

细菌纤维素

刘四新 李从发 著

BACTERIAL CELLULOSE



中国农业大学出版社

細菌纖維素

1988 年 10 月 1 日



1988 年 10 月 1 日

细菌纤维素

刘四新 李从发 著

中国农业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

细菌纤维素/刘四新,李从发著. —北京:中国农业大学出版社,2007.6
ISBN 978-7-81117-221-8

I. 细… II. ①刘… ②李… III. 细菌-纤维素 IV. Q539

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2007)第 073737 号

书 名 细菌纤维素

作 者 刘四新 李从发 著

策划编辑 潘晓丽 司建新

责任编辑 洪重光

封面设计 郑 川

责任校对 陈 莹 王晓凤

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路2号

邮政编码 100094

电 话 发行部 010-62731190,2620

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail cbsszs @ cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 北京鑫丰华彩印有限公司

版 次 2007年6月第1版 2007年6月第1次印刷

规 格 787×1092 16开本 14.75印张 361千字

印 数 1~1000

定 价 26.00元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

内 容 简 介

本书全面、系统地介绍了细菌纤维素的研究历史、发展现状和最新进展。全书内容共分 7 章,在首先介绍细菌纤维素的研究概况基础上,着重介绍其结构与性质、研究方法、生物合成、发酵生产、结构修饰以及应用等方面国内、外的研究现状和发展趋势。全书信息丰富、内容详实、结构紧凑,绝大部分素材取自近几年的科技文献,许多内容来自国外发明专利的信息,资料新颖、涉及面广、特色鲜明,是国内微生物纤维素方面的第一部专著。

本书适合于食品工程、发酵工程、生物技术、医学工程、材料科学或其他相关专业的科技人员、教师和研究生阅读使用,也可作为相关生产企业的技术人员有实用价值的参考书。

前 言

细菌纤维素是一种新型的生物可降解材料。与植物纤维素相比,细菌纤维素在合成速度、化学纯度、功能特性等方面具有许多独特、卓越的性质。目前,国内细菌纤维素已经实现规模化生产,并在食品工业领域广泛应用(在食品工业中俗称“椰纤果”、“椰果”)。在国外,细菌纤维素在医疗、造纸、纺织、化妆品、污水净化和其他生物可降解材料领域的研究非常活跃,并有着广阔的应用前景,有些已进入实际应用阶段。

目前,国内细菌纤维素的生產主要集中在海南省,其应用主要局限在食品工业领域,而在附加价值更高的其他领域的应用还没有启动,但相关方面的研究已开始受到重视。作者自 20 世纪 90 年代开始就从事细菌纤维素的研究和开发,并长期关注国际上的发展动态和研究前沿,对细菌纤维素的生产和应用积累了一些经验和体会。经过长期的酝酿、思考,《细菌纤维素》一书终于成稿,这其中充满着作者对这一独特生物可降解材料开发研究的热爱和期待,希望它能在满足我国细菌纤维素科研和生产需要、促进我国细菌纤维素深入研究和更广泛应用等方面起到抛砖引玉的作用。

本书参考了国内外大量的科技文献和发明专利,并注重介绍细菌纤维素的最新研究成果和生产经验,同时,又对基础理论知识进行详尽阐述,力图使理论与实践较好地结合。

本书的完成得到许多同事和研究生的帮助,特别是阳辛凤副教授(博士)和张伟敏老师,他们为本书的资料整理、编写等做出了重要贡献;李枚秋副教授在其研究领域对本书提出了重要建议。全书由洪葵教授(博士)认真审稿,并提出宝贵意见。另外在撰写和编辑出版过程中还得到华南热带农业大学的大力支持,在此一并谨致谢忱!

全书引用了大量国外的研究成果,并且鉴于全书统筹的需要,对有关参考资料中的术语、名词进行了规范,或者对数据资料重新整理后再加以引述,在此向所有相关作者表示谢意!

由于我国细菌纤维素的研究和应用起步较晚,发展相对滞后,取得的具有自主知识产权的成果不多,国外的许多关键技术又属于专利保护之列,加之编写时间仓促、经验不足和作者水平的限制,书中难免存在一些错漏,敬请各位读者批评指正。

刘四新 李从发
2006 年秋于儋州

目 录

1 引言	(1)
参考文献	(3)
2 细菌纤维素的结构与性质	(5)
2.1 细菌纤维素的化学结构	(5)
2.1.1 纤维素链的构象	(7)
2.1.2 纤维素分子的高级结构	(9)
2.1.3 纤维素的分类	(11)
2.2 细菌纤维素的形态与光谱结构	(12)
2.2.1 形态结构	(12)
2.2.2 纤维素的光谱结构	(13)
2.3 细菌纤维素的理化性质	(15)
2.3.1 纤维素的物理性质	(15)
2.3.2 纤维素的化学性质	(17)
2.3.3 细菌纤维素的性质	(17)
参考文献	(21)
3 细菌纤维素的研究方法	(26)
3.1 细菌纤维素的定性分析	(26)
3.1.1 蒽酮比色法分析测定细菌纤维素的纯度	(26)
3.1.2 红外光谱法	(27)
3.1.3 薄板层析法	(28)
3.1.4 气相色谱与质谱连用(GC-MS)法	(29)
3.1.5 细菌纤维素的固态核磁共振分析	(30)
3.1.6 细菌纤维素的 X 射线衍射分析	(33)
3.1.7 纤维素的小角激光光散射法	(37)
3.1.8 细菌纤维素的电镜分析	(38)
3.1.9 改性纤维素取代度的测定	(42)
3.1.10 细菌纤维素的差示扫描量热分析	(42)
3.2 细菌纤维素各种性能的测试	(45)
3.2.1 细菌纤维素的持水性分析	(45)
3.2.2 细菌纤维素的介电常数测定	(45)
3.2.3 细菌纤维素聚合度分布的测定	(45)
3.2.4 细菌纤维素渗透性能的测试	(47)
参考文献	(48)

4 细菌纤维素的生物合成	(52)
4.1 细菌纤维素的生物合成途径	(53)
4.2 细菌纤维素前体的合成	(55)
4.3 纤维素合酶	(56)
4.4 细菌纤维素的生物合成机制	(58)
4.4.1 β -1,4-葡聚糖聚合机制	(58)
4.4.2 纤维素链的装配和结晶	(62)
4.5 细菌纤维素合成的遗传学基础	(64)
4.5.1 纤维素合酶及其调节复合物的分子生物学	(64)
4.5.2 染色体外遗传物质的调控作用	(66)
4.6 细菌纤维素合成的调控	(66)
4.6.1 环二鸟苷单磷酸的调控作用	(66)
4.6.2 细菌纤维素合成调控的分子机制	(67)
4.7 木葡糖酸醋杆菌合成的可溶性多糖	(69)
4.8 木葡糖酸醋杆菌合成的内切、外切纤维素酶的作用	(70)
4.9 细菌纤维素的生物降解	(71)
参考文献	(73)
5 细菌纤维素的生产	(80)
5.1 菌种	(80)
5.1.1 产生纤维素的微生物种类及其特性	(80)
5.1.2 木葡糖酸醋杆菌的生物学特性	(82)
5.1.3 细菌纤维素高产菌株的选育及其改造	(86)
5.2 发酵生产	(92)
5.2.1 菌种的培养和扩大	(92)
5.2.2 培养基的组成	(92)
5.2.3 发酵生产的原料	(97)
5.2.4 培养条件	(98)
5.2.5 发酵培养方式	(100)
5.3 细菌纤维素的收获及纯化	(107)
5.4 发酵生产中的污染防治	(108)
参考文献	(108)
6 细菌纤维素的结构修饰	(117)
6.1 培养过程中进行的结构修饰	(118)
6.1.1 抗生素和还原剂对细菌纤维素的结构修饰	(118)
6.1.2 多糖及其衍生物的结构修饰作用	(121)
6.1.3 菌落形态对细菌纤维素结构的影响	(135)
6.1.4 固体颗粒对结构修饰的影响	(135)
6.1.5 培养方式对细菌纤维素形态结构的影响	(137)
6.1.6 细菌纤维素与纸复合	(141)

6.1.7	木素磺酸盐对细菌纤维素的修饰	(141)
6.1.8	荧光增白剂对细菌纤维素的修饰	(142)
6.1.9	直接染料对细菌纤维素的修饰	(143)
6.2	培养结束后进行的结构修饰	(143)
6.2.1	碱处理对细菌纤维素形态、结构的影响	(143)
6.2.2	细菌纤维素基团的直接修饰	(145)
6.2.3	细菌纤维素的酶修饰	(149)
6.2.4	细菌纤维素与葡糖醛酸木聚糖复合	(149)
6.2.5	细菌纤维素与脱乙酰几丁质的复合	(150)
6.2.6	羟基磷灰石对细菌纤维素的修饰	(153)
6.2.7	细菌纤维素与植物纤维复合	(158)
6.2.8	细菌纤维素与人造纤维的复合	(162)
6.2.9	细菌纤维素与表面修饰后的聚酯复合	(163)
6.2.10	细菌纤维素的光泽增强修饰作用	(163)
6.2.11	细菌纤维素的解离与解聚作用	(163)
6.2.12	细菌纤维素与1,2-乙二胺复合	(164)
6.2.13	水溶性或微溶性无机物质对细菌纤维素的修饰	(164)
6.2.14	细菌纤维素、细菌纤维素/果胶复合材料与脱氢聚合物复合	(164)
	参考文献	(165)
7	细菌纤维素的应用	(170)
7.1	细菌纤维素在食品工业中的应用	(170)
7.1.1	膳食纤维的功能及其应用	(171)
7.1.2	细菌纤维素的生理功能	(173)
7.1.3	细菌纤维素的食物加工特性	(173)
7.1.4	椰纤果在食品工业中的应用	(174)
7.2	细菌纤维素在医疗实践中的应用	(186)
7.2.1	细菌纤维素作为人造皮肤	(186)
7.2.2	细菌纤维素在显微外科中的应用	(191)
7.2.3	细菌纤维素在软骨组织工程中的应用	(196)
7.3	细菌纤维素在造纸工业中的应用	(198)
7.3.1	细菌纤维素在造纸方面的功能特性	(198)
7.3.2	细菌纤维素在造纸工业中的应用	(199)
7.3.3	应用实例	(201)
	参考文献	(202)
附录 1	(205)
附录 2	(215)

1 引言

纤维素是地球上最丰富的生物聚合物,主要分布于植物如树木、棉花之中,它是形成植物体最主要的组成成分,也是许多真菌、藻类细胞壁的主要成分。然而一些细菌也具有合成纤维素的能力,其中木葡糖酸醋杆菌(*Gluconacetobacter xylinus*)合成纤维素的能力最强,具有大规模发酵生产的潜力。为了区别于植物来源的纤维素,把这种微生物来源的纤维素称为“微生物纤维素”或“细菌纤维素”(bacterial cellulose, BC)。

与植物纤维素相比较,细菌纤维素具有许多独特的优越性:首先,细菌合成纤维素的速度和产率要比植物高得多。木醋杆菌每个菌体每小时至少可合成 1.5×10^8 个纤维素分子。在约 $4\ 047\ \text{m}^2$ (1 英亩) 表面积的浅盘培养,每年至少可产生 11.13 t 纤维素,这是植物生产纤维素所无法比拟的。更为重要的是,细菌纤维素具有许多植物纤维素无法比拟的优越性能,如其化学纯度极高,不含木质素、半纤维素等杂质,因此,提取过程比植物纤维素简单得多。细菌纤维素另一个重要的特征是其复杂的三维网络结构,这赋予其良好的亲水性和机械强度。此外,细菌纤维素还具有其他一些优越性能,如合成过程中,通过改变培养方式或者添加特定的物质,可以得到所需特性的纤维素。因此,细菌纤维素在食品、医药、造纸、纺织等领域具有广泛的应用潜力,有些方面已进入实际应用阶段。

事实上,含有细菌纤维素的产物,很久前就已出现。在我国传统食醋酿造过程中,常在发酵液表面生成凝胶状膜,称为菌膜,这在古代科技文献“齐民要术”中已有记载。污染变质的果酒或黄酒,也会在醪液中生成类似的凝胶状膜。在红茶菌的生产过程中,在液体的表面形成一层胶状液膜,其主要成分就是细菌纤维素。

细菌纤维素产品的生产和利用,则是在 19 世纪 40 年代才开始的。那时,在菲律宾、印度尼西亚等国即生产一种称为 Nata 的产品。所谓 Nata,源自拉丁文“nature”,意即漂浮,是指在液体基质表面形成的膜状或片状漂浮物。Nata 音译可写作纳塔、那塔或那大,目前在中国内地和台湾通常以椰子水为原料进行生产,产品叫“椰果”、“椰纤果”或“高纤椰果”等(刘四新, 1997)。其实, Nata 在原产地菲律宾最初是用菠萝汁为原料生产的,产品称为 nata de pina (Olveros, 1935; Villanueva, 1937),但是菠萝生产季节性强,产量有限,无法供应全年生产。由于东南亚地区独特的气候条件,椰子在菲律宾、印尼、泰国和越南等国可以常年生产和收获,而在椰子加工过程中会产生大量的副产物椰子水,椰子水富含营养,非常适合 nata 的生产,因此后来在原产地主要改为以椰子水为原料进行生产,所得产品称为 nata de coco,而最早的报道是由 Africa 和 Mendoza 等提供的(Africa, 1949; Mendoza, 1953)。

Nata 的化学本质是细菌纤维素,最早得出这一结论的,是 1886 年英国的 Brown 先生(Brown 等, 1886),他观察到在醋发酵过程中发酵液表面形成一种凝胶状薄膜,经化学与物理方法分析确定此类物质具有纤维素的结构与化学性质。由于这种漂浮的纤维素薄膜的形成,他将这种微生物命名为 *Bacterium xylinum*,即木质细菌。之后,由于多位研究者都观察到这种细菌产生不溶性纤维的现象并展开了广泛研究,对这种微生物也有多种不同的命名,目前在国内外科技文献以及国内的生产活动中对这种微生物的命名许多采用 *Acetobacter xylinum*

(木醋杆菌)的名称,但是在《伯杰氏系统细菌学手册》(简称为《系统手册》)第2版中,对这种微生物的分类进行了改变,由原来的木醋杆菌改为木葡糖酸醋杆菌(*Gluconacetobacter xylinus*) (George等,2004)。虽然这是这种有较强纤维素合成能力的微生物的生效(valid)名称,但《系统手册》同时认为“木醋杆菌”也是其有效名称(basonym),因此目前有些国内外文献中还以木醋杆菌(*Acetobacter xylinum*)的名称出现。有关这种微生物学名研究进展的详细情况见第5章。

为了阐明纤维素在生物体系中的形成机理,来自不同国家的几个研究小组都展开了对木醋杆菌(木葡糖酸醋杆菌)的研究。1947年,Hestrin等作为第一批研究小组中的成员,提供了一组详细的木醋杆菌产纤维素的分析数据(Hestrin,1947)。在20世纪50年代发表的一系列论文中,这个以色列小组报道了一些影响纤维素产量的因素(Schramm等,1954),纤维素生产的酶促底物和抑制剂、纤维素生产中包含的酶系和中间产物(Gromet,1957,1962)等。

大约与此同时,在菲律宾的研究人员,报道了用椰子水(Africa,1949;Mendoza,1953)和菠萝汁(Adriano等,1953)发酵获取Nata的方法。但直到1967年,才确定凝胶状膜是由于木醋杆菌(*Acetobacter xylinum*)的作用形成,并确定其成分是真正的、纯粹的细菌纤维素。在这段时间的一些相关报道中,已确立了细菌纤维素生产的最佳条件以及生产细菌纤维素的高产菌株的分离和菌株选择方法。

20世纪70年代,主要的研究放在木醋杆菌的生物学规律上,它被认为是研究细菌纤维素生物合成的完美模式生物。加拿大的Colvin研究小组,试图提供用简单糖类生物合成细菌纤维素完整途径(Colvin,1977;Cooper等,1977)。其中一个合作者继续在挪威工作,通过对木醋杆菌直接的化学诱变,成功地分离到纯的纤维素合成负突变株(*cel⁻*) (Valla和Kjosbakken,1982)。由此,启动了木醋杆菌合成细菌纤维素的微生物学和生物化学方面的研究。

只是在20世纪80年代中期,木醋杆菌才从一个纯粹的细菌纤维素生物合成的模式生物扩展为具有商业潜力的生产菌株。在两个小组的开创性努力下,这个从实验室的好奇尝试转变为工业化生产实践的巨大飞跃得以实现。第一个小组是由来自日本索尼公司、味之素公司和日本纺织品研究所的研究人员组成的,致力于细菌纤维素物理特性的研究以及用它制成高强度的材料(US Patent 4742164,1986)。第二个小组,由来自于Weyerhaeuser和Cetus公司的科学家组成,致力于用一株特别的木醋杆菌通过深层发酵而获得网状的细菌纤维素材料的研究(US Patent 4863965,1988)。20世纪80年代末期,其他几个应用在专利文献上报道,细菌纤维素商业化的研究也得到了详细的评估(White和Brown,1989;Yamanaka,1989)。

20世纪90年代,由于发表了许多有关细菌纤维素的评述,使得细菌纤维素的应用潜力广为人知(Cannon和Anderson,1991;Ross等,1991)。新技术和伴随的挑战以及研究的发展方向也同时呈现出来(Brown,1992)。致力于提高细菌纤维素作为生物材料的性能,该领域研究者的数量在不断增加(Brown,1991;Yamanaka,1991)。更多的研究在于探索影响木醋杆菌(Masaoka等,1993;Embuscado等,1995;Geyer,1995)生产纤维素产量的重要因素。实验室外的大规模生产和选择性的发酵也有报道(Okiyama等,1992)。随着使用的范围从食品添加剂和纸张粘合剂到分离膜,细菌纤维素的使用逐渐公开(Okiyama等,1993;Shibazaki等,1993;Watanabe,1994;Ammon等,1995)。Brown最先提出在发酵过程中对纤维素进行修饰(US Patent 4942128),其理念受到几个新的研究小组的关注(Shirai等,1994;Hackney,1994;Takai,1994),因此制备了一些新型的纤维素材料。而且,在发酵后对纤维素进行修饰和衍

生,进一步地拓展微生物纤维素的应用范围(Geyer,1995)。

因此,木醋杆菌不仅在阐明生命体系纤维素合成中成为主要的研究工具,而且可望成为除木材和棉花以外的纤维素的主要来源。随着其应用从食品和纸张添加剂扩展到高强度生物可降解材料和经修饰的复合膜,细菌纤维素产品逐渐被公认为一种主要的工业化生物聚合物。特别是由于它在合成过程中可被修饰,有着新功能的细菌纤维素产品可以定制生产,这将大大扩展它的应用领域。

当前的问题是,要拓展细菌纤维素的应用,有赖于其生产规模的扩大及生产成本的降低。因此,进一步选育或构建纤维素高产菌株、优化培养基组成、改善发酵条件、设计高效专用的发酵罐、提高细菌纤维素的合成效率和产量等,是未来研究工作努力的方向。

参考文献

- [1] Africa TK. The production of nata from coconut water. *Utitas*,1949,22:60-100.
- [2] Ammon H, Ege W, Oppermann M, et al. Improvement in the longterm stability of an Amperometric glucose sensor system by introducing a cellulose membrane of bacterial origin. *Analytical Chemistry*,1995,67:466-471.
- [3] Brown A J. An acetic ferment which forms cellulose. *Journal of Chemical Society*,1886,49:432-439.
- [4] Cannon R E, Anderson S M. Biogenesis of Bacterial Cellulose, *Critical Reviews in Microbiology*,1991,17:435-447.
- [5] Colvin J R. Formation of cellulose microfibrils in a homogenate of *Acetobacter xylinum*. *Arch Biochem Biophys*,1957,70:294-295.
- [6] Colvin J R, Leppard G G. The Biosynthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. *Canadian Journal of Microbiology*,1977,23:701-709.
- [7] Elhanan-Gromet Z, Hestrin S. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. VI Growth on Citric acid-cycle Intermediates, *J. Bacteriology*,1962,85:284-292.
- [8] Embuscado M, Marks J, Miller J. Bacterial cellulose. I. Factors affecting the production of *Acetobacter xylinum*, *Food Hydrocolloids*,1994,8(5):407-418.
- [9] Geyer U, Heinze T, Stei A, et al. Formation, derivatization and applications of bacterial cellulose. *Intl J Biol Macromol*,1994,16(6):343-347.
- [10] George MG, Julia AB, Timothy GL. Taxonomic outline of the prokaryotes, *Bergey's manual of systematic bacteriology (2nd ed)*. Springer, New York Berlin Heidelberg, 2004.
- [11] Hackney J, Atalla R, VanderHart D. Modification of crystallinity and crystalline structure of *Acetobacter xylinum* cellulose in the presence of water-soluble B-1,4-linked polysaccharides; ¹³C-NMR evidence. *Intl J Biol Macromol*,1994,16(4):215-218.
- [12] Hestrin S, Aschner M, Mager J. Synthesis of cellulose by resting cells of *Acetobacter xylinum*. *Nature*,1947,159:64-65.
- [13] Hestrin S, Schramm M. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*: preparation of freeze dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose, *Biochem J*,1954,58:345-

352.

- [14] Masaoka S, Ohe T, Sakota N. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1993, 75(1): 18-22.
- [15] Mendoza JM. Proc. Eight Pacific Sci. Cong, 1953: 426-427.
- [16] Okiyama A, Motoki M, Yamanka S. Bacterial cellulose IV. application to processed foods. Food Hydrocolloids, 1993, 6(6): 503-511.
- [17] Okiyama A, Shirae H, Kano H, et al. Bacterial cellulose I. Two-stage fermentation process for cellulose production by *Acetobacter aceti*. Food Hydrocolloids, 1992, 6(5): 471-477.
- [18] Olveros S. Agriculture Life, 1935, 2(7): 19-22.
- [19] Ross P, Mayer R, Benziman M. Cellulose biosynthesis and function in bacteria, Microbiol Rev, 1991, 55: 35-58.
- [20] Schramm M, Hestrin S. Factors affecting production of cellulose at the air/liquid interface of a culture of *Acetobacter xylinum*, Journal of General Microbiology, 1954, 11: 123-129.
- [21] Schramm M, Gromet Z, Hestrin S. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. IV Enzyme systems present in a crude extract of glucose grown cells, Biochem J, 1957, 67: 679.
- [22] Schramm M, Gromet Z, Hestrin S. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. III substrates and inhibitors, Biochem J, 1957, 67: 669.
- [23] Shibasaki H, Kuga S, Fumihiko O, et al. Bacterial cellulose as separation medium. Journal of Applied Polymer Science, 1993, 50: 965-969.
- [24] Shirai A, Takahashi M, Kaneko H, et al. Biosynthesis of a novel polysaccharide by *Acetobacter xylinum*. Intl J Biol Macromol, 1994, 16(6): 297-300.
- [25] Valla S, Kjosbakken J. Cellulose-negative mutants of *Acetobacter xylinum*. Journal of General Microbiology, 1982, 128: 1401.
- [26] Villanueva L J. The Philippine Agriculture. 1937, 26: 508-514.
- [27] Watanabe K, Yamanka S, Effects of Oxygen tension in the gaseous phase on production and physical properties of Bacterial cellulose formed under static culture conditions. Biosci Biotech Biochem, 1995, 59(1): 65-68.
- [28] Yamanaka S, Watanabe K, Kitamura N. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. Journal of Material Science, 1989, 24: 3141-3145.
- [29] 刘四新. 椰子纳塔(nata)产生菌的筛选与发酵条件研究. 华南热带农业大学硕士学位论文, 1997.

2 细菌纤维素的结构与性质

自然界中的纤维素是 D-葡萄糖以 β -1,4-糖苷键结合起来的长链状高分子化合物,在常温下不溶于水、不溶于稀酸和稀碱,是 Anselme Payen 于 1839 年首次对木材经硝酸、氢氧化钠等溶液交替处理后分离出的一种均匀的化合物。纤维(fiber)是形态学上的概念,指细而长的物质,植物纤维是指植物体内细而长的细胞,它是植物细胞壁的主要成分。尽管植物细胞壁的组成和结构差异很大,但其中纤维素的含量一般都占到植物干重的 35%~50%。植物纤维素的一个显著特征就是被半纤维素(干物质含量占 20%~35%)和木质素(干物质含量占 5%~30%)所包裹(陈洪章,2005),这也是限制和影响植物纤维素利用的一个重要原因。虽然植物纤维素是地球上储量最丰富的可再生资源,与其相比,细菌纤维素也许是微不足道的,但细菌纤维素具有显著区别于植物纤维素的非常独特的性质而日益受到广泛关注。二者虽然化学组成相同,但在纤维素分子的高级结构和存在状态上,细菌纤维素有着明显区别,如它是由超微纤维组成的超微纤维网,其超微纤维直径仅为植物纤维的 1/100,等等。与植物纤维素相比,细菌纤维素所具有的独特性质表现在:

(1) 是一种非常纯的纤维素,具有高化学纯度和高结晶度。

(2) 弹性模量为一般植物纤维的数倍至十倍以上,并且抗张强度高。

(3) 具有很强的持水能力。

(4) 具有较高的生物相容性和良好的生物可降解性。

(5) 生物合成可被调控。采用不同的培养方法如静态培养或动态培养可以得到不同高级结构的纤维素;又如添加不同的物质可以根据实际需要纤维素的进行修饰、改造。

因此,细菌纤维素作为另一种生物可降解的天然纤维素,在医疗卫生、造纸工业、纺织工业和食品工业领域有着越来越广泛的应用前景,使科学家们产生了越来越浓厚的研究兴趣。

2.1 细菌纤维素的化学结构

从化学组成来看,细菌纤维素与植物纤维素的化学结构非常相似,都是由吡喃型葡萄糖单体(β -D-葡萄糖)通过 β -1,4-糖苷键连接而形成的一种无分支、大分子直链聚合物(图 2-1),具有 $(C_6H_{10}O_5)_n$ 的组成,直链间彼此平行,不呈螺旋构象,无分支结构,又称为 β -1,4-葡聚糖(郝常明和罗炜,2002)。为了保持结构的稳定,相邻的吡喃葡萄糖的 6 个碳原子并不在同一平面上,而是呈稳定的椅状立体结构(Milstein 等,1996)(图 2-2A)。纤维素分子链为弯曲的链状结构,它是数个邻近的 β -1,4-葡聚糖链由分子链内与分子链间通过氢键作用而形成稳定的不溶于水的高分子聚合物,聚合度一般在 16 000 单体(图 2-2B)(高洁和汤烈贵,1996)。

纤维素是一种多糖物质,每个纤维素大分子是由 n 个葡萄糖残基(葡萄糖苷),彼此以 1-4 甙键(氧桥)联结而形成的。所以,纤维素大分子的基本链节(基本单元或单基)是葡萄糖残基,在大分子结构式中为不对称的六环结构,也称氧六环。相邻两个氧六环彼此的位置扭转 180° ,依靠甙键(—O—)连成一个重复单元,即大分子单元结构是纤维素双糖(即纤维糖苷,是

由两个葡萄糖苷组成), 长度为 1.03 nm (即 10.3 \AA), 是纤维素大分子结构的恒等周期。纤维素大分子的空间结构, 如图 2-3 所示。

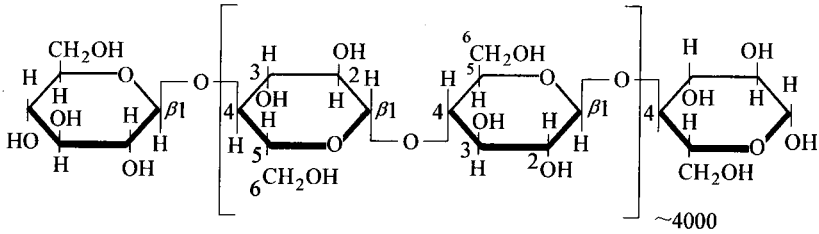


图 2-1 β -1,4-葡聚糖链的构造式

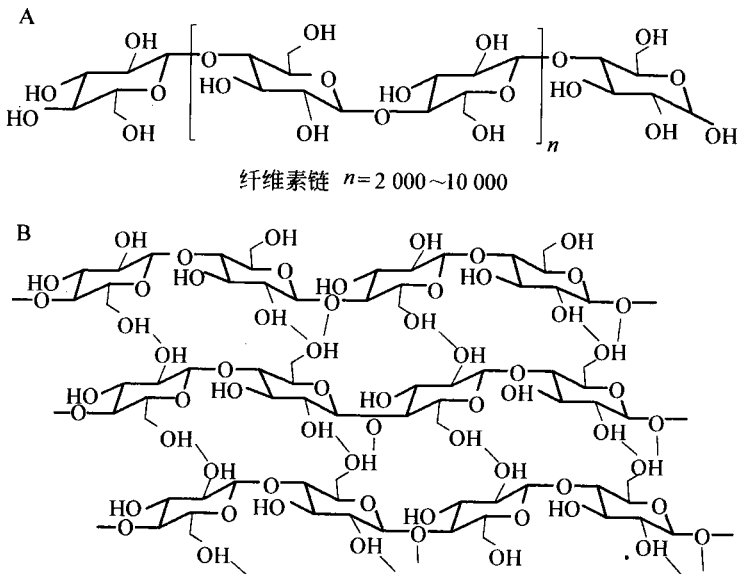


图 2-2 细菌纤维素的化学结构

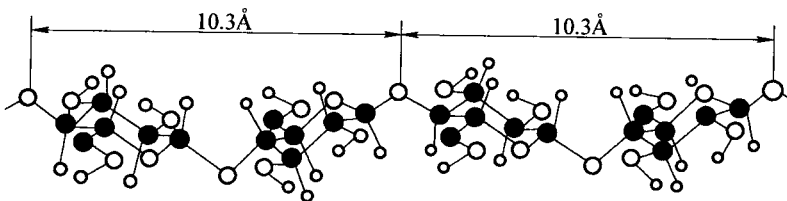


图 2-3 纤维素大分子的空间结构 ($10.3 \text{ \AA} = 1.03 \text{ nm}$)

纤维素大分子中, 氧六环的空间结构属于椅式结构。每一氧六环的 21 个原子并不在一个平面上, 相邻两个氧六环的中心平面也不在一个平面上。另外每个氧六环 (不包括两端) 上含

有 3 个游离醇羟基,其中 2、3 位碳原子上是 2 个仲醇羟基($=\text{CHOH}$),6 位碳原子上是一个伯醇羟基($-\text{CH}_2\text{OH}$),它们都具有一般醇羟基的特性,但在化学性质上略有差异。在纤维素大分子的末端 1 位碳原子上有一个性质与其他醇羟基不同的羟基($-\text{OH}$),由于它的存在而产生醛基性质,具有还原性。

纤维素大分子的官能团是羟基和苷键。羟基是亲水性基团,使棉纤维具有一定的吸湿能力;而苷键对酸敏感,所以纤维耐碱而不耐酸。此外,纤维素大分子中氧六环之间距离较短,大分子间羟基的作用较多,所以纤维素大分子的柔曲性较差,是属于较僵硬的线型大分子。

2.1.1 纤维素链的构象

吡喃葡萄糖为了保持结构的稳定,糖环不可能是一个平面,六环糖有 8 种不同的构象,其中 2 种为椅式构象(chair conformation),6 种为船式构象(boat conformation)。椅式构象比船式构象能量较低而稳定,所以吡喃葡萄糖环可能以 C_1 或 $1C$ 两种椅式构象之一存在(图 2-4)。因为 C_1 构象中,各碳原子上的羟基都是平伏键(e 键),而 $1C$ 构象中,各碳原子上的羟基都是直立键(a 键),所以 β -D-葡萄糖环为 C_1 椅式构象,且较为稳定,已由 X 射线衍射和红外光谱所证实(张力田等,1988)。

在椅式构象中,中间的虚线表示环的中心对称轴,a 和 e 分别表示直立键和平伏键,直立键与中心对称轴平行,平伏键与中心对称轴成 $109^\circ 28'$ 。氧原子与 C_1, C_2 原子形成一个平面, C_3, C_4 和 C_5 原子形成一个平面,这 2 个三角形平面相互平行;氧原子与 C_2, C_3 和 C_5 原子位于同一平面上,并与 2 个三角形平面相交叉。

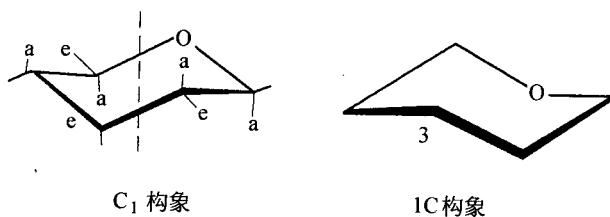


图 2-4 葡萄糖的椅式构象

1. 伯醇羟基的构象

业已证明,纤维素二糖含有分子内氢键 $[\text{O}_3-\text{H}\cdots\text{O}_5]$ 和 $[\text{O}_2-\text{H}\cdots\text{O}_6]$ 氢键,所以,除伯醇基($-\text{CH}_2\text{OH}$)可绕 C_5-C_6 键旋转外,在固态下,这一结构是刚性的。连接在 C_5 上的伯醇基($-\text{CH}_2\text{OH}$)绕 C_5-C_6 键旋转,通常接近于 3 种基本的构象:gt,gg 和 tg,习惯上用两面角 α (the dihedral angle)表示(图 2-5)。

根据国际理论化学和应用化学学会—国际生物化学学会(IUPAC-IUB)关于多酞链构象的规定(IUPAC-IUB, 1970),用两面角 $\alpha(5)$ 表示纤维素链上与吡喃环 C_5 有关的取代基($-\text{CH}_2\text{OH}$)绕 $[C_5-C_6]$ 键扭转的角度(Sundararajan 和 Marchessault, 1967)。 $\alpha(5)=0$ 的位

置表示纤维素的 $[C_6-O_6]$ 键与 $[C_5-O_5]$ 键相重合,对于其他的 $x(5)$ 值,由 C_6 向 C_5 看去,如果 $[C_6-O_6]$ 键(在前的键)必须向右(顺时针方向)旋转,才能与 $[C_5-O_5]$ 键(在后的键)相重合,则这个旋转角度是正的;如果 $[C_6-O_6]$ 键必须向左(逆时针方向)旋转才能使之与 $[C_5-O_5]$ 键相重合,则这个旋转角度是负的。两面角 x 的范围规定为 -180° 至 $+180^\circ$ (不是 0° 到 360°),纤维素链上 $(-CH_2OH)$ 基的构象规定为:

tg 构象,相当于 $x(5) = \pm 180^\circ$

gt 构象,相当于 $x(5) = +60^\circ$

gg 构象,相当于 $x(5) = -60^\circ$

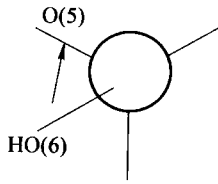


图 2-5 纤维素伯醇羟基 $(-CH_2OH)$ 可能的构象

在堆砌分析中,纤维素链的构象分析还必须使用配糖角 τ 和葡萄糖酐分别绕 C_1-O 键(O 为配糖氧)和 $O-C_4'$ 键旋转的扭转角 Φ 和 Ψ (图 2-6)。所有上述纤维素分子链的构象,除 τ, Φ 和 Ψ, β -吡喃葡萄糖酐的平均尺寸(键长、键角、扭转角、构象角)已由 Arnott 和 Scott 汇总。

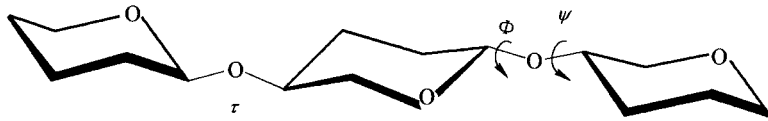


图 2-6 纤维素链的配糖角 τ 、扭转角 Φ 和 Ψ

2. 纤维素分子链的模型

(1)伸直链模型。1937年 Meyer 和 Misch 对天然纤维素提出了第一个分子模型,称为伸直链模型, β -D-失水纤维素二糖的单元是笔直的构象,配糖键的平面与两个吡喃葡萄糖环成直角关系,重复距离为 $1.03 \sim 1.04 \times 10^{-9}$ m。这种模型存在着立体化学上不可接受的构象:因为在 O_6 和相邻的 O_2 间有不良的接触,而且 C_4 和 C_1' 间有阻碍, O_2-C_6' 间距离太靠近, O_5-O_3' 间距离太张开,目前,这种模型已被放弃。

(2)弯曲链模型。1943—1949年期间, Hermans 提出了纤维素的弯曲链模型,通过 Φ 和 ψ 的旋转到适当的非零角度,解决了 Meyer-Misch 模型中不符合立体化学和纤维素有关物理数据的问题。Jones 等使用各种现代模拟方法研究纤维素的链构象,证明纤维素 I 和纤维素 II 都符合这种模型(Jones, 1972)。

目前纤维素链的二糖重复单元的构象。基本上采用 Hermans 的弯曲链模型。部分研究者提出链构象的弯扭模型(bent-twisted model),是 Hermans 模型的一种改进, Hayashi 等的研究认为,纤维素 I 簇(纤维素 I, III₁, IV₁)的构象为 Hermans 的弯曲链构象,纤维素 II 簇(纤维素 II, III₂, IV₂)为弯扭链构象。