

doi:10.3969/j.issn.1001-3539.2016.11.005

酵母菌发泡 PVAL/CMC 多孔复合材料的制备^{*}张敏^{1,2}, 杨鱼¹, 李成涛², 李八军¹, 刘智勇¹

(1. 陕西科技大学教育部轻工助剂化学与技术重点实验室, 西安 710021; 2. 陕西科技大学环境科学与工程学院, 西安 710021)

摘要: 采用微生物发泡法, 将酵母菌作为微生物发泡剂, 结合循环冷冻-解冻法制备聚乙烯醇(PVAL)/羧甲基纤维素(CMC)多孔复合材料。通过单因素试验探讨了酵母菌与葡萄糖比例(Y/G)、发泡时间、发泡温度和 CMC 与 PVAL 比例(CMC/PVAL)对发泡效果的影响, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验进一步优化了发泡条件, 通过傅立叶变换红外光谱和扫描电子显微镜(SEM)表征了 PVAL/CMC 多孔复合材料的结构。结果表明, 当 Y/G 比例为 2.8/1、发泡温度为 31℃、发泡时间为 60 min、CMC/PVAL 比例为 0.7/1 时, PVAL/CMC 多孔复合材料发泡效果最佳, 其中 CMC/PVAL 比例为主要影响因素, 此外, Y/G 比例对发泡效果的影响也较为显著。SEM 照片显示, 以酵母菌为发泡剂制备的 PVAL/CMC 多孔复合材料具有较高的孔隙率, 大孔平均孔径在 180 μm 左右, 小孔平均孔径在 15 μm 左右, 呈现大孔套小孔的开孔结构。

关键词: 聚乙烯醇; 羧甲基纤维素; 酵母菌; 微生物发泡; 多孔复合材料

中图分类号: TQ325.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3539(2016)11-0022-05

Preparation of PVAL/CMC Porous Composites by Microbial Foaming Method

Zhang Min^{1,2}, Yang Yu¹, Li Chengtao², Li Bajun¹, Liu Zhiyong¹

(1. Key Laboratory of Auxiliary Chemistry & Technology for Chemical Industry, Ministry of Education, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Shaanxi University of Science & Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: The polyvinyl alcohol(PVAL)/carboxymethylcellulose(CMC) porous composites were prepared by microbial foaming and cyclic freezing-thawing method. The yeast was mixed into PVAL/CMC composites as microbial foaming agent. The effects of Y/G proportion, foaming time, foaming temperature, and CMC/PVAL proportion on porous composites were discussed by single factor experiments. $L_9(3^4)$ orthogonal test was adopted to optimize the foaming condition. The structures of PVAL/CMC porous composites were characterized by FTIR and SEM. The results show that when the foaming time is 60 min at 31℃, the proportion of CMC/PVAL is 0.7/1, the proportion of Y/G is 2.8/1, the foaming effect is best. The proportion of CMC/PVAL ratio is the most significant factor on the foaming behavior. In addition, the effect of Y/G ratio is also significant. SEM photographs show that the PVAL/CMC porous composites have high porosity, presenting open pore structures which large cells are sleeved by small cells. The average diameter of large cell and small cell is about 180 μm and 15 μm respectively.

Keywords: polyvinyl alcohol; carboxymethylcellulose; yeast; microbial foaming; porous composite

多孔材料是一种新型结构材料,在废水处理、食品、医药等领域均有一定的应用^[1-3]。传统多孔吸附材料的发泡方法主要有超临界 CO₂ 物理发泡法、化学发泡剂发泡等方法^[4-6]。然而,采用超临界 CO₂ 物理发泡法需要特殊设备、操作复杂,而化学发泡方法合成多孔材料过程存在化学药品污染,限制了其在食品、医疗等领域的广泛应用。微生物发泡法^[7]是一种利用微生物新陈代谢产生 CO₂ 等气体致孔的发泡方法,其原料来源广泛,产气量大,反应能耗低,反应条件及设备简单,且通过引入微生物增加了材料的吸附性^[8-10]。

聚乙烯醇(PVAL)是一种分子链上含有大量羟

基的吸水溶胀型高分子聚合物,易形成凝胶,具有无毒、可溶于水的特点^[11],其水溶液具有一定的黏度,可为微生物发泡提供良好的基体。羧甲基纤维素(CMC)是天然纤维素的衍生物,具有良好的保水性,将 CMC 与 PVAL 共混改性既能保证 PVAL 的特有性能^[12-13],又能综合两者的性能,在生物医药和食品领域具有广泛应用前景。前人已对 PVAL 的发泡进行了研究,如赵娜等^[14]以超临界 CO₂ 为

^{*} 高等学校博士学科点专项科研基金项目(20126125110001)

联系人: 张敏,博士,教授,博士生导师,主要研究方向为可生物降解高分子材料的合成与降解机理

收稿日期: 2016-08-17

物理发泡剂,制备了 PVAL/微纤化纤维素复合材料,采用间歇式降压法制备了高发泡密度多孔材料;C. Cristina^[15]等采用气体及微流体发泡法,以戊二醛为交联剂制备得到了多孔 PVAL 材料。然而,这些发泡方法对设备要求特殊,能耗高,制备过程中仍然存在有毒化学药品污染的问题。采用微生物发泡法对 PVAL/CMC 复合材料进行发泡,具有环保低毒的优势,但国内外相关研究相对较少。

笔者选用微生物发泡的方法,将绿色环保的酵母菌作为微生物发泡剂引入到 PVAL/CMC 复合材料中,借鉴食品发酵原理^[16-17],利用酵母菌发酵产生的 CO₂ 作为致孔剂,通过循环冷冻-解冻物理交联法,避免化学交联法交联剂对材料的污染,制备安全环保型高分子多孔复合材料,扩展 PVAL/CMC 复合材料在生物和食品领域的应用范围。

1 实验部分

1.1 主要原材料

PVAL, CMC: 分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

高活性干酵母:安琪酵母股份有限公司;

葡萄糖、无水乙醇:分析纯,天津市天力化学试剂有限公司。

1.2 仪器和设备

扫描电子显微镜 (SEM): Q45 型,美国 FEI 公司;

傅立叶变换红外光谱 (FTIR) 仪: VECTOR-22 型,德国 Bruker 公司;

冷冻干燥机: LGJ-10 型,北京松源华兴科技发展有限公司;

超纯水仪: MAXIMA HPLC 型,英国 Elga 公司;

低温冰箱: BCD-181 型,合肥荣事达电冰箱有限公司;

恒温水浴振荡器: SHZ-C 型,上海浦东物理光学仪器厂。

1.3 试样制备

(1) 多孔复合材料的制备。

先将 10% 的 PVAL 溶液与一定质量的 CMC 共混得到发泡基体溶液,然后将添加一定质量葡萄糖的酵母菌水溶液加入至发泡基体溶液中共混,搅拌均匀,置于恒温水浴中发泡一定时间后立即放入低温冰箱快速定型,之后经冷冻-解冻循环 5 次后用超纯水清洗,得到酵母菌发酵 PVAL/CMC 多孔复合材料,冷冻干燥并保存。

(2) 发泡条件的选择。

单因素试验:按照上述方法设计发泡实验,考察各种因素对 PVAL/CMC 多孔复合材料发泡效果的影响。其中,设置酵母菌与葡萄糖的质量比 (Y/G) 分别为 2.0/1, 2.4/1, 2.8/1, 3.2/1, 3.6/1; CMC 与 PVAL 的质量比 (CMC/PVAL) 分别为 0, 0.2/1, 0.4/1, 0.6/1, 0.8/1; 发泡温度分别为 28, 30, 32, 34, 36 °C; 发泡时间分别为 30, 60, 90, 120, 150 min。

正交试验:根据单因素试验结果确定的最佳条件分别设置三个水平,设计 L₉(3⁴) 正交试验,进一步优化发泡条件。

1.4 结构表征和性能测试

采用 FTIR 仪测试 PVAL 粉末、干酵母粉末、CMC 粉末、PVAL/CMC 多孔复合材料,扫描范围 500~4000 cm⁻¹,扫描次数 32 次。

采用 SEM 观察样品多孔结构,液氮淬断,喷金处理,厚度为 10 nm,测试电压为 25 kV。

以多孔复合材料的孔隙率为考察指标,研究了酵母菌发泡的最优条件。采用溶剂置换法^[18]测定样品的孔隙率,以无水乙醇为介质,多孔复合材料经冷冻干燥后,称其干重为 W_d;精确测量样品的直径和高度,计算其体积为 V;样品经无水乙醇完全浸泡后,用润湿滤纸拭去多孔复合材料表面的乙醇,测其湿重为 W_w;无水乙醇的密度为 ρ,根据式 (1) 计算多孔复合材料的孔隙率 (P_r)。

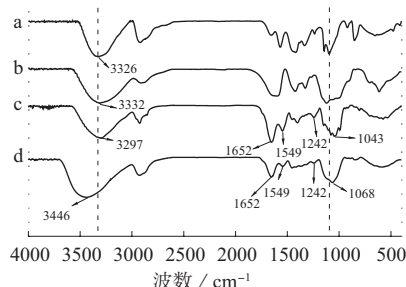
$$P_r = \frac{W_w - W_d}{\rho V} \times 100\% \quad (1)$$

2 结果与讨论

2.1 PVAL/CMC 多孔复合材料的 FTIR 分析

图 1 是 PVAL/CMC 多孔复合材料及其原料的 FTIR 谱图。由图 1 可知, PVAL/CMC 多孔复合材料和 PVAL 的谱图基本一致,说明 CMC 与 PVAL 基体没有发生化学反应。3 326, 3 332, 3 297, 3 446 cm⁻¹ 处分别为 PVAL, CMC, 酵母菌, PVAL/CMC 多孔复合材料的羟基伸缩振动吸收峰。与三种原料相比, PVAL/CMC 多孔复合材料的吸收峰向左移动,这是由于 CMC 与 PVAL 基体之间形成分子间的氢键导致。1 652, 1 549, 1 242 cm⁻¹ 处分别为酵母菌的酰胺 I 带、酰胺 II 带、酰胺 III 带的特征吸收峰,在 PVAL/CMC 多孔复合材料中出现同样的特征吸收峰,说明该多孔复合材料中存在酵母菌。1 043 cm⁻¹ 处为酵母菌糖类 C—OH 的伸缩振动吸

收峰, PVAL/CMC 多孔复合材料中该峰向左移动至 1068 cm^{-1} 处,说明酵母菌与 PVAL/CMC 多孔复合材料基体之间存在一定的相互作用力。

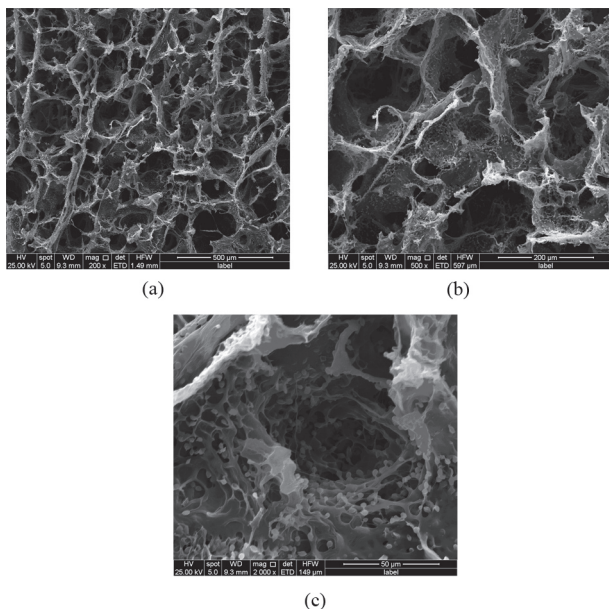


a—PVAL; b—CMC; c—酵母菌; d—PVAL/CMC 多孔复合材料

图1 PVAL/CMC 多孔复合材料及其原料的 FTIR 谱图

2.2 PVAL/CMC 多孔复合材料的微观形貌

通过 SEM 观察制备条件为 Y/G 比例 2.8/1、发泡温度 31°C 、时间 60 min、CMC/PVAL 比例 0.7/1 时 PVAL/CMC 多孔复合材料微观形貌,如图 2 所示。从图 2a 可以看出, PVAL/CMC 多孔复合材料孔隙率较高,呈开放的孔结构。从图 2b 可以看出,在开放的大孔周围有一定数量的小孔存在,大孔平均孔径为 $180\text{ }\mu\text{m}$ 左右。从图 2c 可以看出,小孔孔壁周围有大量酵母菌存在,这与红外表征结果相一致,且小孔平均孔径为 $15\text{ }\mu\text{m}$ 左右。因此,采用酵母菌发酵法制备的 PVAL/CMC 多孔复合材料不仅具有大孔套小孔的开孔结构,而且大量酵母菌均匀镶嵌在 PVAL/CMC 多孔复合材料孔壁上。与传统多孔材料相比,该多孔复合材料具有了独特的性



a—放大 200 倍; b—放大 500 倍; c—放大 2000 倍

图2 PVAL/CMC 多孔复合材料的 SEM 照片

能,增加了多孔材料的功能性,且绿色环保、无毒害,使得其在生物医药和食品等领域具有潜在的应用价值。

2.3 不同因素对发泡效果的影响。

(1) 酵母菌与葡萄糖比例。

研究中以葡萄糖为酵母菌的碳源,利用其新陈代谢产生的 CO_2 为致孔剂。因此, Y/G 比例对 PVAL/CMC 多孔复合材料的发泡效果有很大影响,结果见图 3。由图 3 可知,当 Y/G 比例从 2.0/1 变化至 2.8/1 时, PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率逐渐增大;当 Y/G 比例为 2.8/1 时, PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率基本保持恒定,其孔隙率为 84.6%。这是由于当葡萄糖含量充足时,随着酵母菌添加量的增加,其呼吸产生的气体量逐渐增加,导致孔隙率增大。当继续添加酵母菌时,葡萄糖含量不足,酵母菌的新陈代谢受到限制,其产气量不再增加。因此,孔隙率保持恒定。

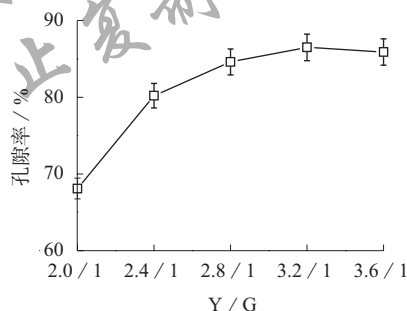


图3 不同 Y/G 比例时 PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率

(2) 发泡温度。

温度是影响酵母菌酶活性的重要因素之一,图 4 示出不同发泡温度时 PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率。由图 4 可知,在 $28\sim 32^{\circ}\text{C}$ 之间,温度升高, PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率增大,孔隙率最大为 84.3%。当温度达到 32°C 之后,其孔隙率呈下降趋势。从酶动力学来看,在一定的温度范围内,当温度升高,反应速率增大,使酵母菌体内的新陈代

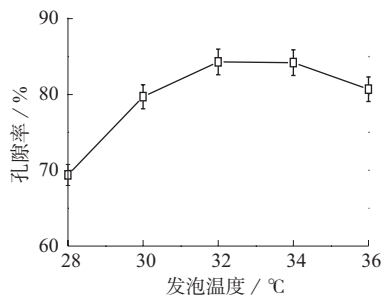


图4 不同发泡温度时 PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率

谢加快,产气量增加,孔隙率增大;当温度超过酶的最适范围,酶的活性受到抑制,酵母菌体内的新陈代谢减慢,产气量减少,孔隙率降低。

(3) 发泡时间。

图 5 为不同发泡时间下 PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率。由图 5 可知,随着时间的增加,孔隙率逐渐增大,60 min 后孔隙率基本保持不变,孔隙率最大为 83.9%。这是由于酵母菌生长经历调整期、对数期、稳定期和衰亡期四个阶段。在 60 min 之前,酵母菌处于前两个阶段,酵母菌活化且大量生长繁殖,之后进入稳定期,产生大量 CO_2 , PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率增大;在 60 min 之后,体系中葡萄糖基本耗尽,酵母菌生长进入衰亡期,孔隙率不再增加。

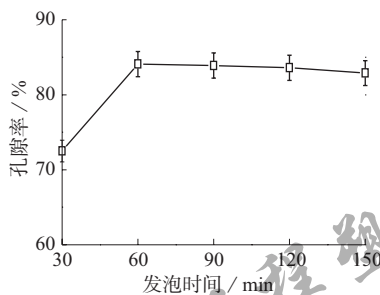


图 5 不同发泡时间下 PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率

(4) CMC 与 PVAL 比例。

图 6 为不同 CMC 与 PVAL 比例时 PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率。由图 6 可知,随着 CMC 的加入, PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率增大,当 CMC/PVAL 比例为 0.6/1 时,孔隙率最大,其值为 84.1%;之后随着 CMC 的增加,孔隙率略有降低。这是由于 CMC 是一种增稠剂, CMC 的加入,导致体系黏度增加,体系保存气体的能力增强,孔隙率增大;当 CMC 加入量过多时, CMC 与 PVAL 易出现相界面,相容性变差。因此, PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率降低。

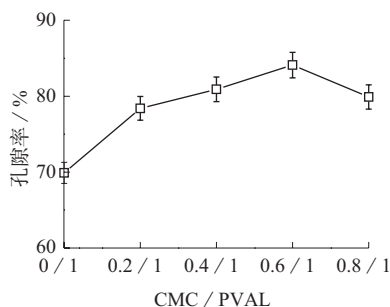


图 6 不同 CMC/PVAL 比例时 PVAL/CMC 多孔复合材料的孔隙率

2.4 正交试验条件优化

根据单因素试验结果, Y/G 比例 (A) 为 2.8/1, 发泡温度 (B) 为 32℃, 发泡时间 (C) 为 60 min, CMC/PVAL 比例 (D) 为 0.6/1 时发泡效果最佳。对这四种因素的最佳条件分别设置三个水平, 设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 考察对孔隙率的影响, 水平设置见表 1, 试验结果见表 2。由表 2 可知, PVAL/CMC 多孔复合材料发泡条件的最优组合是 A2B1C2D3, 即 Y/G 比例为 2.8/1、发泡温度为 31℃、发泡时间为 60 min、CMC/PVAL 比例为 0.7/1, 此时样品孔隙率最高, 为 91.2%。根据极差分析结果, CMC/PVAL 比例对发泡效果的影响最为显著, 其次为 Y/G 比例。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验的因素水平设置

水平	A	B/℃	C/min	D
1	2.6/1	31	40	0.5/1
2	2.8/1	32	60	0.6/1
3	3.0/1	33	80	0.7/1

表 2 正交试验结果

试验号	A	B/℃	C/min	D	孔隙率/%
1	2.6/1	31	40	0.5/1	80.4
2	2.6/1	32	60	0.6/1	83.3
3	2.6/1	33	80	0.7/1	85.0
4	2.8/1	31	60	0.7/1	91.2
5	2.8/1	32	80	0.5/1	82.5
6	2.8/1	33	40	0.6/1	86.8
7	3.0/1	31	80	0.6/1	86.0
8	3.0/1	32	40	0.7/1	88.5
9	3.0/1	33	60	0.5/1	84.7
均值 1	82.9	85.8	85.2	82.5	
均值 2	86.8	84.8	86.4	85.4	
均值 3	86.4	85.5	84.5	88.2	
极差	3.9	1.0	1.9	5.7	

3 结论

(1) 利用酵母菌发酵产生的 CO_2 作为致孔剂, PVAL 为发泡基体, 以 CMC 作为增稠剂, 采用循环冷冻-解冻的方式成功制备了 PVAL/CMC 多孔复合材料。

(2) PVAL/CMC 多孔复合材料呈现大孔套小孔的开孔结构, 大孔平均孔径为 180 μm 左右, 小孔平均孔径为 15 μm 左右, 孔隙率范围在 68.1%~91.2%。

(3) 通过单因素试验以及正交试验得到了最佳发泡条件: Y/G 比例为 2.8/1、发泡温度为 31℃、发泡时间为 60 min、CMC/PVAL 比例为 0.7/1, 其中, CMC/PVAL 比例对发泡效果影响最显著, Y/G 比例对发泡效果也较明显。

参考文献

- [1] Esquerdo V M, Cadaval T R S, Dotto G L, et al. Chitosan scaffold as an alternative adsorbent for the removal of hazardous food dyes from aqueous solutions[J]. *Journal of Colloid & Interface Science*, 2014, 424:7–15.
- [2] Cardoso N F, Lima E C, Royer B, et al. Comparison of spirulina platensis microalgae and commercial activated carbon as adsorbents for the removal of reactive red 120 dye from aqueous effluents[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2012, 241(1):146–153.
- [3] Haldorai Y, Shim J J. An efficient removal of methyl orange dye from aqueous solution by adsorption onto chitosan / MgO composite: A novel reusable adsorbent[J]. *Applied Surface Science*, 2014, 292(4):447–453.
- [4] 李静莉, 罗世凯, 沙艳松, 等. 超临界流体微孔发泡塑料的研究进展[J]. *工程塑料应用*, 2012, 40(3):109–113.
- Li Jingli, Luo Shikai, Sha Yansong, et al. Research process of microcellular foams prepared by supercritical fluid technique[J]. *Engineering Plastics Application*, 2012, 40(3):109–113.
- [5] Ayoub A, Venditti R A, Pawlak J J, et al. Novel hemicellulose-chitosan biosorbent for water desalination and heavy metal removal[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2013(9):1 102–1 109.
- [6] Tokarev I, Gopishetty V, Minko S. Highly porous 3D fibrous nanostructured biopolymer films with stimuli-responsive porosity via phase separation in polymer blend[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2015, 7(23):12 463–12 469.
- [7] Uhlířová T, Gregorová E, Pabst W, et al. Preparation of cellular alumina ceramics via biological foaming with yeast and its microstructural characterization via stereological relations[J]. *Journal of the European Ceramic Society*, 2015, 35(1):187–196.
- [8] Sathvika T, Manasi, Rajesh V, et al. Microwave assisted immobilization of yeast in cellulose biopolymer as a green adsorbent for the sequestration of chromium[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 279:38–46.
- [9] Xia Yunxue, Meng Lingyin, Jiang Youjun, et al. Facile preparation of MnO₂ functionalized baker's yeast composites and their adsorption mechanism for cadmium[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 259:927–935.
- [10] Peter K, Argyrios M, Maurice B. Effects of surface treatment and process parameters on immobilization of recombinant yeast cells by adsorption to fibrous matrices[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(4):3 662–3 672.
- [11] Zhang Yanyan, Gao Baojiao, Xu Zeqing. Adsorption properties of polyvinyl-alcohol-grafted particles toward genistein driven by hydrogen-bond interaction[J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2013, 117(18):5 730–5 736.
- [12] Alireza J, Zheng Qifeng, Payen F, et al. Polyvinyl alcohol-cellulose nanofibrils-graphene oxide hybrid organic aerogels[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5(13):5 969–5 975.
- [13] Peresin M S, Habibi Y, Zoppe J O, et al. Nanofiber composites of polyvinyl alcohol and cellulose nanocrystals: Manufacture and characterization[J]. *Biomacromolecules*, 2010, 11(3):674–681.
- [14] 赵娜, 李倩, Park C B. 聚乙烯醇 / 微纤化纤维素复合微发泡材料的制备[J]. *化工学报*, 2015, 66(2):806–813.
- Zhao Na, Li Qian, Park C B. Foaming of poly(vinyl alcohol) / microfibrillated cellulose composites[J]. *CIESC Journal*, 2015, 66(2):806–813.
- [15] Cristina C, Marco C, Andrea B, et al. Morphological comparison of PVA scaffolds obtained by gas foaming and microfluidic foaming techniques[J]. *Langmuir*, 2012, 29(1):82–91.
- [16] Bourdichon F, Casaregola S, Farrokh C, et al. Food fermentations: Microorganisms with technological beneficial use[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2012, 154(3):87–97.
- [17] Smid E J, Lacroix C. Microbe-microbe interactions in mixed culture food fermentations[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2012, 24(2):148–154.
- [18] Yin Lichen, Fei Likun, Cui Fuying, et al. Superporous hydrogels containing poly(acrylic acid-co-acrylamide) / O-carboxymethyl chitosan interpenetrating polymer networks[J]. *Biomaterials*, 2007, 28(6):1 258–1 266.

韩国 2017 年 7 月开始禁止化妆品中使用塑料微珠

韩国食药处发布了“化妆品安全标准规定”部分修订案行政预告。从 2017 年 7 月份开始韩国将全面禁止化妆品中使用塑料微珠。并且从 2018 年 7 月份开始还将禁止销售含有塑料微珠的化妆品。

塑料微珠是指任何小于 5 mm 的固体塑料颗粒,其已被普遍用于牙膏、洗面奶、沐浴啫喱等洗护产品中,能够起到去角质、去死皮的作用。塑料微珠的主要成分包括聚乙烯、氧

化聚乙烯等,在含颗粒洗面奶、去角质霜等产品中不难发现这些成分的存在。

由于微珠能够带来一定的环境问题,还会破坏海洋生态环境,如果被鱼类等水中野生生物食用,还会导致动物们的健康问题。因此提前准备好了预防这些潜在影响的措施。

韩国目前在药膏等医药外用品种中已经禁止使用微珠,美国则计划从 2018 年起,禁止生产含有微珠的产品。

(中塑在线)