

不同干燥方式对细菌纤维素物理性能的影响

冯劲, 施庆珊, 冯静, 李文茹, 陈爱美, 欧阳友生

(广东省微生物研究所, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东省微生物应用新技术公共实验室, 广东省华南应用微生物重点实验室-省部共建国家重点实验室培育基地, 广东广州 510070)

摘要: 本文考察不同干燥方式对细菌纤维素的物理性能的影响。采取 3 种不同干燥的方法分别对细菌纤维素膜进行干燥, 分别为: 60 °C 烘箱中干燥 (BC-DHT); 在 -20 °C 冷冻结实后冷冻干燥 (BC-FDF); 在液氮中迅速冷冻结实, 然后冷冻干燥 (BC-FDN)。通过扫描电子显微镜观察, BC-FDN 的内部结构比 BC-FDF 和 BC-DHT 更松散。在吸水性能方面, BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 每克纤维素吸水量分别为 2.38 g、6.22 g、58.24 g。在透湿率方面, BC-FDN 的透湿性能最好, 其次为 BC-FDF, 而 BC-DHT 透湿性能最差。对 BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 进行 X 射线衍射分析, 从其衍射图谱分析所得结晶指数分别为 78.5%、64.2%、47.5%。热重分析结果分析所得, BC-DHT 的热稳定性较好, 其次为 BC-FDF, 而 BC-FDN 的热稳定性最差。由此可见, 通过不同的干燥方法能改变细菌纤维素的物理性质。

关键词: 细菌纤维素; 干燥; 物理性能

文章编号: 1673-9078(2013)9-2225-2229

Effects of Different Drying Processes on Physical Properties of Bacterial Cellulose Membranes

FENG Jin, SHI Qing-shan, FENG Jing, LI Wen-ru, CHEN Ai-mei, OUYANG You-sheng

(Guangdong Institute of Microbiology, Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection and Application, Guangdong Open Laboratory of Applied Microbiology, State Key Laboratory of Applied Microbiology (Ministry-Guangdong Province Jointly Breeding Base), South China, Guangzhou 510070, China)

Abstract: The physical properties of bacterial cellulose (BC) prepared using different drying methods were investigated. Three different drying methods for bacterial cellulose membrane included (1) drying at elevated temperature (60 °C) (BC-DHT), (2) freezing at -20 °C, and then freeze-drying (BC-FDF), and (3) shock freezing with liquid nitrogen and subsequently freeze-drying (BC-FDN). The scanning electron microscope (SEM) showed that BC-FDN had larger pores and empty spaces than BC-DHT and BC-FDF. One gram of dry BC samples could absorb 2.38 g, 6.22 g, and 58.24 g water for BC-DHT, BC-FDF, and BC-FDN, respectively. The water vapour transmission rate were in the order of BC-FDN>BC-FDF>BC-DHT. X-ray diffraction (XRD) indicated that the crystallinity indexes of BC samples were 78.5%, 64.2%, and 47.5% for BC-DHT, BC-FDF, and BC-FDN, respectively. Thermogravimetric analysis showed that the thermal stability of BC-DHT was better than those of BC-FDF and BC-FDN. Thus, the physical properties of bacterial cellulose can be altered by different drying methods.

Key words: bacterial cellulose; drying processes; physical properties

纤维素是当今世界上最丰富的可再生高聚物。纤维素大部分来源于植物, 还有部分来自微生物。细菌纤维素 (Bacterial cellulose, 缩写为 BC) 是细菌初级代谢的特定产物, 主要起着保护层的作用。直到 20 世纪下半叶细菌纤维素 (BC) 具有许多独特性质才引起人

收稿日期: 2013-05-20

基金项目: 广东省科技攻关项目 (2011B050300016); 广东省中国科学院全面战略合作项目 (2011B090300018); 佛山市院合作项目 (2012HY100115) 资助
作者简介: 冯劲 (1985-), 男, 助理工程师, 研究方向: 主要从事应用微生物学研究

通讯作者: 施庆珊 (1966-), 男, 研究员, 研究方向: 工业微生物学

们广泛关注。细菌纤维素具有高纯度、高结晶度、高结合水能力、高机械强度和生物相容性好等特点, 故可应用于食品、造纸、医药等领域^[1]。细菌纤维素又被称为椰果, 其含有丰富的优质纤维素, 能促进肠胃蠕动, 防止便秘、改善人体消化功能、预防心血管疾病、美容减肥和防癌的功效。细菌纤维素在食品方面得到广泛应用。在日本, 台湾及东南亚国家中主要应用于果冻、布丁、罐头、饮料等方面, 并且深受欢迎^[2]。但是目前对细菌纤维素的研究主要集中于如何提高细菌纤维素的产量, 降低细菌纤维素的成本。但是对细菌纤维素的处理这方面报道较少^[3]。

本文对细菌纤维素的干燥进行初步研究,分别对3种干燥方法干燥所得的细菌纤维素的理化性质做了较详细的研究与分析。3种干燥的方法分别为:(1)直接在60℃烘箱中干燥(BC-DHT), (2)将细菌纤维素置于-20℃冰箱冷冻结实,再进行冷冻干燥(BC-FDF), (3)将细菌纤维素置于液氮中迅速冷冻结实,再进行冷冻干燥(BC-FDN)。发现不同的干燥方法对细菌纤维素的物理性质产生影响。本研究为本实验室下一步对细菌纤维素进行材料改造和产品研发奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

菌株 AXY-1 为 *Gluconacetobacter intermedius*, 由本实验室筛选并保藏。

培养基

SH: 葡萄糖 20 g/L, 蛋白胨 5 g/L, 酵母膏 5 g/L, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 2.7 g/L, 柠檬酸 1.5 g/L, pH 5.0

A9: 葡萄糖 40 g/L, 酵母膏 1 g/L, 蛋白胨 7 g/L, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 8 g/L, 玉米浆 6 g/L, 乙酸 1.4 mL/L, 乙醇 14 mL/L, pH 6.0

1.2 培养方法

取一环活化好的斜面接种入 SH 培养基中, 28℃ 培养振荡培养 24 h, 摇床转速 120 r/min, 为种子液。再以 10% 的接种量接入 100 mL 的 A9 培养基中, 28℃ 静置培养 14 d。

1.3 产物纯化方法及产物干燥

取出细菌纤维素膜, 去离子水多次冲洗, 除去膜表面杂质及残余的培养基。再将膜浸入 0.1 mol/L NaOH 溶液中, 100℃ 水浴至细菌纤维素膜呈乳白色半透明状。然后用去离子水反复冲洗, 使细菌纤维素膜 pH 值为 7.0。用纱布吸干表面水分, 对产物进行干燥 (1) 置于 60℃ 烘干。(2) 置于 -20℃ 冷冻一夜后, 冷冻干燥。(3) 置于液氮中迅速冻硬后, 冷冻干燥。

1.4 实验方法

1.4.1 形态观察

通过直接观察和电子扫描显微镜对不同方法干燥所得产物进行形态结构分析。

1.4.2 X 射线衍射 (XRD) [4]

X 射线衍射用铜镍发射靶, 波长 $\lambda=0.15406$ nm, 加速电场 36 kV, 电流 20 mA, 将干纤维素膜固定在旋转靶上, 扫描步长 0.01°, 扫描 5°~40°。

结晶指数根据 Segal 公式^[5]:

$$CrI = \frac{I_{200} - I_{\text{amorph}}}{I_{200}} \times 100\%$$

注: CrI 为结晶指数, I_{200} 为主结晶峰 200 的最大衍射强度, I_{amorph} 指无定型区对应峰的强度, 一般指 $2\theta=18^\circ$ 所对应的峰高。

1.4.3 不同方法干燥所得产物的吸水性能研究
精密电子天平称量不同方法干燥所得细菌纤维素质量。将干膜置于去离子水中 37℃ 浸泡 24 h, 以 6 000 r/min 离心 30 min, 所得膜定义为细菌纤维素吸水后的湿重。

$$\text{干的细菌纤维素吸水性} = \frac{\text{吸水后的湿重} - \text{干重}}{\text{干重}}$$

1.4.4 不同方法干燥所得产物的透湿性能研究 [6]

向小瓶子装入研细的干燥过的 CaCl_2 , 并且振荡均匀, 使干燥剂的平面离瓶口 1.5 cm。将不同方法干燥的细菌纤维素膜覆盖在瓶口, 并用橡皮筋扎紧, 组成试验组合体。用橡胶塞盖紧装有干燥剂的小瓶, 组成空白试验组合体。试验组合体和空白试验组合体称重后, 全放置在干燥器中。实验前, 在干燥器中放入一杯饱和 K_2SO_4 溶液, 并将干燥器放置在 25℃ 中, 使干燥器内部的相对湿度维持在 $97.3 \pm 0.5\%$ [7]。一小时称量实验组合体和空白组合体的重量。瓶口的面积 A 为 0.00020096 m^2 。

$$\text{透湿率(WVT)} = \frac{\Delta m - \Delta m'}{A \cdot t}$$

式中 Δm 为同一试验组合体两次称量之差, $\Delta m'$ 为空白试验组合体两次称量之差, t 为试验时间。

1.4.5 热重分析 [8]

取约 2.5 mg 不同方法干燥所得细菌纤维素, 并且剪碎平铺于铂坩埚中。在氮气氛围中进行 3.5 K/min 程序升温, 升温至 800℃, 得 TG 和 DTG 图。

2 结果与分析

2.1 外观形态和微观结构观察

从外观观察不同干燥方法处理的细菌纤维素其形态差异很大, 如图 1 所示。BC-DHT 纤维素膜干燥收缩成纸片状, 而且表面平滑, 具有一定的透光性。BC-FDF、BC-FDN 具有一定厚度, BC-FDF 干燥时的上表面较硬, 下表面较软。BC-FDN, 干燥后表面会有较多的裂痕, 整块松软呈海绵状。

通过扫描电子显微镜可以观察细菌纤维素的微观结构, 图 2 为扫描电子显微镜下细菌纤维素的表面结构, BC-DHT 的纤维排列致密, 网状结构微孔洞较小。

BC-FDF 的部分纤维排列较致密, 形成各种大小各异的网状结构微孔洞。BC-FDN 纤维排列混乱, 形成网状结构松散, 形成大小各异的网状结构微孔洞。图 3 为扫描电子显微镜下细菌纤维素的纵切面结构, 显示出 BC-DHT 纤维素层间结构比 BC-FDF, BC-FDN 更为紧密。而 BC-FDN 的纵切面结构与表面结构差异不大。



图 1 细菌纤维素膜外观形态

Fig.1 Morphology of differently dried BC

注: A: BC-DHT、B: BC-FDF、C: BC-FDN。

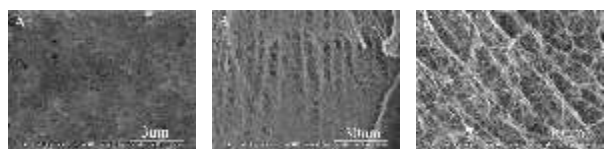


图 2 扫描电子显微镜观察细菌纤维素的表面结构

Fig. 2 Scanning electron micrograph of the surface of differently dried BC

注: A: BC-DHT、B: BC-FDF、C: BC-FDN。

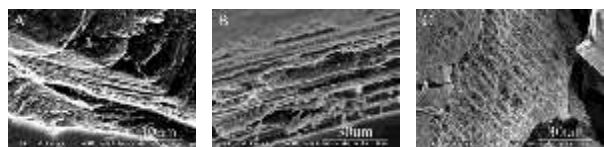


图 3 扫描电子显微镜观察细菌纤维素的纵切面结构

Fig.3 Scanning electron micrograph of the cross section of differently dried BC

注: A: BC-DHT、B: BC-FDF、C: BC-FDN。

三种方法干燥的细菌纤维素的外观上有较大的差异, 造成这种现象主要为干燥过程的差异。BC-DHT 直接在 60 °C 烘箱中干燥, 这种对流干燥方式, 热空气直接与膜直接接触, 使细菌纤维素膜内部与和表面产生湿分差, 从而细菌纤维素膜皱缩, 纤维不断堆积层叠, 使原始水所占的空隙被堆积的纤维所占据^[9,10]。冷冻干燥是物料在冻结状态下干燥的, 使干燥后物料仍保持原有的物理结构。冻结过程就成了影响细菌纤维素的形态的关键因素。在冰箱-20 °C 中预冻结, 冻结速度较慢, 细菌纤维素膜表面形成大块冰晶, 水冷却成冰, 体积变大, 挤压细菌纤维素膜内部的纤维, 使内部的纤维排列变得紧密。在液氮中预冻结, 液氮的渗透能力强, 并且冷冻能力高, 迅速将细菌纤维素膜的水冻结成小冰晶体, 对内部纤维影响很小, 使 BC-FDN 干燥后还保持原来的结构^[10]。

2.2 X 射线衍射对不同方法干燥细菌纤维素的分析

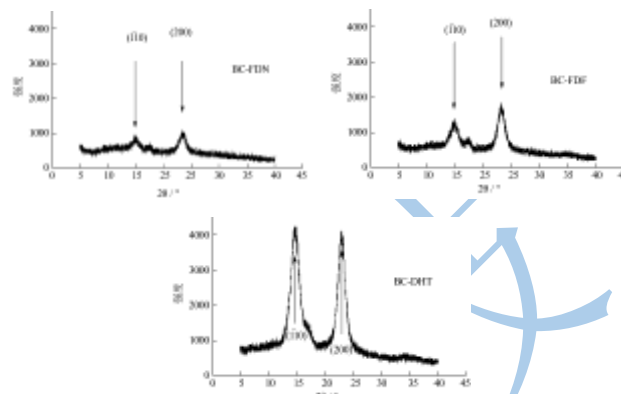


图 4 细菌纤维素的 X 光衍射图

Fig.4 X-ray diffraction patterns of differently dried BC

X 射线衍射可以用来分析纤维素的结晶状况, X 射线衍射强度曲线计算出样品的结晶指数。图 4 为不同方法干燥所得细菌纤维素的 X 射线衍射图谱。其衍射峰 2θ 角度大致相同, 表明不同方法干燥细菌纤维素并没有改变其纤维素结晶的晶型, 都为纤维素 I 型。BC-DHT 的 (110) 和 (200) 峰都比 BC-FDF 和 BC-FDN 的 (110) 和 (200) 峰高, X 射线穿过样品, 样品中的晶体被作为 X 射线的光栅, 从而对入射的 X 射线发生衍射现象。从而衍射射线的强度越大, 代表其样品中的结晶所占比例越大^[11]。同时根据 Segal 公式所得, BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 的结晶指数为 78.5%、64.2%、47.5%。反映出 BC-DHT 结晶度比 BC-FDF 和 BC-FDN 的高。可能 BC-DHT, BC-FDF 在干燥的过程中受到物理的挤压, 使纤维素分子间的距离变小, 有利于纤维素分子间的氢键的形成。同时 BC-DHT 在温度高的环境干燥, 更有利于纤维的结晶。

2.3 吸水性能

BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 每克干纤维素膜的吸水量分别为 2.38 g、2.38 g、58.24 g, 而没有干燥的纤维素膜含水量达 88.26 g (表 1)。BC-FDN 每克吸水的量达到还没干燥的纤维素膜的 65.9%。而 BC-DHT 和 BC-FDF 的吸水能力分别只达到 BC-FDN 的 4.1%、10.7%。图 5 为 BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 吸水后的膜的外观形态和未干燥的细菌纤维素的外观。BC-FDN 吸水后形态与未干燥的细菌纤维素膜的差别不大, 能恢复一定厚度。BC-FDF 吸水后能部分恢复一点厚度, 而 BC-DHT 吸水后几乎不能恢复厚度。其中 BC-DHT, BC-FDF 内部纤维排列紧密, 空洞的空

间较小,难以容纳较多的水分子。而 BC-FDN 内部纤维松散,可以容纳大量的水分子。其次,BC-DHT,BC-FDF 的结晶指数较高,即纤维内部具有大量氢键,进而阻碍水分子进入纤维内部,因此在重新吸水时难以恢复原先的水凝胶状态,使 BC-DHT,BC-FDF 吸水能力大大降低。BC-FDN 的结晶指数低,反映了其内部纤维所形成的氢键较少,水分子容易进入纤维内部,使 BC-FDN 吸水后几乎恢复未被干燥的细菌纤维素膜的状态^[12]。

表 1 不同方法干燥的细菌纤维素膜的吸水量

Table 1 The water holding capacity of differently dried BC

样品	吸水量/(g 水/g 干膜)
对照(未干燥)	88.26±0.05
BC-DHT	2.38±0.29
BC-FDF	6.22±0.89
BC-FDN	58.24±0.57

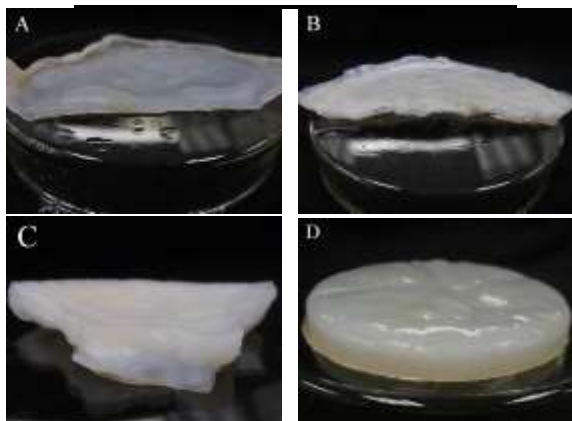


图 5 细菌纤维素膜吸水后表现图

Fig.5 Image of rewetted BC

注: A: BC-DHT, B: BC-FDF, C: BC-FDN, D: 未干燥。

2.4 透湿性能

细菌纤维素为网状结构微孔洞结构,对小分子气体(氮气、氧气、二氧化碳和水蒸气等)有一定的阻隔能力。而透湿性反映水蒸气通过测试样品的能力。通过透湿性测试反映不同方法干燥的细菌纤维素对小分子气体的阻隔能力。透湿率指样品在一定压力,温度和湿度条件下,单位时间和单位面积内透过水蒸气的重量。不同方法干燥的细菌纤维素膜的透湿率结果,见表 2。BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 每克干纤维素透湿率分别为 38.07 g/(m²·h)、60.71 g/(m²·h)、103.25 g/(m²·h)。BC-FDN 的透湿率分别比 BC-DHT 和 BC-FDF 高 63.1%和 41.2%。而滤纸透湿率只为 97.5 g/(m²·h),BC-FDN 的透湿率比滤纸还高出 5.6%。由扫描电子显微镜图 2、3 所得,BC-FDN 内部具有松散

的网状结构空洞,使水蒸气极易通过。而 BC-DHT,BC-FDF 内部纤维排列紧密,从而阻碍水蒸气透过。

表 2 不同方法干燥的细菌纤维素膜的透湿率

Table 2 The water vapour transmission rate of differently dried

BC	
样品	透湿率(WVT)/[g/(m ² ·h)]
BC-DHT	38.07±3.17
BC-FDF	60.71±4.22
BC-FDN	103.25±3.17

2.5 热重分析

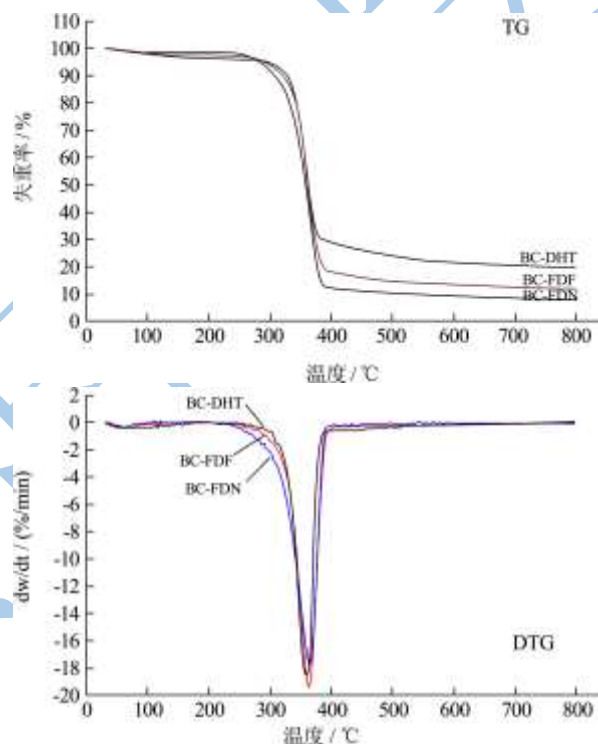


图 6 细菌纤维素的 TG 曲线和 DTG 曲线

Fig.6 TG curves and DTG curves of differently dried BC

热重分析是在程序控制温度下,测定物质的质量与温度变化关系,反映物质的热分解性能。TG 曲线图中在 35 °C~150 °C 阶段,BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 的质量有轻微的下陷,BC-DHT 质量下降较大。这个阶段为纤维素物理吸附的水进行解吸,导致质量轻微下降。DTG 曲线图中,样品 BC-FDN 最先进入反应失重温度,BC-DHT 最慢在 256.0 °C 才进入反应失重温度。随着温度上升失重速率不断加快,样品 BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 分别在 360.9 °C、364.7 °C、366.3 °C 达到失重速率最大值。之后 BC-DHT 在 395.2 °C 结束其反应失重,而 BC-FDF 和 BC-FDN 在 400 多度才结束其反应失重。在这个急速失重的阶段,纤维素结构中糖苷键断裂,同时部分 C-O 键和 C-C 键也开始断裂,产生一些新产物和低分子量的挥

发性化合物。在 400 多度至 800 °C 过程中, 从 TG 曲线图观察所得样品的质量在缓慢下降。在这个阶段, 纤维素结构的残余部分进行芳环化, 逐步形成石墨结构, 同时形成的新产物中的化学键断裂形成分子量更低的挥发性化合物^[13]。样品 BC-DHT、BC-FDF、BC-FDN 的残留质量占原始质量的比分别为 19.66%、11.90%、7.86%。由 TG 曲线图推得 BC-DHT 的热稳定性较好, 其次为 BC-FDF, 而 BC-FDN 的热稳定性最差。

表 3 不同方法干燥的细菌纤维素膜的热重分析的特征数据

样品	BC-DHT	BC-FDF	BC-FDN
起始失重温度/°C	256.0	237.1	214.9
失重结束温度/°C	395.2	406.1	405.3
最大失重速率温度/°C	360.9	364.7	366.3
残留质量占原始质量的比/%	19.66	11.90	7.86

3 结论

3.1 不同的干燥方式使细菌纤维素的外观有较大的差异, 其内部结构发生不同的变化, 进而对其物理性质产生影响。

3.2 将细菌纤维素湿膜直接在 60 °C 烘箱中干燥 (BC-DHT), 干燥后其内部纤维排列紧密, 网状结构微孔洞较小, 并且具有很高的结晶指数, BC-DHT 的结晶指数达 78.5%, 同时具有很好的热稳定性, 在 256.0 °C 就开始失重, 在 800 °C, 失重率达 80.34%。但 BC-DHT 的吸水性和透湿性能力较差, 每克 BC-DHT 能吸水 2.38 g, 和透湿性 38.07 g/(m²·h)。

3.3 将细菌纤维素湿膜置于液氮中迅速冷冻结实, 再进行冷冻干燥 (BC-FDN)。干燥后其内部纤维排列混乱, 形成网状结构松散, 形成很多大小各异的网状结构微孔洞, 并且其结晶指数较低, 只达到 47.5%。因而使 BC-FDN 具有很好的吸水性和透湿性, 每克 BC-FDN 能吸水 58.24 g, 和透湿性达到 103.25 g/(m²·h)。但是热稳定性差, 在 214.9 °C 就开始失重, 在 800 °C, 失重率达 92.14%。

3.4 将细菌纤维素湿膜置于-20 °C 冰箱冷冻结实, 再进行冷冻干燥 (BC-FDF)。BC-FDF 的物理性质介于 BC-DHT 和 BC-FDN 之间。干燥后其内部部分纤维排列较致密, 形成较多网状结构微孔洞, 其结晶指数为 64.2%。每克 BC-FDF 能吸水 6.22 g, 及其透湿性为 60.71 g/(m²·h)。BC-FDF 在 237.1 °C 就开始失重, 在 800 °C, 失重率达 88.1%。

[12] Sang Youn Oh, Dong Il Yoo, Younsok Shin, et al.

参考文献

- [1] S J Eichhorn, A Dufresne, M Aranguren, et al. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites [J]. *Journal of Materials Science*, 2010, 45(1): 1-33
- [2] 孙东平,徐军,周伶俐,等.醋酸杆菌发酵生产细菌纤维素的研究进展[J].*生物学杂志*,2004,21(1):12-22
Sun D P, Xu J, Zhou L L, et al. Advances on bacterial cellulose fermented by *Acetobacter* [J]. *Journal of Biology*, 2004, 21(1): 12-22
- [3] 施庆珊.细菌纤维素的研究进展[J].*生物学杂志*,2004,21(5): 12-15
Shi Q S. Advances on bacterial cellulose [J]. *Journal of Biology*, 2004, 21(5): 12-15
- [4] 周伶俐,孙东平,吴清杭,等.不同培养方式对细菌纤维素产量和结构性质的影响[J].*微生物学报*,2007,47(5):914-917
Zhou L L, Sun D P, Wu Q H, et al. Influence of culture mode on bacterial cellulose production and its structure and property [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2007, 47(5): 914-917
- [5] L Segal J J, Creely AE, Martin Jr, et al. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer [J]. *Textile Research Journal*, 1959, 29(10): 786-794
- [6] GB/T 12704.1-2009,纺织品织物质透湿性试验方法第 1 部分: 吸湿法[S]
- [7] GB/T 12704.1-2009, Textiles-Test method for water-vapour transmission of fabrics-Part 1: Desiccant method[S]
- [8] Tzheung Lu, Chiachung Chen. Uncertainty evaluation of humidity sensors calibrated by saturated salt solutions [J]. *Measurement*,2007, 40(6): 591-599
- [9] Johnsy George, V A Sajeekumar, R Kumar, et al. Enhancement of thermal stability associated with the chemical treatment of bacterial (*Gluconacetobacter xylinus*) cellulose [J]. *Journal of applied polymer science*, 2008, 108(3): 1845-1851
- [10] 孙彦.生物分离工程[M].北京:化学工业出版社,2005
Sun, Y. *Biological Separation Engineering* [M]. *Chemical Industry Press*, 2005
- [11] 黄亚东.化工原理[M].北京:中国轻工业出版社,2006
Huang Y D. *Principles of Chemical Engineering* [M]. *Beijing: China Light Industry Press*, 2006

Crystalline structure analysis of cellulose treated with sodium

- hydroxide and carbon dioxide by means of X-ray diffraction and FTIR spectroscopy [J]. Carbohydrate Research, 2005, 340(15): 2376-2391
- [13] C Clasen, B Sultanova, T Wilhelms, et al. Effects of Different Drying Processes on the Material Properties of Bacterial Cellulose Membranes. Macromolecular Symposia [J]. 2006, 244(1): 48-58
- [14] 陈国符, 邬义明. 植物纤维化学[M]. 北京: 轻工业出版社, 1980
- Chen G F, Wu Y M. Chemical Plant Fiber [M]. Beijing: Light Industry Press, 1980

现代食品科技