

超声与光催化作用对大豆蛋白/TiO₂复合膜抗菌特性的影响

金蓓^{1,2}, 周小松^{1,2}, 许旋¹, 简海麟¹, 李木兰¹

(1. 岭南师范学院化学化工学院, 广东湛江 524048) (2. 广东高校新材料工程技术开发中心, 广东湛江 524048)

摘要: 采用光催化/超声预处理, 结合涂膜法制备大豆蛋白/TiO₂纳米复合膜, 分析光催化和超声预处理以及膜中 TiO₂含量对复合膜性质的影响。当 TiO₂含量低于 2%时, 扫描电子显微镜观察发现 TiO₂纳米颗粒均匀地分散在大豆蛋白基质中, 从而有效地改善复合膜的机械性能, 降低膜的溶胀变形程度, 提高膜的热稳定性, 增强复合膜的抗菌活性。荧光光谱分析、红外光谱和 X-射线衍射分析证实了大豆蛋白和纳米颗粒间以氢键为主要作用力, 且光催化可进一步增强 TiO₂颗粒与大豆蛋白链间交联作用, 因而光催化复合膜的机械性能、热稳定性和抗菌活性均高于超声复合膜。但当 TiO₂含量过高 (>2%) 会加剧 TiO₂间的自聚, 导致复合膜机械性能下降、溶胀变形程度增大及荧光淬灭。因此光催化大豆蛋白/TiO₂纳米复合膜有望成为新型绿色抗菌包装材料。

关键词: 光催化; 超声; 大豆蛋白; 复合膜; 抗菌活性

文章编号: 1673-9078(2017)5-220-227

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.5.035

Effects of Ultrasonication or Photocatalytic Pretreatment on Antibacterial Properties of Soy Protein/Nano-titanium dioxide Composite Films

JIN Bei^{1,2}, ZHOU Xiao-song^{1,2}, XU Xuan¹, JIAN Hai-lin¹, LI Mu-lan¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, China)

(2. Development Center for New Materials Engineering & Technology, Zhanjiang 524048, China)

Abstract: Biodegradable soy protein (BSP)-titanium dioxide nanocomposite films were fabricated using a combination of ultrasonication or photocatalytic pretreatment and a solution-casting method, and the effects of ultrasonication, photocatalytic pretreatment, and titanium dioxide content of the film on properties of the composite film were analyzed. At a low titanium dioxide concentration (<2%), the scanning electron microscopy (SEM) results showed that the titanium dioxide nanoparticles were evenly dispersed in the protein matrix, so that the swelling-induced deformation of the film was reduced, and the mechanical properties, thermal stability, and antibacterial activity of the composite film were improved. The data on intrinsic fluorescence spectra, Fourier transform infrared spectra (FT-IR), and X-ray diffraction (XRD) confirmed that the interaction between protein and nanoparticles was mainly mediated by hydrogen bonding, and that the photocatalytic pretreatment further strengthened the cross-linking between protein molecules and nanoparticles, thus the mechanical properties, thermal stability, and antibacterial activity of the composite films prepared by photocatalytic pretreatment were improved as compared with those of the films prepared by ultrasonication. Nevertheless, a high titanium dioxide concentration (>2%) promoted self-assembly of titanium dioxide-titanium dioxide nanoparticles, leading to fluorescence quenching, worsening of mechanical properties, and an increase in swelling-induced deformation. Soy protein/nano-titanium dioxide composite films prepared by photocatalytic pretreatment may potentially become new green packaging materials with antibacterial properties.

Key words: photocatalytic pretreatment; ultrasonication; soy protein; composite film; antibacterial property

由于当今社会经济的快速发展, 环境质量问题越

收稿日期: 2016-08-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31601415); 广东省自然科学基金-粤东西北创新人才联合培养项目 (2016A030307022); 国家级星火计划项目 (2014GA780072); 岭南师范学院重点项目 (LZL1501)

作者简介: 金蓓 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 植物蛋白科学与工程

显突出。近年来, 针对塑料薄膜等造成的白色污染问题, 开发环境友好可再生复合膜代替塑料膜也日益成为科研工作者的研究动力^[1]。可再生包装材料的最重要来源之一便是蛋白质。而其中大豆分离蛋白 (SPI) 因具有优良的成膜性且价格低廉, 同时大豆分离蛋白膜具有阻隔性、可降解性和可食性, 因此常用作食品包装和涂布材料^[2,3]。然而大豆蛋白膜的耐水性及机械

耐受性较差,不能满足作为包装材料的耐水性、力学强度以及产品货架期等要求^[4,5]。

近年来,纳米材料通常添加到成膜溶液以改善生物大分子膜或聚合物膜的理化特性,并可以抑制膜表面微生物的生长、繁殖或直接将其杀灭,从而延长食品货架期^[6,7]。其中纳米 TiO₂ 颗粒是目前研究最为活跃的无机纳米材料之一,具有无毒、抗菌并分解细菌、防紫外线、超亲水和超亲油等特性^[8-10]。同时将 TiO₂ 颗粒应用到食品包装材料中,可改善其在食品热加工、运输和贮藏过程中的稳定性^[11]。然而, TiO₂ 颗粒本身极易团聚,在制备纳米功能复合材料过程中,很难与其他成分混合均匀,往往易发生相分离^[8],所以当务之急是寻求一种合适的工艺技术使纳米颗粒(TiO₂)很好地分散在复合物基质从而更加有利于形成稳定的、性能良好的抗菌膜。

因而本文采用超声/光催化技术促使纳米级 TiO₂ 颗粒与大豆蛋白在水溶液中均匀混合,再利用涂膜法制备大豆蛋白/TiO₂ 复合膜,研究不同处理技术(光催化和超声)对复合膜理化特性、结构及抗菌效果的影响,同时观察 TiO₂ 颗粒在复合膜中的分布规律,探讨大豆蛋白/TiO₂ 复合膜在环境储藏过程中的稳定性。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料

大豆分离蛋白(蛋白质含量 91.6%): 山东万得福公司; 二氧化钛: 上海申博化工有限公司; 浓盐酸、无水乙醇、甘油: 广州雨韵试剂有限公司; 大肠杆菌: 广东省微生物菌种保藏中心。

1.1.2 主要仪器设备

KQ-300DA 型数控超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; XPA-II 型控温搅拌光化学反应仪, 北京泊菲莱公司; T6-新锐可见分光光度计, 北京普析通用仪器有限责任公司; YZF-6020 台式真空干燥箱, 上海姚氏仪器设备厂; CMT 6104 电子万能试验机, 美特斯工业系统(中国)有限公司; 1530 VP 扫描电子显微镜, 德国 Leo 公司; DSC 220 差示扫描量热仪, 日本 SEIKO INSTRUMENTS 精工公司; Cary Eclipse 分子荧光光谱仪, 美国安捷伦公司; Nicolet 6700 傅里叶变换红外光谱仪, 美国 Thermo Fisher Scientific 公司; X'pert Pro MPDX 射线衍射仪, 荷兰 PANalytical 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 制备大豆蛋白/纳米 TiO₂ 复合膜

将 6% 的大豆蛋白溶液和与甘油(35% g/g) 搅拌均匀 1 h, 再用 1 mol/L NaOH 调节溶液 pH 值至 10, 80 °C 水浴加热 30 min。不同比例(0.5%、1%、2%、3%和 4% (g/g)) 的 TiO₂ 颗粒溶解在 50 mL 去离子水中, 放在超声清洗仪中均质 15 min。然后将 TiO₂ 溶液缓慢滴加到上述变性大豆蛋白溶液中, 并温和搅拌 30 min, 再超声 0.5 h (220 W) 或光催化 1 h (500 W), 最后将混合溶液倒于培养皿中, 50 °C 真空干燥 6 h, 成膜。实验前所有的膜材料放在相对湿度为 58% 的环境中平衡 48 h。

1.2.2 复合膜的机械性能

试验片长度为 115 mm, 测定用试件为哑铃形, 其有效长度为 33 mm, 有效宽度为 6 mm。每种配比的试验片制成 5 个试件, 以 20 mm/min 的速度进行拉伸试验, 得出拉伸强度和断裂伸长率的数据, 5 个测试值取平均数。抗拉强度 TS (MPa) 和断裂伸长率 EAB (%) 的计算公式如下:

$$TS=(F \times 10^{-6})/S$$

式中 F 表示膜断裂时的最大应力; S 表示膜的断面面积。

$$EAB=(E-E_0)/E_0 \times 100\%$$

式中 E 表示膜断裂时的位移量; E₀ 表示膜的原始位移量。

1.2.3 复合膜的透氧性测水分含量 (MC) 和可溶性固形物含量 (TSM)

在室温条件下, 称取质量相同的膜记为 m₁, 置于小玻璃皿中, 在 105 °C 条件下烘干至恒重记为 m₂, 根据烘干前后膜材料干重湿重之差计算水分含量 (MC)。然后向盛有恒重膜材料的玻璃器皿中加入 15 mL 的去离子水, 在室温条件下防止 24 h 后, 除去烧杯中的水, 再置于 105 °C 烘至恒重, 称量记为 m₃, 即可得可溶性固形物含量 (TSM)。每种膜材料选取 3 个平行样品, 测量结果取其平均值。水分含量 (MC) 及可溶性固形物含量 (TSM) 计算公式分别如下:

$$MC=(m_2-m_1)/m_1 \times 100\%$$

$$TSM=(m_3-m_2)/m_2 \times 100\%$$

1.2.4 复合膜的透光率

将膜剪成矩形试样(5 cm×1 cm), 贴于比色皿内侧(以空比色皿作对照), 在 500 nm 波长下用紫外-可见分光光度计测定透光率。

$$\text{不透明度}=-\log(T/x)$$

其中: T 为透光率, x 为膜材料的厚度。每个样品测定三次平行。

1.2.5 复合膜的荧光光谱测试

将膜剪成矩形试样(2 cm×2 cm), 利用分子荧光光谱仪对其荧光分析, 激发波长为 365 nm, 扫描范围为 400~600 nm, 发射和激发均狭缝设置为 10 nm。

1.2.6 膜材料的热学特性

利用 DSC 220 差示扫描量热仪,称取 10 mg 左右的样品,放置在开口的坩埚内,温度从 25 °C 升温至 700 °C,加热速率为 20 °C/min,净化气体 N₂,流速为 50 mL/min。

1.2.7 复合膜的红外分析

将膜剪碎研磨后用 KBr 压片,傅里叶变换红外光谱仪对其进行红外分析,扫描范围为 4000~400 cm⁻¹。

1.2.8 复合膜的表面结构分析

本实验通过 LEO 530VP 场发射扫描电镜观察膜表面形貌。将膜通过双面胶固定在特制不锈钢样品台表面,用喷金仪在样品表面喷上厚度小于 20 nm 的金涂层,镀膜时间为 150 s。将样品取出并放入扫描电镜观察室,在 15 kV 加速电压下进行观察拍照。

1.2.9 复合膜的 X-射线衍射分析

复合膜使用 X'PERT PRO MPD X-射线多晶衍射仪,在管电压 40 kV,管电流为 40 mA 的条件下,用超能探测器记录 2θ=5~60°的衍射强度曲线。

1.2.10 复合膜的抑菌试验

依据 Wang 等人报道的抗菌活性方法进行测定^[12],将 1 mL 大肠杆菌 (*E.coli*) 菌悬液 (菌浓度为 10⁵ CFU/mL) 分别涂布在每个复合膜的表面,在室温下采用紫外灯 (365 nm) 照射 2 h,采用 0.85% NaCl 洗脱样品以去除灭菌板上吸附的细菌。然后将 100 μL 菌悬液导入营养琼脂培养基,涂布均匀,在 37 °C 下培养 20 h 后计数细菌总数。

$$\text{抗菌活性 } R(\%) = (1 - E/B) \times 100$$

E 为复合膜上平均细菌总数; B 为空白样 (不含 TiO₂ 的大豆蛋白溶液) 上平均细菌总数。

1.2.11 数据统计分析

所有实验重复三次取平均值,所有结果用均值±标准差表示,并利用 Origin 8.0 软件分析数据之间的差异显著性。

2 结果与讨论

2.1 复合膜的机械性能

由表 1 和表 2 可以看出, TiO₂ 颗粒的添加量显著地影响了复合膜的机械性能。低 TiO₂ 浓度 (0.5~2%) 的添加可以增强复合膜的拉伸强度,这是因为随着 TiO₂ 含量的增加,与蛋白结合的分子越多,成膜时分子间的相互作用力强,分子间交联越紧密,导致拉伸强度逐渐增加^[13]。然而随着 TiO₂ 颗粒进一步的添加,复合膜的抗拉强度和断裂伸长率呈现明显地下降趋势,这可能是因为 TiO₂ 的量越多,造成粒子间易发生

团聚,越容易降低了大豆蛋白分子间交联作用,增强了链间流动性,进一步降低大豆蛋白链的应变硬化能力,致使膜表面出现小颗粒,膜易撕裂,延展性不好^[9]。同时,从表 1 和表 2 中可发现,光催化处理有助于提高复合膜的机械强度,这可能是由于光催化加剧大豆蛋白分子间的交联作用,即增强成膜基质中分子间的氢键、静电作用以及交联作用,从而显著地改善了大豆蛋白/TiO₂ 复合膜的机械性能。

表 1 复合膜的拉伸强度

Table 1 Effects of TiO₂ content on tensile strength of soy protein/nano-TiO₂ composite films

TiO ₂ /%	拉伸强度/MPa	
	超声处理	光催化
0.5	0.76±0.09	0.91±0.07
1	1.18±0.03	1.54±0.06
2	2.56±0.05	3.39±0.07
3	2.20±0.06	3.08±0.10
4	1.10±0.05	2.43±0.08#

表 2 复合膜的断裂伸长率

Table 2 Effects of TiO₂ content on the elongation at break of soy protein/nano-TiO₂ composite films

TiO ₂ /%	断裂伸长率/%	
	超声处理	光催化
0.5	86.62±4.93	86.62±4.93
1	69.70±2.62	82.20±4.15
2	75.53±5.51	110.15±5.53
3	83.1±4.87	94.39±5.77
4	62.43±5.32	71.48±4.41

2.2 复合膜的透氧性测水分含量 (MC) 和可

溶性固形物含量 (TSM)

作为食品包装材料,应该具有一定的保持水的能力,满足食品存在的条件要求,因此水分含量 (MC) 和可溶性固形物 (TSM) 是衡量可食性膜性质的重要指标。由表 3 可知,随着 TiO₂ 的添加,水分含量 (MC) 的变化并无规律性,这与 Li 等人所报道的结果一致^[13]。但在本研究中发现光催化得到的抗菌膜的水分含量总体上要比超声处理抗菌膜的低,这可能因为水分含量与膜材料的亲水性相关,光催化进一步加强了大豆蛋白膜中基团间或与 TiO₂ 分子间的交联作用,从而降低膜材料的亲水性。从表 4 可得,把复合膜浸泡在去离子水中 24 h,发现 TiO₂ 含量越高,可溶性固形物含量 (TSM) 逐渐降低,复合膜基本呈现出越不容易溶胀变形的规律。同样地,光催化复合膜的 TSM 值要

比超声复合膜 TSM 低, 这一结果进一步说明了光催化处理会加强蛋白膜间的交联作用。

表 3 复合膜的水分含量

Table 3 Effects of TiO₂ content on the moisture content of soy protein/nano-TiO₂ composite films

TiO ₂ /%	水分含量/% (MC)	
	超声处理	光催化
0.5	24.9±0.6	17.3±0.8
1	26.4±2.4	17.0±0.9
2	29.0±0.7	16.4±0.3
3	23.0±0.4	20.2±0.2
4	22.9±0.6	19.4±1.4

表 4 复合膜的可溶性固形物含量

Table 4 Effects of TiO₂ content on soluble solids content of soy protein/nano-TiO₂ composite films

TiO ₂ /%	可溶性固形物含量/% (TSM)	
	超声处理	光催化
0.5	34.4±0.2	24.5±1.3
1	32.7±1.0	23.3±1.1
2	32.2±1.3	21.9±0.5
3	29.4±1.2	17.6±1.9
4	29.7±1.5	17.0±0.8

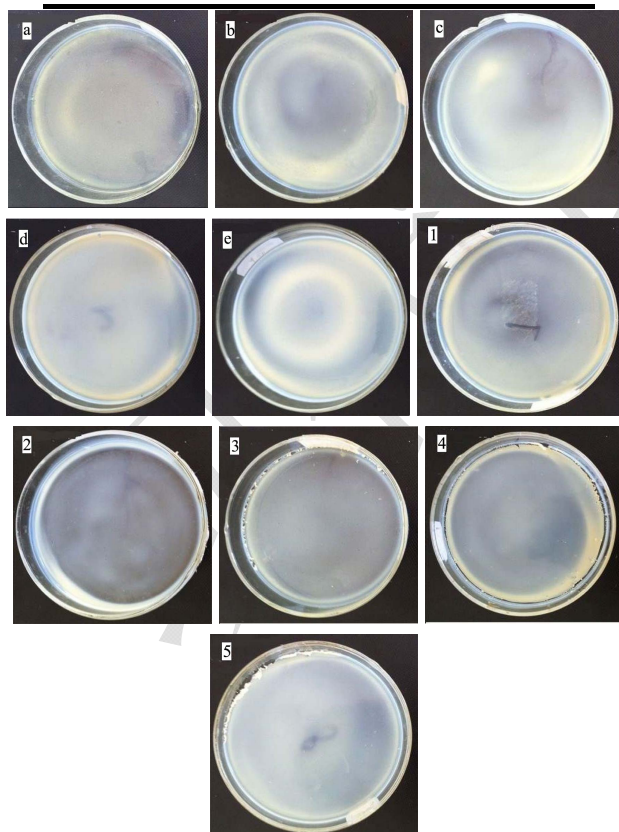


图 1 复合膜的实物图片

Fig.1 Images of TiO₂/BSP composite films

注: a~e 分别表示 0.5%光催化复合膜, 1%光催化复合膜

复合膜, 2%光催化复合膜, 3%光催化复合膜, 4%光催化复合膜; 1~5 分别表示 0.5%超声复合膜, 1%超声复合膜复合膜, 2%超声复合膜, 3%超声复合膜, 4%超声复合膜。

表 5 复合膜的不透明度

Table 5 Effects of TiO₂ content on transparency of soy protein/nano-TiO₂ composite films

TiO ₂ /%	不透明度(A ₅₀₀ /mm)	
	超声处理	光催化
0.5	1.46±2.62	1.81±4.93
1	1.44±5.51	1.97±4.15
2	1.52±4.87	2.16±5.53
3	1.47±5.32	2.22±5.77
4	1.44±3.26	2.27±4.41

2.3 复合膜的透明度分析

膜的不透明度是直接影响包装材料外观的重要因素, 对特殊的包装食品如对可见光敏感的起到重要作用。不同 TiO₂ 含量的复合膜的实物图片见图 1。从外观图中可以看到, 复合膜的颜色为不透明的乳白色, 且表面光滑, 复合膜的外观随着 TiO₂ 的增加差异不明显。此外, 由表 5 可看出, 在波长为 500 nm 的可见光下超声处理的复合膜材料不透明度没有较大的差异性, 均表现出较好的透光性。然而, 光催化处理的复合膜材料随着 TiO₂ 的增加不透明度从 1.81 增加到 2.27, 这可能是因为 TiO₂ 作为一种增白剂, 增强了复合膜的白度。而且光处理处理的复合膜材料的不透明度要高于超声处理的复合膜, 这可能是光催化加强了 TiO₂ 与大豆蛋白的共价交联, 进一步增加复合膜的不透明度, 这与前面复合膜的机械性能和水分含量结果相一致。

2.4 复合膜的荧光分析

荧光光谱通常用于鉴定混合物中蛋白分子与其它大分子物质间的相互作用。由图 2 可以看出, 复合膜的荧光强度随着 TiO₂ 含量的增加而降低, 这可能是因为电子由激发的大豆蛋白分子转移 TiO₂ 分子上从而导致荧光淬灭^[14]。但是 TiO₂ 含量的增加并没有引起复合膜最大发散峰的红移, 这与 Wang 等人报道的大豆蛋白复合膜荧光发散峰发生红移结果不一致^[12], 这可能是由于大豆蛋白复合膜制备方法的不同所造成的。同时从图 2 中可发现在 426 nm 处出现新的荧光发散峰, 而且随着 TiO₂ 量的增加, 该峰的荧光强度增大。相对于超声处理得到的复合膜荧光曲线而言, 光催化处理得到的复合膜荧光强度随 TiO₂ 含量增加而明显下降, 并且 426 nm 处的荧光峰强度显著增强, 这一

结果表明光催化处理会引起大豆蛋白与 TiO₂ 颗粒进一步发生交联, 导致大豆蛋白分子上更多的激发电子转移到 TiO₂ 晶格中, 引起晶格的瓦解, 使其荧光强度下降, 与此同时在交联处大豆蛋白可能产生了大量的无规则结构, 从而导致新荧光峰 (426 nm) 的形成。

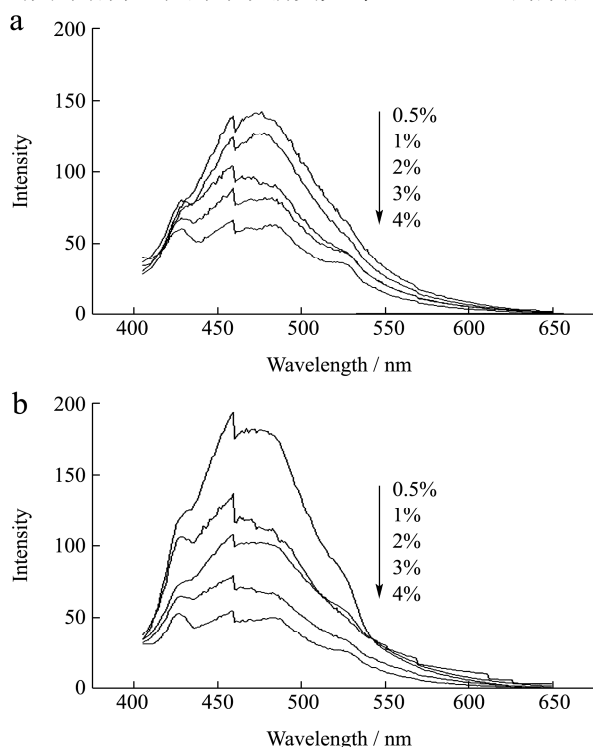


图2 复合膜的荧光分析

Fig.2 Fluorescence spectra of nanocomposite films with various BSP/TiO₂ ratios

注: a 表示超声复合膜; b 表示光催化复合膜。

2.5 复合膜的 X-射线衍射分析

X-射线衍射仪可用于分析大豆蛋白的螺旋结构和复合膜的晶体结构变化。纯 TiO₂ 颗粒的 XRD 特征性结构为 $2\theta=25.3^\circ, 37.9^\circ, 47.8^\circ, 54.5^\circ, 63.1^\circ, 69.4^\circ$ 和 75.2° [14]。大豆蛋白的特征性峰分布在 $2\theta=20.0^\circ$ 附近, 随着 TiO₂ 含量的增加, 这个衍射峰的强度随之降低, 这就表明大豆蛋白或 TiO₂ 在相互混合后其晶体结构发生瓦解, TiO₂ 的添加可能破坏了大豆蛋白分子间的氢键作用 [15], 然后 TiO₂ 均匀地分散在复合膜基质中, 进一步增强了纳米颗粒和大豆蛋白分子间的相互作用, 形成稳定的网络结构。

在低 TiO₂ 含量下, 复合膜并未表现出 TiO₂ 特征性衍射峰, 然而当 TiO₂ 含量 > 2% 时, 在 $2\theta=25.0^\circ$ 附近出现一个新的衍射峰, 这一结果进一步说明了 TiO₂ 颗粒覆盖在大豆蛋白表面, 并与之发生交联作用, 随着 TiO₂ 含量的增加, 大量的自组装纳米颗粒形成, 进一步增强了 TiO₂ 的晶体稳定性, 从而在复合膜的 XRD

图中出现新的衍射特征峰, 这一结果与 He 等人报道的明胶/TiO₂ 复合膜 XRD 结果相一致 [14]。同时, 由图 3a 和 3b 可以看出, 随着 TiO₂ 含量的增多 (TiO₂ > 2%), 与超声处理得到的复合膜 XRD 图相比, 光催化处理得到的复合膜 XRD 图中出现更多的 TiO₂ 衍射特征峰 ($2\theta=48.0^\circ, 54.7^\circ$), 这也表明光催化技术进一步增强了大豆蛋白与 TiO₂ 间的交联作用。

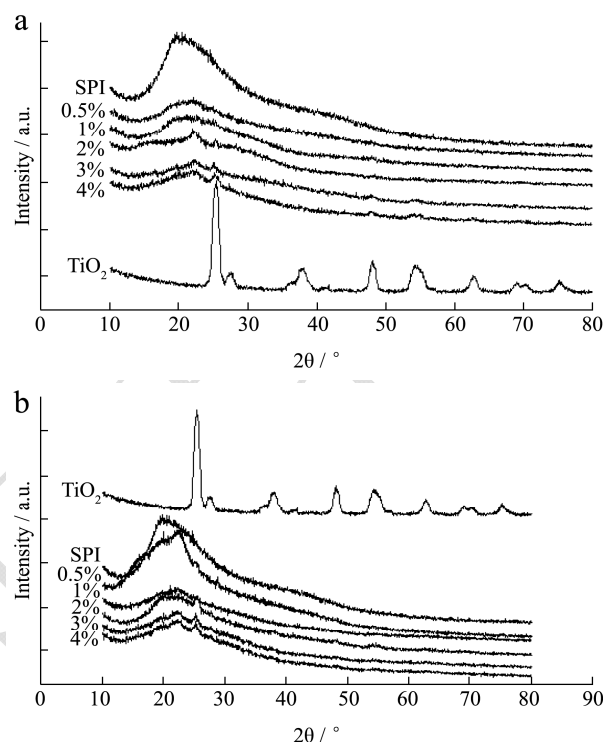


图3 复合膜的 X-射线衍射分析

Fig.3 X-ray diffraction patterns of pure TiO₂ nanoparticles and nanocomposite films with various BSP/TiO₂ ratios

注: a 表示光催化复合膜; b 表示超声复合膜。

2.6 复合膜的红外分析

在本研究中, 利用红外光谱表征复合膜中大豆蛋白结构随着 TiO₂ 的添加所发生变化。由图 4 可看出, 所有的复合膜与大豆蛋白具有类似的红外光谱图。大豆蛋白膜中添加 TiO₂ 后, -OH 的伸缩振动的吸收峰由 3314 cm^{-1} 红移至 3418 cm^{-1} , 但随着 TiO₂ 量的增加, 峰强度逐渐增强。与此同时, 1660 cm^{-1} 处 C=O 的伸缩振动 (胺 I 峰), 1550 cm^{-1} 处 -NH₂ 的伸缩振动 (胺 II 峰), 以及 1240 cm^{-1} 处代表 C-N 和 N-H 伸缩振动 (胺 III 峰) 随着 TiO₂ 含量的增加而强度显著增强, 而且 1078 cm^{-1} 处 -OH 的变角振动峰强度不仅随 TiO₂ 含量增加而明显增强, 且蓝移至 1054 cm^{-1} , 由此可知, TiO₂ 的添加增强了大豆蛋白分子间及与纳米颗粒间的氢键。而且对于光催化复合膜而言, 在 930 cm^{-1} 处出现新的吸收峰, 这可能是 Ti⁴⁺ 与大豆蛋白间巯基作用或

是静电作用从而进一步形成紧密的网络结构。

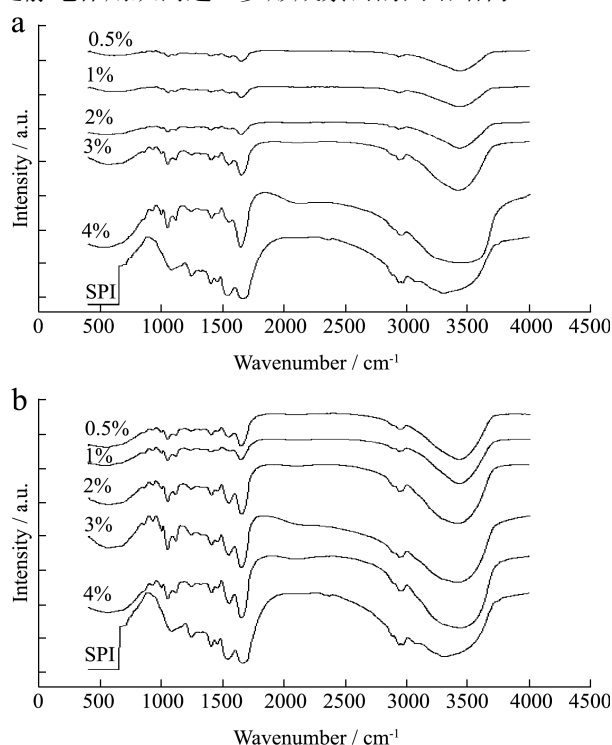


图4 复合膜的红外光谱分析图

Fig.4 FT-IR spectra of nanocomposite films with various BSP/TiO₂ ratios

注: a表示超声复合膜; b表示光催化复合膜。

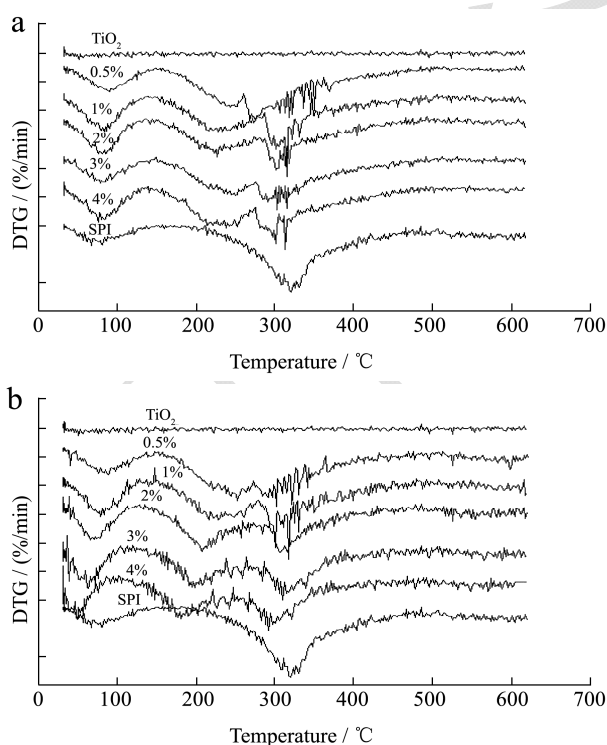


图5 复合膜的热重分析图

Fig.5 DTG (%/min) curves of nanocomposite films with various BSP/TiO₂ ratios

注: a表示超声复合膜; b表示光催化复合膜。

表6 光催化复合膜的热重分析

Table 6 Thermal parameters of nanocomposite films (with various BSP/TiO₂ ratios) prepared by photocatalysis measured by Thermal Gravimetric Analyzer TGA

TiO ₂ /%	光催化				
	0.5	1	2	3	4
峰I Td/°C	85	78	70	62	55
峰I质量损失/%	7.69	8.87	9.1	9.14	9.8
峰II Td/°C	251	224	208	196	182
峰II质量损失/%	35.91	30.13	30.11	26.53	24.05
峰III Td/°C	292	299	309	315	301
峰III质量损失/%	41.4	50.78	52.9	47.72	51.42
TG 600 °C/%	17.24	15.52	17.67	21.78	22.93

表7 超声复合膜的热重分析

Table 7 Thermal parameters of nanocomposite films (with various BSP/TiO₂ ratios) prepared by ultrasonication measured by Thermal Gravimetric Analyzer TGA

TiO ₂ /%	光催化				
	0.5	1	2	3	4
峰I Td/°C	89	83	85	81	81
峰I质量损失/%	8.48	11.12	12.63	7.88	10.15
峰II Td/°C	244	222	226	246	229
峰II质量损失/%	31.88	31.15	31.98	32.19	33.52
峰III Td/°C	273	304	304	297	299
峰III质量损失/%	49.14	54.43	55.16	54.16	55.15
TG 600 °C/%	11.55	15.53	15.28	17.32	18.38

2.7 复合膜的热特性分析

膜材料的热稳定性通过热重(TG)进行分析。由图5可看出,在25~600 °C温度范围内复合膜则出现3个明显的热解峰。峰I出现在50~120 °C范围内,代表了分子内和分子间水的损失。峰II出现在120~270 °C范围内,表示膜材料中甘油的损失与大豆蛋白的分解。由表6和表7可知,光催化复合膜质量损失要低于超声复合膜的质量损失,这表明光催化复合膜内部形成致密的网络结构阻碍了甘油和大豆蛋白分子的降解,减少了质量损失。峰III出现在270~370 °C范围内,可能是部分分解的大豆蛋白和纳米颗粒的氧化。随着TiO₂含量的增加,复合膜的最大分解速率也随之增加,说明TiO₂纳米颗粒可增强复合膜材料的热稳定性。加热到600 °C后,随着TiO₂含量的增加,剩余质量也随着增加,且当TiO₂含量为2%时,光催化复合膜的剩余质量为17.67%,而超声复合膜的剩余质量则为15.28%,进一步证实了上述结论即光催化复合膜的热稳定性要高于超声复合膜。

TiO₂ 的加入, 增强了与大豆蛋白交联作用, 加强了大豆蛋白的网络结构, 导致热稳定性增加。类似的现象在其它膜材料中也有发现^[16]。

2.8 复合膜的结构分析

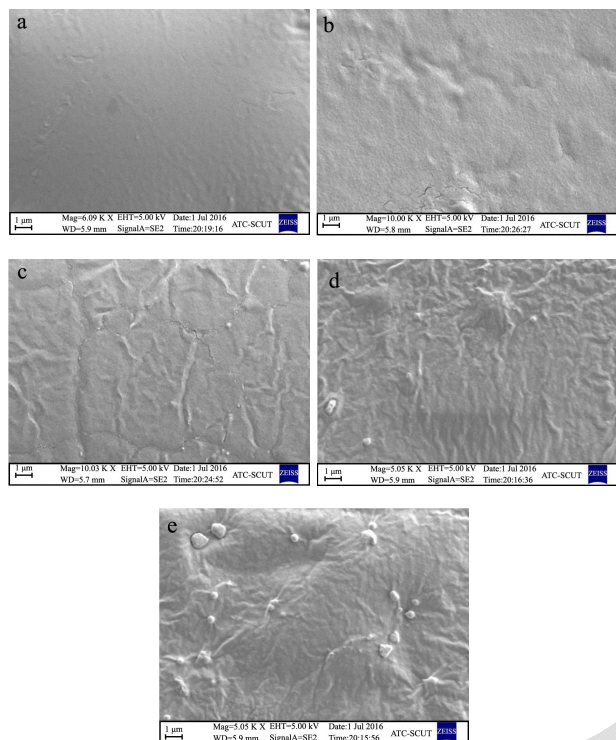


图6 光催化复合膜的扫描电镜图

Fig.6 SEM micrographs of the surface of nanocomposite films (with various BSP/TiO₂ ratios) prepared by photocatalysis

注: a-e 分别表示 0.5%光催化复合膜, 1%光催化复合膜, 2%光催化复合膜, 3%光催化复合膜, 4%光催化复合膜。

由扫描电子显微镜观察的复合膜的结构(图 6 和图 7)可见, 白色小颗粒为 TiO₂ 粒子的聚集体, 均匀地分布于复合膜中。当 TiO₂ 含量低于 2%, 复合膜表面并没有观察到明显的颗粒团, 而当 TiO₂ 含量高于 2%, 复合膜表面出现了相分离和少量颗粒团。这就表明了大豆蛋白与 TiO₂ 颗粒是相对兼容的, 当 TiO₂ 含量较低时, 纳米颗粒均匀分散在复合膜基质中并与蛋白链交联而非发生自聚; 但随着 TiO₂ 含量的增加, 纳米颗粒发生自聚, 从而导致大豆蛋白膜网络结构受到严重的破坏, 整个复合膜变得不均匀且出现宏观的相分离, 极大地降低膜材料的机械性, 这也与前面复合膜机械性能和红外光谱分析是相一致的。总观复合膜的 SEM 图像, 由于光催化可增强大豆蛋白分子间及与 TiO₂ 颗粒间的交联作用, 所以只出现了微相的相分离, 所以当 TiO₂ 含量过高时, 相对于超声处理的复合膜材料使膜材料结构更加均一。

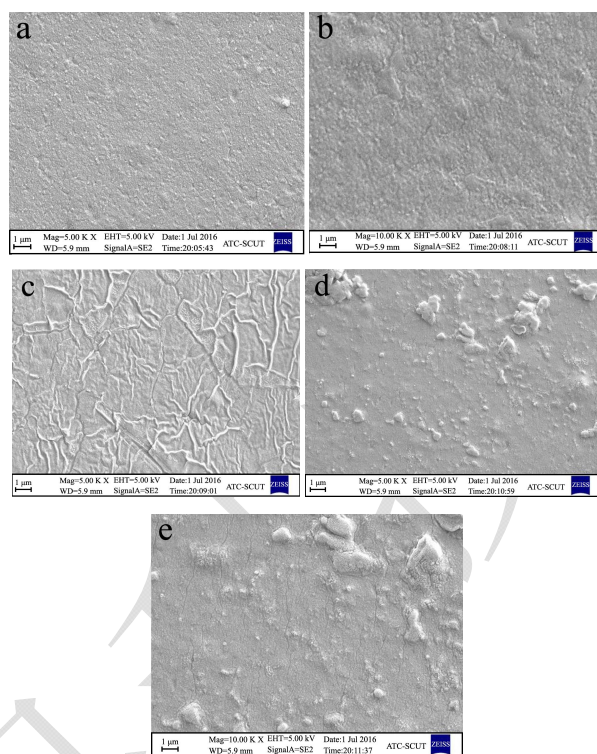


图7 光催化复合膜的扫描电镜图

Fig.7 SEM micrographs of the surface of nanocomposite films (with various BSP/TiO₂ ratios) prepared by ultrasonication

注: a-e 分别表示 0.5%超声复合膜, 1%超声复合膜, 2%超声复合膜, 3%超声复合膜, 4%超声复合膜。

2.9 复合膜的抗菌性能分析

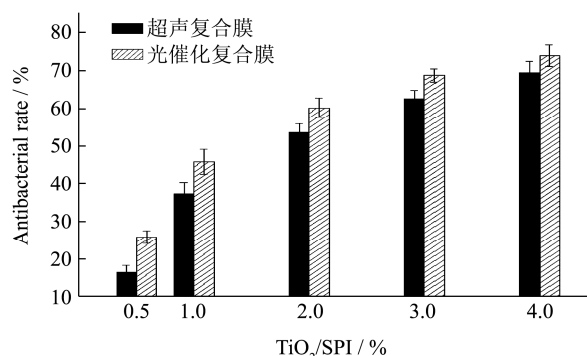


图8 复合膜抗菌活性分析

Fig.8 Antibacterial effects of nanocomposite films with various ratios BSP/TiO₂ against bacterium *E. coli*

由图 8 可看出, 增加 TiO₂ 的含量能够增强复合膜的抗菌活性, 这可归为在紫外照射下 TiO₂ 具有强氧化性能, 能够影响细菌的基因组从而使细菌发生溶菌现象, TiO₂ 含量越高, 更多的活性氧产生, 相应的抗菌率增加^[17], 这与 He 等所报道的研究结果相一致^[14]。同时, 从图 8 可知, 光催化复合膜的抗菌活性要高于超声复合膜, 这可能是因为光催化使 TiO₂ 更加均匀分

布在大豆蛋白基质中并与之发生显著的交联,并且可预先激发 TiO₂ 产生更多的活性氧,导致复合膜在紫外灯照射下产生显著的失活作用。

3 结论

本研究成功的通过光催化/超声方法制备大豆蛋白/纳米 TiO₂ 复合膜。当 TiO₂ 含量低于 2% 时,纳米颗粒可改善复合膜的机械性能,但 TiO₂ 含量过高 (>2%),复合膜的抗拉强度和断裂伸长率呈现明显地下降趋势,并且光催化复合膜的机械性能要远优于超声复合膜。TiO₂ 纳米颗粒的加入极大改变了复合膜的透明度,从半透明到不透明态。同时, TiO₂ 颗粒的加入会导致复合膜不易溶胀变形。荧光光谱分析、红外光谱分析和 X-射线衍射分析结果表明了大豆蛋白与 TiO₂ 纳米颗粒间存在显著的作用力(如氢键、静电作用力以及交联作用),而光催化可以进一步增强大豆蛋白与 TiO₂ 颗粒间的交联作用。热重分析表明 TiO₂ 颗粒增强与大豆蛋白交联作用,提高了复合膜的热稳定性,并且光催化复合膜的热稳定性要高于超声复合膜热稳定性。扫描电镜结果说明 TiO₂ 纳米颗粒均匀地分散在大豆蛋白基质中,而当 TiO₂ 含量>2% 时,复合膜表面出现了相分离和少量颗粒团。最后由复合膜的抗菌性结果中可得,复合膜对大肠杆菌有比较显著的抑制作用,并随着 TiO₂ 含量的增加,复合膜抗菌活性增强。大豆蛋白/TiO₂ 纳米复合膜(当 TiO₂ 含量<2%)有望作为新型绿色抗菌包装材料,延长乳制品、果蔬、肉类食品的保存期,消除传统包装带来的白色污染。

参考文献

- [1] Cha D S, Chinnan M S. Biopolymer-based antimicrobial packaging: a review [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2004, 44(4): 223-237
- [2] Yin S W, Tang C H, Wen Q B, et al. Properties of cast films from hemp (*Cannabis sativa L.*) and soy protein isolates: A comparative study [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2007, 55(18): 7399-7404
- [3] Wang Z, Sun X X, Lian Z X, et al. The effects of ultrasonic/microwave assisted treatment on the properties of soy protein isolate/microcrystalline wheat-bran cellulose film [J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 114(2): 183-191
- [4] Jiang J, Xiong Y L, Newman M C, et al. Structure-modifying alkaline and acidic pH-shifting processes promote film formation of soy proteins [J]. *Food Chemistry*, 2012, 132(4): 1944-1950
- [5] Shao C, Yang C, Wang X, et al. Characterization of soy protein-celery composite paper sheet: rheological behavior, mechanical, and heat-sealing properties [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2012, 125: 255-261
- [6] Zhang C, Ma Y, Guo, K, et al. High-pressure homogenization lowers water vapor permeability of soybean protein isolate-beeswax films [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(9): 2219-2223
- [7] Lupoi J S, Smith E A. Evaluation of nanoparticle-immobilized cellulose for improved ethanol yield in simultaneous saccharification and fermentation reactions [J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2011, 108(12): 2835-2843
- [8] Zhou J J, Wang S Y, Gunasekaran S. Preparation and characterization of whey protein film incorporated with TiO₂ nanoparticles [J]. *Journal of Food Science*, 2009, 74(7): 50-56
- [9] Zolfi M, Khodaiyan F, Mousavi M, et al. Development and characterization of the kefir-whey protein isolate-TiO₂ nanocomposite films [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 65(10): 340-345
- [10] Kumar P, Sandeep KP, Alavi S, et al. Preparation and characterization of bio-nanocomposite films based on soy protein isolate and montmorillonite using melt extrusion [J]. *Journal of Food Engineering*, 2010, 100(3): 480-489
- [11] Arora A, Padua G W. Review: Nanocomposites in food packaging [J]. *Journal of Food Science*, 2010, 75(1): 43-49
- [12] Wang S Y, Zhu B B, Li D Z, et al. Preparation and characterization of TiO₂/SPI composite film [J]. *Materials Letters*, 2012, 83(23): 42-45
- [13] Li Y X, Jiang Y F, Liu F, et al. Fabrication and characterization of TiO₂/whey protein isolate nanocomposite film [J]. *Food Hydrocolloids*, 2011, 25(5): 1098-1104
- [14] He Q Y, Zhang Y C, Cai X X, et al. Fabrication of gelatin-TiO₂ nanocomposite film and its structural, antibacterial and physical properties [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 84: 153-160
- [15] Liu Z Y, Ge X J, Lu Y, et al. Effects of chitosan molecular weight and degree of deacetylation on the properties of gelatine-based films [J]. *Food Hydrocolloids*, 2012, 26(1): 311-317
- [16] Kadam D M, Thunga M, Wang S, et al. Preparation and characterization of whey protein isolate films reinforced with porous silica coated titania nanoparticles [J]. *Journal of Food Engineering*, 2013, 117(1): 133-140
- [16] Kühn K P, Chaberny I F, Massholder K, et al. Disinfection of

surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide

and UVA light [J]. Chemosphere, 2003, 53(1): 71-77

现代食品科技