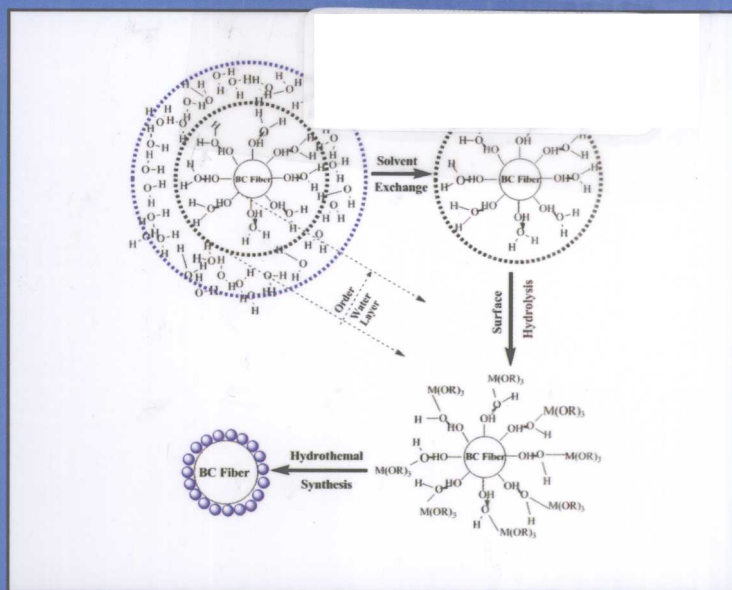


细菌纤维素功能材料 及其工业应用

孙东平 杨加志 编著



科学出版社

细菌纤维素功能材料 及其工业应用

孙东平 杨加志 编著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书对细菌纤维素羟基与小分子以及与纳米粒子间的相互作用原理及最新的发展动向和成果做了较为详细的归纳总结, 主要包括细菌纤维素的制备以及杂化细菌纤维素纳米纤维、功能性细菌纤维素膜、硝化细菌纤维素等细菌纤维素功能材料的相关研究成果。

本书适合生物工程、天然高分子化学、材料化学和物理、界面化学及生物材料等相关领域的科研人员和研究生阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

细菌纤维素功能材料及其工业应用/孙东平, 杨加志编著. —北京: 科学出版社, 2010

ISBN 978-7-03-026850-1

I. ①细… II. ①孙…②杨… III. ①细菌-纤维素-功能材料
IV. ①TB34

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 031712 号

责任编辑: 杨 震 刘 冉/责任校对: 张 琪

责任印制: 钱玉芬/封面设计: 陈 敬

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京佳信达欣艺术印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010 年 7 月第 一 版 开本: B5(720×1000)

2010 年 7 月第一次印刷 印张: 14 1/4

印数: 1—2 000 字数: 280 000

定价: 50.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

生命科学和材料科学相互交叉衍生出生物功能材料。其中，细菌纤维素功能材料是当今生物技术和材料科学发展的前沿之一。

20 世纪 90 年代开始，我们一直从事细菌纤维素高产菌种的筛选和诱变，细菌纤维素发酵及其在燃料电池、一维纳米杂化材料等方面的研究工作。我们紧跟国际上的发展动态和研究前沿，在细菌纤维素功能化及其应用方面积累了一些经验和体会。

目前，尚无有关细菌纤维素功能材料的专著出版，但细菌纤维素功能化研究日显重要，受到各国科学家的高度关注。为此，我们经过长期的酝酿、思考，编著了本书，意在为读者提供细菌纤维素功能材料及其应用领域内第一个较为系统全面的专题研究框架。以此为出发点，本书共包括 7 章，分别介绍细菌纤维素研究的不同方向。特别是在功能材料章节（第 4 章和第 5 章），对专题研究意义做全面介绍的同时，也对该专题的最主要技术进行细致的探讨，并讨论其在商业方面的应用前景及实验方面亟待解决的难题。

本书涉及生物化学、分子和细胞生物学、电化学、物理学、材料学以及界面化学等相关学科，希望能帮助读者在细菌纤维素功能材料的研究上形成一个全方位的感知。本书注重生物技术和纳米科学的高水平交叉，二者的交叉形成了本书的主体骨架。

本书的完成得到许多同行的帮助，特别感谢南京大学黄以能和南京理工大学陆路德两位教授在其研究领域对本书提出了重要建议。本书的撰写工作还得到于俊伟、周伶俐、李骏三位博士生和徐小凤、周浩、李亚伟、朱春林、殷智超、马波等硕士生的支持，在此一并感谢。全书引用了大量国内外的研究成果，鉴于全书统筹安排的需要，有些数据在进行了重新整理后加以引述，在此也向所有相关作者表示谢意！

由于本书涉及相当大的学科跨度，加之作者经验不足和水平有限，书中难免存在一些错漏，恳请读者予以指正。

孙东平 杨加志

2009 年秋于南京

目 录

前言

第 1 章 概述	1
参考文献	4
第 2 章 细菌纤维素的制备	7
2.1 菌种	7
2.1.1 细菌纤维素产生菌的种类及特点	7
2.1.2 国内产细菌纤维素菌株的分离和改良	8
2.1.3 国外产细菌纤维素菌株的分离和改良	9
2.1.4 传统驯化法选育	10
2.1.5 基因工程法改良	11
2.2 培养基成分	12
2.3 发酵条件	14
2.3.1 O_2 分压和 CO_2 分压	14
2.3.2 pH 和溶氧	15
2.3.3 温度	15
2.4 发酵方式	16
2.4.1 静置培养和摇瓶振荡培养	16
2.4.2 新型发酵工艺及生物反应器	17
2.4.3 发酵操作方式	21
2.5 提取和纯化	22
2.6 发酵动力学	23
2.6.1 发酵生产细菌纤维素的动力学模型	23
2.6.2 溶氧的发酵动力学影响模型	27
参考文献	28
第 3 章 细菌纤维素/水分子作用域	35
3.1 引言	35

3.2	细菌纤维素与水分子相互作用的微观表征	36
3.3	研究细菌纤维素与水分子作用的意义	41
	参考文献	43
第4章	杂化细菌纤维素纳米纤维	45
4.1	引言	45
4.2	亲水性 Pd-Cu/BC 化学脱氮催化剂	45
4.2.1	研究意义	45
4.2.2	Pd-Cu/BC 的制备	46
4.2.3	Pd-Cu/BC 的微观表征	46
4.2.4	Pd-Cu/BC 的性能测试	49
4.2.5	常见一维载体负载 Pd-Cu 的催化性能对比	50
4.2.6	Pd-Cu/BC 的脱氮机制	53
4.3	燃料电池用高催化活性 Pt/BC	53
4.3.1	研究意义	53
4.3.2	Pt/BC 的制备	55
4.3.3	Pt/BC 的结构表征	56
4.3.4	Pt/BC 的电化学活性测试	58
4.3.5	燃料电池的组装及性能测试	61
4.3.6	细菌纤维素与壳聚糖燃料电池的性能对比	65
4.4	TiO ₂ 杂化纳米纤维	65
4.4.1	研究意义	65
4.4.2	人造纤维基杂化 TiO ₂ 纳米纤维	66
4.4.3	天然纤维基无机杂化纳米纤维	68
4.5	CdS/BC 杂化纳米纤维	79
4.5.1	研究意义	79
4.5.2	CdS/BC 的制备	79
4.5.3	CdS/BC 的表征	80
4.6	一维杂化材料展望	85
	参考文献	85
第5章	功能性细菌纤维素膜	93
5.1	引言	93
5.2	抗菌性纳米 Ag/BC	93

5.2.1	研究意义	93
5.2.2	纳米 Ag/BC 的制备	94
5.2.3	纳米银颗粒大小的影响因素	94
5.2.4	纳米 Ag/BC 的表征	97
5.2.5	纳米 Ag/BC 的抗菌性能	98
5.2.6	纳米 Ag/BC 的持液性能	100
5.2.7	小结	101
5.3	纳米 Pd/BC 膜	101
5.3.1	研究意义	101
5.3.2	Pd/BC 复合膜的制备	102
5.3.3	Pd/BC 复合膜的微观表征	102
5.3.4	小结	104
5.4	CNT/BC 导电复合膜	104
5.4.1	研究意义	104
5.4.2	CNT/BC 的制备	105
5.4.3	CNT/BC 的制备机制	107
5.4.4	小结	108
5.5	ITO/BC 透明导电膜	108
5.5.1	研究意义	108
5.5.2	实验设备	109
5.5.3	ITO/BC 的制备	110
5.5.4	ITO/BC 膜的微观表征	111
5.5.5	器件组装	118
5.5.6	展望	119
5.6	细菌纤维素音响膜	120
5.6.1	细菌纤维素作为声学材料的意义	120
5.6.2	细菌纤维素膜结构对其杨氏模量的影响	121
5.6.3	细菌纤维素培养方式及后处理对其杨氏模量的影响	121
5.6.4	展望	124
5.7	细菌纤维素渗透汽化膜	124
	参考文献	130

第 6 章 硝化细菌纤维素	136
6.1 引言	136
6.2 细菌纤维素与植物纤维素的比较	136
6.3 硝化方法介绍	137
6.3.1 硝酸硝化	137
6.3.2 硝硫混酸硝化	138
6.3.3 无机盐存在下的硝酸硝化	138
6.3.4 其他硝化方式	138
6.3.5 硝化细菌纤维素的合成	139
6.3.6 硝化细菌纤维素的性能测试	142
6.4 硝化纤维素的应用	145
6.4.1 硝化纤维素在发射药上的应用	146
6.4.2 硝化纤维素的其他用途	146
6.4.3 硝化细菌纤维素与硝化棉的对比	147
6.5 小结	147
参考文献	148
第 7 章 细菌纤维素在其他方面的应用	150
7.1 引言	150
7.2 吸附剂	150
7.2.1 吸附能力	151
7.2.2 细菌纤维素黄原酸酯	152
7.2.3 细菌纤维素硫酸酯	158
7.2.4 2-羟基-3-磺酸基丙基细菌纤维素醚	160
7.2.5 乙二醇螯合细菌纤维素	161
7.2.6 多乙烯多胺型细菌纤维素	166
7.2.7 改性细菌纤维素分类	168
7.2.8 小结	170
7.3 增强材料	171
7.3.1 造纸	171
7.3.2 小结	182
7.4 可降解塑料	184
7.4.1 淀粉可降解塑料	184

7.4.2 聚乳酸可降解塑料	186
7.4.3 小结	189
7.5 膳食纤维	189
7.5.1 细菌纤维素持水量与膨胀性的测定	191
7.5.2 细菌纤维素对毒素的吸附实验	192
7.5.3 膳食纤维在食品工业中的应用	195
7.5.4 小结	196
7.6 纤维素纺丝	196
7.6.1 溶剂体系介绍	196
7.6.2 纤维素纺丝	199
7.7 纤维素液晶材料	200
7.8 细菌纤维素在生物学方面的应用	201
7.8.1 医学敷料	201
7.8.2 人造血管	205
7.8.3 人造骨骼	206
7.8.4 固定化技术	207
参考文献	210

第 1 章 概 述

随着全球化石能源日益紧缺，人类对可再生资源的关注程度越来越高。纤维素作为地球上最丰富的天然高聚物，其开发应用已成为当今研究热点之一。目前，人们可通过四种途径获得纤维素^[1]。其中两种是天然合成，即绿色植物的光合作用合成和微生物合成；另外两种是人工合成，即在生物体外由纤维二糖的氟化物经酶催化合成或由新戊酰衍生物开环聚合生成葡萄糖后再化学合成纤维素，如图 1-1 所示。由于人工合成的纤维素聚合度较低，难以达到自然界中高结晶度和高规则的形态结构，同时在合成的过程中需要消耗大量的化学原料，因此目前工业应用中的纤维素多来自于天然合成。由绿色植物光合作用合成的纤维素（植物纤维素，plant cellulose, PC）伴有木质素和半纤维素杂质，因而在工业应用前，需对其进行繁杂的预处理；而对于由微生物（细菌）合成的纤维素，则无须如此。并且一些细菌，如木醋杆菌，有较强的合成纤维素的能力，具有大规模生产的潜力。人们为了区别于其他途径获得的纤维素，称这种由微生物在不同条件下合成的纤维素为微生物纤维素（microbial cellulose）或细菌纤维素（bacterial cellulose, BC）。

与植物纤维素不同，细菌纤维素并不是细菌细胞壁的结构成分，而是细菌分泌到细胞外的产物，它呈独立的丝状纤维形态，是由单纯的葡萄糖缩聚而成的纤维素，其纤维素含量极高，且不掺杂木质素、半纤维素等其他多糖类杂质^[2]。另外，两者的微纤维也不同，其纤维模式^[3]如图 1-2 所示，细菌纤维素最先由葡萄糖苷链形成亚纤维，其宽度接近 1.5 nm，然后再由氢键连接形成原纤维^[4]，原纤维聚集成微纤丝束（bundle），再形成带状（ribbon）结构。Zaar^[5]报道这些丝带宽度约为 70~80 nm，各种纤维直径的比较见图 1-3，细菌纤维素的直径不到超细合成纤维直径的 1/10，为棉纤维和木纤维的 1/1000~

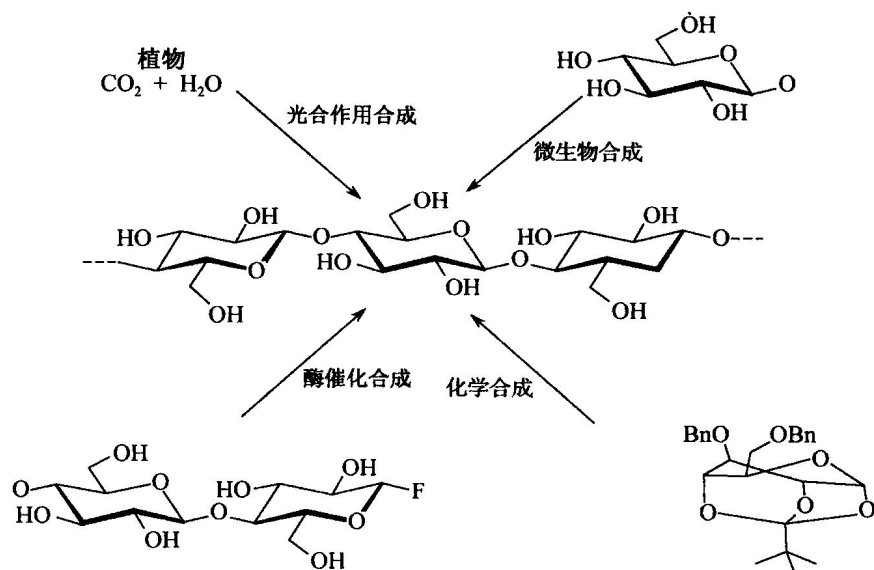


图 1-1 纤维素的合成途径

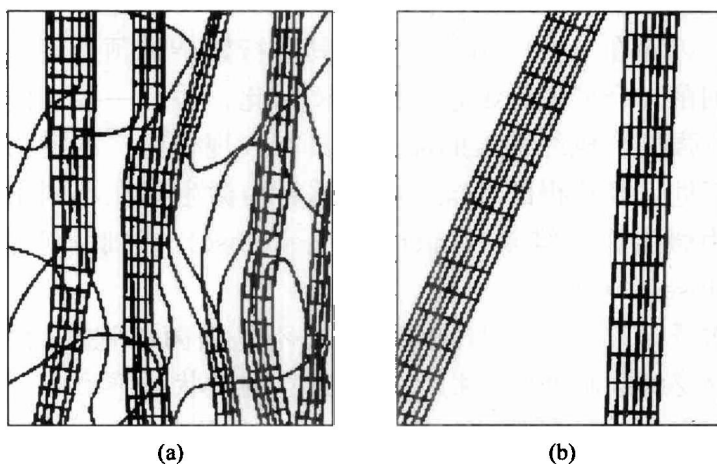


图 1-2 植物纤维素 (a) 和细菌纤维素 (b) 微纤维的模式图

$1/100^{[6]}$, 是已知纤维中最细的。再者, 细菌纤维素的合成速率极高, 每个木醋杆菌每小时可聚合 1.5×10^8 个葡萄糖分子, 若将木醋杆菌在表面积为 667 m^2 的浅盘中培养, 每年至少可产 10 t 纤维素, 这是绿色植物光合作用合成纤维素所无法比拟的。此外, 细菌纤维素还具有

其他优势,例如,对培养条件或者对微生物的代谢途径进行调控,可设计出特定形态结构的细菌纤维素,获得不同用途的细菌纤维素基体材料^[7,8]。

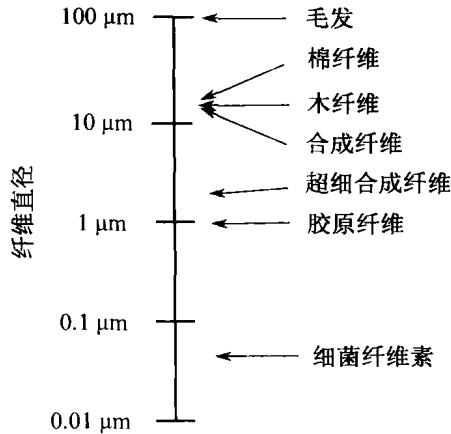


图 1-3 各种纤维直径对照

事实上,人们早在古代就发现含有细菌纤维素的物质,如古代科技文献《齐民要术》中就有在食醋酿制过程中发酵液表面生成凝胶状菌膜的记载。而最早知晓菌膜的化学本质是纤维素的是英国的 Brown。他于 1886 年在乙酸发酵过程中观察到类似凝胶的膜状物,并确定其化学本质为纤维素,并把产生此种漂浮的细菌纤维素膜的微生物命名为木醋杆菌 (*Acetobacter xylinum*)^[9]。之后,众多学者对产细菌纤维素的微生物进行了研究,有关产细菌纤维素的微生物的归类将在第 2 章做详细表述。在 Brown 认知细菌纤维素化学本质后的一百多年里,研究细菌纤维素的热度一直没有减退过,相继经历了几个研究阶段,下面就细菌纤维素的研究历程做一简短的介绍。

20 世纪 60 年代前,科研工作者的研究主要集中于细菌纤维素在生物体系中的形成机制。研究者大多以木醋杆菌为出发菌株,研究培养条件、纤维素生产过程中的酶系和中间产物以及酶促底物对纤维素产量的影响^[10-13],取得了一系列成果,如优化出木醋杆菌的较为适应的基础培养基 (S-H 培养基),利用椰子汁和菠萝汁等营养液直接获取细菌纤维素,开展了细菌纤维素膜在反渗透方面的应用研究等^[14]。

20 世纪 60~70 年代, 科研工作者对木醋杆菌生理生化的研究更为深入。这段时间被认为是研究细菌纤维素生物合成途径的黄金时代。加拿大研究人员研究了单糖在木醋杆菌体内的生物代谢途径, 提出简单糖类生物合成纤维素的机制^[15]。该方面的工作在挪威研究者利用化学物质对木醋杆菌诱变获得可用于纤维素合成的负突变菌株(cel^-)后, 取得了较为圆满的结果, 推动了木醋杆菌生物合成细菌纤维素的生理生化研究^[16]。

20 世纪 80~90 年代, 日本 SONY 和美国 Cetus 等公司在细菌纤维素应用方面做了大量有意义的工作, 并申请了多项专利, 发表了相关的高水平文章^[17-20]。这些研究成果显现出细菌纤维素的商业价值, 从而促使研究者开展了大量工作, 研究细菌纤维素的工业化生产及其在食品添加剂、纸张黏合剂、滤膜等方面的应用^[21-26]。

进入 21 世纪, 随着科技的快速发展, 由细菌纤维素制备的高附加值功能材料日益成为研究的焦点。人造血管、人造皮肤、支架材料、质子交换膜、负载型催化剂和透明电极等方面的研究都取得了突破性进展^[27-33]。伴随着对细菌纤维素研究的深入, 越来越多的科学家参与到细菌纤维素功能材料的研究中, 并且有越来越多的研究成果发表。细菌纤维素高附加值的应用研究在世界范围内引起了人们极大的兴趣和关注, 促使细菌纤维素功能材料从实验室走向产品和应用。

参 考 文 献

- [1] Klemm D, Schumann D, Udhardt U, et al. Bacterial synthesized cellulose: Artificial blood vessels for microsurgery. *Progress in Polymer Science*, 2001, 26: 1561.
- [2] Tonouchi N, Tsuchida T, Yoshinaga F, et al. Characterization of the biosynthetic pathway of cellulose from glucose and fructose in *Acetobacter xylinum*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1996, 60: 1377.
- [3] Iguchi M, Yamanaka S, Budhiono A. Bacterial cellulose: A masterpiece of nature's arts. *Journal of Materials Science*, 2000, 35: 261.
- [4] Jonas R, Farah L F. Production and application of microbial cellulose. *Polymer Degradation and Stability*, 1998, 59: 101.
- [5] Zaar K. Visualization of pores (export sites) correlated with cellulose production in the en-

- velop of the gram-negative bacterium *Acetobacter xylinum*. *Journal of Cell Biology*, 1979, 80: 773.
- [6] Yoshinaga F, Tononchi N, Watanabe K. Bacterial cellulose production by aeration and agitation culture and its application as a new industrial material. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1997, 61: 219.
- [7] Zhou L L, Sun D P, Hu L Y, et al. Effect of addition of sodium alginate on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2007, 34: 483.
- [8] Naritomi T, Kouda T, Yano H, et al. Effect of lactate on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1998, 85: 89.
- [9] Brown A J. An acetic ferment which forms cellulose. *Journal of Chemical Society*, 1886, 49: 432.
- [10] Hestrin S, Aschner M, Mager J. Synthesis of cellulose by resting cells of *Acetobacter xylinum*. *Nature*, 1947, 159: 64.
- [11] Brown A M, Gascoigne J A. Biosynthesis of cellulose by *Acetobacter acetigenum*. *Nature*, 1960, 187: 1010.
- [12] Walker T K. Formation of β -1,4-oligoglucosides by certain *Acetobacter* species. *Nature*, 1957, 180: 201.
- [13] Africa T K. The production of nata from coconut water. *Utitas*, 1949, 22: 60.
- [14] Massion C R, Menzies R F. Bacterial cellulose for osmometer membrane. *Nature*, 1946, 157: 74.
- [15] Colvin J R, Leppard G G. The biosynthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 1977, 23: 701.
- [16] Valla S, Kjosbakken J. Cellulose-negative mutants of *Acetobacter xylinum*. *Journal of General Microbiology*, 1982, 128: 1401.
- [17] Nishi Y, Uryu M, Yamanaka S. et al. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. *Journal of Materials Science*, 1990, 25: 2997.
- [18] Yamanaka S, Watanabe K, Kitamura N, et al. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. *Journal of Materials Science*, 1989, 24: 3141.
- [19] Johnson D C, Neogl A N. Nonwoven fabric-like product using a bacterial cellulose binder and method for its preparation; US, 4919753A. 1990-04-24.
- [20] Katsura Toru, Okafuro Kenichi. Forgery-preventive paper; Japan, 6313297A2. 1994-11-08.
- [21] Vandamme E J, De B S, Vanbaelen A. Improve production of bacterial cellulose and its application potential. *Polymer Degradation and Stability*, 1998, 59: 101.

- [22] Yoshinaga F, Tononchi N, Watanabe K. Bacterial cellulose production by aeration and agitation culture and its application as a new industrial material. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 1997, 67: 219.
- [23] Tasuya S, Yoshihiko H. Thin layer printing paper: JP, 11061678A2. 1999-03-05.
- [24] Johnson D C, Winslow A R. Bacterial cellulose has potential application as news paper coating. *Pulp and paper*, 1990, 64: 105.
- [25] Dubey V, Saxena C, Singh L, et al. Pervaporation of binary water-ethanol mixtures through bacterial cellulose membrane. *Separation and Purification Technology*, 2002, 27: 163.
- [26] Dubey V, Pandey L K, Saxena C. Pervaporation separation of ethanol/water azeotrope using a novel chitosan impregnated bacterial cellulose membrane and chitosan-poly (vinylalcohol) blends. *Journal of membrane Science*, 2005, 251: 131.
- [27] Yamanaka S, Watanabe K, Suzuki Y. Hollow microbial cellulose process for preparation thereof and artificial blood vessel formed of said cellulose: European, 0396344A2. 1990-11-07.
- [28] Benaissi K, Johnson L, Walsh D A, et al. Synthesis of platinum nanoparticles using cellulose reducing agents. *Green Chemistry*, 2010, 12: 220.
- [29] Svensson A, Nicklasson E, Harrah T, et al. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage. *Biomaterials*, 2005, 26: 419.
- [30] Patel U D, Suresh S. Complete dechlorination of pentachlorophenol using palladized bacterial cellulose in a rotating catalyst contact reactor. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008, 319: 462.
- [31] Ricard J B P, Paula A A P, Manuel A M, et al. Electrostatic assembly and growth of gold nanoparticles in cellulosic fibres. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2007, 312: 506.
- [32] Evans B R, O'Neill H M, Malyvanh Y P, et al. Palladium-bacterial cellulose membranes for fuel cells. *Biosensors and Bioelectronics*, 2003, 18: 917.
- [33] Nagy M, Yano H. Transparent nanocomposites based on cellulose produced by bacterial offer potential innovation in the electronics device industry. *Advance Materials*, 2008, 20: 1849.

第 2 章 细菌纤维素的制备

2.1 菌 种

2.1.1 细菌纤维素产生菌的种类及特点

据文献 [1-5] 报道, 细菌纤维素是由醋杆菌属 (*acetobacter*)、无色杆菌属 (*achromobacter*)、气杆菌属 (*aerobacter*)、土壤杆菌属 (*agrobacterium*)、产碱杆菌属 (*alcaligenes*)、根瘤菌属 (*rhizobium*)、假单胞杆菌属 (*pseudomonas*)、八叠球菌属 (*sarcina*)、动胶菌属 (*zoogloea*) 等属的微生物合成的。尽管对于大多数细菌纤维素产生菌来说, 纤维素的生物合成途径及其调节机制是相通的, 但纤维素的大分子结构却依赖于其产生菌。表 2-1 列出了不同菌种合成的纤维素的特点、性质及对细菌的作用。

表 2-1 不同菌种合成的纤维素的特点、性质及对细菌的作用

菌种名称	纤维素特点	纤维素性质	纤维素对细菌的作用
<i>acetobacter</i>	胞外膜, 纤维束	碱不溶, 可被纤维素酶降解	为细菌提供有氧环境, 使其可利用天然底物
<i>agrobacterium</i>	胞外微纤维	碱不溶, 可被纤维素酶降解	利于细菌吸附于植物组织
<i>rhizobium</i>	胞外微纤维	碱不溶, 可被纤维素酶降解	利于细菌吸附于寄主植物
<i>pseudomonas</i>	无明显微纤维	碱不溶, 可被纤维素酶降解	利于细菌吸附废水中絮凝物
<i>sarcina</i>	无定形纤维素	碱不溶	不明确

木醋杆菌 (*Acetobacter xylinum*, *A. xylinus*, *Ax*, *Axy*) 是最早被发现, 也是研究得较为透彻的纤维素产生菌株, 是目前已知的合成纤维素能力最强的菌株, 常作为研究细菌纤维素生物合成过程和机制的模式菌株。木醋杆菌的分类及命名经历过一些变动。在科学出版社 1984 年出