

УДК 547-31/-39

DOI: 10.33184/bulletin-bsu-2020.3.12

НОВОЕ АКТИВНОЕ АНТИМИКРОБНОЕ ПИЩЕВОЕ ПОКРЫТИЕ НА ОСНОВЕ КАТИОННОГО ПРОИЗВОДНОГО ХИТОЗАНА

© Н. З. Ягафаров^{1,2*}, А. П. Дысин³, Н. С. Липкан³, А. А. Артемьев¹, А. С. Критченков¹

¹Российский университет дружбы народов
Россия, 117198 г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова
Россия, 117997 г. Москва, ул. Островитянова, 1.

³Национальный исследовательский университет ИТМО
Россия, 197101 г. Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49.

Тел.: +7 (495) 954 01 84.

*Email: niyaz-yagafarov@yandex.ru

В работе показано, что триметиламинобензильное производное хитозана (ТМАБХ) обладает высокой антимикробной активностью и может быть включен в матрицу сукцинил-хитозана (СХ-Na) простым смешиванием с получением компактных и однородных пленок. Смешивание данных полимеров улучшает прочность на разрыв и одновременно снижает проницаемость для кислорода и водяного пара образующихся пленок. Улучшение механических и барьерных характеристик наиболее выражено при массовом соотношении полимеров 1:1. Испытания пленок в качестве пищевых покрытий для бананов показали, что использование пленок вызывает уменьшение потери веса и потери витамина С бананов и приводит к значительному увеличению срока хранения бананов.

Ключевые слова: хитозан, антимикробная активность, ТМАБХ, СХ-Na, пищевое покрытие.

Введение

Микробная порча (вызванная бактериями и грибами) является одной из важнейших причин потери качества и ограничения срока хранения пищевых продуктов [1]. В связи с этим разработка противомикробных активных пищевых покрытий становится одной из самых актуальных задач пищевой химии и смежных наук (в первую очередь физической и коллоидной химии, а также химии высокомолекулярных соединений) [1]. Хитозан представляет собой биосовместимый биodeградируемый нетоксичный полимер, являющийся продуктом дезацетилирования природного полимера хитина (второго по распространенности биополимера после целлюлозы) [2]. Хитозан весьма интересен для создания биodeградируемых пищевых покрытий ввиду его антибактериальной и противогрибковой активности. Однако умеренная антимикробная активность хитозана обуславливает невысокую эффективность покрытий на его основе. Химическая модификация позволяет получить производные хитозана с желаемой противомикробной активностью, превышающей таковую для исходного хитозана. Недавно в нашей научной группе были получены триметиламинобензильные катионные производные хитозана (рис. 1), проявившие значительно более высокую противогрибковую и антибактериальную активность в сравнении с исходным хитозаном [3].

Банан – самый популярный тропический фрукт, особенно в коммерческой торговле РФ, со-

державший множество полезных питательных веществ и минералов (в частности, содержание витамина С в банане достигает 15%). Обычно бананы хранят при комнатной температуре, причем во время хранения плод банана легко портится [1]. В данном исследовании была предпринята попытка получения нового пищевого покрытия для бананов на основе триметиламинобензильного катионного производного хитозана (ТМАБХ). Барьерные и механические свойства покрытия на основе хитозана могут быть улучшены использованием в покрытии одновременно как катионного, так и анионного производного хитозана [4]. В качестве анионного производного был использован сукцинилхитозан в форме натриевой соли (СХ-Na).

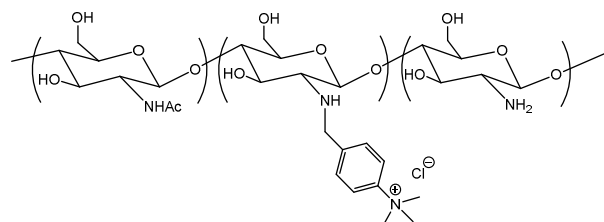


Рис. 1. Структура производного хитозана, используемого в данной работе.

Экспериментальная часть

В работе использовали низкомолекулярный крабовый хитозан со средней молекулярной массой 3.7×10^4 , степенью ацетилирования 0.26, влажностью 8% (ОАО Биопрогресс, Россия). Синтез ТМАБХ был осуществлен согласно методике [3], СХ-Na – согласно методике [5]. В работе использо-

вали полимеры со степенью замещения 0.65. Изменения толщины, испытания предела прочности, относительного удлинения при растяжении, испытания на проницаемость для кислорода и водяного пара проводились в соответствии со стандартными опубликованными процедурами [6]. Бананы были покрыты пленкообразующим раствором в полном соответствии со стандартным унифицированным методом погружения, описанным в [7]. Потеря веса и потеря витамина С измерялись, по стандартной методике, как описано в [1]. Статистическую значимость различий между образцами определяли односторонним дисперсионным анализом (ANOVA) с использованием программного обеспечения JMP 5.0.1 (SAS Campus Drive, Cary, NC). Средние значения, при необходимости, сравнивались с помощью t-критерия Стьюдента на уровне значимости $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

В данном исследовании были получены смешанные пленки на основе сукцинилхитозана натриевой соли **CX-Na** и триметиламинобензильного производного хитозана **ТМАБХ** с мольными соотношениями **CX-Na:ТМАБХ** 1:0.3, 1: 0.5, 1:1, 1:2 и 1:4. Также в качестве образцов сравнения использовали «чистые» пленки на основе **ТМАБХ** и **CX-Na** без добавления каких-либо других полимеров. Толщина полученных бесцветных прозрачных пленок составляла 50 мкм. Ниже обсуждаются механические и барьерные свойства полученных пленок.

Наиболее важные механические параметры для пищевых покрытий включают прочность на растяжение и относительное удлинение при разрыве, которые сильно зависят от химической структуры компонентов покрытий [8]. Материал пищевого покрытия должен быть устойчивым к обычным нагрузкам, возникающим во время использования, обработки, разгрузки и транспортировки, чтобы сохранить целостность и свойства пищи. Результаты испытаний механических свойств полученных пленок показаны в *табл. 1*. Пределы прочности обеих «чистых» пленок (**CX-Na** или **ТМАБХ**) достаточно умеренные, в то время как оба «чистые» пленки на основе **CX-Na** или **ТМАБХ** обладают относительно высоким удлинением при разрыве. «Чистые» пленки на основе **CX-Na** или **ТМАБХ**, представляют собой пленки на основе одноименно заряженных полиэлектролитов, в которых взаимодействие макромолекул достаточно слабо. Слабое взаимодействие между макромолекулами в такой пленке приводит к тому, что макромолекулы легко движутся относительно друг друга в пленке при растяжении, поэтому пленка характеризуется высоким удлинением при разрыве. С другой стороны, слабое взаимодействие между макромолекулами

CX-Na или **ТМАБХ** в их пленках приводит к тому, что эти пленки легко разрушаются при растяжении (низкая прочность на растяжение). Напротив, пленки, в которых существует сильное взаимодействие между макромолекулами (например, ионное взаимодействие), характеризуются высокой кристалличностью. Сильное межмолекулярное взаимодействие приводит к увеличению прочности на разрыв и уменьшению удлинения при разрыве. Действительно, смешивание **CX-Na** и **ТМАБХ** приводит к увеличению прочности на разрыв и уменьшению удлинения при разрыве. Эти эффекты проявляют свои максимумы при соотношении **CX-Na:ТМАБХ** 1:1. Это явление может быть приписано формированию ионных взаимодействий между **CX-Na** и **ТМАБХ**, что, следовательно, ограничивает движение в матрице и вызывает ее жесткость [6; 9].

Кислородная проницаемость пищевых упаковочных пленок и пищевых покрытий имеет первостепенное значение для безопасности пищевых продуктов. Кислород является чрезвычайно важным агентом, который может способствовать окислению, вызывая нежелательные изменения цвета, запаха и вкуса пищи, а также деструкцию питательных веществ. Следовательно, пленки для упаковки пищевых продуктов и пищевые покрытия, служащие кислородным барьером, могут продлить срок годности продуктов питания [10]. Значения кислородной проницаемости «чистых» пленок на основе **CX-Na** или **ТМАБХ**, а также полученных смешанных пленок на основе **CX-Na** и **ТМАБХ** представлены в *табл. 1*. Проницаемость кислорода для пленок на основе **CX-Na** и **ТМАБХ** близка друг другу. Это можно объяснить низкой кристалличностью «чистых» пленок на основе **CX-Na** или **ТМАБХ**. Фактически, массоперенос кислорода в полукристаллическом полимере в основном является функцией аморфной фазы, поскольку обычно предполагается, что кристаллическая фаза непроницаема [10]. Смешивание **CX-Na** с **ТМАБХ** способствует увеличению кристалличности, вызывая, таким образом, снижение кислородопроницаемости смешанной пленки, и этот эффект достигает максимальных значений при соотношении полимеров 1:1. Аналогично изменяется и проницаемость водяного пара.

В текущем исследовании также была изучена способность полученных покрытий продлевать срок годности бананов. Наиболее информативными параметрами, оценивающими эффективность полимерного покрытия в отношении хранения фрукта, являются (i) потеря веса и (ii) потеря витамина С [11]. Покрытие наносилось методом погружения.

Таблица 1

Прочность на растяжение (σ_b), относительное удлинение при разрыве (ϵ_b), проницаемость кислорода (OP) и водяного пара (WVP) полученных пленок*

Пленка	σ_b , МПа	ϵ_b , %	OP, $\text{см}^3 \cdot \text{мм} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{атм}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$	WVP $\times 10^{-10}$, $\text{г} \cdot \text{м}^{-1} \cdot \text{с}^{-1} \cdot \text{Па}^{-1}$
ТМАБХ	3.92 \pm 1.10	347.25 \pm 0.29	0.91 \pm 0.08	64.41 \pm 0.24
1:0.3	18.21 \pm 1.29	80.12 \pm 0.21	0.69 \pm 0.19	33.12 \pm 0.28
1:0.5	39.52 \pm 1.25	28.19 \pm 1.02	0.47 \pm 0.11	12.91 \pm 0.11
1:1	82.47 \pm 1.23	09.02 \pm 0.77	0.17 \pm 0.11	2.29 \pm 0.15
1:2	40.11 \pm 1.16	32.11 \pm 0.81	0.52 \pm 0.26	13.03 \pm 0.27
1:4	18.96 \pm 2.11	89.32 \pm 0.38	0.88 \pm 0.17	35.24 \pm 0.60
CX-Na	4.82 \pm 1.14	322.19 \pm 0.23	1.03 \pm 0.28	61.18 \pm 0.11

*Среднее значение \pm средняя ошибка, $n = 3$.

Таблица 2

Потеря веса и потеря витамина С покрытых и непокрытых бананов*

Пленка	Потеря веса ($\text{г} \cdot \text{кг}^{-1}$)		Потеря витамина С (%)
	5-й день	10-й день	10-й день
ТМАБХ	40.1 \pm 0.16	69.1 \pm 0.28	54.1 \pm 0.11
1:0.3	33.1 \pm 0.10	58.8 \pm 0.10	34.5 \pm 0.17
1:0.5	25.8 \pm 0.21	45.3 \pm 0.26	23.5 \pm 0.22
1:1	20.4 \pm 0.26	34.1 \pm 0.14	16.2 \pm 0.19
1:2	24.9 \pm 0.31	38.8 \pm 0.31	21.5 \pm 0.13
1:4	33.5 \pm 0.27	50.4 \pm 0.28	39.1 \pm 0.21
CX-Na	38.9 \pm 0.51	62.7 \pm 0.32	51.0 \pm 0.24
Контроль	44.1 \pm 0.11	73.5 \pm 0.19	65.9 \pm 0.21

*Среднее значение \pm средняя ошибка, $n = 3$.

Потеря веса происходила в течение срока хранения бананов и была обусловлена характерной скоропортящейся природой бананов. Табл. 2 демонстрирует потерю веса в течение периода хранения 10 дней. Потеря веса увеличивается почти линейно в течение периода хранения, и наиболее выраженная потеря веса наблюдалась на 10-й день. Все протестированные покрытия снижают потери веса бананов. Эффективности «чистых» покрытий на основе CX-Na или ТМАБХ подобны друг другу и низки. В смешанных покрытиях в диапазоне соотношений CX-Na:ТМАБХ от 1:0.3 до 1:4, способность покрытий уменьшать потерю массы увеличивается до соотношения CX-Na:ТМАБХ 1:1, а затем снова уменьшается при дальнейшем увеличении количества ТМАБХ. Эти результаты соответствуют проницаемости пленок по отношению к водяному пару, и это неудивительно, потому что основной причиной потери веса плодов является потеря влаги.

Потеря витамина С бананами обычно обусловлена барьерными свойствами покрытий, связанными с кислородопроницаемостью. Влияние покрытия на потерю витамина С после 10 дней хранения показано в табл. 1. Потеря витамина С была более выраженной в контрольном эксперименте, тогда как потеря витамина С у покрытых бананов «чистыми» покрытиями на основе CX-Na или ТМАБХ слегка уменьшилось. Смешивание CX-Na:ТМАБХ в различных соотношениях значительно уменьшало потерю витамина С, и этот эффект

наиболее ярко проявлялся при соотношении CX-Na:ТМАБХ 1:1.

Выводы

Использование смешанных пленок на основе производных хитозана ТМАБХ и CX-Na в массовом соотношении полимеров 1:1 приводит к значительному повышению барьерных и механических характеристик пленок. Полученные покрытия эффективно увеличивают срок годности бананов.

Работа выполнена при поддержке Программы РУДН «5-100», а также РФФИ 19-016-00077, РФФИ 20-316-90026 и РФФИ 19-33-60039.

ЛИТЕРАТУРА

1. Suseno N. et al. Improving Shelf-life of Cavendish Banana Using Chitosan Edible Coating // *Procedia Chem.* 2014. Vol. 9. Pp. 113–120.
2. Choi C., Nam J.-P., and Nah J.-W. Application of chitosan and chitosan derivatives as biomaterials // *J. Ind. Eng. Chem.* 2016. Vol. 33. Pp. 1–10.
3. Kritchenkov A. S. et al. Chitosan derivatives and their based nanoparticles: ultrasonic approach to the synthesis, antimicrobial and transfection properties // *Carbohydr. Polym.* 2020. Vol. 242. No. 116478.
4. Han J. H. 7 – Emerging Technologies in Food Packaging: Overview, in *Plastic Films in Food Packaging*. S. Ebnesajjad, Editor. 2013. William Andrew Publishing: Oxford. Pp. 121–126.
5. Skorik Y. A. et al. Synthesis of N-succinyl- and N-glutaryl-chitosan derivatives and their antioxidant, antiplatelet, and anticoagulant activity // *Carbohydr. Polym.* 2017. Vol. 166. Pp. 166–172.
6. Hu D., Wang H., and Wang L. Physical properties and antibacterial activity of quaternized chitosan/carboxymethyl

- cellulose blend films // LWT-Food Sci. Technol. 2016. Vol. 65. Pp. 398–405.
7. Suseno N. et al. Improving shelf-life of Cavendish Banana Using Chitosan Edible Coating // International Conference and Workshop on Chemical Engineering Unpar 2013. Sugih A.K. et al. Editors. 2014. Pp. 113–120.
 8. Acevedo-Fani A. et al. Edible films from essential-oil-loaded nanoemulsions: Physicochemical characterization and antimicrobial properties // Food Hydrocoll. 2015. Vol. 47. Pp. 168–177.
 9. Kingkaew J. et al. Effect of molecular weight of chitosan on antimicrobial properties and tissue compatibility of chitosan-impregnated bacterial cellulose films // Biotechnol. Bioproc. E. 2014. Vol. 19. No. 3. Pp. 534–544.
 10. Elsabee M. Z. and Abdou E. S. Chitosan based edible films and coatings: A review // Mat. Sci. Eng. C-Mater. 2013. Vol. 33. No. 4. Pp. 1819–1841.
 11. Shiekh R. et al. Chitosan as a Novel Edible Coating for Fresh Fruits // Food Sci. Technol. Res. 2013. Vol. 19. Pp. 139–155.

Поступила в редакцию 19.08.2020 г.

**NEW ACTIVE ANTIMICROBIAL FOOD GRADE COATING
BASED ON CATIONIC CHITOSAN DERIVATIVE**

© N. Z. Yagafarov^{1,2*}, A. P. Dysin³, N. S. Lipkan³,
A. A. Artemyev¹, A. S. Kritchenkov¹

¹*Peoples' Friendship University of Russia
6 Miklouho-Maclay Street, 117198 Moscow, Russia.*

²*Pirogov Medical University
1 Ostrovityanov Street, 117997 Moscow, Russia.*

³*ITMO University
49 Kronverksky Avenue, 197101 Saint Petersburg, Russia.*

Phone: +7 (495) 954 01 84.

**Email: niyaz-yagafarov@yandex.ru*

This author of the work demonstrates that a trimethylaminobenzyl derivative of chitosan TMABC, which has a high antimicrobial activity, can be incorporated into a succinylchitosan (CX-Na) matrix by simple mixing to obtain compact and homogeneous films. Mixing of these polymers improves tensile strength and simultaneously reduces the oxygen and water vapor permeability of the resulting films. These improvements in mechanical and barrier characteristics are most pronounced at a polymer weight ratio of 1:1. Tests of films as food coatings for bananas have shown that the use of films causes a reduction in weight loss and vitamin C loss, which results in a significant increase in their shelf life of bananas. Microbial spoilage (caused by bacteria and fungi) is one of the most important causes of loss of quality and limited shelf life of food. In this regard, the development of antimicrobial active food coatings is becoming one of the most urgent problems in food chemistry and related sciences (primarily physical and colloidal chemistry, as well as the chemistry of macromolecular compounds). Chitosan is a biocompatible biodegradable non-toxic polymer that is a product of deacetylation of the natural polymer of chitin (the second most common biopolymer after cellulose). Chitosan is promising for the creation of biodegradable food coatings due to its antibacterial and antifungal activity. However, the moderate antimicrobial activity of chitosan determines the low efficiency of coatings based on it. Chemical modification makes it possible to obtain derivatives of chitosan with the desired antimicrobial activity, which is higher than that of the original chitosan. Recently, author's research group obtained trimethylaminobenzyl cationic derivatives of chitosan, which showed significantly higher antifungal and antibacterial activity in comparison with the original chitosan.

Keywords: chitosan, antimicrobial activity, TMABC, CX-Na, food grade coating.

Published in Russian. Do not hesitate to contact us at bulletin_bsu@mail.ru if you need translation of the article.

REFERENCES

1. Suseno N. et al. Improving Shelf-life of Cavendish Banana Using Chitosan Edible Coating. *Procedia Chem.* 2014. Vol. 9. Pp. 113–120.
2. Choi C., Nam J.-P., and Nah J.-W. *J. Ind. Eng. Chem.* 2016. Vol. 33. Pp. 1–10.
3. Kritchenkov A. S. *Carbohydr. Polym.* 2020. Vol. 242. No. 116478.
4. Han J. H. 7 – Emerging Technologies in Food Packaging: Overview, in *Plastic Films in Food Packaging*. S. Ebnesajjad, Editor. 2013. William Andrew Publishing: Oxford. Pp. 121–126.
5. Skorik Y. A. *Carbohydr. Polym.* 2017. Vol. 166. Pp. 166–172.
6. Hu D., Wang H., and Wang L. *LWT-Food Sci. Technol.* 2016. Vol. 65. Pp. 398–405.
7. Suseno N. *International Conference and Workshop on Chemical Engineering Unpar 2013*. Ed. A. K. Sugih. 2014. Pp. 113–120.
8. Acevedo-Fani A. *Food Hydrocoll.* 2015. Vol. 47. Pp. 168–177.
9. Kingkaew J. *Biotechnol. Bioproc. E.* 2014. Vol. 19. No. 3. Pp. 534–544.
10. Elsabee M. Z. and Abdou E. S. *Mat. Sci. Eng. C-Mater.* 2013. Vol. 33. No. 4. Pp. 1819–1841.
11. Shiekh R. *Food Sci. Technol. Res.* 2013. Vol. 19. Pp. 139–155.

Received 19.08.2020.