

## $\gamma$ -聚谷氨酸/壳聚糖复合膜吸附性的影响因素分析

张爽<sup>1</sup>, 张二伟<sup>2</sup>, 朱翠萍<sup>2</sup>, 段雅雯<sup>2</sup>, 季慕寅<sup>1</sup>, 聂光军<sup>2\*</sup>

(1. 芜湖职业技术学院生物工程学院, 芜湖 241000; 2. 安徽工程大学生物与化学工程学院, 芜湖 241000)

**摘要:** 通过试验寻求  $\gamma$ -PGA/CS 复合膜中  $\gamma$ -聚谷氨酸与壳聚糖的最佳合成比例, 并对复合膜吸附性、吸水性和保水性进行研究。结果发现添加了  $\gamma$ -聚谷氨酸的复合膜, 金属离子吸附力、吸水力和保水力皆有所增加, 而聚谷氨酸和壳聚糖的比例为 1:6 的复合膜体现出更为明显优势, 具有较强的保水性、吸水性和金属离子吸附能力。

**关键词:**  $\gamma$ -聚谷氨酸; 壳聚糖; 复合膜

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)03-0492-04

### The analysis of factors affecting the adsorption of poly glutamic acid/chitosan composite membrane

ZHANG Shuang<sup>1</sup>, ZHANG Erwei<sup>2</sup>, ZHU Cuiping<sup>2</sup>, DUAN Yawen<sup>2</sup>, JI Muyin<sup>1</sup>, NIE Guangjun<sup>2</sup>

(1. Wuhu Institute of Technology, College of Biological Engineering, Wuhu 241000;

2. Anhui Polytechnic University College of Biochemical Engineering, Wuhu 241000)

**Abstract:** To find the optimal ratio of poly glutamic acid and chitosan in  $\gamma$ -PGA/CS ( $\gamma$ -poly glutamic acid/chitosan) composite membrane, and its adsorption, water absorption and water retention. Results: The adsorption capacity, water absorption capacity and water retention capacity of  $\gamma$ -PGA-added composite membrane, were increased. And the composite membrane with a  $\gamma$ -PGA and CS ratio of 1 to 6 shows a more obvious advantage, it has a stronger water retention, water absorption and metal ion adsorption capacity.

**Key words:**  $\gamma$ -PGA; chitosan; composite membrane

$\gamma$ -聚谷氨酸 ( $\gamma$ -poly glutamic acid,  $\gamma$ -PGA) 是一种生物高分子材料, 由微生物发酵合成, 为氨基酸多聚物, 其主链上有较多游离羧基基团, 具有金属螯合性和强吸水性、修饰和交联特性, 并具有生物相容性、细胞安全性、强溶胀性、生物可降解性以及低免疫原性和 pH 敏感性等优点<sup>[1-2]</sup>, 在环境保护和生物医药等方面有广泛应用。 $\gamma$ -PGA 分子上大量的活性位点使其便于材料功能化, 因其安全无毒、水溶性好、生物降解性优良和可食用等优点, 使  $\gamma$ -PGA 及其衍生物在食品、化妆品、医药和农业等领域具有广阔的应用前景<sup>[3-4]</sup>。

壳聚糖 (Chitosan, CS) 分子中有大量游离氨, 同时兼具有天然、无毒、生物相容性好和易于降解等优点, 壳聚糖可制成膜用于水果保鲜防腐<sup>[5-6]</sup>等方

面, 另外也能够作为催化剂、食品添加剂、吸附剂、絮凝剂、食用膜、酶固定化载体、抗菌剂、污水处理剂以及药物缓释剂等应用于医药和食品工业中<sup>[7-8]</sup>。

壳聚糖形成的膜水溶性较差, 用于其他领域难降解; 而用  $\gamma$ -聚谷氨酸制得的水凝胶具有可降解的环境友好型特点, 在自然界可迅速降解, 不会造成环境污染<sup>[9]</sup>, 但  $\gamma$ -聚谷氨酸自身具有水溶性, 单独作为吸附重金属的材料难以实现<sup>[10]</sup>。因此, 研究  $\gamma$ -PGA 与 CS 共混制成的复合膜是否兼备两者的优势具有一定的现实意义, 有望获得一种新型的食品保鲜涂膜材料<sup>[11-12]</sup>。

本研究以  $\gamma$ -PGA 作为复合材料的基体, 通过添加不同比例的 CS 制得  $\gamma$ -PGA/CS 生物可降解复合

收稿日期: 2016-11-29

基金项目: 安徽省高等学校质量工程项目食品分析技术教学团队 (2016jxtd131) 资助。

作者简介: 张爽, 副教授。E-mail: goodluck\_zs@163.com

\* 通信作者: 聂光军, 博士, 副教授。E-mail: n.g.jason@163.com

膜, 探讨  $\gamma$ -PGA 含量对  $\gamma$ -PGA/CS 复合膜离子吸附性能、保水性及吸水性以及抗拉强度等因子的影响, 寻求  $\gamma$ -PGA/CS 复合膜中最佳  $\gamma$ -PGA 添加比例, 对该种新型可降解的生物材料的开发提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

试验材料为市售茺蓂。

试验试剂: 聚谷氨酸结晶体(化妆品级, 70—110 万单位)为市售标准品; 壳聚糖、乙酸、乙酸铵、硫酸铜、氢氧化钠、硫酸、十二水合磷酸氢二钠、二水合磷酸二氢钠和氯化钠均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司。

仪器与设备: ID-DI-15V 型超纯水机(上海硕鼎水处理设备公司), DF-101SZ 集热式恒温加热磁力搅拌器(河南省巩义予华仪器有限责任公司), SHZ-82 恒温振荡器(常州国华电器有限公司), TA-214 型电子天平(上海海康电子仪器厂), BCD-230WB 电冰箱(松下电器有限公司), SP-754 紫外分光光度计(上海光谱仪器有限公司), PHS-25 型 pH 计(上海仪电科学仪器公司), 移液枪(法国 GILSO 公司), GNP-905 隔水式恒温培养箱(常州普天仪器制造公司)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1  $\gamma$ -聚谷氨酸/壳聚糖复合膜的制备** 分别准确称取 0、0.25、0.15、0.107 和 0.0883 g 的  $\gamma$ -PGA, 贴好标签做好标记, 分别加入 30 mL 的 pH 9.0 的 NaOH 溶液中, 在恒温磁力搅拌器下 45℃ 搅拌加热溶解 30 min, 直至溶液澄清。分别准确称取 0.75、0.50、0.60、0.643 和 0.667 g 的壳聚糖加入对应标号的烧杯中, 搅拌, 使其溶解充分后, 以每滴 60 s 的速度缓慢滴加 pH 为 6.0 乙酸-乙酸铵缓冲溶液, 待其成分充分反应。将上述烧杯内溶液分别缓慢倒入标记好的培养皿中, 静置, 并放入 30℃ 烘箱中过夜, 烘干成膜。加入 15 mL  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液中浸泡 30 min, 小心取膜, 将膜放入蒸馏水反复清洗, 洗去粘附膜表面的杂质后, 放入烘箱中 30℃ 下烘干备用。

**1.2.2  $\gamma$ -PGA 与 CS 比例对复合膜离子吸附性影响的测定** 将制作 1:2、1:4、1:6 和 1:8 的  $\gamma$ -PGA/CS 复合膜及纯 CS 膜分别放入 50 mL  $500 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$   $\text{CuSO}_4$  溶液中, 置于 24℃ 恒温震荡箱中, 震荡吸附 9 h。前 3 h 每隔 30 min、3 h 后每隔 1 h 取出每组样品用分光光度法测定  $\text{CuSO}_4$  溶液中铜离子浓度, 计算铜离子吸附率, 比较 PGA 含量对复合膜吸附性的影

响。

**1.2.3  $\gamma$ -PGA 与 CS 比例对复合膜吸水性影响的测定** 将不同比例的  $\gamma$ -PGA/CS 复合膜与纯 CS 膜烘干后置于 pH7.4 的磷酸盐缓冲溶液中, 充分吸水, 每隔 10 min 称 1 次质量, 共测定 50 min, 计算不同比例复合膜吸水率。

**1.2.4  $\gamma$ -PGA 与 CS 比例对复合膜保水性影响的测定** 取新鲜的茺蓂 1 颗, 分别摘取 6 个相同大小的枝节, 准确称量其质量, 将上述处理的茺蓂分别放置于平皿中, 避光, 敞口, 室温 25℃, 相对湿度 60%, 将事先浸泡在蒸馏水中的不同比例的  $\gamma$ -PGA/CS 复合膜与纯 CS 膜取出, 擦干膜表面的水分, 将其覆盖在茺蓂上, 每隔 12 h 测茺蓂的质量, 观察茺蓂的表面特征。同时计算出茺蓂的失水率。

## 2 结果与分析

### 2.1 $\gamma$ -PGA 含量对复合膜离子吸附性影响

$\gamma$ -PGA 分子上有较多游离羧基基团, 具有金属螯合性。CS 分子上有大量游离氨基存在, 也可在中性环境通过螯合作用, 酸性环境通过交换作用对金属离子产生吸附。通过试验发现不同比例的  $\gamma$ -PGA/CS 复合膜对金属的吸附皆随时间延长而不断积累(见图 1)。比较不同比例膜的吸附性发现, 1:6 组合的复合膜吸附性最好。其中, 吸附时间在 6~8 h 时最佳, 为吸附平台期。

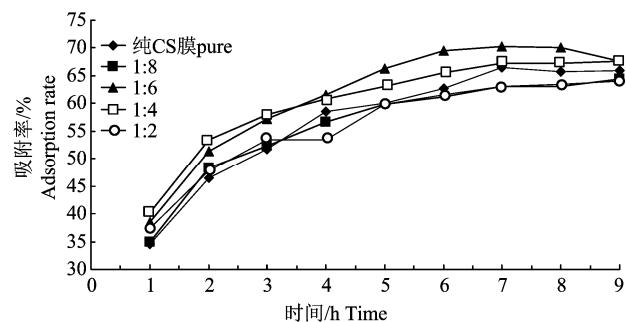


图 1  $\gamma$ -PGA 含量对复合膜离子吸附率影响的比较  
Figure 1 The comparative effects of  $\gamma$ -PGA content on composite membrane's absorption ratio

图 1 中每一条趋势线代表着  $\gamma$ -PGA 不同的添加量, 纯 CS 膜的结构对离子也有一定的吸附能力, 纵向比较可以看出  $\gamma$ -PGA 添加量增加, 溶液中铜离子被吸附的量也有所变化, 且与对照组即不添加  $\gamma$ -PGA 的差距较大, 并在吸附 4 h 后,  $\gamma$ -PGA 与 CS 添加比为 1:6 的复合膜体现出吸附的明显优势, 这可能复合材料在此比例下暴露出最多活性羧基基团与氨基基团有一定关系。横向比较可以看出, 随着

吸附时间的延长,金属吸附率均发生不同程度增加,吸附反应进行到7 h之后,几乎所有比例的复合膜金属吸附量达到最大值,此时即使延长反应时间吸附量也未见明显的升高。事实表明,吸附是一个动态的可逆过程,γ-PGA分子上自由基团可吸附的铜离子有限,当这些基团负载铜离子后,聚谷氨酸吸附容量饱和,达到了吸附的动态平衡状态,吸附量达到最大值<sup>[13]</sup>。因此7 h为最佳吸附时间,而7 h后复合膜对金属吸附能力有所下降,这可能是因为复合膜的解聚而导致,需进一步对复合膜的稳定性进行研究。

**2.2 γ-PGA 含量对复合膜吸水性影响**

通过改变复合膜中γ-PGA含量,比较不同比例复合膜对于水分的吸收能力,发现各比例复合膜对于水分都有一定的吸收能力,但是吸水能力会随浸泡时间延长而在一定程度上发生下降,总体上看1:6组合的复合膜吸水性受时间影响最小,稳定性最好(见图2)。

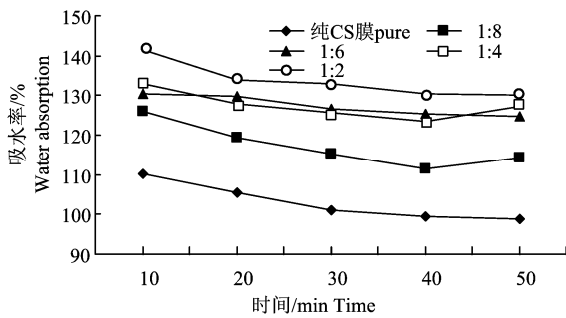


图2 γ-PGA含量对复合膜吸水性能影响的比较

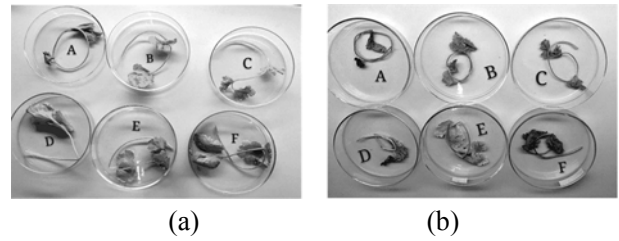
Figure 2 The comparative effects of γ-PGA content on composite membrane's water absorption

图2趋势线纵向比较,可见添加γ-PGA的膜的吸水率远远大于未添加γ-PGA的膜的吸水率,并且复合膜吸水率明显随γ-PGA添加量增加而有所增加,说明γ-PGA能够增加膜的吸水性,利用普通的机械共混方法就能将壳聚糖和γ-PGA制成膜状或者水凝胶状新材料,从而实现这2种材料生理功能方面的协同作用,CS和γ-PGA的主链上都含有大量亲水性基团致使共混膜吸水性更为理想。而横向来看,复合膜的吸水率随吸水时间延长表现出一定的下行趋势,但γ-PGA添加量为1:6的复合膜吸水率受时间影响较小,这可能和水分子与复合膜吸水基团结合稳定性有一定关系<sup>[14]</sup>。

**2.3 γ-PGA 含量对复合膜保水性影响**

γ-PGA具有较强的保水性,γ-PGA与水分子之间发生相对稳定的缔合作用致使γ-PGA具备了很强

的吸水能力,也就是由于这种作用的存在使γ-PGA可以将水分子“抓住”,使得水分子的失去将变得非常困难,从而促使γ-PGA具有一定的保水能力<sup>[15]</sup>。可以用γ-PGA溶液涂膜蔬菜或水果,以防止水分的散失。在日常生活中发现芫荽极易失水而枯萎,因此选用芫荽进行试验。



a.处理24 h; b.处理72 h

A.不放膜; B.纯壳聚糖膜; C.1:8; D.1:6; E.1:4; F.1:2

a.processing for 24 h; b.processing for 72 h

A.without composite membrane; B.pure CS; C.1:8; D.1:6; E.1:4; F.1:2

图3 不同处理时间下芫荽状态

Figure 3 The effect of different processing time on coriander state

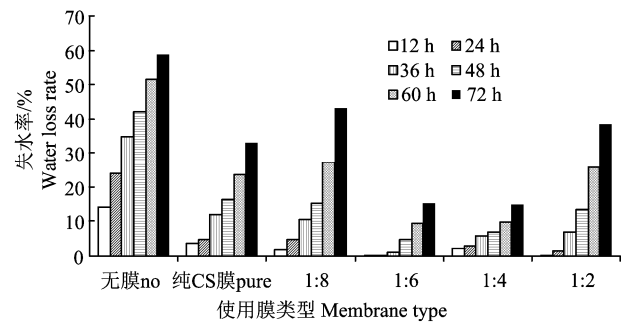


图4 γ-PGA含量对复合膜保水性影响的比较

Figure 4 The comparative effects of γ-PGA content on composite membrane's water retention

从感官检测来看图3,各个样品在存放24 h后,未做覆膜处理的与只用纯CS膜覆盖的2组芫荽明显萎蔫皱缩,而用复合膜覆盖处理过的芫荽仍然色泽鲜艳;存放48 h后,用复合膜覆盖过的芫荽也开始出现萎蔫皱缩现象,但明显优于未覆盖或纯CS膜覆盖的芫荽;存放72 h后,未覆盖或纯CS膜覆盖的芫荽已经枯干、泛黄,用含γ-PGA/CS复合膜覆盖的芫荽与前者相比,菜的色泽较为鲜艳,萎蔫程度较低。图4显示,随着复合膜中γ-PGA浓度增加,芫荽的失水率逐渐减小,而当γ-PGA和CS的比例为1:6时,可能因为水分子与复合膜吸水基团结合稳定性最佳,故而使膜保水性效果最为理想。从而证明γ-PGA与CS比例为1:6的复合膜用于蔬菜保鲜,可达到较理想的保鲜效果。

### 3 结论

$\gamma$ -聚谷氨酸是一种可生物降解的水溶性高分子材料,因其为微生物合成的氨基酸聚合物,具有水溶性特点,所以不易单独作为吸附重金属的材料<sup>[16]</sup>。本研究采用亲电聚合法,利用异性电荷相吸的原理,用碳化二胺和 N-羧基琥珀酰亚胺活化聚谷氨酸上带负电荷的羧基,使之与壳寡糖带正电荷的游离氨基形成酰胺键,从而产生具有三维网状结构的有生物相容性并且可降解的  $\gamma$ -聚谷氨酸/壳聚糖复合膜。本研究探讨了  $\gamma$ -聚谷氨酸含量对复合膜性能的影响,并对复合膜的吸水性、保水性及对金属离子的吸附等进行宏观性能测试。发现添加  $\gamma$ -聚谷氨酸的复合膜对铜离子吸附能力、吸水性及保水性都强于纯壳寡糖膜,并且  $\gamma$ -PGA/CS 添加比为 1:6 的复合膜在金属离子吸附能力、吸水能力稳定性与蔬菜保水效果方面表现出明显优势。这种复合膜利用了  $\gamma$ -聚谷氨酸的保水性和吸附性、壳聚糖的杀菌作用,同时两者又兼具有生物相容性和可降解性,在生物应用中具备良好的安全性,在果蔬食品涂膜保鲜、保水保温化妆品等领域有着广阔的应用前景。

### 参考文献:

- [1] LJUBIMOVA J Y, BLACK K L, LJUBIMOV A V, et al. Biodegradable multitargeting na-noconjugates for drug delivery[M]. New York: Springer New York, 2008: 233-262.
- [2] 高春媛, 惠明, 杜小波, 等.  $\gamma$ -聚谷氨酸水凝胶制备方法和应用研究进展[J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2013, 41(3): 24-29.
- [3] 王虹.  $\gamma$ -聚谷氨酸及其在水处理中的应用[J]. 化工时刊, 2009, 23(2): 59-61.
- [4] 李晶博, 李丁, 邓毛程, 等.  $\gamma$ -聚谷氨酸的特性、生产及应用[J]. 化工进展, 2008, 27(11): 1789-1792.
- [5] 赵玉清, 郑兆艳, 王冰, 等. 壳聚糖复合物的制备与荔枝保鲜研究[J]. 大连民族学院学报, 2004, 6(1): 44-46.
- [6] 赵玉清, 张云霞, 郑兆艳, 等. 壳聚糖复合物的制备与草莓保鲜研究[J]. 食品科学, 2004, 25(10): 336-338.
- [7] SHEPHERD R, READER S, FALSHAW A. Chitosan functional properties[J]. Glycoconjugate J, 1997, 14(4): 535-542.
- [8] SHAHIDI F, ARACHCHI J K V, JEON Y J. Food applications of chitin and chitosans[J]. Trends Food Sci Tech, 1999, 10(2): 37-51.
- [9] 吴骏, 施晓丽, 吴依萍, 等.  $\gamma$ -聚谷氨酸/可得然胶共混膜的制备研究[J]. 广州化工, 2012, 40(22): 61-63.
- [10] 李晶博, 李丁, 邓毛程.  $\gamma$ -聚谷氨酸的特性、生产及应用[J]. 化工进展, 2008, 27(11): 1789-1792.
- [11] 鞠蕾.  $\gamma$ -聚谷氨酸的生物合成及其纳米胶囊的制备[D]. 上海: 上海应用技术学院, 2012.
- [12] YAO D, JI Z, WANG C, et al. Co-producing iturin A and poly- $\gamma$ -glutamic acid from rapeseed meal under solid state fermentation by the newly isolated *Bacillus subtilis* strain 3-10[J]. World J Microbiol Biotechn, 2012, 28(3): 985-991.
- [13] 王欣. 聚谷氨酸-明胶生物胶的制备及生物性能的研究[D]. 南京: 南京工业大学, 2005.
- [14] 王静心, 李政, 张健飞, 等.  $\gamma$ -聚谷氨酸水凝胶研究与应用进展[J]. 微生物学通报, 2014, 41(8): 1649-1654.
- [15] 李文婧, 刘建军, 赵祥颖.  $\gamma$ -聚谷氨酸( $\gamma$ -PGA)絮凝特性的研究[J]. 酿酒, 2012, 39(1): 98-100.
- [16] 李贺敏. 聚谷氨酸吸水树脂的合成及改性的初步研究[D]. 南京: 南京工业大学, 2005.