



细菌纤维素生物医学材料的性能改进

贾原媛, 汤卫华, 李 飞, 贾士儒

(工业微生物教育部重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 针对细菌纤维素(BC)生物医学材料的需要,研究改进其柔软度、柔韧性、吸水性、拉伸强度和抑菌性能的措施. BC湿膜在 ϵ -聚赖氨酸溶液中浸泡后干燥,可获得满意的抑菌效果. BC湿膜被 ϵ -聚赖氨酸溶液处理后在一定浓度的丙三醇溶液中浸泡并干燥,可获得满意的吸水性、柔软度、柔韧性和拉伸强度. 经100%丙三醇处理的BC干膜,在相对湿度为(92.31±0.60)%的空气中,吸水质量达到自身质量的14倍;处理后BC干膜的柔软度为A级卫生纸的柔软度的5.5倍;拉伸强度增加了56%,断裂伸长率大幅增加,从原始的1.01%增加到19.29%,BC干膜的柔韧性得到改善.

关键词: 细菌纤维素; 生物医学材料; 抑菌性; 吸水性; 柔韧性

中图分类号: R318.08 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2009)06-0016-04

Performance Improvement for Biomedical Material-Bacterial Cellulose

JIA Yuan-yuan, TANG Wei-hua, LI Fei, JIA Shi-ru

(Key Laboratory of Industrial Microbiology, Ministry of Education,
College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The methods of how to improve the softness, flexibility, water absorption, tensile strength and antibacterial properties of bacterial cellulose pellicle were studied in order to meet the needs of biomedical materials. The reasonable way is to impregnate wet pellicle of BC with ϵ -PL solution and then immerse it into glycerol solution. Satisfactory antibacterial property is attributable to ϵ -PL solution treatment. Water absorption, softness, flexibility, tensile strength and antibacterial properties were improved successfully by aforesaid treatment. After treating with 100% glycerol, dried BC membrane absorbs moisture weighing 14 times of its own weight in the air of relative humidity (92.31±0.60)%. The softness of treated BC is 5.5 times the national standard of sanitary tissue grade A. The tensile strength increases 56% and the breaking length enhances from original 1.01% to 19.29%, which means that the flexibility has been improved considerably.

Keywords: bacterial cellulose; biomedical material; antibacterial effect; water absorbance; flexibility

细菌纤维素(BC)是在1886年由Brown^[1]首次报道的. 细菌纤维素具有优异的生物相容性、生物降解性、高持水性和良好的机械性能,被认为是一种很有前景的生物医学材料和组织工程支架. Helenius等^[2]研究了细菌纤维素的生物相容性,将细菌纤维素移植到小鼠体内,移植物周围既没有宏观的炎症反应,也没有微观的炎症反应,没有纤维化或巨细胞出现,成纤维细胞渗入到与宿主融合良好的细菌纤维素材料中. 细菌纤维素制备出的现代创伤敷料在1987年就

有了成功用于治愈烧伤、烫伤、皮肤移植和创伤敷料^[3-6]的例子. 至今为止,BC的医用商品已经出现了很多,如Biofil^R、Gengiflex^R等. 亦有报道BC在组织工程血管^[7-9]、人工软骨^[10]和人工皮肤^[11]等方面的研究.

1977年日本学者Shima和Sakai从放线菌培养过滤液中提取出一种含有25~30个赖氨酸残基的同型单体聚合物^[12]. 这种赖氨酸聚合物是赖氨酸残基通过 α -羧基和 ϵ -氨基形成的酰胺键连接而成,故称为 ϵ -聚赖氨酸(ϵ -PL). ϵ -PL是一种具有抑菌功效的多肽,这种生物防腐剂在80年代初由日本学者腾井正弘、平木纯首次应用于食品防腐^[12-13]. 其安全性高,

收稿日期: 2009-03-23; 修回日期: 2009-06-06

基金项目: 国家973计划资助项目(2007CB714305); 天津科技大学引进人才科研启动基金资助项目(20070443)

作者简介: 贾原媛(1972—),女,贵州安顺人,副教授,博士,jiayy@tust.edu.cn.

在人体内分解为赖氨酸,而赖氨酸是人体必需的八种氨基酸之一,也是世界各国允许在食品中强化的氨基酸.因此 ϵ -PL 是一种营养型抑菌剂,安全性高于其他化学抑菌剂,其急性口服毒性为 5 g/kg^[14].

BC 干膜的拉伸强度较好,但比较脆,不够柔软.为使 BC 更好地满足医学材料和组织工程支架的需要,本文对如何改进 BC 的柔韧性、柔软度、吸水性和抗菌性能进行研究.

1 材料与方法

1.1 菌种

葡萄糖氧化杆菌(TCCC 12003)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*),工业微生物教育部重点实验室保藏.

1.2 培养基的成分(g/L)

胰蛋白胨 5,酵母粉 5,柠檬酸 1,葡萄糖 20, Na₂HPO₄ 5, pH 6.0, 121 °C 灭菌 20 min.

1.3 细菌纤维素的培养与提取

取一环活化好的斜面种子接入液体培养基, 30 °C 振荡培养 24 h, 摇床转速为 160 r/min, 作为种子. 以 6% 的接种量接种到液体培养基中, 接种时充分振荡, 使菌液均匀, 30 °C 恒温静置培养 4~6 d.

培养结束后将膜取出, 用水多次冲洗, 除去膜表面培养基及杂质. 再将膜浸泡于 0.1 mol/L 的 NaOH 溶液中, 100 °C 煮沸 20 min, 去除液膜中的菌体和残留培养基, 膜呈乳白色半透明状. 然后用蒸馏水多次冲洗, 用 pH 试纸轻压膜测 pH, 约 7.2.

1.4 柔软度测定

柔软度按照 GB/T 8942—2002《纸柔软度的测定》进行测定.

1.5 拉伸强度和断裂伸长率测定

将 BC 干膜在质量分数分别为 20%、40%、60% 的丙三醇溶液和 100% 丙三醇中浸泡过夜, 取出后用滤纸吸干表面的液体. 用冲片机压成哑铃状的试样后, 按 GB/T 1040—2006《塑料·拉伸性能的测定》进行测试. 拉伸速度 50 mm/min.

$$\text{拉伸强度} = \frac{\text{断裂时的拉力}}{\text{试样宽度} \times \text{试样平均厚度}}$$

$$\text{断裂伸长率} = \frac{\text{断裂时长度} - \text{原长}}{\text{原长}} \times 100\%$$

1.6 材料吸水性测定

将在一定浓度的丙三醇和 ϵ -聚赖氨酸溶液中浸渍过的纤维素膜放入称量瓶中, 并将称量瓶放入

30 °C 的相对湿度 (92.31±0.60)%^[15] 的干燥器中. 称量放置不同时间后纤维素膜的质量, 当质量不再变化时, 认为吸水达到饱和, 这时纤维素的含水量为纤维素膜在该相对湿度下所含的平衡水分. 将纤维素膜在 105 °C 烘至质量不再改变, 认为此时的质量为绝干质量. 纤维素膜的吸水性由下式计算:

$$\text{吸水率} = \frac{\text{饱和湿质量} - \text{绝干质量}}{\text{绝干质量}} \times 100\%$$

1.7 抑菌性测试

将 BC 湿膜在质量分数分别为 1%、3%、5% 和 10% 的 ϵ -PL 溶液中浸泡过夜, 然后干燥待测.

接一环菌体(大肠杆菌 *Escherichia coli* 或金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*) 于 100 mL 肉汤培养基中, 37 °C 恒温振荡培养 24 h. 接受抗菌测试的样品 (1 cm×1 cm) 事先用高压 121 °C 灭菌 30 min. 每个样品放入 20 mL 细菌肉汤培养基中, 分别加入 0.2 mL 种子液, 用一个不加样品的培养基作为空白. 37 °C 培养 24 h, 测定样品在波长 600 nm 处的吸光度.

2 结果与讨论

2.1 BC 干膜经丙三醇处理后的拉伸强度和断裂伸长率

BC 干膜强度好, 但性脆、韧性小, 用丙三醇处理以提高其柔韧性. BC 干膜经丙三醇处理后的拉伸强度和断裂伸长率见表 1. BC 干膜被 100% 丙三醇处理后断裂伸长率大幅增加, 从原始的 1.01% 增加到 19.29%, 柔韧性得到改善. 经丙三醇处理后, 拉伸强度得到增强, 且拉伸强度随处理丙三醇浓度的增加而增加. 经 100% 丙三醇处理后, 拉伸强度增加了 56%.

表 1 样品经丙三醇处理后的断裂伸长率和拉伸强度
Fig.1 Breaking lengths and tensile strengths of BC films treated by glycerol

样品	断裂伸长率/%	拉伸强度/MPa
空白	1.01	23.85
40%丙三醇处理	14.14	26.06
60%丙三醇处理	17.81	27.66
100%丙三醇处理	19.29	37.31

丙三醇含有大量的羟基, BC 干膜被丙三醇处理后强度得到提高, 原因可能是丙三醇中的羟基加强了 BC 中纤维间的氢键连接, 从而加强了 BC 的网络结构.

2.2 BC 干膜经丙三醇处理后的柔软度

经 100% 丙三醇处理的 BC 干膜的柔软度和国家

标准 A、B、C、D 级皱纹纸的柔软度比较^[16],结果如图 1 所示. 图中的纵坐标数值越小,柔软度越好. 经 100%丙三醇处理的 BC 干膜柔软度为 A 级卫生纸柔软度的 5.5 倍. 经不同质量分数丙三醇溶液处理后的 BC 膜的柔软度如图 2 所示. 由图可知,丙三醇溶液的质量分数越大,处理后的 BC 膜柔软度越好.

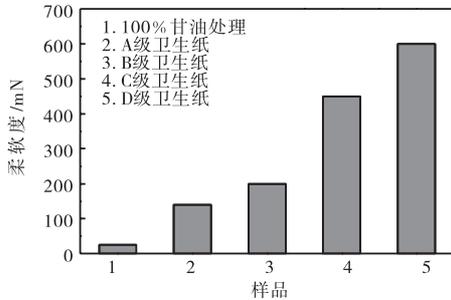


图 1 100%丙三醇处理的 BC 干膜的柔软度与卫生纸国家标准比较
Fig.1 Comparison between softness of 100% glycerol treated BC and state standards of sanitary tissues

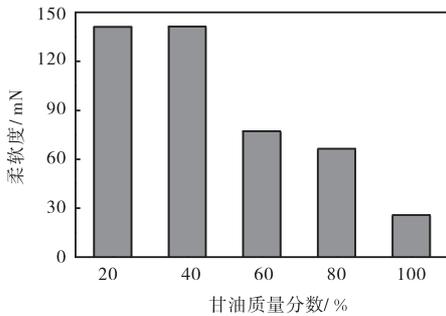


图 2 BC 膜经不同浓度的丙三醇溶液处理后的柔软度
Fig.2 Softness of BC films treated by glycerol solutions of different concentration

2.3 BC 干膜经丙三醇和ε-PL 处理后的吸水性

图3为BC干膜经丙三醇处理后吸水性的变化. 经丙三醇处理后,BC 的吸水性大为增加,经 100%丙三醇处理的 BC 膜,在相对湿度为(92.31±0.60)%的空气中,吸水质量达到自身质量的 14 倍. 丙三醇能够提高柔软度、柔韧性和吸水性的原因在于丙三醇含有丰富的羟基,这些羟基能够吸收空气当中的水分,因此柔韧性和柔软度都得以提高.

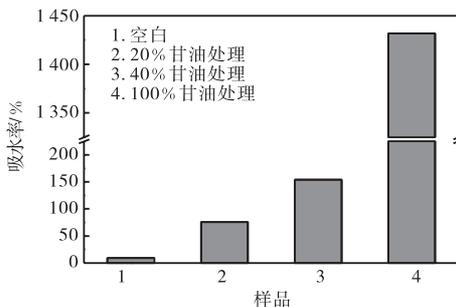


图 3 丙三醇处理后 BC 干膜的吸水性
Fig.3 Water absorbance of BC films treated by glycerol

BC 湿膜经丙三醇溶液处理后干燥,以上提到的各项性能亦可达到同样的效果.

另外,BC 干膜经 10% ε- 聚赖氨酸处理后,吸水性也得到明显改善,从 9.01%提高到 24.7%.

2.4 BC 干膜经ε-PL 处理后的抑菌性

BC 干膜经质量分数分别为 1%、3%、5%和 10%的 ε-PL 溶液处理后,对大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 的抑制效果如图 4 所示. 质量分数为 3% ε-PL 溶液处理后的 BC 膜具有足够的抑菌效果. ε-PL 溶液的质量分数大于 3%时,抑菌效果与 3%时相当,质量分数过大会使 BC 膜的颜色发黄,降低其透光性.

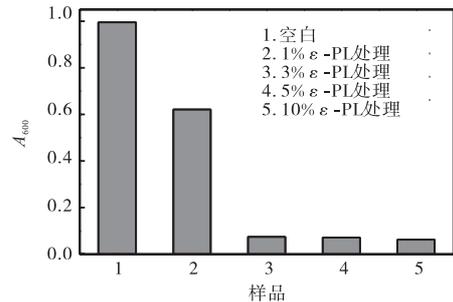


图 4 BC 干膜经ε-PL 处理后对大肠杆菌的抑制效果
Fig.4 Inhibition of *Escherichia coli* by ε-PL treated dried BC

BC 干膜经质量分数分别为 1%、3%、5%和 10%的 ε-PL 溶液处理后对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 的抑制效果如图 5 所示. 由图可知,BC 干膜经过 ε-PL 溶液处理后对金黄色葡萄球菌也有显著的抑制效果. 质量分数为 3% ε-PL 溶液处理后的 BC 膜已经具有较好的抑菌效果.

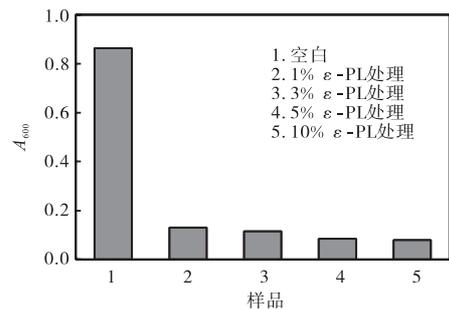


图 5 BC 干膜经ε-PL 处理后对金黄色葡萄球菌的抑制效果
Fig.5 Inhibition of *Staphylococcus aureus* by ε-PL treated dried BC

3 结 论

(1)细菌纤维素干膜经 100%丙三醇处理后,柔软度是 A 级卫生纸国家标准的 5.5 倍,断裂伸长率从 1.01%增加到 19.29%,在相对湿度为(92.31±0.60)%的

空气中,吸收水的质量达到自身质量的14倍。

(2)BC干膜经3% ϵ -PL溶液处理后,对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌有满意的抑菌效果。

(3)BC干膜或湿膜先用 ϵ -PL溶液处理,然后用丙三醇溶液处理,可获得满意的吸水性、柔软度、柔韧性、拉伸强度和抑菌性。

参考文献:

- [1] Brown A J. On an acetic ferment which forms cellulose [J]. Journal of the Chemical Society, 1886, 49:432-439.
- [2] Helenius G, Backdahl H, Bodin A, et al. *In vivo* biocompatibility of bacterial cellulose [J]. Journal of Biomedical Materials Research. Part A, 2006, 76 (2):431-438.
- [3] Hamlyn P F, Crighton J, Dobb M G, et al. Cellulose product:UK, 2314856 [P]. 1998-01-14.
- [4] Ciechańska D. Multifunctional bacterial cellulose/chitosan composite materials for medical applications [J]. Fibres and Textiles in Eastern Europe, 2004, 12 (4):69-72.
- [5] Legeza V I, Galenko-Yaroshevskii V P, Zinov'ev E V, et al. Effects of new wound dressings on healing of thermal burns of the skin in acute radiation disease [J]. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2004, 138 (9):311-315.
- [6] Wan W K, Millon L. Poly(vinyl alcohol)-bacterial cellulose nanocomposite:USA, 20050037082 A1 [P]. 2005-02-15.
- [7] Klemm D, Schumann D, Udhardt U, et al. Bacterial synthesized cellulose-artificial blood vessels for microsurgery [J]. Progress in Polymer Science, 2001, 26 (9):1561-1603.
- [8] Klemm D, Udhardt U, Marsch S, et al. Cellulose, BASYC, bacterially synthesized cellulose. Miniaturized tubes for microsurgery [J]. Polymer News, 1999, 24:377-378.
- [9] Charpentier P A, Maguire A, Wan W, et al. Surface modification of polyester to produce a bacterial cellulose-based vascular prosthetic device [J]. Applied Surface Science, 2006, 252 (18):6360-6367.
- [10] Svensson A, Nicklasson E, Harrah T, et al. Bacterial cellulose as a potential scaffold for tissue engineering of cartilage [J]. Biomaterials, 2005, 26 (4):419-431.
- [11] Sanchavanakit N, Sangrungrangroj W, Kaomong-kolgit R. Cellulose and composite material produced by the process:Japan, JP07238488A2 [P]. 1995-09-12.
- [12] Shima S. Poly-L-lysine produced by *Streptomyces* [J]. Agricultural Biology Chemistry, 1977, 41 (9):1807-1809.
- [13] 吴洁, 刘蓉辉, 庄名扬. 泡菜泡制盐水中乳酸菌的分离和鉴定 [J]. 中国调味品, 1995 (8):16-17.
- [14] Nishikawa M, Ogawa K. Inhibition of epsilon-poly-L-lysine biosynthesis in *Streptomyces* bacteria by short-chain Polyols [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72 (4):2306-2312.
- [15] 张受谦. 化工手册 [M]. 济南:山东科学技术出版社, 1986:557-567.
- [16] 天津造纸研究所, 天津和平造纸厂. QB 3530—1999 皱纹卫生纸 [S]. 北京:中国标准出版社, 2000.