

文章编号 :1673-1689(2007)01-0025-04

转谷氨酰胺酶改性明胶高强度薄膜的制备

丁克毅^{1,2}

(1. 西南民族大学 化学与环保工程学院, 四川 成都 610041; 2. 美国农业部东部地区研究中心油脂及动物副产物研究室, Wyndmoor, PA 19038, USA)

摘要:在研究制备转谷氨酰胺酶(mTG)改性明胶可食性薄膜工作的基础上,通过在成型工艺中进一步采用室温干燥和湿态二次定向处理的方法,获得了抗张强度达18.3 MPa,韧度达8.4 J/cm²的可食性明胶薄膜。在配料中添加质量分数2%的聚乙烯醇(PVA)并采用相同的成型工艺,所制备明胶薄膜的机械性能得到进一步提高。生物降解性实验表明,在被质量分数0.5%的Alcalase碱性蛋白酶作用4 h后,不含PVA的可食性明胶薄膜的降解率可达99.2%,含PVA明胶薄膜的降解率也达到了97.5%。

关键词:转谷氨酰胺酶;明胶薄膜;机械性能;生物降解

中图分类号:Q 555

文献标识码:A

Enhanced Films Prepared From Microbial Transglutaminase Modified Gelatin

DING Ke-yi^{1,2}

(1. College of Chemistry & Environmental Protection Engineering, Southwest University For Nationalities, Chengdu 610041, China; 2. Fats, Oils and Animal Co-products Research Unit, Eastern Regional Research Center, ARS, USDA, Wyndmoor, PA 19038, USA)

Abstract:Based on the previous work of preparation of microbial transglutaminase (mTG) modified edible gelatin films, lower drying temperature and wet orientation techniques were adopted to obtain edible gelatin films which possess better mechanical properties (tensile strength was 18.3 MPa and toughness was 8.3 J/cm²). PVA enhanced gelatin film with even better mechanical properties could be obtained when 2% poly(vinyl alcohol) was added to the blends and optimal techniques were applied. The biodegradation experiments indicated that, treated by Alcalase alkaline protease (0.5% conc., 4 h), the biodegradability of edible gelatin films (containing no PVA) were more than 99%, and the biodegradability of PVA enhanced gelatin films were more than 97%.

Key words: microbial transglutaminase; gelatin film; mechanical properties; biodegradability

在前期研究中,作者以中等品级(Bloom强度为95 g)的B型食用明胶为原料,通过微生物型的转谷氨酰胺酶(mTG)交联改性后,以丙三醇为增塑

剂,制备了抗张强度达到4.92 MPa,韧度达到6.45 J/cm²(分别为对照样强度和韧度的2.7倍和3.1倍),同时断裂伸长率、水溶性和吸水性也大大改善

收稿日期:2006-04-13.

基金项目:国家公派留学基金项目(2003851019).

作者简介:丁克毅(1966-),男,湖北仙桃人,教授,工学博士,美国农业部东部地区研究中心(ERRC, ARS, USDA)

万方数据学者及博士后,主要从事天然产物化学与蛋白质化学研究. Email: Keyi-ding@hotmail.com

的可食性明胶薄膜^[1]。但是,与合成的食品包装薄膜(如 HDPE 或 LDPE)相比,差距仍然较大(用 HDPE 制备的食品包装膜抗张强度可达到 25 MPa)。因此,进一步提高明胶薄膜的机械性能很有必要。

A. Bigi 等人^[2]在制备用化学方法改性的明胶薄膜的过程中,采用定向(Orientation)处理技术,大幅度提高了薄膜的机械性能。因为在定向过程中,胶原的分子链发生了取向排列。进一步的研究表明,如果对经过一次定向干燥的薄膜在水或其它溶剂中回湿使其膨胀后,再在受拉伸的状态下进行第二次定向干燥处理,其机械性能将有所提高。

聚乙烯醇(PVA)是为数不多的可水溶、可生物降解的合成高分子材料之一,具有良好的成膜性。PVA 薄膜的机械性能和隔绝空气的性能优良。E. Chiellini^[3]、E. R. Kenawy^[4]等人的研究表明,PVA 添加到废明胶或者二醛改性淀粉中后,可以提高环境友好复合材料(如粘接剂、薄膜等)的使用性能。

作者在以前研究制备转谷氨酰胺酶(mTG)改性明胶可食性薄膜工作的基础上,拟通过在成型工艺中进一步采用低温初步干燥和定向干燥处理的方法,获得具有更好的机械性能的可食性明胶薄膜;同时采用 PVA 改性的方法,以期使明胶薄膜的机械性能得到进一步提高(添加 PVA 后的增强型明胶薄膜不能作为可食性食品包装膜使用)。由于食品包装材料的生物降解性受到广泛关注,因此作者对所制备的明胶薄膜进行了生物降解实验。

1 材料与方法

1.1 主要仪器及试剂

机械性能测试仪:Model #1122 Instron Test Frame, MTS System 公司产品;控温水浴振荡仪:SHAK-R-BATH, LAB-LINE 公司产品;微生物型转谷氨酰胺酶(mTG):美国 Ajinomoto 有限公司(Teaneck, NJ)提供;B 型牛皮食用明胶:Bloom 强度为 95 g, Sigma 公司产品;丙三醇:食品级, Sigma 公司产品;聚乙烯醇(PVA)相对分子质量为 30 000~70 000, AP, Sigma 公司产品;Alcalase 碱性蛋白酶:Novozymes 公司提供。

1.2 实验方法

1.2.1 可食性 mTG 改性明胶薄膜的成型方法 在本实验中,如无特别说明,所采用的明胶溶液质量分数均为 10%, pH 约为 6.5。在明胶溶液中加入占溶液质量 3% 的丙三醇及 16 U/g(以干明胶计)的 mTG,搅拌均匀后取 10 g 倒进直径 100 mm 的培养

皿中,轻轻转动培养皿使溶液分布均匀,在 35 °C 下静置反应 1 h 后,于室温下初步干燥 12 h 成膜;然后在 95 °C 下放置 10 min 使酶失去活性。

1.2.2 PVA 增强型明胶薄膜的制备 将干明胶质量 2% 的 PVA 加入适量水中,加热到 90 °C 并搅拌使其溶解。待 PVA 溶液冷却到室温后,加入计量好的干明胶,使其在 PVA 溶液中溶胀 4 h,然后加热到 65 °C 并搅拌使明胶溶解,再加入干明胶质量 3.0% 的丙三醇,调整混合溶液的 pH 至 6.5,冷却至室温后加入 16 U/g(以干明胶计)的 mTG,调整明胶质量分数为 10%,搅拌均匀后取 10 g 倒进直径 100 mm 的培养皿中,轻轻转动培养皿使溶液分布均匀,在 30~31 °C 下静置反应 1 h 后,于室内(温度约 25 °C, RH 约 30%)干燥 12 h 成膜;然后在 95 °C 下放置 10 min 使酶失去活性。

1.2.3 明胶薄膜的定向处理 一次定向处理:将在室温下经过 12 h 初步干燥的明胶薄膜切成 50 mm×50 mm 的正方形,用 50 mm 的夹具夹紧,在 Model #1122 Instron Test Frame 上以 2mm/min 速率拉伸至伸长率为 100%,在此状态下继续室温干燥 48 h;二次定向处理:将经过一次定向处理的薄膜,在 25 °C 左右的水中浸泡 2~3 s 后取出,静置 30 min 后,在 Model #1122 Instron Test Frame 上以 2 mm/min 速率拉伸至伸长率为 50%,在此状态下继续室温干燥 48 h。

1.2.4 明胶薄膜的物理机械性能测试方法 待测试样在进行机械性能测试前,均在 $T = 23\text{ °C}$, RH = 50% 的恒温恒湿箱中平衡 48 h。薄膜样品的拉伸性能均按 GB/T13735—1992 测定。

1.2.5 明胶薄膜的生物降解性测试 将明胶薄膜浸泡在 0.2 mol/L 的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 缓冲溶液(pH 约为 9.0)中,分别加入溶液质量 0.5%, 0.25%, 0.125% 的 Alcalase 碱性蛋白酶,在 50 °C 的水浴中振荡反应 10 min~4 h。将反应溶液过滤,残余物干燥后称重,计算出降解率(因为经碱性蛋白酶作用后溶于水中的明胶水解产物是可以完全降解的,因此这里可以用溶解率代替降解率)。

2 结果与讨论

2.1 干燥温度的选择

按照 1.2.1 中所述的方法,分别对改性明胶薄膜(mTG 添加量为 16 U/g)和未改性明胶薄膜采用在 35 °C 下交联反应并干燥 24 h 或先在 35 °C 下交联反应 1 h 后再于室温下干燥 48 h 的方法处理。(Bloom 强度 95 g,质量分数 10% 和 3% 的丙三醇)

所得薄膜的机械性能列在表 1 中。

表 1 干燥温度对明胶薄膜机械性能的影响

Tab. 1 Effect of drying temperature on the mechanical properties of gelatin films

机械性能	未改性明胶薄膜		改性明胶薄膜	
	35 °C 下干燥	室温下干燥	35 °C 下干燥	室温下干燥
抗张强度/MPa	1.8	7.3	4.9	12.6
韧度/(J/cm ²)	2.1	5.3	6.5	11.5
最大伸长率/%	208	166	311	154
杨氏模量/MPa	4	163	7	265

表 1 的结果说明,干燥温度对明胶薄膜的机械性能影响较大。无论是对改性明胶还是对未改性的明胶,较低的干燥温度有利于薄膜机械性能的提高。在后面的试验中均采用在室温下干燥的方法。

2.2 定向处理对薄膜机械性能的影响

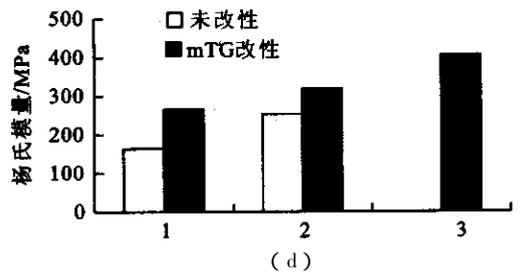
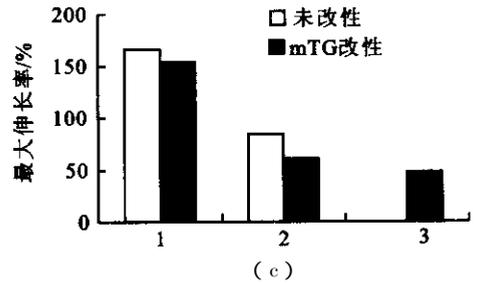
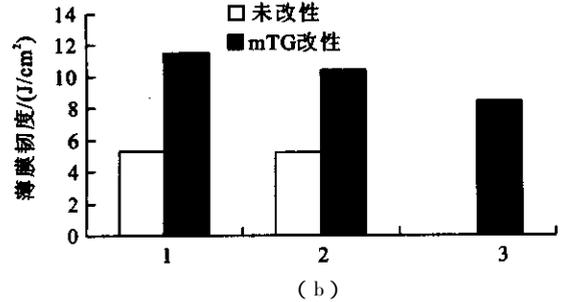
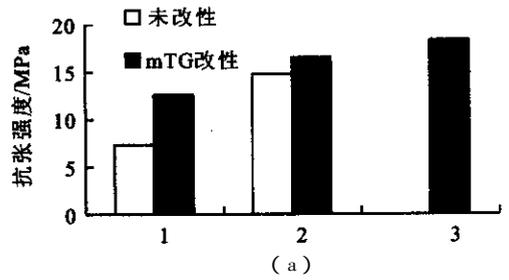
A. Bigi 等人的研究已经表明,采用定向(Orientation)处理技术,可以大幅度提高薄膜的机械性能。而在将用 1.2.1 中所述的方法获得的可食性改性明胶薄膜拉伸至 150% 然后在室温下干燥 48 h,测试结果表明其抗张强度反而从 12.6 MPa 下降至 7.2 MPa,这说明在定向处理过程中有一个最适宜的拉伸率。经过一系列试验,发现当拉伸率为 100% 左右时,定向处理后薄膜的机械性能最佳。

关于二次定向处理:作者对经过一次定向处理的明胶薄膜,在水中的浸泡时间、浸泡后的静置时间、二次定向处理时的拉伸率等因素进行了试验,发现在水中浸泡 2~3 s 后取出,静置 30 min 后,再拉伸至伸长率为 50%,在此状态下继续室温干燥 48 h,这时所得薄膜机械性能相对最好(见图 1)。Bloom 强度 95 g,质量分数 10%,3%,室温干燥。

从图 1 可以看出,对于未改性的明胶薄膜和经过 mTG 改性的可食性明胶薄膜,一次定向处理后,其抗张强度、杨氏模量都得到提高,最大伸长率下降,韧性略有下降。在二次定向处理的过程中,未经过 mTG 改性的明胶薄膜发生了断裂,故其机械性能指标未能测出;mTG 改性明胶薄膜的抗张强度、杨氏模量都继续上升,最大伸长率继续下降,薄膜的韧性虽略有下降,但对使用性能影响不大。

2.3 PVA 增强明胶薄膜的制备条件筛选

E. Chiellini、E. R. Kenawy 等人的研究表明,PVA 添加到废明胶或者戊二醛改性淀粉中后,可以



1. 未定向处理 2. 一次定向处理 3. 二次定向处理

图 1 定向处理对可食性明胶薄膜机械性能的影响

Fig. 1 Effect of orientation on the mechanical properties of edible gelatin films

提高所制得的环境友好复合材料(粘接剂、薄膜等)的使用性能。在制备可食性明胶薄膜的基础上,对 PVA 增强明胶薄膜的制备条件进行了筛选,考察了 PVA 的加入量、交联反应温度和干燥温度等因素对薄膜机械性能的影响。结果表明,PVA 的加入量以干明胶质量的 2.0% 为宜;mTG 交联反应的温度不能超过 33 °C,因为加入 2.0% 的 PVA 后,mTG 质量为 16 U/g(以干明胶计)的混合溶液在 33 °C 下反应 1 h 后,即使是在常温下干燥 48 h 的薄膜都会发生翘曲甚至开裂现象。最终得到的制备 PVA 增强明胶薄膜的最适宜工艺条件如 1.2.2 所述。表 2 是按

1.2.2 所述制备的明胶薄膜不经过定向处理和经过定向处理后的机械性能。^[3,4]

表2 PVA 增强明胶薄膜的机械性能

Tab.2 The mechanical properties of PVA enhanced gelatin films

机械性能	未定向处理	一次定向处理	二次定向处理
抗张强度/MPa	16.2	20.8	23.5
韧度/(J/cm ²)	15.3	12.1	10.8
最大伸长率/%	132	52	38
杨氏模量/MPa	212	305	344

将表2中经过二次定向处理后薄膜机械性能的数据与图1中相对应的数据进行比较,可以看出,添加了明胶质量2%的PVA后的改性明胶薄膜,杨氏模量下降了64 MPa,但其抗张强度达到23.5 MPa(提高了5.2 MPa),韧度达到10.8 J/cm²(提高了2.5 J/cm²),最大伸长率只有38%(降低了10%)。这种高机械性能的明胶薄膜完全可以替代合成包装材料。

2.4 改性明胶薄膜的生物降解性

R. D. Patil 等人的实验表明,改性明胶薄膜的生物降解性可以通过用碱性蛋白酶处理的方法来评价。A. Corti 等人的实验表明,掩埋在土壤中的PVA的生物降解率是有一定限度的,但在与明胶形成的混合物中,PVA比单独存在时更容易降解。作者采用Alcalase碱性蛋白酶按照1.2.5中所述的方法,初步用不同质量分数的酶来处理改性的或未改性的薄膜试样。结果表明,在添加明胶质量0.5%的酶作用下,未改性的明胶薄膜在10 min内几乎100%降解;当酶的质量分数较低时,所需的时间要长一些。比如在添加明胶质量0.125%的酶条件下,经过4 h只有95%的降解率。在获得初步的实验结果后,作者采用0.5%的酶,对各种明胶薄膜试样作用4 h,其降解率见表3。

参考文献(References):

- [1] 丁克毅,刘军, Brown E M, et al. 转谷氨酰胺酶(mTG)改性明胶可食性薄膜的制备[J]. 食品与生物技术学报, 2006, 25(4): 1-4.
DING Ke-yi, LIU Jun, Eleanor M. BROWN. Edible Films prepared from microbial transglutaminase modified gelatin[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2006, 25(4): 1-4. (in Chinese)
- [2] Bigi A, Borghi M, Cozzani G, et al. Structure and mechanical properties of crosslinked drawn gelatin films[J]. J Therm Anal Calorimetry, 2000, 61: 457-459.
- [3] Chiellini E, Cinelli P, Corti A, et al. Environmentally sound blends and composites based on water-soluble polymer matrices[J]. Macromol Symp, 2000, 152: 83-94.
- [4] Kenawy E R, Cinelli P, Corti A, et al. Biodegradable composite films based on waste gelatin[J]. Macromol Symp, 1999, 144: 351-364.

表3 不同明胶薄膜的生物降解性

Tab.3 The biodegradability of different gelatin films

薄膜	降解率/%
未改性	99.3
未定向处理	99.5
mTG 改性	99.3
一次定向处理	99.2
二次定向处理	97.7
未定向处理	97.7
mTG 改性 + PVA 增强	97.4
一次定向处理	97.4
二次定向处理	97.2

表3的数据说明,经过mTG改性的可食性明胶薄膜的生物降解性能略有提高,经过定向处理后的薄膜,生物降解性略有下降;PVA增强的明胶薄膜降解率略有下降,但是经过明胶质量0.5%的Alcalase碱性蛋白酶作用4 h后,降解率仍然可以达到97%以上。

3 结论

作者在研究制备转谷氨酰胺酶(mTG)改性明胶可食性薄膜工作的基础上,通过在成型工艺中进一步采用室温干燥和湿态二次定向处理等方法,获得了抗张强度达18.3 MPa,韧度达8.4 J/cm²,杨氏模量达406 MPa的可食性明胶薄膜。

在改性明胶薄膜的成型过程中,交联反应的温度及干燥温度对薄膜的机械性能影响很大,在较低的温度下交联和干燥都有利于提高产品的机械性能。

添加明胶质量2%的聚乙烯醇(PVA)所制备明胶薄膜的机械性能得到进一步提高。

定向处理对明胶薄膜的生物降解性能影响极微。在被明胶质量0.5%的Alcalase碱性蛋白酶作用4 h后,不含PVA的可食性明胶薄膜的降解率可达99.2%以上,含PVA明胶薄膜的降解率也达到了97%以上。