

Preparation of Ce/TiO₂ Antibacterial Nano-Agent and Application on Preservation of Nanfeng Tangerine for Inhibitory Effect on Parasitic Bacterium

Xiaoyi Long^{1,2*}, Jinyin Chen², Wenmin Wang¹, Tingting Sun¹, Xiaoqiang Yu³

¹College of Science, Jiangxi Agricultural University, Nanchang Jiangxi

²Jiangxi Key Laboratory of Fruits and Vegetables Preservation and Nondestructive Testing, Jiangxi Agricultural University, Nanchang Jiangxi

³Rural Research Institute of Jiangxi Agricultural University, Nanchang Jiangxi
Email: lxxy330045@126.com

Received: Dec. 3rd, 2017; accepted: Dec. 15th, 2017; published: Dec. 22nd, 2017

Abstract

The sol-gel method was adopted for synthesizing a novel Nanfeng tangerine antibacterial nano-agent, and the nano-agent film was used for covering the surface of Nanfeng tangerine fruit for its preservation in storage period. The research results show that the antibacterial agent can efficiently kill parasitic pathogens of the surface of Nanfeng tangerine fruit, ensuring its nutritional quality.

Keywords

Sol-Gel Method, Antibacterial Nano-Agent, Nutritional Quality, Nanfeng Tangerine

Ce/TiO₂纳米抑菌剂的制备合成及其抑杀南丰蜜桔致病菌的保鲜应用

龙小艺^{1,2*}, 陈金印², 王文敏¹, 孙婷婷¹, 喻晓强³

¹江西农业大学理学院, 江西 南昌

²江西农业大学, 江西省果蔬保鲜与无损检测重点实验室, 江西 南昌

³江西农业大学农村研究院, 江西 南昌

Email: lxxy330045@126.com

收稿日期: 2017年12月3日; 录用日期: 2017年12月15日; 发布日期: 2017年12月22日

*通讯作者。

文章引用: 龙小艺, 陈金印, 王文敏, 孙婷婷, 喻晓强. Ce/TiO₂ 纳米抑菌剂的制备合成及其抑杀南丰蜜桔致病菌的保鲜应用[J]. 农业科学, 2017, 7(9): 680-685. DOI: [10.12677/hjas.2017.79092](https://doi.org/10.12677/hjas.2017.79092)

摘要

本研究采用溶胶-凝胶法合成一种新型的南丰蜜桔纳米抑菌剂,并将其涂膜覆盖采摘后的南丰蜜桔果实表面,进行保鲜贮藏实验。研究表明,此类抑菌剂能高效抑杀南丰蜜桔果实致病菌,并充分保证其营养品质。

关键词

溶胶-凝胶法, 纳米抑菌剂, 营养品质, 南丰蜜桔

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

南丰蜜桔原产于江西省南丰县,栽种历史悠久,已逾千年,经多年引种推广,其栽种区域已广泛分布于中国南方亚热带七省(区),属中国著名的优良宽皮橘类地方品种,也是我国最早获得原产地域保护的柑桔品种。南丰蜜桔 2011 年种植面积已超 100 万亩,年产量突破 10 亿公斤,年出口量接近 20%;且自 2011 年以来其种植面积与总产量的增幅很大,近年一直占据中国柑桔年总产量与年出口贸易总量首位,已发展成为中国柑桔第一品牌,被誉为“中国柑桔之王”,因此其市场潜力与发展前景不可低估[1]。

在南丰蜜桔贮藏期内,主要的病害菌为青霉菌、绿霉菌、金黄色葡萄球菌、枯草芽孢杆菌等,所致病害有青霉病、绿霉病、灰霉病、酸腐病、软腐病、蒂腐病、炭疽病等;在采后贮藏期与销售货架期,如未采取适当抑菌保鲜措施,南丰蜜桔果实腐烂率可高达 10%~30%,且果实贮后品质严重劣化,营养价值明显降低[2],造成果农及加工企业的收益锐减,部分产区正呈现“增产减收”态势。

在我省南丰蜜桔产区,目前一般使用有机类抗菌保鲜剂,其不足之处表现为残留量高、所抑杀的寄生微生物产生耐药性并且对食用者健康易造成不良损害[3][4]。另外,基于此类有机抑菌剂残留降解困难的考虑,欧盟组织成员国与加拿大等对我国出口柑桔已采取严格准入措施,将南丰蜜桔主产区普遍使用的双胍盐类及部分有机抗菌剂列为果蔬禁用保鲜剂,逐渐形成南丰蜜桔保鲜技术壁垒与出口贸易障碍,势必削弱南丰蜜桔在全球柑桔市场竞争实力。目前已存在上述不利因素,因此研发新型果蔬防腐保鲜剂,具有较为重要的现实意义与经济价值。

本研究拟将所制备的高活性无机类纳米抗菌剂(载铈纳米 TiO_2 粉末制剂)配制成保鲜溶液,在南丰蜜桔表面进行涂膜保鲜或将新摘的南丰蜜桔熟果放入保鲜溶液中浸渍,得到一层致密保护膜[5],用于主动抑杀病菌,以期达到高效抑制果皮表面的致病菌繁殖衍生,大幅降低保鲜果蔬的腐烂率,合理调控贮藏期南丰蜜桔的果品品质之目标。

2. 试剂仪器与测试方法

2.1. 试剂

钛酸丁酯(化学纯), 95%乙醇, 冰醋酸(分析纯), 氯化钾(分析纯), 乙二胺四乙酸二钠(分析纯), 无水丁醇(分析纯), 2,6-二氯酚(分析纯), 壳聚糖, 羟基磷灰石基载体, 甘油, 柠檬酸等。青霉菌菌种(*Penicillium*

s.p.), 绿霉菌菌种(*Penicillium digitum*)由江西农业大学生物工程学院提供。

2.2. 主要仪器

马弗炉, 电子分析天平, 恒温培养摇床, DF-II 型磁力搅拌器, LRH-150-GII 型培养箱, DHG-9101-2 型电热恒温鼓风干燥箱, YXQ-LS-50S1 型蒸汽灭菌器, 德国 Bruker-AXS 公司 D8FOCUS 型 X 射线粉末衍射仪等。

2.3. 试验材料与测试方法

2.3.1. 试验果实

选定 5 棵南丰蜜桔健康成年果树, 选摘大小均匀、无病虫害、和表面无机械损伤的成熟果实, 当天运送至江西农业大学并低温保存, 待用于测定其营养指标。

2.3.2. 测试方法

1) 单果重

采用电子分析天平称量果实重量, 每次处理称量 10 枚果实。

2) 可溶性固形物(TSS)

用 RA-250WE 手持型数字糖度计进行果实 TSS 的测定, 以 4 枚果实果汁混合液为一次重复, 每次处理设置 3 次重复。

3) 总糖和可滴定酸(TA)含量

采用蒽酮比色法测定果实总糖含量[6], 每次处理设置 3 次重复。

采用酸碱滴定法测定 TA 含量[7], 用标定过的 $0.01 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH 滴定, 最终数据以柠檬酸的量换算, 每次处理设置 3 次重复。

2.4. 马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA 培养基)及接种[8]

将 200 g 马铃薯切成小块, 沸水煮沸 20 min, 纱布过滤, 加水至 1000 ml, 再加入 20 g 葡萄糖及 20 g 琼脂, 加热直至溶解。将青霉菌菌种以及绿霉菌菌种分别接种于 PDA 培养基, 置于 28°C 培养箱培养, 观察并记录菌落直径及生长状态。

2.5. 实验数据分析方法

采用 DPS 数据分析软件对本实验数据进行显著性差异检验。

3. 制备 Ce/TiO₂ 纳米抑菌剂

3.1. 制备掺杂铈 TiO₂ 粉体

用分析天平准确称量 64.8 mg, 129.6 mg, 194.4 mg, 259.2 mg, 324 mg 硝酸铈铵(AR), 分别溶于 45 ml 无水乙醇中, 完全溶解之后, 缓慢倒入 20 ml 钛酸丁酯置于磁力搅拌器上, 搅拌 10~20 min, 得到溶液①。Ce⁴⁺的掺杂浓度(Ce 与 Ti 的摩尔比)设定为 0.4%。

1) 在烧杯中 21 ml 无水乙醇滴加一定量的蒸馏水和一定浓度的硝酸(将溶液 pH 调至 0.3~3 范围内), 搅拌均匀, 得到溶液②。

2) 将溶液②在匀速搅拌和 45°C 水浴加热的条件下逐滴滴加到溶液①中, 生成深黄色的透明溶胶, 持续搅拌直至溶胶转变为凝胶。

3) 将凝胶静置陈化 5~7 天, 然后转入干燥箱中 50°C ~ 70°C 干燥 5~8 h, 用研钵将干凝胶研磨, 再转

入高温电阻炉中进行热处理，热处理温度为 500℃，保温时间为 2 h，待样品自然退火至室温，研磨后，用 400 目筛网过筛，可得掺杂铈 TiO₂ (Ce/TiO₂)粉体材料。

3.2. 制备 Ce/TiO₂ 抑菌剂

经对照实验并最终确定 Ce/TiO₂ 抑菌剂各组分的配比范围为：壳聚糖 15~25 份，氯化钾 1~2 份，羟基磷灰石基载体 5~10 份，甘油 3~5 份，柠檬酸 10~20 份，Ce/TiO₂ 纳米粉体 35 份~40 份。

3.3. 制备 Ce/TiO₂ 抑菌保鲜溶液进行涂膜实验

最终确定掺杂 0.4% Ce 的二氧化钛悬浮液作为抑菌保鲜溶液，将其涂布于采摘后的南丰蜜桔表面，进行涂膜保鲜实验。

4. 实验结果与分析

4.1. XRD 分析

图 1(a)实测谱图 2θ 分别在 25.3°，38.1°，47.7°，54.8°等处有明显衍射峰，分别对应(101)，(004)，(105)，(204)晶面，这与二氧化钛锐钛矿相的 X 射线标准衍射峰基本一致。

图 1(b)实测谱图与通过 TiO₂ 粉体结构数据模拟的衍射谱峰强度均得到较好吻合，其中极个别峰的强度和宽度与标准样略有差别，其原因可能是由于掺杂少量 Ce 元素所致。

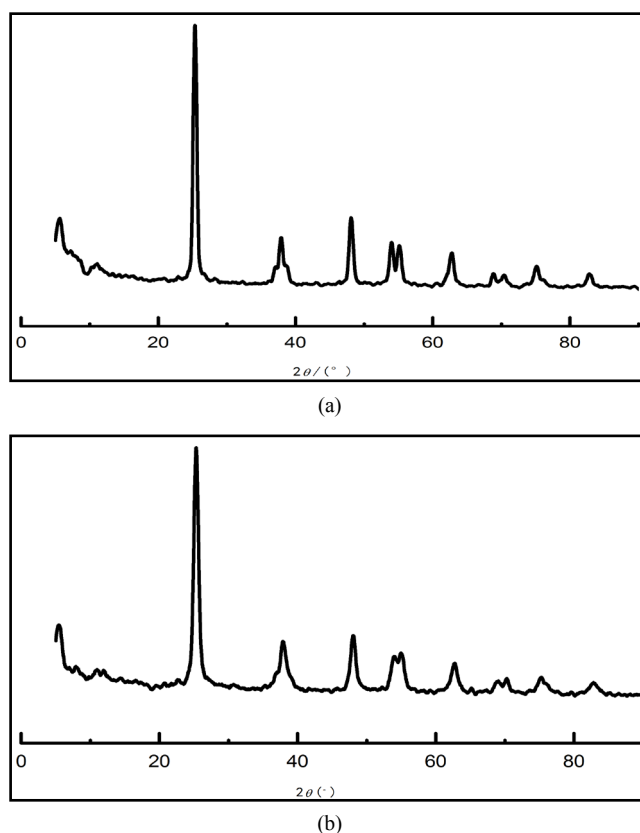


Figure 1. (a) Is the X-ray diffraction pattern of pure TiO₂ that had been calcined at 500℃ for 2 h; (b) Show the X-ray diffraction patterns of TiO₂ powder doped with 0.4% Ce and had been calcined at 500℃ for 2 h

图 1. (a) 未掺杂铈的纯 TiO₂ 粉体在 500℃ 下焙烧 2 h 后的 X 射线衍射图; (b) 掺杂 0.4% 铈的 TiO₂ 粉体在 500℃ 下焙烧 2 h 后的 X 射线衍射图

另从 XRD 图谱并没有观察到其他新的衍射峰,即稀土元素 Ce 与 TiO₂ 之间并无新相生成,表明稀土铈高度分散于 TiO₂ 晶格中。此外,在负载铈后,掺杂衍射峰的衍射强度虽略有降低,但所在位置没有明显的变化,依然维持锐钛矿型 TiO₂ 的特征结构。因此,在样品图谱中,也没有观察到金红石型的 TiO₂ 相,表明经 500℃ 高温焙烧后,负载铈的锐钛矿型 TiO₂ 未发生晶型转变。综上所述,可推断掺杂于 TiO₂ 的铈离子呈高度分散型。

此外,根据谢乐公式 $d_{50} = K\lambda/B\cos\theta$ 计算可知,掺杂 0.4% 铈的 TiO₂ 粉体的平均粒径为 11.46 nm。其中 d_{50} 为颗粒平均粒径;K 为 Scherrer 常数,其值为 0.89;D 为晶粒尺寸(nm);B 为积分半高宽度; θ 为衍射角。

4.2. 掺铈二氧化钛粉体的抑菌测试

由表 1 可知,对比南丰蜜桔常见的寄生致病菌青霉菌及绿霉菌的抑菌圈直径数据,可以初步推知 Ce/TiO₂ 抑菌剂的抑菌性能优于 TiO₂ 抑菌剂。

4.3. Ce/TiO₂ 抑菌剂的保鲜实验

取保鲜 130 d 后保鲜效果良好的水果去皮榨汁后,取上层 100 ml 果汁,经检测并对比可知,总糖类含量略有上升,抗坏血酸、可溶性固形物、总酸量及腐烂率四项指标含量有所降低。相关数据见表 2。

4.4. 表 1 与表 2 实验数据分析

采用 DPS 数据分析软件对表 1 以及表 2 实验数据进行单因素方差分析,其结果如表 3 所示。由表 3 可知 P 值为 0.0362,其数值小于 0.05,即两种抑菌剂对贮藏期南丰蜜桔果实寄生青霉菌及绿霉菌种的抑杀性能呈现出显著性差异,表明 Ce/TiO₂ 抑菌剂的抑菌性能明显优于 TiO₂ 抑菌剂的抑菌性能。

Table 1. Comparison of antibacterial properties of nano-TiO₂ and Ce/TiO₂

表 1. 纳米二氧化钛与掺杂铈的二氧化钛抑菌剂的抑菌性能对比

对照	青霉菌抑菌圈直径/mm	绿霉菌抑菌圈直径/mm
纳米 TiO ₂	14.30	15.40
Ce/TiO ₂	23.70	27.60

Table 2. Comparison of preservation properties for nano-TiO₂ and Ce/TiO₂

表 2. TiO₂ 抑菌剂与 Ce/TiO₂ 抑菌剂的南丰蜜桔保鲜指标对比*

抑菌剂	总糖量	柠檬酸类	抗坏血酸	可溶性固形物	单果重	腐烂率
纳米 TiO ₂	16.8 g	0.68 g	20.4 mg	16.2%	31.5 g	3.78%
Ce/TiO ₂	22.2 g	0.55 g	16.2 mg	14.8%	37.2 g	2.12%

*以上数据均为 3 次平行测定的平均值。

Table 3. Result of variance analysis of experimental data

表 3. 实验数据方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值(Sig.)
处理间(表 1 数据)	107.26	1	112.88	29.61	0.0362
处理间(表 2 数据)**	1.9915	1	2.155	0.0094	1.0208

**本组数据的相关系数 $R = 0.931$ 。

5. 小结

本课题组制备合成一种新型的南丰蜜桔纳米抑菌剂,并将其涂膜覆盖于采摘后的南丰蜜桔果实表面,进行保鲜贮藏实验。以上研究表明,此类抑菌剂能够高效抑杀南丰蜜桔果实致病菌,并充分保证其营养品质。

基金项目

江西省科技支撑项目(20142BBF60002);江西省教育厅重点科研项目(GJJ150377)。

参考文献 (References)

- [1] 吴强,袁跃跃,邹莉萍.抚州市南丰蜜桔产业发展工作调研报告[J].中国果菜,2013,20(3):51-52.
- [2] Long, X.Y., Bai, L. and Xiao, W. (2013) Antibacterial and Preservation of Silver-Doped TiO₂ Nano-Particles of Nan-feng Citrus. *Agricultural Biotechnology*, **2**, 19-22.
- [3] 张赛月,周建忠,赵婉婉,等.水产养殖环境中磺胺类药物的残留分析及其耐药菌株研究[J].生态环境学报,2015,24(8):1354-1360.
- [4] 马超,吴琪.抗菌剂抗菌机理简述[J].中国酿造,2016,35(1):5-9.
- [5] 曹艺.我国目前使用的几种主要果蔬贮藏保鲜技术[J].南方农业,2014,26(6):149-150.
- [6] 陈楚英,陈明,郭娟华,等.两个采收期的新余蜜桔贮藏特性及品质研究[J].中国南方果树,2013,16(1):43-48.
- [7] 何义仲,陈兆星,刘润生,等.不同贮藏方式对赣南纽荷尔脐橙果实品质的影响[J].中国农业科学,2014,35(4):736-748.
- [8] 吴良银,李梅,侯敢,等.青霉菌培养液中抗氧化物质的初步研究[J].食品与发酵工业,2010,41(3):55-59.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-5507, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入,输入文章标题,即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: hjas@hanspub.org