

细菌纤维素改性研究进展

朱清梅,冯玉红,林 强,尹学琼

(海南大学材料与化工学院热带生物资源教育部重点实验室,海南海口 570228)

摘要:作为一种新兴的生物材料,细菌纤维素(BC)具有广阔的应用前景,通过对其改性制备多功能材料以拓展其应用领域是目前的研究热点之一。介绍了近年来 BC 生物改性和化学改性方面研究的进展,即在合成过程中添加物质对产物进行结构性能调控,以及得到 BC 后对其进行化学处理。进一步展望了该领域的发展潜力和前景。

关键词:细菌纤维素;生物合成;改性;化学改性

中图分类号:TQ920.1

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2009)08-0034-04

Advances in modification of bacterial cellulose

ZHU Qing-mei, FENG Yu-hong, LIN Qiang, YIN Xue-qiong

(Key Lab of Tropic Biological Resource of Chinese Education Ministry, College of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Bacterial cellulose(BC) has a wide range of application potentials as a new biomaterial, its research hotpiont is to be put on the modification so as to make up many kinds of multifunctional materials for expanding its application fields. The advances in biosynthesis and chemical modification of BC are reviewed, which is reflected on the two aspects including adding reagents into the culture medium to adjust the structure of the products, and the chemically treatment of obtained BC. The promising future of the new modification methods and new BC materials is also proposed.

Key words: bacterial cellulose; biosynthesis; modification; chemical modification

纤维素是地球上最丰富的天然生物高聚物。除了植物纤维素,以木醋杆菌(*Acetobacter Xylinum*, Ax)为代表的某些微生物也可合成纤维素,此类纤维素通称为细菌纤维素(BC)。其化学结构与植物纤维素相似,均是由 D-吡喃葡萄糖单体以 β -1,4 糖苷键连接而成的线性多糖,也称为 β -1,4 葡聚糖。但 BC 具有超细微三维网状结构,其纯度高,结晶度高,持水性能好,抗张强度高,可生物降解,生物相容性好,生物合成时可调控,这些独特优良特性使其在食品工业、生物医学、造纸、声学器材和石油开采等方面得到了广泛应用^[1-2],其开发和研究引起了世界很多国家的重视。随着对 BC 材料的深入研究,发现其存在因结晶度高而难溶解、难加工,且官能团单一导致的其他功能不足等弱点,限制了其进一步应用。因此通过对 BC 进行改性以改善 BC 的溶解性能,增加其他功能性官能团,制备所需结构性能的 BC 基材料是 BC 的重要发展方向。目前,与植物纤维素改性相比,对 BC 的改性研究还处于起步阶段,主要改性途径有 2 种:一是在 BC 生物合成过程即

Ax 发酵过程中外加物质对其结构和性能进行调控,因该过程在 BC 生物合成过程中完成,常称为生物改性;二是在分离得到纯 BC 后对其进行改性或表面修饰,即化学改性。本文主要从这 2 个方面综合评述其研究进展。

1 生物改性

自 1886 年 BC 被发现以来,其相关研究已有百余年的历史。20 世纪 70 年代,Haigler 等^[3]和 Zaar 等^[4]对 Ax 合成纤维素的机理提出假设,即在静态培养方式下,BC 形成过程分 4 个阶段:首先由细菌细胞两侧纵向排列的孔道中分泌出由胞内合成的葡萄糖直链聚合成的最小构成单元亚纤维;亚纤维间以氢键连接形成微纤维;平行的微纤维素之间再相互缠结组成束状纤维再扁化为纤维丝带;最后由大量相互交织的纤维丝带组成三维多孔的网状结构,在培养液的表面形成一层透明的凝胶状薄膜。由于 BC 膜是分层逐渐形成的,所以任一阶段受到影响都可能导致其结构和性能的改变:如果添加试剂参与

收稿日期:2009-05-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50763002,50863002);海南省自然科学基金项目(80605,20803);海南大学科研项目(hd09xm29,hd09xm72,hd09xm30)

作者简介:朱清梅(1985-),女,硕士生;冯玉红(1969-),女,博士,副教授,硕士生导师,主要从事生物材料和天然产物的研究,通讯联系人,0898-66275138,ljcfyh@263.net。

到第1阶段,作为碳源进入BC生物合成的代谢途径,则可产生纤维素共聚物^[5-8],即化学结构改性;如果试剂只影响其第2、3阶段,则是通过氢键连接而粘附在BC表面形成纤维素复合物而改变其物理、机械性能^[3,9-14];而添加一些不溶性颗粒等物质是影响BC形成的第4阶段,使微粒分散在纤维素网状结构中而得到性能增强的共混复合材料^[15-17]。

1.1 细菌纤维素共聚物

细菌合成BC过程中,如果添加的含其他官能团的某些分子进入细菌细胞内并作为碳源进入其代谢途径,则可合成含其他官能团的BC分子,从而改变BC的化学结构而产生纤维素共聚物。

日本学者在BC合成及改性方面做了大量的研究。Shirai等^[5]在Schramm-Hestrin(SH)培养基中加入N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc),得到含有约4%(摩尔分数)GlcNAc残基的杂多糖,还发现加入氨基盐或磷酸化甲壳素(P-chitin)能显著提高GlcNAc残基的嫁接量。为了探究其合成机理,他们在改进后的SH培养基中加入P-chitin(取代度为0.71)和D-葡萄糖^[6],发现部分P-chitin在发酵过程中降解成6-磷酸-N-乙酰葡萄糖胺(GlcNAc-6-P),而且添加游离的GlcNAc-6-P能显著提高残基嫁接量,由此提出假设:加入培养基的P-chitin部分降解为单体GlcNAc-6-P后直接作为碳源进入代谢途径嫁接入纤维素链。

除了对含GlcNAc残基的BC进行研究外,Sakairi等^[7]还发现,在Ax发酵制备BC培养基中加入羧甲基纤维素(CMC)或羧甲基甲壳素,可制得一定取代度的羧甲基细菌纤维素,制备产物与BC相比具有较好的离子交换能力,特别对铅和铀酰离子有特殊的吸附能力。研究发现,CMC是降解为低聚体后作为碳源的,且CMC的降解状况是影响羧甲基细菌纤维素合成速率的因素之一,同时证实了碳环上C-2对其合成的贡献。Chen等^[8]也报道了在培养基中加入CMC,得到的羧甲基细菌纤维素对铜离子和铅离子有更好的吸附能力,有望作为废水处理材料。

1.2 细菌纤维素堆积结构和物理性能的调控

研究证明,在培养基中添加一些特殊小分子能改变BC的堆积结构和性能,如添加荧光增白剂^[3]可阻止纤维素微纤维的聚集产生1.5 nm宽弯曲的亚原纤维,改变BC形成过程的第2阶段。因为荧光增白剂与 β -1,4葡萄糖链易产生氢键作用,阻止

葡聚糖形成微纤维。Yamanaka等^[9]在培养基中加入萘啶酸和氯霉素后获得的产物具有更高的杨氏模量,添加物同时可以延长细菌的生存时间,发酵形成更宽的纤维素丝带;而加入二硫苏糖醇则导致产生的纤维素丝带仅有正常丝带宽度的45%,但其杨氏模量并没有因此而降低。Keshk^[10]报道添加的木素磺化盐因抑制了BC合成过程中副产物葡萄糖酸的产生,使BC产量提高,而且能提高BC的聚合度,导致其杨氏模量和黏度提高。

引入其他高分子如多糖或其衍生物来改变BC的物理机械性能也是目前研究较多的。由于添加在培养基中的高分子能够通过氢键结合的形式粘附在纤维素表面,从而导致产物的结晶度、网状结构、杨氏模量、纤维素 I_q 含量等性能得到改变。Phisalaphong等^[11]报道了低分子质量壳聚糖对BC结构和性能的影响,证实了壳聚糖与BC的分子间反应,产物的机械性能和持水率分别提高了1.4~1.6倍和1.3~1.4倍,且其具有更致密的纤维网状结构、更小的孔径和更大的表面积。这种复合材料在处理烧伤、褥疮、难以愈合的伤口以及需要频繁更换敷料的伤口等具有很好的应用价值。Luo等^[12]在含有胶原蛋白(COL)的培养基中制得的COL/BC复合材料,渗透性得到提高,有望作为组织工程支架材料。Yamamoto等^[13]研究了改变BC中纤维素 I_q/I_p 的比率的原因,认为较稳定的纤维素 I_p 是在体系压力较小时产生的,而纤维素 I_q 是在有剪应力情况下形成的。Tokoh等^[14]报道了木聚糖之所以减小纤维素的 I_q/I_p 比率,是因为多糖粘附在微纤维上阻碍其聚合成带状纤维时诱导了一个较小压力的环境引起的,进一步论证了Yamamoto的结论。

1.3 细菌纤维素与微粒共混

添加可溶性物质制备BC改性材料的同时,在BC合成过程中还可添加不溶性的微粒物质,如纳米颗粒,使其在合成过程中分散在纤维素的网状结构中,得到机械性能更好的纤维素纳米共混材料。

Serafica等^[15]在BC薄膜形成过程中加入不同种类的、粒径一般在几十微米到几百微米的颗粒,制备成不同的复合材料,如用碳酸钙和滑石粉制备的材料干燥后其强度增加了1~2倍,并且具有更好的柔软性和良好的反应灵敏性;而氧化铁粒子制备的复合纤维素在处理之后表现出了磁性。他们^[16]还利用特制生物反应器,在合成体系中加入纸纤维微颗粒,在BC凝胶形成的过程中将纸纤维微粒加入其网络间隙中,制得了更高强度和韧性的BC纸材。

Yan 等^[17]在培养基里加入多壁碳纳米管,制得的复合材料实现了 BC 和多壁碳纳米管的理化性质兼容。

通过在微生物发酵过程中添加物质得到改性 BC 材料或纳米 BC 共混材料,不需消耗大量有毒溶剂,适宜于生物材料领域内相关产物的开发。但目前生物改性 BC 还在实验室研究阶段,且多数研究侧重于改变 BC 的物理、机械性能,而使其他功能性官能团合成入 BC 长链中以改变其化学结构的研究报道还很少,且各种添加物质的合成机理不尽相同,至今尚未完全阐明。

2 化学改性研究

BC 生物改性虽然是一种绿色可持续的方法,但仍然存在一定的局限性,如微生物发酵环境要求严格、培养周期长等问题。相比于生物改性,BC 的化学改性合成衍生物目标明确,反应时间短,也是很有开发潜力的 BC 改性途径。目前,国内外对普通植物纤维衍生物的合成研究已很深入,BC 与普通植物纤维素具有非常相似的化学组成和结构,因此也能像植物纤维素一样进行羧甲基化、乙酰化、酯化、磷酸化,苯甲酸酯化以及多种接枝共聚反应和交联反应^[18-25],且主要集中在表面改性和非均相反应研究 2 个方面。

2.1 表面改性

通过表面改性,向 BC 膜表面引入新官能团,可改善 BC 膜的表面性能,如亲水亲油性、纤维束大小、比表面积、化学反应性或光学性能,而且,表面改性还能保持 BC 原有的聚集态结构和物理机械性能。Kim 等^[18]通过乙酰化对 BC 进行表面修饰,获得取代度在 0.04~2.77 的产物,低取代度乙酰化产物保持着细菌纤维素的微纤维网状结构。而 Ifuku 等^[19]将 BC 乙酰化后,再与丙烯酸树脂形成纳米复合材料,则增强了光学透明度,其光学透明度取决于复合物乙酰化取代度。

2.2 非均相改性

由于 BC 的微纤丝极细、表面积大、化学衍生活性高,化学反应的可及度和反应性均强于普通植物纤维,在纤维素化学改性制备衍生物的过程中,反应完成速度快、耗时少,而且细菌纤维素在化学改性后,其衍生物仍有优良的物理、机械性能。Geyer 等^[20]对 BC 与植物纤维素进行了羧甲基化、硅烷化和乙酰化改性,发现与植物纤维素相比,BC 产物的单取代和二取代糖元含量更高,三取代和未取代糖元很少,表明取代基在羧甲基细菌纤维素高分子链

上分布更均一。笔者所在课题组^[21]用高碘酸钠对其进行非均相改性,制得的二醛纤维素的取代度能达到 12%,很大程度降低了其结晶度。Wang 等^[22]以苯甲酰氯和 BC 为原料,制得了具有一定取代度的细菌纤维素苯甲酸酯,产物在 281.7~356.3℃ 可以形成近晶型液晶相,这种 BC 衍生物在传感器、高端压电材料和光学材料等领域有着应用潜力。BC 衍生物的结构如图 1 所示。

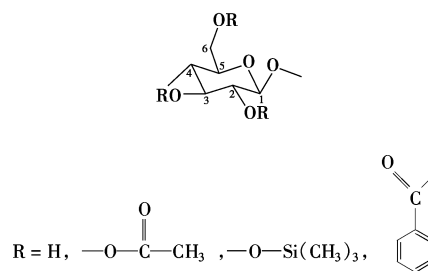


图 1 BC 衍生物的结构^[20,22]

提高 BC 材料的吸附和渗透性能也是 BC 化学改性的目的之一。在改性过程中,通过选择改性单体、改变化学处理方法或调控膜的形态结构,可以进一步提高产物的选择吸附和渗透性。Choi 等^[23]研究了 BC 作为具有环境相容性的离子交换膜的可行性,BC 用丙烯酸进行改性后制备出了非常致密的离子交换膜,检测结果表明丙烯酸密集地结合在膜上,改性后的 BC 由于具有高的结晶度而具有优异的机械性能。在 Oshima 等^[24]的研究中,BC 被磷酸化来研究产物对过渡金属离子和稀土离子的吸附效果(见图 2),相同条件下,BC 的磷酸化程度比植物纤维素高,且磷酸化过程中,BC 的超细网状结构未被破坏,且磷酸化 BC 有更好的吸附效果。

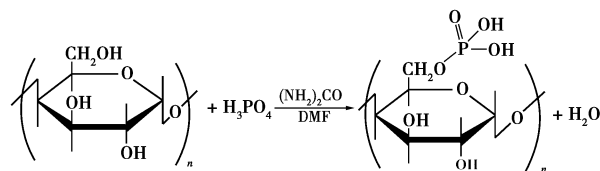


图 2 磷酸化细菌纤维素的反应路线^[24]

2.3 均相反应研究

BC 虽具有与普通植物纤维素不同的高级结构,但由于其溶解性较差,不容易达到均相反应的条件,目前仅有几篇相关报道。如 Kerstin 等^[25]在离子液体 1-N-丁基-3-甲基咪唑氯化物中对 BC 进行了改性,均相制备了细菌纤维素乙酸酯和异氰酸苯酯,产物取代度高,几乎所有羟基均可被取代,羟基反应活性为:O-6 > O-3 > O-2。

3 展望

随着人们对环境友好材料和多功能材料的需求,研究和开发改性 BC 是必然趋势。改性 BC 材料在医疗卫生材料、药物缓释材料和组织工程材料等生物材料、环保处理材料、光学材料等领域都有很好的应用前景。目前,我国在 BC 改性方面的研究开发还处于起步阶段。对于 BC 的生物改性应对其加以深入研究,利用分子标记等方法,进一步明确其合成及其结构性能调控机理,并依此机理通过调控制备出新的多功能复合物,进一步促进 BC 的研究和应用;而化学改性方面,可以扩大其研究范围,以期制备预期性能的纤维素衍生物并实现其商业化应用。

参考文献

- [1] 郝常明,罗炜.细菌纤维素:一种新兴的生物材料[J].纤维素科学与技术,2002,10(2):56-61.
- [2] Czaja W K, Young D J, Brown R M Jr, *et al.* The future prospects of microbial cellulose in biomedical applications[J]. Biomacromolecules, 2007, 8(1):1-12.
- [3] Haigler C H, Brown R M Jr, Benziman M, *et al.* Calcofluor white alters the in vivo assembly of cellulose microfibrils[J]. Science, 1980, 210: 903-906.
- [4] Zaar K. Visualization of pores (export sites) correlated with cellulose production in the envelope of the Gram-negative bacterium *Acetobacter xylinum*[J]. Cell Biol, 1979, 80:773-777.
- [5] Shirai A, Takahashi M, Tokura S, *et al.* Biosynthesis of a novel polysaccharide by *Acetobacter xylinum*[J]. Int J Biol Macromol, 1994, 16(6): 297-300.
- [6] Shirai A, Sakairi N, Nishi N, *et al.* Preparation of a novel (1-4)- β -D-glycan by acetobacter xylinum: A proposed mechanism for incorporation of a N-acetylglucosamine residue into bacterial cellulose[J]. Carbohydr Polym, 1997, 32:223-227.
- [7] Sakairi N, Suzuki S, Tokura S, *et al.* Biosynthesis of heteropolysaccharides by *Acetobacter xylinum*-synthesis and characterization of metal ion adsorptive properties of partially carboxymethylated cellulose[J]. Carbohydr Polym, 1998, 37(4):409-414.
- [8] Chen S Y, Zuo Y, Wang H P, *et al.* Carboxymethylated-bacterial cellulose for copper and lead ion removal[J]. Hazardous Materials, 2008, 161(2/3):1355-1359.
- [9] Yamanaka S, Ishihara M, Sugiyama J. Structural modification of bacterial cellulose[J]. Cellulose, 2000, 7(3):213-225.
- [10] Keshk S, Sameshima K. Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2006, 40:4-8.
- [11] Phisalaphong M, Jatupaiboon N. Biosynthesis and characterization of bacteriace llulose-chitosan[J]. Carbohydr Polym, 2008, 74:482-488.
- [12] Luo H L, Xiong G Y, Wan Y Z, *et al.* Preparation and characterization of a novel COL/BC composite for potential tissue engineering scaffolds [J]. Materials Chemistry and Physics, 2008, 110:193-196.
- [13] Yamamoto H, Horii F, Hirai A, *et al.* In situ crystallization of bacterial cellulose: II. Influences of different polymeric additives on the formation of cellulose Ia and Ib at the early stage of incubation[J]. Cellulose, 1996, 3:229-242.
- [14] Tokoh C, Takabe K, Fujita M, *et al.* Cellulose synthesized by acetobacter xylinum in the presence of plant cell wall polysaccharides[J]. Cellulose, 2002, 9(1):65-74.
- [15] Serafica G, Mormino R, Bungay H, *et al.* Inclusion of solid particles in bacterial cellulose[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 58:756-760.
- [16] Mormino R, Bungay H. Composites of bacterial cellulose and paper made with a rotating disk bioreactor[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2003, 62(5):503-513.
- [17] Yan Z Y, Chen S Y, Wang H P, *et al.* Cellulose synthesized by Acetobacter xylinum in the presence of multi-walled carbon nanotubes[J]. Carbohydrate Research, 2008, 343(1):73-80.
- [18] Kim D Y, Nishiyama Y, Kuga S, *et al.* Surface acetylation of bacterial cellulose[J]. Cellulose, 2002, 9(3):361-367.
- [19] Ifuku S, Nogi M, Abe K, *et al.* Surface modification of bacterial cellulose nanofibers for property enhancement of optically transparent composites: Dependence on acetyl-group DS[J]. Biomacromolecules, 2007, 8:1973-1978.
- [20] Geyer U, Heinze T, Stein A, *et al.* Formation, derivatization and applications of bacterial cellulose[J]. Int J Biol Macromol, 1994, 16(6):343-347.
- [21] Feng Y H, Li J C, Lin Q, *et al.* Crystallinity and thermal decomposition of dialdehyde celluloses from bacterial cellulose[C]//Bioceramics 19. Switzerland: Trans Tech Publications, 2007, 330/331/332: 1289-1292.
- [22] Wang Y, Luo Q P, Pei C H, *et al.* A novel thermotropic liquid crystalline-benzoylated bacterial cellulose[J]. Carbohydr Polym, 2008, 74: 875-879.
- [23] Choi Y J, Ahn Y, Kang M S, *et al.* Preparation and characterization of acrylic acid-treated bacterial cellulose cation-exchange membrane[J]. Chem Techn Biotech, 2004, 79:79-84.
- [24] Oshima T, Kondo K, Baba Y, *et al.* Preparation of phosphorylated bacterial cellulose as an adsorbent for metal ions[J]. Reactive & Functional Polymers, 2008, 68:376-383.
- [25] Kerstin S, Schmauder H P, Dorn S, *et al.* Efficient homogeneous chemical modification of bacterial cellulose in the ionic liquid 1-N-butyl-3-methylimidazolium chloride[J]. Macromol Rapid Commun, 2006, 27: 1670-1676. ■