或亲水基团, 修饰—NH₂和—OH, 提高水溶性, 促进其发挥抑菌活性^[27-29]。

在壳聚糖的—OH或—NH₂上引入羧甲基可改善壳聚糖分子的表面亲水性^[30], 反应过程如图4A所示。羧甲基化改性后壳聚糖溶解性提高, 羧基的存在使得反应溶液pH值降低, 更多的一NH₂质子化成—NH₃⁺, 这使得抗菌基团数量有所增加; 同时, 由于其内部的一COOH和—NH₂可形成分子内或分子间氢键, 使得分子链舒展开来, 可以与细菌充分接触, 提高了壳聚糖的抗菌性能。羧基的取代位置不同, 抑菌效果也有所不同。这是因为壳聚糖的一NH₂对其抗菌活性至关重要, 而O-羧甲基壳聚糖未在一NH₂位发生取代反应, 保留了一定数量的一NH₂, 使其抗菌效果相对较强。马妍等^[31]对比了N-羧甲基壳聚糖、O-羧甲基壳聚糖、N,O-羧甲基壳聚糖对河豚的抗菌保鲜活性, 在冷藏6 d结束时发现O-羧甲基壳聚糖的抑菌效果尤为突出, 菌落总数为5.75×10⁵ CFU/g, 其他取代基羧甲基壳聚糖组的菌落总数分别为16.22×10⁵ CFU/g和11.89×10⁵ CFU/g。陈泽楚等^[32]对比了未改性壳聚糖以及O-羧甲基壳聚糖的抗菌性能, 发现O-羧甲基壳聚糖对大肠杆菌表现出较好的抗菌活性, 抑菌率达87%~93%。

壳聚糖的烷基化改性一般发生在壳聚糖—NH₂的氮原子和—OH的氧原子上, 因此会得到N-烷基化壳聚糖和O-烷基化壳聚糖两种不同取代位置的壳聚糖衍生物。改性方法包括生成席夫碱、过渡金属离子合成、邻苯二甲酸酐合成等, 其中最常见的是壳聚糖与脂肪醛反应生成席夫碱后, 再在酸性溶液中通过NaBH₄还原得到N-烷基化壳聚糖^[33], 反应过程如图4B所示。Bakshi等^[34]利用甲醛对壳聚糖进行烷基化改性, 发现与未改性壳聚糖相比, 烷基化壳聚糖对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌效果均有所上升, 其最高杀菌率分别为98%和99.99%。Paula等^[35]以芥菜精油作为烷基来源, 通过席夫碱得到了N-烷基化壳聚糖, 改性后壳聚糖对单核细胞增生李斯特菌的最低抑菌浓度 (minimal inhibitory concentration, MIC) 由1 500 μg/mL降至500~1 000 μg/mL。

磺化反应是指壳聚糖的—NH₂或—OH通过与硫酸、二氧化硫或氯磺酸等发生化学反应引入磺酸基(—SO₃H)或其相应盐、磺酰基的过程^[36], 反应过程如图4C所示。磺化后的壳聚糖分子上存在带负电荷的磺酸基团(RSO₃⁻), 能够与细菌生长所需的金属离子进行螯合, 从而对细菌的生长发育产生一定影响。Sun Zhimin等^[37]制备了1,3-丙烷磺酐磺化改性的壳聚糖并测定了其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌性, 实验证明与水溶性壳聚糖相比, 磺化后的壳聚糖抑菌活性明显增强, 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的MIC分别由0.50 mg/mL和4.00 mg/mL降至0.13 mg/mL和2.00 mg/mL。Han Xiaoxiang等^[38]对壳聚糖的一NH₂进行了磺化反应, 制备了季铵盐形式的壳聚糖磺酸盐, 发现丙

基磺酸基团的引入增强了壳聚糖的溶解度, 进一步提高了其抗菌性能, 对荧光假单胞杆菌的MIC为2 mg/mL, 而壳聚糖在16 mg/mL时仍不具有抗菌活性。

季铵化反应是目前壳聚糖化学改性中研究时间最久、使用最广泛的一种方法, 主要包括直接在壳聚糖氨基上引入季铵盐基团小分子的接枝季铵基团反应; 壳聚糖与醛反应得到席夫碱, 将席夫碱还原, 利用卤代烷与之反应得到壳聚糖季铵盐和接枝季铵基团的直接季铵化反应^[39], 反应过程如图4D所示。季铵化反应改性后, 由于壳聚糖分子中含有质子化的 $-NH_2$, 使其在低pH值下具有良好的抗菌特性。Wei Lijie等^[40]合成了8种含席夫碱和季铵盐的壳聚糖衍生物, 其中间体为6-*O*-氯乙酰基-2-*N,N,N*-三甲基季铵盐壳聚糖, 通过菌丝生长速率实验发现壳聚糖衍生物对黄瓜枯萎病菌、灰葡萄枯萎病菌和番茄枯萎病菌均有一定抑制作用, 酚羟基和卤素基团的引入进一步提高了壳聚糖的抗真菌能力。然而, 反应中添加季铵盐可能会产生细胞毒性, 为解决此问题, Mi Yingqi等^[41]将含有席夫碱的乙醛酸与壳聚糖季铵盐进行离子交换, 并对其细胞毒性进行了分析, 确定该方法制得的阴离子壳聚糖季铵盐不仅具有极佳的抗菌性能, 而且安全无毒。

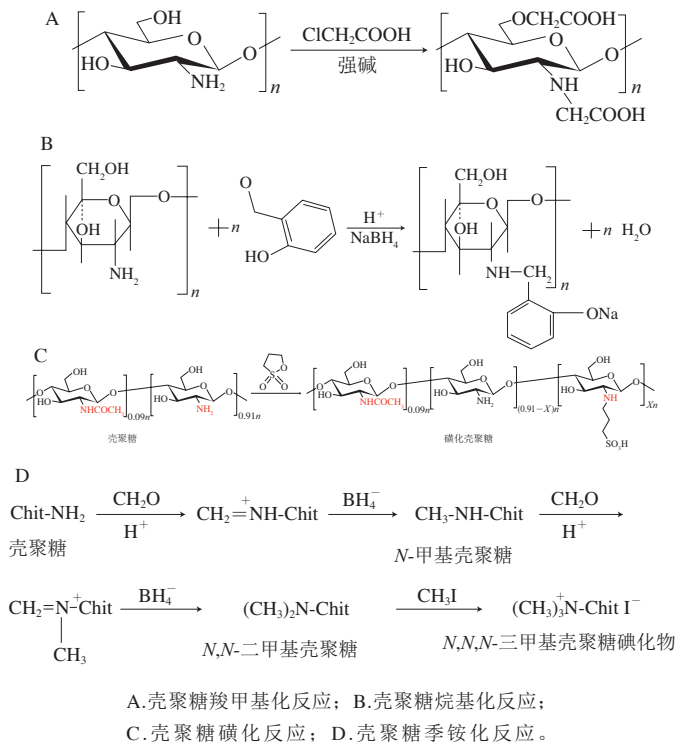


图4 改性壳聚糖合成过程^[37,42-44]

Fig. 4 Synthesis process of modified chitosan^[37,42-44]

2.2 与其他物质协同发挥抑菌作用

壳聚糖具有良好的生物相容性, 可与无机纳米粒子、精油、微生物代谢物等物质协同, 大大增强了其抑菌效果。

2.2.1 无机纳米粒子与壳聚糖协同

在壳聚糖残基中, C2位上有一个 $-NH_2$, C3位上有一个 $-OH$, 平伏键的构象使壳聚糖对钛、银、锌、铜、铬等金属或金属氧化物具有很强的螯合作用, 利用壳聚糖对金属的螯合实现壳聚糖分子中的氢键断裂, 使其分子链扩展和分解, 生成更多的正电荷, 增强壳聚糖的抗菌活性。其中, 无机纳米粒子通过黏附于微生物细胞、渗透到细胞内破坏胞内物质、产生活性氧和自由基导致细胞氧化应激死亡、调节信号转导途径等多种方式潜在地发挥抗菌作用^[45]。

2.2.1.1 金属粒子

Ag是目前应用最广泛的抗菌金属材料之一, 银离子具有空轨道, 可与壳聚糖链上游离 $-NH_2$ 的氮原子的未共用电子对进行配位, 形成壳聚糖-银络合物^[46]。Senthilkumar等^[47]采用马齿苋叶提取物作为还原剂, 通过绿色合成方法制备了壳聚糖-银纳米颗粒杂化物(Chi-AgNPs), 发现该杂化纳米颗粒可以破坏大肠杆菌和黏质沙雷菌的生物膜, 导致细胞死亡, 当Chi-AgNPs质量浓度从10 $\mu\text{g/L}$ 增加到50 $\mu\text{g/L}$ 时, 抑菌圈直径分别从0 mm和6 mm增加到了15 mm和20 mm。Zhao Xixi等^[48]以葡萄籽提取物为稳定剂和还原剂合成了银纳米颗粒AgNPs, 并与壳聚糖复合制备壳聚糖纳米复合涂层, 在葡萄真菌污染实验中, 发现复合涂层涂覆的葡萄酵母菌和霉菌总数在贮藏期间最低为2.9 (lg (CFU/g))。

Cu纳米粒子能穿透细胞壁, 使蛋白质和其他细胞内成分泄漏, 导致细菌细胞死亡从而发挥抑菌作用。采用原位还原法将Cu固定在壳聚糖表面可以提高壳聚糖的抗菌性能, 使得壳聚糖-Cu纳米复合材料对金黄色葡萄球菌、白色念珠菌的抑菌作用要强于原始壳聚糖^[49]。赵宇等^[50]分别将无水硫酸铜和氯化锌通过配位反应制备了壳聚糖铜、锌配合物, 结果表明, 与壳聚糖相比, 这两种配合物对枯草杆菌和四链球菌均具有良好的抑制作用, 10 d后, 抑菌率可以达到55%以上, 其中壳聚糖铜配合物对四链球菌的抑制效果更明显。

2.2.1.2 金属氧化物

金属氧化物纳米粒子可在细胞内释放, 从而改变细胞结构和功能, 诱导细菌氧化应激, 导致细菌死亡^[51]。金属氧化物具有广谱、安全、持久、不易产生耐药性等优势, 因此通过结合壳聚糖与金属氧化物实现协同作用可进一步提升抗菌效果。

Rahman等^[52]采用一锅法将ZnO纳米颗粒分散于壳聚糖溶液中, 制备了新型壳聚糖-ZnO薄膜并用于牛肉的包装, 发现在第6天仍未有金黄色葡萄球菌、大肠杆菌等微生物生长, 但ZnO纳米颗粒在壳聚糖基质中容易聚集, 薄膜表面粗糙。以 $\text{Zn}(\text{Ac})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 为原料, 采用原位沉淀法制备得到纳米ZnO-壳聚糖复合膜, 该复合膜不但可以

有效地改善壳聚糖的抗菌性能,还可以防止ZnO形成聚集体和分布不均匀的现象^[53]。金属氧化物在壳聚糖薄膜表面的均匀分布是其持续发挥抑菌作用的重要前提,金属氧化物-壳聚糖薄膜的制备需要开发更简便、更绿色、更稳定的方法和途径。

TiO₂通过释放活性氧发挥光催化作用,从而破坏微生物细胞壁^[54]。Zhang Xiaodong等^[55]将TiO₂纳米粒子掺入到壳聚糖中制备了壳聚糖-TiO₂复合膜,并测试了其对于大肠杆菌,金黄色葡萄球菌、白色念珠菌和黑曲霉的抗菌活性,发现该复合物可以在12 h内完成100%杀菌,延长了红葡萄的保质期。Siripatrawan等^[56]将TiO₂添加到壳聚糖薄膜中,发现当薄膜暴露在紫外光下时,TiO₂会发生光催化反应,产生的活性氧增加了微生物细胞膜的通透性,从而引起了细胞内辅酶A的氧化和脂质的过氧化,进而导致细胞死亡。

利用壳聚糖与金属离子优异的抗菌性能,将其协同抑菌性有机的结合起来,能显著提升薄膜的抗菌性能,但金属粒子的释放和毒性问题仍处于被质疑的阶段,故如何开发出既能在食物表面发挥优良的抑菌效果,又能保障食品安全的复合材料,还需要进行深入的研究。

2.2.2 精油或植物提取物与壳聚糖协同

精油是一种以挥发性芳香提取物为主的植物次生代谢产物,其中醛类、酚类和含氧萜类化合物是精油的主要抗菌活性物质^[57]。植物提取物主要活性成分包括黄酮、多酚、生物碱、有机酸等,多是较为稳定的次生代谢产物^[58]。这些物质中的活性成分可以破坏细胞膜通透性,导致胞内遗传物质、蛋白质无法正常合成^[59],阻碍细菌菌体形成,从而发挥抑菌作用,是一种极具潜力的绿色抗菌剂。另外,植物提取物中的羟基化合物黄酮、皂苷等亲水基团能够提高壳聚糖的水溶性,使其具有更强的抗菌能力。

Hadidi等^[60]研究发现丁香精油与壳聚糖纳米颗粒的复合涂层对单核细胞增生李斯特菌、金黄色葡萄球菌、伤寒杆菌和大肠杆菌均具有良好的抗菌活性,其抑菌圈直径为39.5~48.0 mm,明显大于纯壳聚糖,最小抑菌体积为2 μL。大蒜素是大蒜的主要成分,对致病菌具有超强的抑制作用,Ahmadi等^[61]分别以大蒜提取物和百里香精油与壳聚糖协同,发现其在壳聚糖基膜中起着关键的抗菌作用。Riaz等^[62]将壳聚糖与苹果皮多酚混合制备具有抗菌、抗氧化作用的食物包装薄膜,发现苹果皮多酚的加入不仅改善了薄膜的机械性能,同时显著提高了其抗氧化能力和抑菌效果。此外,在壳聚糖-明胶基质中加入光敏剂姜黄素形成薄膜,利用蓝色发光二极管照射70 min后,发现明胶-壳聚糖薄膜处理过的大肠杆菌、单核细胞增生李斯特菌、腐烂弧菌和副溶血性弧菌细胞仍

然呈饱满杆状,而经加入姜黄素薄膜处理后的细胞出现萎缩和破裂,形态发生变化,进一步证明了光动力灭活可以使食源性病原菌失去生物活性,从而达到灭菌目的^[63]。

精油或植物提取物与壳聚糖协同发挥抗菌活性方面具有发展潜力,然而,在其稳定性、缓释等方面还需进一步研究。

2.2.3 微生物代谢产物与壳聚糖协同

微生物能够产生乳酸链球菌素、ε-聚赖氨酸(ε-polylysine, ε-PL)、溶菌酶等多种代谢产物,其抗菌能力强、安全无毒、易培养,被广泛应用于抗菌材料中^[64],其中ε-PL和乳酸链球菌素主要是通过破坏细胞膜使细胞内物质流失、影响膜分子间相互作用等机制达到抗菌效果^[65-67],溶菌酶主要通过水解微生物细胞壁、破坏肽聚糖骨架物质导致微生物裂解死亡^[68]。

ε-PL是由丝状放线菌产生的胞外物质,对大多数细菌、酵母菌和病毒都有明显的抑制作用^[69]。Li Yana等^[70]研究发现ε-PL的添加可显著提高壳聚糖的抗菌活性,且PL/壳聚糖涂层有效减缓了柑橘总可溶性固形物和抗坏血酸含量的下降。富含ε-PL的明胶/壳聚糖纳米纤维薄膜能有效抑制革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌等食源性细菌,240 min后,灭活后的细菌总数在2.5 (lg (CFU/g))以下,而未添加ε-PL的复合薄膜的菌落总数为3.7~4.0 (lg (CFU/g)),说明壳聚糖和ε-PL的加入大大提高了薄膜的抑菌能力^[71]。

细菌素特别是乳酸链球菌素是由乳球菌产生的天然抗菌肽,由于乳酸链球菌素在较低pH值环境下具有较高活性,且壳聚糖易溶于酸性溶剂,因此乳酸链球菌素与壳聚糖可联合使用从而提高抑菌性能^[72]。Yuan Dongdong等^[73]将乳酸链球菌素制成W/O/W乳液与壳聚糖复合使用,发现乳液的加入对革兰氏阳性致病菌、革兰氏阴性致病菌、腐败菌均有明显的抑制作用,抑菌圈直径从1 mm增加到了15 mm左右,有效延长了鲑鱼片的保质期。Zhang Liming等^[74]在壳聚糖/玉米醇溶蛋白的双层膜基质中嵌入了乳酸链球菌素和姜黄素等活性物质,发现该膜处理后,金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的菌落总数低至2 (lg (CFU/g)),与壳聚糖膜处理后的4 (lg (CFU/g))相比,可以看出乳酸链球菌素的加入提高了壳聚糖对食源性病原菌的抑制作用。将乳酸链球菌加入壳聚糖基质中制成微胶囊,在酸性条件下对枯草芽孢杆菌表现出良好的抑制作用^[75]。

溶菌酶是一种糖苷水解酶,广泛存在于微生物、植物生物体内,对革兰氏阳性和部分革兰氏阴性菌及真菌等均有一定的抑菌作用^[68]。溶菌酶通过—NH₂和—OH基团与壳聚糖相互作用形成复合物,Zeta电位升高,其表面具有更高的电荷密度,能够更好地穿透细胞膜屏障,从而显著提高壳聚糖的抑菌活性。Wu Tiantian等^[76]研究

发现,与壳聚糖纳米颗粒的MIC 5/8 mg/mL相比,加入溶菌酶的壳聚糖纳米颗粒在质量浓度为5/32 mg/mL时就足以引起大肠杆菌、枯草芽孢杆菌完全失活,说明溶菌酶与壳聚糖纳米颗粒融合后对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌的敏感性增强。徐楚等^[77]研究发现使用壳聚糖、茶多酚和溶菌酶复合保鲜剂后,鲑鱼片的菌落总数在第4天为4.07 (lg (CFU/g)),数值略大于一级鲜度规定标准,防腐保鲜效果良好。

微生物代谢产物与壳聚糖的复合可缓解微生物代谢产物易降解、抑菌稳定性差的问题,确保了其抗菌作用效果。然而,微生物代谢产物的毒性尚需评估,需保证其使用量在可食用范围内。

3 壳聚糖在新型食品包装中的应用

在食品加工、贮藏和运输过程中,微生物易造成食品腐败变质,产生有毒有害代谢物,危害人体健康^[78]。使用活性抗菌包装能够显著降低微生物感染水平,延长食品货架期。将多糖、脂质或蛋白质等膜基质与活性抗菌物质壳聚糖复合制备活性包装膜,能够赋予薄膜更好的机械性能、阻隔性能和抗菌活性,从而延缓经微生物引起的食品腐败变质^[79]。

3.1 壳聚糖-多糖复合膜

多糖如海藻酸盐、纤维素、淀粉、普鲁兰多糖等物质富含—OH、羰基、—NH₂等官能团,壳聚糖通过氢键、静电作用等作用于多糖类物质,可以显著提升整体多糖类膜结构的抗菌能力。

海藻酸盐是一种生物可降解、无毒、生物黏附性以及凝胶特性良好的天然阴离子聚合物^[80],壳聚糖和海藻酸盐均为水生来源多糖,可以通过静电相互作用和非共价交联制备抑菌膜。Bilbao-Sainz等^[81]将壳聚糖与海藻酸盐通过静电沉积制得水果棒复合涂膜,发现未包衣和海藻酸盐包衣的水果棒在贮藏28 d时开始生长霉菌和酵母菌,而在海藻酸盐-壳聚糖涂膜覆盖的水果棒上酵母菌和霉菌的生长延迟到34 d。Kim等^[82]利用壳聚糖-海藻酸盐涂层控制南极磷虾致病菌嗜氧细菌和嗜冷细菌,发现该涂层可将生长期的微生物数量降低2~3个对数,有效延长了低温冷藏虾的保质期。Gao Haoxiang等^[83]将壳聚糖与果胶复合形成功能性多糖膜并应用于牛肉储存,发现在第8天牛肉中的菌落总数为 75×10^7 CFU/g,明显低于空白对照组的 125×10^7 CFU/g。

纤维素是自然界最丰富的天然聚合物,含有易于修饰的—OH,可以作为抗菌剂的良好支撑材料^[84]。Zhang Jin等^[85]将含有壳聚糖和肉桂醛的纤维素涂膜应用到哈密瓜外皮和果肉的保鲜中,在4℃下存放20 d后,发现复合涂膜对大肠杆菌和单核细胞增生李斯特

菌显示出优异的抗菌性能,保存12 d时,无薄膜覆盖哈密瓜大肠杆菌数增至8.40 (lg (CFU/cm²)),而复合涂膜处理组的大肠杆菌呈现出下降趋势,数量减少了6.52 (lg (CFU/cm²))。Song Ziyue等^[86]在纤维素水凝胶表面涂覆了壳聚糖与柠檬酸络合物制备的纤维素-壳聚糖膜,发现在肉类贮藏过程中,无包装组和聚乙烯薄膜组活菌数均随时间延长而逐渐增加,而纤维素-壳聚糖包裹的猪肉活菌数由第0天的(4.48±0.38) (lg (CFU/g))降至第9天的(2.60±0.15) (lg (CFU/g)),且复合膜表现出了优异的氧气阻隔性能,拉伸强度也由35.21 MPa提升至53.41 MPa。

淀粉是由葡萄糖单元通过糖苷键连接的碳水化合物,聚合物之间可以形成大量氢键,因此经常用于开发淀粉基复合材料^[87]。Mehran等^[88]在淀粉基膜中负载壳聚糖纳米颗粒作为机械强度增强剂和抗菌剂,结果表明随着壳聚糖纳米颗粒的加入,淀粉-壳聚糖纳米颗粒薄膜对细菌的抑制作用逐渐加强,大肠杆菌降低81.77%,金黄色葡萄球菌下降幅度达100%。Valencia-Sullca等^[89]开发了壳聚糖-木薯淀粉复合薄膜,发现壳聚糖的添加使得薄膜的拉伸强度变差,但抗断裂性有一定程度的增强,同时对大肠菌群有明显的抑制作用,有效减少了冷藏猪肉片的需氧量。在复合材料中添加其他抑菌组分可进一步提高抑菌性能,在壳聚糖-淀粉薄膜中加入柠檬草精油可显著提高薄膜的物理稳定性、热稳定性以及抗微生物、抗氧化活性等性能^[90]。

普鲁兰多糖作为微生物源多糖,具有良好的溶解性和成膜性,是一种良好的薄膜基质^[91]。张盼等^[92]将壳聚糖和普鲁兰多糖作为成膜基质,同时将ε-PL添加到混合溶液中作为抑菌剂,制备了具有抗菌性的可食性复合膜,当壳聚糖添加量为15 g/L时,该可食性复合膜的机械性能最佳,且对冷鲜牛肉潜在致病菌具有显著抑制效果,有效减缓了冷鲜牛肉的品质劣变。

尽管多糖类复合膜作为可降解材料适用于食品包装,但多糖复合时会形成高分子聚合物,薄膜难以涂布均匀,其次,多糖类复合膜的阻湿性差,在湿度较大环境的下会影响其机械性能,这也限制了多糖类复合膜的广泛使用,故改善食品包装膜性能也成为目前多糖膜改性研究中必不可缺少的环节。

3.2 壳聚糖-蛋白质复合膜

壳聚糖的—NH₂带有正电荷,可与蛋白质的去质子化羧基发生静电相互作用,从而提高复合膜的抗菌贮藏稳定性。研究人员对壳聚糖与蛋白质生物聚合物如明胶、大豆分离蛋白和玉米醇溶蛋白的复合进行了深入研究。

研究发现,明胶与壳聚糖可以通过氢键和静电相互作用使其与壳聚糖具有良好的混溶性^[93],Hassan等^[94]制备了含有木瓜叶提取物和百里香提取物的壳聚糖-明胶基可食用涂层,发现该涂层可改善鸡肉和奶酪的嫩度、

多汁性、肉体、质地以及风味,含百里香提取物的涂层表现出较高的抗菌和抗氧化活性。将肉桂提取物等抗菌活性物质掺入到壳聚糖-明胶纳米纤维膜中,发现该膜溶液混溶后的相互作用可延长肉桂提取物的释放时间,保障该膜的长效抑菌性^[95]。Roshandel-Hesari等^[96]研究了由壳聚糖、酪蛋白和牛至精油混合的可食性复合薄膜制备过程以及薄膜对樱桃番茄的保鲜作用。研究发现,在加入壳聚糖后,复合膜机械性能显著提高,抗拉强度从最初的1.832 MPa升到25.320 MPa,而牛至精油的加入还改善了复合膜的断裂伸长率,从原来的14.55%上升到了24.46%,同时观察到被复合薄膜包衣的樱桃番茄在4℃贮藏28 d时真菌仍被抑制,而未包衣樱桃番茄在第16天便表现出明显的霉菌生长。

壳聚糖与大豆分离蛋白通过静电相互作用在分子间形成紧密的结构,从而制得机械性能、阻隔性能良好的薄膜^[97]。壳聚糖与富含 γ -氨基丁酸的大豆蛋白水解物发生美拉德反应,可以产生一种以类黑色素为主的抗菌化合物,该黑色素通过螯合细菌细胞膜外的镁,导致细胞膜内外同时被破坏,使得壳聚糖-大豆蛋白复合膜具有良好的抗菌活性^[98]。郑奥泽等^[99]以壳聚糖和大豆分离蛋白为原料探究了该复合涂膜对豆腐菌落总数的影响,研究发现与单一大豆分离蛋白薄膜相比,壳聚糖-大豆分离蛋白涂膜抗菌效果显著,在贮藏32 h后菌落总数仍没有超过国标规定的 10^5 CFU/g。

壳聚糖在酸性条件下具有较好的黏性,其大分子残基可与玉米醇溶蛋白官能团发生交联作用形成网络结构,壳聚糖-玉米醇溶蛋白复合材料具有良好的机械性能、抗菌性、抗氧化性以及疏水性^[100]。陈桂芸等^[101]利用流延法制得玉米醇溶蛋白-壳聚糖复合膜,发现该膜放置的培养基中出现明显抑菌圈,且随着壳聚糖浓度的增加,抑菌圈的直径先增大后减小。Wang Xiaomin等^[102]在壳聚糖-玉米醇溶蛋白复合膜中添加柠檬精油,开发了具有抗菌和抗氧化性能的壳聚糖基复合膜,与单独使用壳聚糖的材料相比,壳聚糖-玉米醇溶蛋白复合材料对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有明显的抑制作用,同时柠檬精油的添加提高了薄膜的断裂伸长率以及对氧气和二氧化碳的透过率,但拉伸强度和水蒸气透过率有所降低。

以上研究表明,壳聚糖与蛋白质类物质复合有效改善了壳聚糖膜的机械拉伸强度,使其应用领域不仅仅局限于涂膜的抗菌保鲜。但由于蛋白质本身结构较为紧密,表面的一些活性基团和疏水基团被隐藏在结构内部,分子间难以进行充分交联,使得其与壳聚糖组成的复合膜结构不紧密,阻隔性能差,故在食品包装中的使用中受到了一定限制。

3.3 壳聚糖-脂质复合膜

壳聚糖可与蜡质型薄膜、植物油型薄膜复合,其中

壳聚糖与蜂蜡的一OH之间发生氢键作用使两者之间吸附更紧密^[103]。功能性壳聚糖和蜂蜡为食品包装提供抗菌屏障具有积极前景,Velickova等^[104]制备了壳聚糖-蜂蜡复合涂层,探究其对草莓的保鲜效果,发现壳聚糖的加入提高了复合涂层的拉伸强度和水蒸气阻隔性能,在保鲜实验中发现复合涂膜可以延迟导致草莓病害的菌丝体生长,贮藏第7天时草莓真菌感染率低至11%。Foo等^[105]以壳聚糖和不同浓度蜂蜡作为可食用涂膜处理人心果,发现涂层降低了微生物的生长速度,在贮藏17 d后微生物数量低于国标所允许的限度5 (lg (CFU/g))。经壳聚糖和蜂蜡涂膜的全麦面包在5℃和25℃储存时,微生物稳定性分别高达(12±1) d和(8±1) d,而未涂膜包装的全麦面包分别第8天和第6天时观察到腐败菌^[106]。

壳聚糖大分子的阳离子 $-NH_3^+$ 可与带负电的油脂之间产生电荷吸引作用,从而制备复合涂膜^[107]。Vieira等^[108]制备了壳聚糖-橄榄油可食性复合涂膜并对无花果进行抗菌保鲜,发现在低温贮藏19 d室温贮藏2 d后,未经涂膜的无花果真菌污染面积达50%,而涂膜后的仅为5%。Khalifa等^[109]以壳聚糖和橄榄油为原料制备了食用涂层,发现壳聚糖的加入延缓了草莓表面匍枝根霉(*R. stolonifer*)的生长,复合涂层处理过的草莓在贮藏16 d后菌落总数为5.94 (lg (CFU/g)),相较于未涂膜的12.04 (lg (CFU/g)),涂膜的抑菌性有很大提升。

然而脂质膜容易氧化,性质不稳定,保留时间较短,并且壳聚糖与脂质所形成的复合膜界面黏附性差,随着时间的推移,往往会出现分层、裂缝以及表面不均匀的现象,因而在商业化中不受欢迎。这也为今后薄膜改进上提供一定理论基础,探索不同的复合方法替代共混法,以获得性能稳定壳聚糖-脂质复合膜。

4 结语

壳聚糖由于其抗菌活性和无毒性,具有作为抗菌材料的巨大潜力,通过改性、与其他物质协同等方式在一定程度上可提高壳聚糖抗菌复合材料的抗菌活性,有效防止食物腐败和致病微生物的滋生。壳聚糖作为天然抗菌剂赋予了不同成膜基材抗菌活性,有效延长了各种食品和其他农产品的货架寿命,同时减少了合成塑料和添加剂的使用,降低了环境污染,因此壳聚糖在食品抗菌包装领域的发展前景十分广阔。

食品包装膜的长效抑菌性、安全性和生产成本等仍然是壳聚糖应用到工业推广中所面临的问题,因此,在未来研究中,可进一步探索壳聚糖基抗菌包装材料在不同条件下的抗菌稳定性以及活性物质的缓释过程,以确保其可长时间维持抗菌活性;提高壳聚糖体系的机械性能、阻隔性能、抑菌性能等综合性能,为扩大壳聚糖膜

的应用范围提供可能性；含有活性物质的食品包装膜在应用中是否会对食物的感官特性，如刺激性气味产生影响有待进一步研究；壳寡糖复合材料尤其是复合金属材料的安全性仍需重点关注，对抗菌包装的安全性评价需要确定合适的方法和相关标准，保障消费者食用过程中的安全性；避免繁琐的原料分离纯化和成膜工艺，提高生产效率，降低生产成本。

参考文献：

- [1] 张玲. 壳聚糖的抗菌机理及其在食品中的应用研究[J]. 现代食品, 2020(20): 71-74. DOI:10.16736/j.cnki.cn41-1434/ts.2020.20.020.
- [2] 杨焕蝶, 张翔, 亚历山大·苏沃洛夫, 等. 壳聚糖与壳寡糖抑菌保鲜研究进展[J]. 山东农业科学, 2020, 52(2): 167-172. DOI:10.14083/j.issn.1001-4942.2020.02.031.
- [3] LI B L, ELANGO J, WU W H. Recent advancement of molecular structure and biomaterial function of chitosan from marine organisms for pharmaceutical and nutraceutical application[J]. Applied Sciences, 2020, 10(14): 4719. DOI:10.3390/app10144719.
- [4] AHMED S, SAMEEN D E, LU R, et al. Research progress on antimicrobial materials for food packaging[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 62(11): 3088-3102. DOI:10.1080/10408398.2020.1863327.
- [5] 胡云峰, 杨秋月, 宋慧颖, 等. 纤维素膜降解性能及其在切分蔬菜保鲜中的应用研究[J]. 制冷学报, 2012, 33(5): 70-73.
- [6] LI J, ZHUANG S. Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria current state and perspectives[J]. European Polymer Journal, 2020, 138(1): 109984. DOI:10.1016/j.eurpolymj.2020.109984.
- [7] VIMALADEVI S, XAVIER M K A, PANDA S K, et al. Packaging performance of organic acid incorporated chitosan films on dried anchovy (*Stolephorus indicus*)[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 127: 189-194. DOI:10.1016/j.carbpol.2015.03.065.
- [8] CHANG W, LIU F, SHARIF H R, et al. Preparation of chitosan films by neutralization for improving their preservation effects on chilled meat[J]. Food Hydrocolloids, 2019, 90: 50-61. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.09.026.
- [9] JIANG Y L, YU L, HU Y W, et al. Electrostatic spraying of chitosan coating with different deacetylation degree for strawberry preservation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 139: 1232-1238. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.08.113.
- [10] 李莹, 杨欣悦, 王雪羽, 等. 壳聚糖复合膜的成膜机理和特性研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(7): 430-438. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2021040015.
- [11] 刘可, 高峰, 刘佳豪, 等. 壳聚糖在食品保鲜中的研究应用进展[J]. 食品安全导刊, 2021(8): 16-19. DOI:10.16043/j.cnki.cfs.2021.08.006.
- [12] MAHMOUD H, SEID M J. Evaluation of different factors affecting antimicrobial properties of chitosan[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 85: 467-475. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2016.01.022.
- [13] ZHAO Y, AN J J, SU H X, et al. Antimicrobial food packaging integrating polysaccharide-based substrates with green antimicrobial agents: a sustainable path[J]. Food Research International, 2022, 155: 111096. DOI:10.1016/j.foodres.2022.111096.
- [14] RAJOKA M S R, MEHWISH H M, WU Y G, et al. Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: a comprehensive review and future perspectives[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2020, 40: 365-379. DOI:10.1080/07388551.2020.1713719.
- [15] CHEN Q Z, QI Y, JIANG Y W, et al. Progress in research of chitosan chemical modification technologies and their applications[J]. Marine Drugs, 2022, 20(8): 536. DOI:10.3390/md20080536.
- [16] 朱旭明, 郑铁生. 壳聚糖对细菌表面作用机理研究[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 155-157.
- [17] TANG H, ZHANG P, THOMAS L K, et al. Antibacterial action of a novel functionalized chitosan-arginine against gram-negative bacteria[J]. Acta Biomaterialia, 2010, 6(7): 2562-2571. DOI:10.1016/j.actbio.2010.01.002.
- [18] 陈红军. 杂环类杀菌剂作用机理的研究进展[J]. 现代农业科学, 2009, 16(11): 4-5.
- [19] YILDIRIM-AKSOY M, BECK B H. Antimicrobial activity of chitosan and a chitosan oligomer against bacterial pathogens of warmwater fish[J]. Journal of Applied Microbiology, 2017, 122(6): 1570-1578. DOI:10.1111/jam.13460.
- [20] LI J H, WU Y G, ZHAO L Q. Antibacterial activity and mechanism of chitosan with ultra-high molecular weight[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 148: 200-205. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.04.025.
- [21] 柯松, 王敏, 徐源, 等. 壳聚糖抑菌性能的研究进展[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2019, 16(3): 59-62.
- [22] MENG D, GARDA B, REN Y, et al. Antifungal activity of chitosan against *Aspergillus ochraceus* and its possible mechanisms of action[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 158: 1063-1070. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.04.213.
- [23] TANTALA J, THUMANU K, RACHTANAPUN C. An assessment of antibacterial mode of action of chitosan on *Listeria innocua* cells using real-time HATR-FTIR spectroscopy[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 135: 386-393. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.05.032.
- [24] 张易, 顾瑜. 绿原酸的抑菌作用及其在口腔中的应用进展[J]. 医药论坛杂志, 2022, 43(7): 104-107.
- [25] XING Y, XU Q, LI X, et al. Chitosan-based coating with antimicrobial agents: preparation, property, mechanism, and application effectiveness on fruits and vegetables[J]. International Journal of Polymer Science, 2016, 2: 2-24. DOI:10.1155/2016/4851730.
- [26] LEE C G, KOO J C, PARK J K. Antifungal effect of chitosan as Ca²⁺ channel blocker[J]. Plant Pathology Journal, 2016, 32(3): 242-250. DOI:10.5423/ppj.oa.08.2015.0162.
- [27] 徐昊洋, 阮长晴. 基于壳聚糖的绿色抗菌复合涂膜材料及其在水果保鲜应用上的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(14): 295-302. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.023683.
- [28] NEGM N A, HEFNI H H, ABD-ELAAL A A, et al. Advancement on modification of chitosan biopolymer and its potential applications[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 152: 681-702. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.02.196.
- [29] 邢荣娥, 秦玉坤, 李克成, 等. 具有抑制植物病原真菌活性的含氮、硫、磷壳聚糖衍生物的研究进展[J]. 海洋科学, 2020, 44(7): 135-142. DOI:10.11759/hyxx20200117004.
- [30] 董丽丹, 魏长平, 李中田, 等. 改性羧甲基壳聚糖复合材料的制备、表征与研究[J]. 发光学报, 2018, 39(9): 1207-1212.
- [31] 马妍, 谢晶, 周然, 等. 不同取代基羧甲基壳聚糖对冷藏河豚鱼品质的影响[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(15): 3131-3135.
- [32] 陈泽楚, 李婷, 陈锦涛. O-羧甲基壳聚糖的制备及其抗菌性能研究[J]. 化工新型材料, 2016, 44(9): 175-177.
- [33] 赵世鹏, 冯宗财, 袁爽, 等. 壳聚糖改性研究进展[J]. 岭南师范学院学报, 2016, 37(6): 71-76.
- [34] BAKSHI P S, SELVAKUMAR D, KADRIVELU K, et al. Comparative study on antimicrobial activity and biocompatibility of N-selective chitosan derivatives[J]. Reactive & Functional Polymers, 2018, 124: 149-155. DOI:10.1016/j.reactfunctpolym.2018.01.016.

- [35] PAULA H, SILVA R, SANTOS C M, et al. Eco-friendly synthesis of an alkyl chitosan derivative[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 163: 1591-1598. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.08.058.
- [36] 刘玉红. 磺化壳聚糖对细菌及其生物被膜抑制作用的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2019: 6.
- [37] SUN Z M, SHI C G, WANG X Y, et al. Synthesis, characterization, and antimicrobial activities of sulfonated chitosan[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 155: 321-328. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.08.069.
- [38] HAN X X, ZHENG Z H, YU C, et al. Preparation, characterization and antibacterial activity of new ionized chitosan[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 290: 119490. DOI:10.1016/j.carbpol.2022.119490.
- [39] 薛文曼, 王飞, 王慧芳, 等. 壳聚糖的改性及其抗菌性能研究进展[J]. *化工新型材料*, 2020, 48(11): 49-53. DOI:10.19817/j.cnki.issn1006-3536.2020.11.011.
- [40] WEI L J, TAN W Q, WANG G, et al. The antioxidant and antifungal activity of chitosan derivatives bearing Schiff bases and quaternary ammonium salts[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 226: 115256. DOI:10.1016/j.carbpol.2019.115256.
- [41] MI Y Q, CHEN Y, TAN W Q, et al. The influence of bioactive glyoxylate bearing Schiff base on antifungal and antioxidant activities to chitosan quaternary ammonium salts[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 278: 2-11. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118970.
- [42] 曹晓瑶, 黄元盛. 纳米TiO₂/羧甲基壳聚糖复合涂料的制备及其在抗菌纸中的应用[J]. *中华纸业*, 2015, 36(10): 25-28.
- [43] 李贵林, 李海虹, 樊老子. N-烷基化壳聚糖吸附苯酚的研究[J]. *盐城工学院学报(自然科学版)*, 2012, 25(2): 52-55.
- [44] ANDREICA B I, CHENG X, MARIN L. Quaternary ammonium salts of chitosan. A critical overview on the synthesis and properties generated by quaternization[J]. *European Polymer Journal*, 2020, 139(1): 110016. DOI:10.1016/j.eurpolymj.2020.110016.
- [45] CHAND D T, KUMAR A, MAJUMDAR R S, et al. Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1831. DOI:10.3389/fmicb.2016.01831.
- [46] NOVIKOV I V, PIGALEVA M A, ABRAMCHUK S S, et al. Chitosan composites with Ag nanoparticles formed in carbonic acid solutions[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 190: 103-112. DOI:10.1016/j.carbpol.2018.02.076.
- [47] SENTHILKUMAR P, YASANT G, KAVITHA S, et al. Preparation and characterization of hybrid chitosan-silver nanoparticles (Chi-Ag NPs); A potential antibacterial agent[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 141: 290-299. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2019.08.234.
- [48] ZHAO X X, TIAN R F, ZHOU J Y, et al. Multifunctional chitosan/ grape seed extract/silver nanoparticle composite for food packaging application[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 207: 152-160. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.02.180.
- [49] HE M, LU L Y, ZHANG J C, et al. Facile preparation of L-ascorbic acid-stabilized copper-chitosan nanocomposites with high stability and antimicrobial properties[J]. *Science Bulletin*, 2015, 60(2): 227-234. DOI:10.1007/s11434-014-0697-4.
- [50] 赵宇, 张东真, 张璇, 等. 壳聚糖Cu(II)、Zn(II)配合物的合成及性能研究[J]. *海洋湖沼通报*, 2013(4): 125-129.
- [51] 李海东, 田冰, 宋杨, 等. 金属氧化物纳米颗粒在食品中的应用及安全性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2022, 48(24): 312-318. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.030661.
- [52] RAHMAN P M, MUJEEB V M A, MURALEEDHARAN K. Flexible chitosan-nano ZnO antimicrobial pouches as a new material for extending the shelf life of raw meat[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 97: 382-391. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2017.01.052.
- [53] QIU B, XU X, DENG R, et al. Construction of chitosan/ZnO nanocomposite film by *in situ* precipitation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 122: 82-87. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.10.084.
- [54] MESGARI M, AALAMI A H, SAHEBKAR A. Antimicrobial activities of chitosan/titanium dioxide composites as a biological nanolayer for food preservation: a review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 176: 530-539. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.02.099.
- [55] ZHANG X D, XIAO G, WANG Y Q, et al. Preparation of chitosan-TiO₂ composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 169: 101-107. DOI:10.1016/j.carbpol.2017.03.073.
- [56] SIRIPATRAWAN U, KAEWKLIN P. Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging[J]. *Food Hydrocolloids*, 2018, 84: 125-134. DOI:10.1016/j.foodhyd.2018.04.049.
- [57] 张梅, 李晓君, 成悦, 等. 植物源防腐剂的制备及抑菌机理研究[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(1): 139-145. DOI:10.12161/j.issn.1005-6521.2022.01.020.
- [58] 张晶, 邢媛媛, 徐元庆, 等. 植物提取物活性成分的提取工艺及抑菌活性研究进展[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(12): 5461-5467. DOI:10.3969/j.issn.1006-267x.2019.12.010.
- [59] ÁLVAREZ-MARTINEZ F J, BARRAJÓN-CATALÁN E, HERRANZ-LÓPEZ M, et al. Antibacterial plant compounds, extracts and essential oils: an updated review on their effects and putative mechanisms of action[J]. *Phytomedicine*, 2021, 90: 153626. DOI:10.1016/j.phymed.2021.153626.
- [60] HADIDI M, POURAMIN S, ADINEPOUR F, et al. Chitosan nanoparticles loaded with clove essential oil: characterization, antioxidant and antibacterial activities[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 236: 116075. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116075.
- [61] AHMADI H, JAHANSHAHI M, PEYRAVI M, et al. A new antibacterial insight of herbal chitosan-based membranes using thyme and garlic medicinal plant extracts[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 334: 130114. DOI:10.1016/j.jclepro.2021.130114.
- [62] RIAZ A, LAGNIKA C, ABDIN M, et al. Preparation and characterization of chitosan/gelatin-based active food packaging films containing apple peel nanoparticles[J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2020, 28(2): 411-420. DOI:10.1007/s10924-019-01619-4.
- [63] FAN W, RONGHAN W, YINGJIE P, et al. Gelatin/chitosan films incorporated with curcumin based on photodynamic inactivation technology for antibacterial food packaging[J]. *Polymers*, 2022, 14(8): 1600. DOI:10.3390/polym14081600.
- [64] 徐畅, 于基成, 刘秋. 微生物源食品保鲜剂的研究进展[J]. *包装工程*, 2021, 42(13): 9-20. DOI:10.19554/j.cnki.1001-3563.2021.13.002.
- [65] LIN L, GU Y L, LI C Z, et al. Antibacterial mechanism of ϵ -poly-L-lysine against *Listeria monocytogenes* and its application on cheese[J]. *Food Control*, 2018, 91: 76-84. DOI:10.1016/j.foodcont.2018.03.025.
- [66] SHAO Z P, YANG Y, FANG S, et al. Mechanism of the antimicrobial activity of whey protein- ϵ -polylysine complexes against *Escherichia coli* and its application in sauced duck products[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 328: 108663. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108663.
- [67] ZHAO R, DUAN G, YANG T, et al. Purification, characterization and antibacterial mechanism of bacteriocin from *Lactobacillus acidophilus*

- XH1[J]. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 2015, 14(6): 989. DOI:10.4314/tjpr.v14i6.8.
- [68] 刘益丽, 邓霄禹, 江明锋. 溶菌酶抑菌活性及检测方法研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(8): 189-194.
- [69] 柳芬芳, 李迎秋. ϵ -聚赖氨酸抗菌特性及应用研究进展[J]. 中国调味品, 2021, 46(4): 183-186; 192. DOI:10.3969/j.issn.1000-9973.2021.04.037.
- [70] LI Y N, YE Q Q, HOU W F, et al. Development of antibacterial ϵ -polylysine/chitosan hybrid films and the effect on citrus[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118: 2051-2056. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.07.074.
- [71] LIU F, LIU Y N, SUN Z L, et al. Preparation and antibacterial properties of ϵ -polylysine-containing gelatin/chitosan nanofiber films[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 3376-3387. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.08.152.
- [72] 李梵. 乳酸链球菌素的研究进展[J]. 现代食品, 2019(8): 13-16. DOI:10.16736/j.cnki.cn41-1434/ts.2019.08.004.
- [73] YUAN D D, HAO X, LIU G R, et al. A novel composite edible film fabricated by incorporating W/O/W emulsion into a chitosan film to improve the protection of fresh fish meat[J]. Food Chemistry, 2022, 385: 132647. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.132647.
- [74] ZHANG L M, CHEN D Y, YU D W, et al. Modulating physicochemical, antimicrobial and release properties of chitosan/zein bilayer films with curcumin/nisin-loaded pectin nanoparticles[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 133: 1-13. DOI:10.1016/j.foodhyd.2022.107955.
- [75] HU Y Q, WU T T, FU S L, et al. Formation and optimization of chitosan-nisin microcapsules and its characterization for antibacterial activity[J]. Food Control, 2017, 72: 43-52. DOI:10.1016/j.foodcont.2016.06.013.
- [76] WU T T, WU C H, FU S L, et al. Integration of lysozyme into chitosan nanoparticles for improving antibacterial activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 155: 192-200. DOI:10.1016/j.carbpol.2016.08.076.
- [77] 徐楚, 王锡昌, 马壮, 等. 茶多酚、壳聚糖、溶菌酶复合保鲜剂对高白鲑鱼片保鲜效果的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(8): 261-266. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2018.08.048.
- [78] 苗小雨, 柴春祥, 鲁晓翔. 无损检测技术在食品微生物检测中的应用与展望[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(8): 311-319. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.028633.
- [79] KUMAR L, RAMAKANTH D, KONALA A, et al. Edible films and coatings for food packaging applications: a review[J]. Environmental Chemistry Letters, 2021, 20: 875-900. DOI:10.1007/s10311-021-01339-z.
- [80] 杨静怡, 郑红霞, 高彦祥, 等. 复配海藻酸盐凝胶作为传递体系的研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(3): 227-238. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210125-273.
- [81] BILBAO-SAINZ C, CHIOU B S, PUNOTAI K, et al. Layer-by-layer alginate and fungal chitosan based edible coatings applied to fruit bars: edible coatings applied to fruit bars[J]. Journal of Food Science, 2018, 83(7): 1880-1887. DOI:10.1111/1750-3841.14186.
- [82] KIM J H, HONG W S, OH S W. Effect of layer-by-layer antimicrobial edible coating of alginate and chitosan with grapefruit seed extract for shelf-life extension of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) stored at 4 °C[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 1468-1473. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.09.160.
- [83] GAO H X, HE Z, SUN Q, et al. A functional polysaccharide film forming by pectin, chitosan, and tea polyphenols[J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 215: 1-7. DOI:10.1016/j.carbpol.2019.03.029.
- [84] AHMAD H. Celluloses as support materials for antibacterial agents: a review[J]. Cellulose, 2021, 28(5): 2715-2761. DOI:10.1007/s10570-021-03703-2.
- [85] ZHANG J, OZTURK S, Singh R K, et al. Effect of cellulose nanofiber-based coating with chitosan and *trans*-cinnamaldehyde on the microbiological safety and quality of cantaloupe rind and fresh-cut pulp. Part 1: Microbial safety[J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 134: 109972. DOI:10.1016/j.lwt.2020.109972.
- [86] SONG Z Y, MA T C, ZHI X J, et al. Cellulosic films reinforced by chitosan-citric complex for meat preservation: influence of nonenzymatic browning[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 272: 118476. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.118476.
- [87] REN L L, YAN X X, ZHOU J, et al. Influence of chitosan concentration on mechanical and barrier properties of corn starch/chitosan films[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 105(Part 3): 1636. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2017.02.008.
- [88] MEHRAN B, FARHAD G, ABDUR R, et al. Biodegradability, physical, mechanical and antimicrobial attributes of starch nanocomposites containing chitosan nanoparticles[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 195: 49-58. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.11.162.
- [89] VALENCIA-SULLCA C, ATARÉS L, VARGAS M, et al. Physical and antimicrobial properties of compression-molded cassava starch-chitosan films for meat preservation[J]. Food and Bioprocess Technology, 2018, 11(7): 1339-1349. DOI:10.1007/s11947-018-2094-5.
- [90] ISTIQOMAH A, PRASETYO W E, FIRDAUS M, et al. Valorisation of lemongrass essential oils onto chitosan-starch film for sustainable active packaging: greatly enhanced antibacterial and antioxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 210: 669-681. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.04.223.
- [91] RAI M, WYPIJ M, INGLE A P, et al. Emerging trends in pullulan-based antimicrobial systems for various applications[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(24): 13596. DOI:10.3390/ijms222413596.
- [92] 张盼, 王俊平. 壳聚糖-普鲁兰多糖复合抗菌保鲜膜对冷鲜牛肉的保鲜效果[J]. 中国食品学报, 2020, 20(6): 194-201. DOI:10.16429/j.1009-7848.2020.06.024.
- [93] QIAO C D, MA X G, ZHANG J L, et al. Molecular interactions in gelatin/chitosan composite films[J]. Food Chemistry, 2017, 235: 45-50. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.05.045.
- [94] HASSAN A H A, KORANY A M, ZEINHOM M M A, et al. Effect of chitosan-gelatin coating fortified with papaya leaves and thyme extract on quality and shelf life of chicken breast fillet and soft cheese during chilled storage[J]. International Journal of Food Microbiology, 2022, 371: 109667. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109667.
- [95] SA A, AHABC D, SHB A, et al. Cinnamon extract loaded electrospun chitosan/gelatin membrane with antibacterial activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 173: 580-590. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.01.156.
- [96] ROSHANDEL-HESARI N, MOKABER-ESFAHANI M, TALEGHANI A, et al. Investigation of physicochemical properties, antimicrobial and antioxidant activity of edible films based on chitosan/casein containing *Origanum vulgare* L. essential oil and its effect on quality maintenance of cherry tomato[J]. Food Chemistry, 2022, 396: 1-10. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.133650.
- [97] 李帅, 谷雨, 牛春艳. 大豆分离蛋白/壳聚糖可食膜制备及性能研究[J]. 食品工业, 2018, 39(9): 73-77.
- [98] ZAREIE Z, YAZDI F T, MORTAZAVI S A. Development and characterization of antioxidant and antimicrobial edible films based on chitosan and gamma-aminobutyric acid-rich fermented soy protein[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 244(4): 116491. DOI:10.1016/j.carbpol.2020.116491.

- [99] 郑奥泽, 辛颖, 田少君, 等. 壳聚糖-大豆分离蛋白复合涂膜对豆腐品质的影响[J]. 食品科技, 2021, 46(3): 14-20. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2021.03.004.
- [100] KASAAI M R. Bio-nano-composites containing at least two components, chitosan and zein, for food packaging applications: a review of the nano-composites in comparison with the conventional counterparts[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 280: 119027. DOI:10.1016/j.carbpol.2021.119027.
- [101] 陈桂芸, 曲亮璠, 赵宇, 等. 抗菌性玉米醇溶蛋白/壳聚糖复合膜的制备与性质[J]. 食品科学, 2017, 38(15): 58-62. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201715010.
- [102] WANG X M, SUN Y, LIU Z L, et al. Preparation and characterization of chitosan/zein film loaded with lemon essential oil: effects on postharvest quality of mushroom (*Agaricus bisporus*)[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 192: 635-643. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.10.068.
- [103] 吴琼. 壳聚糖/海藻酸钠复合保鲜膜的制备与应用研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 29-30.
- [104] VELICKOVA E, WINKELHAUSEN E, KUAMANNOVA S, et al. Impact of chitosan-beeswax edible coatings on the quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa* cv *Camarosa*) under commercial storage conditions[J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 52(2): 80-92. DOI:10.1016/j.lwt.2013.02.004.
- [105] FOO S Y, NUR HANANI Z A, ROZZAMRI A, et al. Effect of chitosan-beeswax edible coatings on the shelf-life of sapodilla (*Achras zapota*) fruit[J]. Journal of Packaging Technology and Research, 2019, 3: 27-34. DOI:10.1007/s41783-018-0047-0.
- [106] BHARDAJ A, SHARMA N, SHARMA V A, et al. Assessing the consumer acceptance and storability of chitosan and beeswax coated cellulose packaging for whole wheat bread[J]. Food Control, 2021, 133: 108682. DOI:10.1016/j.foodcont.2021.108682.
- [107] 李若慧, 常康威, 袁志奎, 等. 壳聚糖对脂肪的吸附特性[J]. 食品科学, 2012, 33(21): 53-56.
- [108] VIEIRA T M, MOLDÃO-MARTINS M, ALVES V D. Composite coatings of chitosan and alginate emulsions with olive oil to enhance postharvest quality and shelf life of fresh figs (*Ficus carica* L. cv. 'Pingo De Mel')[J]. Foods, 2021, 10(4): 718. DOI:10.3390/foods10040718.
- [109] KHALIFA I, BARAKAT H, EL-MANSY H A, et al. Effect of chitosan-olive oil processing residues coatings on keeping quality of cold-storage strawberry (*Fragaria ananassa* var. *Festival*)[J]. Journal of Food Quality, 2016, 39(5): 504-515. DOI:10.1111/jfq.12213.