

纳米 TiO_2 改性蚕丝素蛋白膜的研究*

陈建勇** 冯新星 许 丹

(浙江理工大学先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室 材料与纺织学院 杭州 310018)

摘 要 用溶胶凝胶法制备纳米 TiO_2 改性再生蚕丝素蛋白膜. 该丝素膜机械强度提高, 在水中溶失率下降. UV、AFM、SEM 测试的结果表明, 丝素中纳米 TiO_2 粒径约为 80 nm, 纳米粒子在丝素膜中分布均匀; XRD、FTIR 测试结果表明, 纳米 TiO_2 的加入, 可使改性丝素膜的结晶结构从 Silk I 向 Silk II 转化, 其结晶度也随之提高; TGA 测试表明改性丝素膜的热转变温度比纯丝素膜有所改变.

关键词 蚕丝素蛋白, 纳米 TiO_2 , 晶型

丝素蛋白是一种优良天然的高分子材料. 用溶解丝素制备的丝素膜在现代科学领域中有广泛的应用, 如可制人工皮肤材料、药物控制释放载体、固定酶载体、生物传感器等^[1-5]. 但常规方法制备的再生丝素膜在水溶液中溶失率高, 膜的强度低, 这对其应用极为不利. 为此, 国内外学者针对再生丝素蛋白膜的改性做了大量的研究. 其中主要有用共混方法在丝素蛋白中加入有机材料或者无机材料以改善丝素膜的性能等^[6,7]. 而添加纳米材料是近来研究人员普遍关注的方案.

纳米 TiO_2 不仅具有纳米材料的良好性能, 而且还具有除臭、杀菌、自清洁、无毒等优良性能^[8-10], 因此, 如何利用纳米 TiO_2 的优异性能对蚕丝素蛋白进行改性是一个令人感兴趣的问题. 用纳米 TiO_2 和丝素复合制备的膜性能有很大的变化^[11], 但由于纳米 TiO_2 在丝素中分散较难, 所加入的纳米微粒有团聚现象; 为促进纳米 TiO_2 的分散而添加的分散剂对丝素的一些性能也有影响. 为此, 本文通过采用溶胶凝胶法制备纳米 TiO_2 丝素溶液, 通过控制 TiO_2 与丝素质量比和溶液的 pH 值, 对 TiO_2 粒子生长进行控制, 最后在恒温下制得纳米 TiO_2 改性丝素膜. 结果表明, 用该体系制备的纳米 TiO_2 改性丝素膜的溶失率下降、机械强度提高和热转变温度得到改变, 性能得到明显改善. 这为蚕丝素蛋白在高科技领域中应用, 以及生产高附加值的含丝素蛋白纤维制品奠定了良好的基础.

1 实验部分

1.1 主要的实验材料

无水乙醇, 无水 CaCl_2 , 冰醋酸, 氨水, 钛酸丁酯($\text{Ti}(\text{OC}_4\text{H}_9)_4$), 氢氧化钠, 均为分析纯. 二次去离子水(电导率小于 $0.8 \mu\text{S}/\text{cm}$).

1.2 纳米 TiO_2 改性蚕丝素膜的制备

取 5 g 脱胶后的丝素置于 200 mL 的 CaCl_2 : $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}:\text{H}_2\text{O} = 1:2:8$ (摩尔比)的混合溶液中, 在 75°C 水浴中溶解 2 h. 冷却后将丝素粗溶液过滤去除不溶物, 装入纤维素透析膜, 用电导率低于 $0.8 \mu\text{S}/\text{cm}$ 的去离子水透析 3 天, 透析至电导率小于 $0.8 \mu\text{S}/\text{cm}$ 时为止, 制得丝素蛋白溶液, 然后根据文献^[12]报道的方法测得丝素蛋白溶液的重均分子量约为 $2.3 \times 10^4 \sim 8.0 \times 10^4$.

量取 1 mL 钛酸丁酯至 10 mL 乙醇中, 磁力搅拌 15 min, 用乙醇定容至 25 mL 待用. 另量取 20 mL 的丝素溶液置于 50 mL 烧杯中, 用冰醋酸调节 pH 值为 7. 按 TiO_2 : 丝素 = 0.2 wt% 的比例移取定量的钛酸丁酯/乙醇溶液, 缓慢加入丝素溶液中, 超声振荡 30 min, 然后注入直径 120 mm 聚苯乙烯培养皿中, 平整去泡后, 放入恒温 30°C 干燥箱内, 制得初生丝素膜, 然后浸入 80% 乙醇溶液中 15 min 进行不溶化处理, 取出凉干得实验用改性丝素膜. 按同样的方法制得纯丝素膜和各种配比的改性丝素膜, 膜样品的厚度在 $20 \sim 40 \mu\text{m}$.

* 2005-02-23 收稿, 2005-06-03 修稿; 国家自然科学基金(基金号 20573068)和江苏省高校省级重点实验室开放基金(基金号 KJS03069)资助项目; ** 通讯联系人, E-mail: cjjy@zist.edu.cn

1.3 改性丝素膜溶失率和机械强度测试

将制备好的丝素膜试样分别称量 0.300 g,放入 105℃烘箱中烘干后称重,算出含水率,同时分别称取 0.500 g 的丝素膜试样置于 pH 值为 7 的 100 mL 去离子水与 pH 值为 9 和 11 的 100 mL 氢氧化钠溶液中,然后在 50℃恒温箱中放置 24 h 后洗净,105℃下烘干,其溶失率按下式计算:

溶失率=[(溶解前烘干膜的重量-溶解后烘干膜的重量)÷溶解前烘干膜的重量]×100%.

采用 AG-1 型日本岛津强力仪,夹具间的距离为 20 mm,拉伸速率为 100 mm/min,在 25℃下测试改性丝素膜的机械强度.

1.4 纳米 TiO₂ 改性丝素膜中纳米 TiO₂ 粒径的计算

用 Lambda900 紫外光谱仪测试改性丝素膜的紫外吸收光谱,按文献[13]方法计算出纳米 TiO₂ 的带隙,然后根据文献[14]有限质量近似模型估算纳米 TiO₂ 的粒径.

1.5 改性丝素膜的结构表征

AFM 测试,采用美国 Digital 公司的 NanoScope IIIa 原子力显微镜(AFM)用标准硅探针轻敲模式对样品成像.

SEM 测试,采用 JEOL 的 JSM-5610LV 电子扫描显微镜(SEM)观察丝素膜的表面形貌,测试电压为 5kV.

FTIR 分析,采用美国 PERKIN ELMER 公司 SPECTRUM ONE 傅立叶变换红外分析仪,KBr 压片制样.

XRD 分析,采用 ARL-X' TRA 型 X-射线衍射仪,在 CuKα 射线下,管电压 45 kV、管电流 40 mA、扫描速度为 2 (°)/min,记录范围 2θ = 10°~40°.

TGA 分析,采用美国 PE 公司 Pyris Diamond TGA 测定丝素膜样品的热失重曲线. N₂ 保护,通气速率为 20.0 mL/min,升温范围 50~700℃,升温速率为 20 K/min,样品质量约为 1 mg.

2 结果与讨论

2.1 改性丝素膜溶失率和机械强度

用本实验方法制备的纳米 TiO₂ 改性丝素膜的耐水溶性(溶失率)均有提高,结果见图 1.从图中可以看出,制备的改性丝素膜溶失率比纯丝素膜低;改性丝素膜的溶失率与纳米 TiO₂ 含量有关,溶失率较小的是 TiO₂ 与丝素重量百分比为

0.2% 和 0.4%.

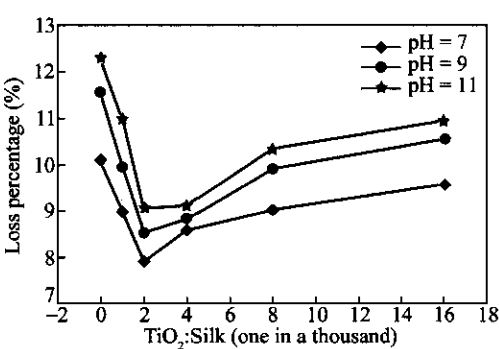


Fig. 1 The loss percentage of SF/nano-TiO₂ composite films

从改性丝素膜机械强度的测试(表 1)结果可以看出,改性丝素膜的机械强度比纯丝素膜高,说明添加纳米 TiO₂ 有利于改善丝素膜的机械强度.但随着 TiO₂ 含量的增加,膜的机械强度又会降低,但弹性模量随着纳米 TiO₂ 量的增加而增大,这可能是由于过多的纳米 TiO₂ 破坏了丝素结晶结构所致.从添加的比例来看,强度较高的是 TiO₂ 与丝素重量百分比为 0.2% 和 0.4%.

Table 1 Mechanical properties of SF/nano-TiO₂ composite films

TiO ₂ :SF (wt %)	Thickness (mm)	Width (mm)	Max load (N)	Elastic (N/mm ²)	Max stress (N/cm ²)
0	0.025	20	4.225	287.114	8.450
0.1	0.025	20	4.989	305.246	9.979
0.2	0.025	20	5.112	332.628	11.224
0.4	0.025	20	5.335	336.998	11.236
0.8	0.025	20	4.958	342.114	11.025
1.6	0.025	20	4.386	344.031	10.897

根据溶失率和机械强度的实验结果,选出较佳 TiO₂ 含量(重量百分比为 0.2% 和 0.4%)的改性丝素膜作为其聚集态结构和性能测试分析的对象.

2.2 改性丝素膜中纳米 TiO₂ 的粒径和分散状况

用 UV、AFM、SEM 对制备的改性丝素膜进行了观察、分析和表征.图 2 是不同比例的改性丝素膜的紫外吸收光谱图,从图中可以看到改性丝素膜的紫外吸收光谱发生明显的蓝移,这表明出现了纳米粒子的量子尺寸效应.同时随着 TiO₂ 含量的增加,光谱的吸收波长也增加.根据文献[13]报道的方法可以计算出图 2 中的(b)、(c)曲线的带隙约为 3.35 eV,由于在纳米粒径范围内 TiO₂ 的带隙是粒径尺寸的函数,因此可以利用有效质量近似模型(EMA)^[14]估算出图 2 纳米 TiO₂ 粒径分别约为 80 nm.

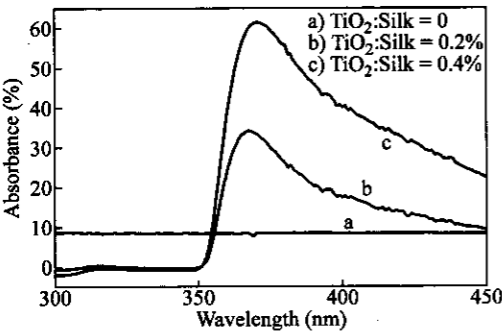


Fig. 2 UV absorption spectra of nano-TiO₂

图 3 和图 4 分别是采用 AFM 和 SEM 对改性丝素膜观察的结果, 从中也可以得出本研究制备的改性丝素膜中 TiO₂ 的粒径分布在纳米级, 符合我们的估算. 图 3 是改性丝素膜的 AFM 图, 它清楚地显示出纳米 TiO₂ 较好地分散在丝素中, 其粒径约为 80 nm. 图 4 为改性丝素膜的 SEM 图, 从图 4 的 (a) 和 (b) 可以看出, 由于加入的纳米粒子的量比较少, 所以两者看不出有太大的变化, 但随着纳米粒子加入量的增加, 复合膜的表面变得更不平整, 凹凸更明显, 图上可以看出分散有粒径在 100 nm 以下的颗粒, 粒子之间有明显的连续相, 没有出现明显的相分离现象. 这说明 TiO₂ 粒子在丝素中的生长得到了抑制, 它的尺度可以控制, 在丝素膜中能够实现稳定地分散.

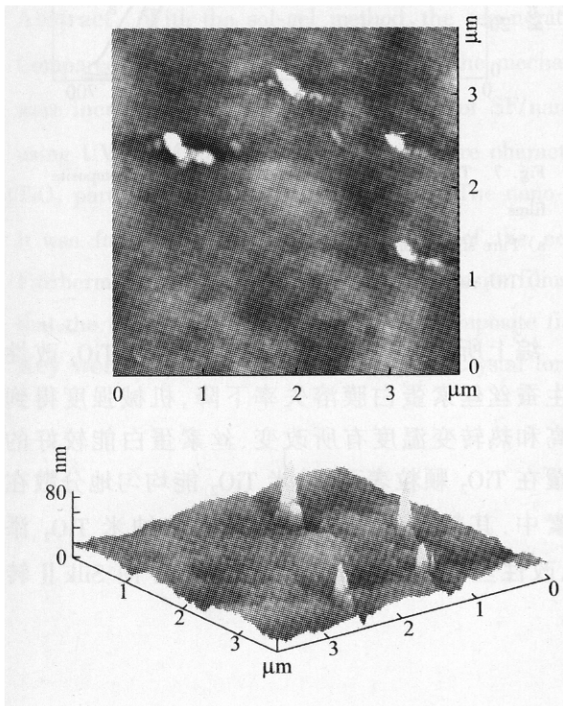


Fig. 3 AFM surface images of SF/nano-TiO₂ composite films

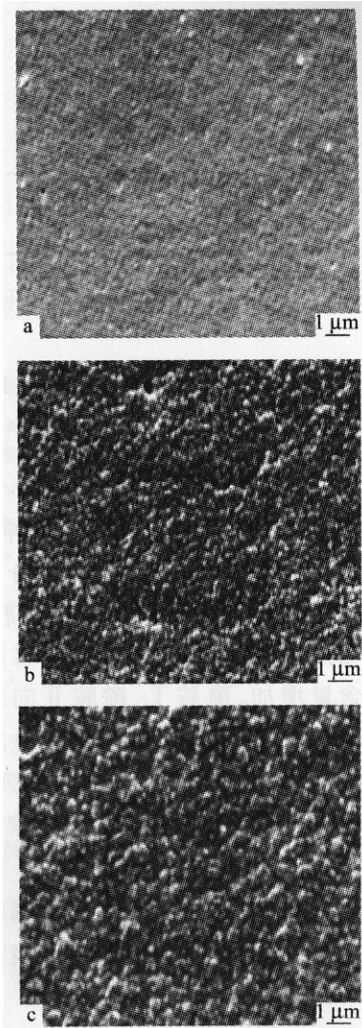


Fig. 4 SEM surface images of of SF/nano-TiO₂ composite films
a) Pure silk fibroin; b) TiO₂:silk fibroin = 0.2% ;
c) TiO₂:silk fibroin = 0.4%

2.3 改性丝素膜的聚集态结构

一般认为丝素有两种结晶结构, 即 Silk I 和 Silk II. 其中 Silk I 的主要衍射峰为 12.2°和 28.2°左右, 而 Silk II 的主要衍射峰为 18.9°和 20.7°左右^[15]. 从图 5 的 XRD 测试结果可以看出, 纯丝素膜的结晶结构主要是 Silk I, 由表 1 可知纯丝素膜的机械强度较差; 随着 TiO₂ 加入, 改性丝素在 12.2°处的峰逐渐钝化, 并在 2θ 为 18.9°处形成了新的衍射结晶峰, 且结晶度也明显提高 (见表 2). 说明 TiO₂ 的加入使丝素蛋白从结晶结构 Silk I 向 Silk II 转化, 从而提高了丝素蛋白的耐水溶性和机械强度.

图 6 是纯丝素膜与纳米 TiO₂ 改性丝素膜的 FTIR 图谱. 纯丝素膜的红外光谱在 3210、3460

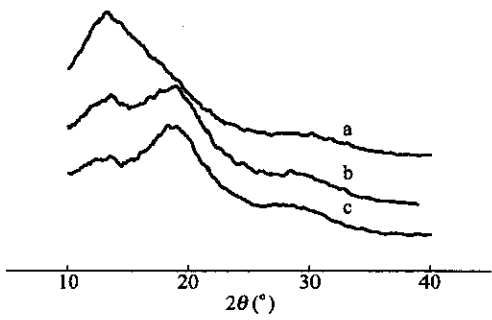


Fig. 5 XRD curves of SF/nano-TiO₂ composite films
a) Pure silk fibroin; b) TiO₂:silk fibroin = 0.2%;
c) TiO₂:silk fibroin = 0.4%

cm⁻¹ 的峰归属于 N—H 和 O—H 的伸缩振动, 1658、1542、1239、661 cm⁻¹ 处的吸收带分别归属于无规卷曲结构的丝素分子中酰胺 I、酰胺 II、酰胺 III、酰胺 V 的特征吸收峰^[16]. 改性丝素膜中随着纳米 TiO₂ 含量增加, 酰胺 I、酰胺 II 向短波方向移动 (1655 cm⁻¹、1540 cm⁻¹) 酰胺 III、酰胺 V 向长波方向移动 (1241 cm⁻¹、669 cm⁻¹), 且强度增大; 同时在 1540 cm⁻¹ 和 1410 cm⁻¹ 出现了羧酸酯的特征吸收峰, 说明 TiO₂ 可能与丝素形成了较好的键合, TiO₂ 的加入有利于丝素分子由无规线团向更规整的 Silk II-折叠构象转变, 使丝素膜的结晶度提高.

Table 2 Crystallinity of SF/nano-TiO ₂ composite films				
TiO ₂ :SF (wt%)	Crystal proportion of composites (I _c)	Amorphous proportion of composite films (I _a)	Crystallinity X _c (%)	Crystal structure
0	202	478	29.7	Silk I
0.2	290	582	33.3	Silk I and silk II
0.4	303	578	34.3	Silk I and silk II

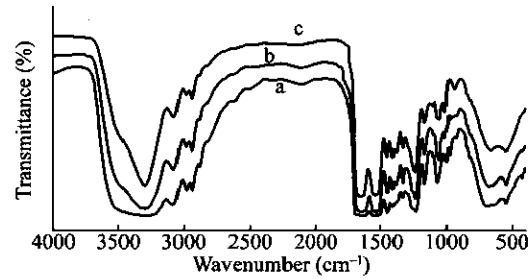


Fig. 6 FTIR spectra of SF/nano-TiO₂ composite films
a) Pure silk fibroin; b) TiO₂:silk fibroin = 0.2%;
c) TiO₂:silk fibroin = 0.4%

2.4 纳米 TiO₂ 改性丝素膜的热分解温度

丝素膜和纳米 TiO₂ 改性丝素膜的 TGA 曲线上有 2 个明显的热转变区域, 一个存在于 T₁ (300℃ 左右), 一个存在于 T₂ (600℃ 左右), 如图 7 所示. 加热到 200℃, 丝素膜失重为 6%, 可以归结为吸附水的脱附; 从 290℃ 到 500℃, 丝素膜失重为 53%, 主要是丝素分子间侧链受到破坏引起的^[17]; 从 500℃ 到 650℃, 主要是丝素蛋白主链结构的破坏所致^[18]. 加入纳米 TiO₂ 后, 在 200℃, 改性膜失重为 5%, 可以归结为吸附水的脱附; 从 290℃ 到 550℃, 改性膜失重 60%, 主要归因于丝素蛋白分子间侧链受到破坏; 从 550℃ 到 620℃, 改性膜失重约 25%, 主要归因于丝素蛋白主链结构的破坏; 超过 620℃ 后, 改性膜热分解约为 5% 以下, 主要对应于纳米 TiO₂ 的含量. 从图 7 中还可以看出, 改性膜的热转变温度 T₁ 和 T₂ 均有所改变. 其主要原因是加入纳米 TiO₂ 使丝素的结晶结构发生了改变所致, 但纳米 TiO₂ 的加入量对热转变温度影响的规律还需要进一步实验验证.

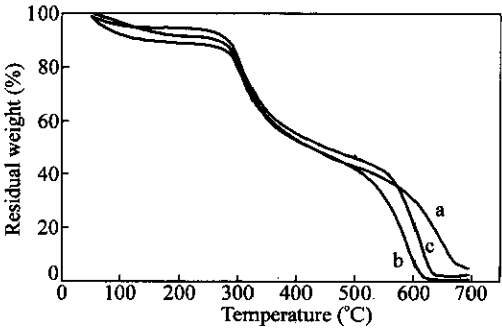


Fig. 7 Thermogravimetric curves of SF/nano-TiO₂ composite films
a) Pure silk fibroin; b) TiO₂:silk fibroin = 0.2%;
c) TiO₂:silk fibroin = 0.4%

综上所述, 溶胶凝胶法制备的纳米 TiO₂ 改性再生蚕丝蛋白膜溶失率下降, 机械强度得到提高和热转变温度有所改变. 丝素蛋白能较好的包覆在 TiO₂ 颗粒表面, 纳米 TiO₂ 能均匀地分散在丝素中. 其粒径约为 80 nm, 且随着纳米 TiO₂ 添加, 改性丝素膜的结晶结构由 Silk I 向 Silk II 转化.

REFERENCES

- 1 Demura M, Asakura T. *J Membrane Sci*, 1991, 59: 39 ~ 51
- 2 Yoshimizu H, Asakura T. *J Appl Poly Sci*, 1990, 40: 127 ~ 134
- 3 Qian J H, Liu Y C, Liu H Y, Yu T Y, Deng J Q. *Anal Biochem*, 1996, 236: 208 ~ 214
- 4 Sofia S, McCarthy M B, Gronowicz G, Kaplan D L. *J Biomed Mater Res*, 2001, 54: 139 ~ 148
- 5 Wang L, Nemoto R, Senna M. *J Nanopart Res*, 2000, 4: 535 ~ 540
- 6 Yang G, Zhang L, Liu Y G. *J Membr Sci*, 2000, 177(2): 153 ~ 161
- 7 Tsukada M, Freddi G, Crighton J S. *J of Polymer Sci, Part B: Polymer Physics*, 1994, 32: 243 ~ 248
- 8 Tsujino M, Isobe T, Senna M. *J Sol-gel Sci Techn*, 2000, 19: 785 ~ 789
- 9 Qu Jifang(曲济方), Zhang Shengwan(张生万), Song Jinhu(宋晋虎), Huang Wei(黄魏). *Acta Polimerica Sinica(高分子学报)*, 2001, (5): 656 ~ 659
- 10 Yu Jiaguo(余家国), Zhao Xiujian(赵修建). *Journal of Inorganic Materials(无机材料学报)*, 2000, 15(2): 347 ~ 355
- 11 Xia Youyi(夏友谊), Chen Jianyong(陈建勇). *Acta Sericologica Sinica(蚕业科学)*, 2003, 29(1): 102 ~ 105
- 12 Zhang Longxiang(张龙翔), Zhang Tingfang(张庭芳), Zhang Lingyuan(张令媛). *The Technologies and Ways of The Biochemical Experiment(生化实验方法与技术)*. Beijing(北京): High Education Press(高等教育出版社), 1997. 100 ~ 105
- 13 Vofel W, Urban J, Kundu M. *Langmuir*, 1997, 13: 827 ~ 832
- 14 Steiberwald M, Brus L E. *Acc Chem Res*, 1990, 23: 183 ~ 188
- 15 Miniura N, Aiba S, Higuchi M. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 208: 511 ~ 516
- 16 Wang S, Wang Q H, Ying X L. *Chinese J Polym Sci*, 2003, 21(1): 87 ~ 91
- 17 Kaplan D L, Fossey S, Mello C M. *Mats Res Soc Bull*, 1992, 10: 41 ~ 47
- 18 Asakura T. *Bio Industry*, 1987, 4: 878 ~ 886

STUDIES ON NANO- TiO_2 MODIFIED SILK FIBROIN COMPOSITE FILMS

CHEN Jianyong, FENG Xinxing, XU Dan

(The Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018)

Abstract With the sol-gel method, the regenerated SF (silk fibroin)/nano- TiO_2 composite films were prepared. Compared to the pure silk fibroin films, the mechanical strength of these regenerated SF/nano- TiO_2 composite films were increased and the loss percentage of SF/nano- TiO_2 composite films in aqueous solution were decreased. By using UV, AFM and SEM, these films were characterized. The experimental results reveal that the diameter of nano- TiO_2 particles in films was about 80 nm. The nano- TiO_2 particles were well dispersed in the regenerated silk fibroin. It was found that the crystal structure of the composite films changed from typical Silk I to typical Silk II. Furthermore, the crystallinity of the composite films was obviously improved. Through the TGA, it was demonstrated that the heat transition temperature of composite films was also changed.

Key words Silk fibroin, Nano- TiO_2 , Crystal form