

doi:10.3969/j.issn.1001-3539.2016.08.004

细菌纤维素/肝素复合物的制备与力学性能^{*}

陈丹丹,陈袁曦,张雅琴,周晓东

(华东理工大学化学工程联合国家重点实验室,上海 200237)

摘要:采用浸泡和交联法将肝素(Hep)固定在细菌纤维素(BC)上,研究了BC/Hep复合物的结构与力学性能。傅立叶变换红外光谱结果表明,BC结构中出现了Hep的特征吸收峰;扫描电子显微镜和X射线衍射显示,浸泡或交联后,在Hep的作用下,BC的结构变得紧密,结晶度下降,晶粒尺寸增大,其中交联法制备的复合物的结构与结晶性能变化更为明显。拉伸性能实验表明,与纯BC相比,浸泡和交联制备的BC/Hep复合物力学性能增强,交联法制备的复合物力学性能优于浸泡法,Hep溶液浓度为1.5 g/100 mL时其拉伸强度最大,可达到177.82 MPa,与纯BC相比提高了76.3%。

关键词:细菌纤维素;肝素;复合物;微观结构;力学性能

中图分类号: TQ321.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3539(2016)08-0018-04

Preparation and Mechanical Properties of Bacterial Cellulose/Heparin Composites

Chen Dandan, Chen Yuanxi, Zhang Yaqin, Zhou Xiaodong

(State Key Laboratory of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

Abstract: Heparin was immobilized within bacterial cellulose by immersing and crosslinking to produce bacterial cellulose/heparin composites. The structure and mechanical properties of the composites were also studied. FTIR results show that the characteristic peaks of heparin present in the structure of bacterial cellulose, SEM and XRD reveal that after immersing or crosslinking, under the effect of heparin, the microstructure of bacterial cellulose becomes more dense and has lower crystallinity and bigger crystalline sizes, the structure and crystallinity of the composite prepared by crosslinking method have more obvious changes. Tensile property test shows that immersing and crosslinking all can improve the mechanical properties of bacterial cellulose/heparin composites, and the improving effect of crosslinking method is better than that of immersing method. When the concentration of heparin solution is 1.5 g/100 mL, the tensile strength of crosslinked composite comes up to the maximum value 177.82 MPa, increases by 76.3% than that of the pure bacterial cellulose.

Keywords: bacterial cellulose; heparin; composite; microstructure; mechanical property

细菌纤维素(BC)是由微生物发酵产生的天然高聚物,和植物纤维具有相同的化学结构^[1]。BC具有许多独特的性质,如高强度、高结晶度、高持水性、超细纳米纤维网络等,已被广泛应用于许多领域。另外,良好的生物相容性和生物可降解性,使得BC在相关生物医学和生物技术方面的应用得到人们的广泛关注^[2]。BC在生物医用材料中可作为人工皮肤、人工血管、组织工程支架^[3-7]等,并且有着良好的应用前景。BC虽有很多的生物学特性,但将其具体应用于医用材料时,与血液直接接触,仍需要对其进行一些表面改性,以使其具有更好的血液相容性和组织相容性。

肝素(Hep)是一种酸性粘多糖,在临床上作为抗凝血药物广泛使用。肝素结构中含有大量的磷酸

基与羧基^[8],因而带有很强的负电荷,可增加血细胞表面和血管壁的负电荷,增强其相互间的排斥性,具有抗聚集作用^[9],以减少血栓的发生。将生物材料进行Hep固定是提高其凝血性能最有效的方法^[10]。

笔者采用浸泡和交联两种方法,制备BC/Hep复合物。BC和Hep复合,不仅保持纤维素材料的理化特性及纳米纤维网络结构,又能将Hep引入到材料结构中,使复合材料同时拥有了两者的优点,因此BC/Hep复合物对于BC生物医用材料的研究

^{*} 中央高校基本科研业务费专项基金项目

联系人:周晓东,教授,主要从事聚合物基复合材料制备及成型技术、聚合物材料的界面和嵌段共聚物的组装行为及相关功能材料的研究

收稿日期:2016-05-10

和应用具有重大意义。生物医用材料除了具有良好的生物相容性外,还需具备良好的力学性能,因此除了利用傅立叶变换红外光谱 (FTIR)、扫描电子显微镜 (SEM) 以及 X 射线衍射 (XRD) 对两种方法制备的复合物进行微观结构分析外,还对复合物的力学性能进行研究。通过力学性能测试,分析 BC/Hep 复合物较优的制备方法。

1 实验部分

1.1 主要原料

木醋杆菌: A.xylinum 1.1812, 中科院微生物研究所;

酵母浸膏: 生物纯, 上海天莲化工科技有限公司;

葡萄糖、无水乙醇、氢氧化钠: 分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司;

2- 吗琳乙烷磺酸 (MES, 纯度 $\geq 99\%$), N- 羟基丁二酰亚胺 (NHS, 纯度 $>98\%$) 和 1-(3- 二甲基氨基丙基)-3- 乙基碳二亚胺 (EDC, 分析纯): 合肥博美生物科技有限公司;

Hep: 北京亿泰科华生物技术有限公司。

1.2 主要仪器与设备

FTIR 仪: Thermo Nicolet 5700 型, 美国 Nicolet 公司;

SEM: S-4800 型, 日本 Hitachi 公司;

XRD 仪: D/max 2550V 型, 日本理学公司;

动态机械热分析仪: DMAQ800 型, 美国 TA 公司。

1.3 BC 膜的制备

将酵母浸膏、葡萄糖、无水乙醇加入去离子水中, 三者的浓度分别为 1.5 g/100 mL, 7 g/100 mL, 1 mL/100 mL, 利用 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节 pH 值为 6.8, 高温灭菌, 然后接种木醋杆菌, 之后于 30 °C 恒温培养 10 d 后取出 BC 膜, 经 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液提纯处理后, 用去离子水冲洗至其表面呈中性。将 BC 膜置入去离子水中, 于冰箱 4 °C 下保存备用。

1.4 BC/Hep 复合物的制备

(1) 浸泡法制备 BC/Hep 复合物。

在 100 mL 去离子水中分别加入 0.1 g, 0.5 g, 1.0 g 和 1.5 g Hep, 溶解后得到 Hep 溶液, 将 BC 湿膜放入不同浓度的 Hep 溶液中, 室温下搅拌 1 h, 去离子水冲洗 24 h, 烘干。以 Hep 溶液的浓度表示 Hep 的用量, 分别为 0.1 g/100 mL, 0.5 g/

100 mL, 1.0 g/100 mL, 1.5 g/100 mL。

(2) 交联法制备 BC/Hep 复合物。

在 MES 缓冲液中加入交联剂 EDC 和 NHS, 再加入 Hep 溶液 (Hep 溶液浓度同上) 和 BC 湿膜, 室温下搅拌 1 h。Na₂HPO₄ 溶液清洗 2 次终止反应, 1 mol/L 的 NaCl 溶液和去离子水分别冲洗 24 h, 烘干。

1.5 测试与表征

(1) FTIR 测试。

采用 KBr 压片制样, 对复合干膜进行 FTIR 分析。

(2) SEM 观察。

将 BC 和 BC/Hep 复合物冷冻干燥 24 h, 真空喷金, 在 SEM 下观察断面形貌并拍照。

(3) XRD 测试。

Cu 靶, 管流 100 mA, 40 kV 高压, 扫描范围为 $2\theta=3^\circ\sim50^\circ$, 由式 (1) 计算结晶度。

$$\text{结晶度} = [(I_{200} - I_{am}) / I_{200}] \times 100\% \quad (1)$$

式中: I_{200} —— $2\theta=22^\circ$ 的最大衍射强度;

I_{am} —— $2\theta=18^\circ$ 的最大衍射强度。

晶粒尺寸可通过 Scherrer 公式 (式 2) 计算得出。

$$\text{晶粒尺寸} = K\lambda / B\cos\theta \quad (2)$$

式中: K ——Scherrer 常数, 取值 0.89;

λ ——X 射线的波长;

B ——实测样品衍射峰的半高宽度;

θ ——衍射角。

在计算过程中, B 和 θ 需转化为弧度制。

(4) 力学性能测试。

拉伸试样为 80 °C 下烘干的干膜, 所有试样均在 30 °C, 60% 相对湿度的条件下放置 24 h, 消除环境因素的影响。试样的长度为 30 mm, 宽度为 3 mm, 用测厚仪测出每个试样的厚度, 按照式 (3) 计算拉伸强度。测量时的夹持长度为 15 mm, 负荷提升的速度为 1 N/min, 每组实验至少测量 10 个试样, 求其平均值以及标准偏差。

$$\sigma_t = F_t / bd \quad (3)$$

式中: σ_t ——拉伸强度;

F_t ——拉伸最大载荷;

b ——试样原始宽度;

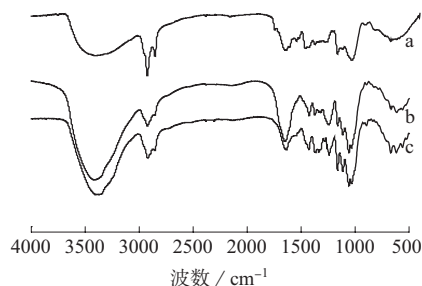
d ——试样原始厚度。

2 结果与讨论

2.1 FTIR 分析

图 1 为纯 BC 和不同方法制备的 BC/Hep 复

合物的 FTIR 谱图。由图 1 可知, 3430 cm^{-1} 处出现 —OH 的伸缩振动, 2900 cm^{-1} 处为 $\text{—CH}_2\text{—}$ 的伸缩振动吸收峰, $1160\sim 1060\text{ cm}^{-1}$ 和 898 cm^{-1} 是糖苷键 C—O—C 的特征吸收峰, 与 BC 的结构基本吻合, 证明浸泡交联不改变复合物的基本骨架。BC/Hep 复合物在 1230 cm^{-1} 处出现了 Hep 的特征吸收峰^[11], 为 S=O 的不对称伸缩振动峰。同时, 3430 cm^{-1} 处 —OH 的特征吸收峰高明显增加, 而 Hep 中含有大量的 —OH , 说明 Hep 成功复合在纯 BC 上。

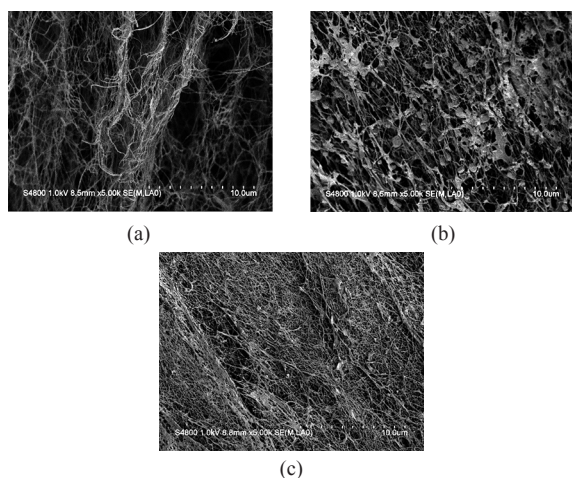


a—BC ; b—浸泡法 BC/Hep ; c—交联法 BC/Hep

图 1 纯 BC 和不同方法制备的 BC/Hep 复合物的 FTIR 谱图

2.2 SEM 分析

图 2 为纯 BC 和不同方法制备的 BC/Hep 复合物的 SEM 照片。从图 2a 中可观察到纯 BC 中的纳米纤维和层状结构, 网络结构由纤维交错而成, 单根纤维表面光滑无附着物, 纤维间的空隙较大。图 2b 显示, BC/Hep 复合物微纤间团聚大量 Hep, 纤维结构紧密, 层状结构消失。交联后, 过量 Hep 填充到 BC 网络结构的网孔中, 填补缺陷, 形成更致密的结构。



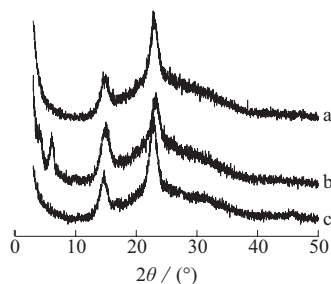
a—BC ; b—浸泡法 BC/Hep ; c—交联法 BC/Hep

图 2 纯 BC 和不同方法制备的 BC/Hep 复合物的 SEM 照片

2.3 结晶性能分析

图 3 为纯 BC 和不同方法制备的 BC/Hep 复合物的 XRD 图。由图 3 可以看出, 复合物和纯 BC

谱图基本一致, 依然呈现典型的纤维素 I 型的晶体特征。计算 3 种材料的结晶指数和晶粒尺寸, 结果见表 1。



a—BC ; b—浸泡法 BC/Hep ; c—交联法 BC/Hep

图 3 纯 BC 和不同方法制备的 BC/Hep 复合物的 XRD 图

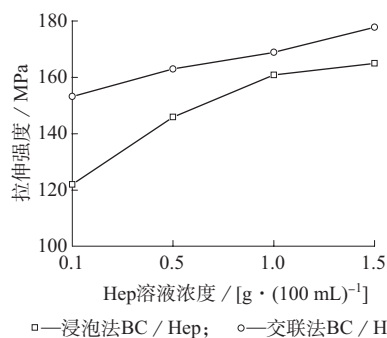
表 1 不同材料的面间距、晶粒大小以及结晶度

材料类型	面间距 / nm			晶粒尺寸 / nm	结晶度 / %
	110	100	200		
BC	0.594		0.393	7.72	97.21
浸泡法 BC/Hep	0.608	0.492	0.392	7.85	94.32
交联法 BC/Hep	0.609	0.492	0.391	8.12	91.55

和纯 BC 相比, BC/Hep 复合物 (110) 面的布拉格角较小, 面间距较大, β 晶型含量低^[12], 结晶尺寸增大, 结晶指数明显降低, 表明 Hep 干扰了 BC 膜在干燥过程中的结晶。一方面, Hep 包覆于 BC 微纤表面, 阻碍了 BC 分子的相互接近, 影响干燥过程中的结晶; 另一方面, Hep 的极性含氧基团可与 BC 上的羟基形成氢键, 降低纤维素分子内和分子间的氢键作用, 从而降低复合物的结晶度。交联后, 纤维素微纤表面包覆的 Hep 量增多, 干扰作用增强, 交联复合物的结晶尺寸增大, 结晶度进一步降低。

2.4 力学性能分析

图 4 为不同方法制备的 BC/Hep 复合膜的拉伸强度。



□—浸泡法 BC/Hep ; ○—交联法 BC/Hep

图 4 不同方法制备的 BC/Hep 复合物的拉伸强度

纯 BC 膜的拉伸强度为 100.87 MPa , 由图 4 可知, 浸泡与交联制备的复合物力学性能均优于纯 BC, 且拉伸强度随着溶液 Hep 浓度的增加而增大。浸泡和交联制备的 BC/Hep 复合物拉伸强度最高可达到 165.02 MPa 和 177.82 MPa , 与纯 BC 膜相

比,分别增加了 63.6% 和 76.3%。Hep 进入 BC 网络结构中,纤维素结构更加紧密,力学性能提高。交联剂的加入使 Hep 与 BC 间的作用力由氢键转变为更加牢固的化学键,复合物结构更加紧密,力学性能进一步提高,SEM 照片亦证实了这一点。

3 结论

(1) 采用浸泡法和 EDC/NHS 化学交联法可制备 BC/Hep 复合物。FTIR 结果表明,复合物中出现了 Hep 的特征吸收峰。SEM 和 XRD 结果显示,加入 Hep 后 BC 的微观结构发生变化,结构更加紧密,结晶度下降,晶粒尺寸增大,其中交联法制备的复合物的结构和结晶性能变化更为明显。

(2) 浸泡和交联法制备的复合物拉伸强度均有较大提高。交联法制备的 BC/Hep 复合物力学性能优于浸泡法,相比于纯 BC,拉伸强度最大提高了 76.3%。

参考文献

- [1] Shi Z, Zang S, Jiang F, et al. In situ nano-assembly of bacterial cellulose polyaniline-composites[J]. Rsc Advances, 2012, 2(3):1 040-1 046.
- [2] Shah N, Ul-Islam M, Khattak W A, et al. Overview of bacterial cellulose composites:A multipurpose advanced material[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(2):1 585-1 598.
- [3] Petersen N, Gatenholm P. Bacterial cellulose-based materials and medical devices:Current state and perspectives[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2011, 91(5):1 277-1 286.
- [4] Yadav V, Sun L, Panilaitis B, et al. In vitro chondrogenesis with lysozyme susceptible bacterial cellulose as a scaffold[J]. Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine, 2015, 9(12):E276-E288.
- [5] Malm C J, Risberg B, Bodin A, et al. Small calibre biosynthetic bacterial cellulose blood vessels:13-months patency in a sheep model[J]. Scandinavian Cardiovascular Journal, 2012, 46(1):57-62.
- [6] Shi Q, Li Y, Sun J, et al. The osteogenesis of bacterial cellulose scaffold loaded with bone morphogenetic protein-2[J]. Biomaterials, 2012, 33(28):6 644-6 649.
- [7] Liu X, Ma Y, Zhou Y, et al. A promising hybrid scaffold material:Bacterial cellulose in-situ assembling biomimetic lamellar CaCO_3 [J]. Materials Letters, 2013, 102:91-93.
- [8] 王小梅. 肝素化壳聚糖,大豆蛋白质复合材料的制备及其抗凝血功能研究[D]. 武汉:武汉大学,2011.
Wang Xiaomei. Preparation and evaluation of heparinized chitosan / soy protein composites as anticoagulant materials[D]. Wuhan:Wuhan University, 2011.
- [9] 王鸿利. 肝素临床应用[M]. 郑州:河南医科大学出版社,1999.
Wang Hongli. Clinical application of heparin[M]. Zhengzhou:Henan Medical University Press, 1999.
- [10] Fernández-Muñoz T, Recha-Sancho L, López-Chicón P, et al. Bimolecular based heparin and self-assembling hydrogel for tissue engineering applications[J]. Acta biomaterialia, 2015, 16:35-48.
- [11] 李园园. 细菌纤维素血管支架的制备及改性[D]. 天津:天津大学, 2009.
Li Yuanyuan. Preparation and modification of bacterial cellulose vascular stents[D]. Tianjing:Tianjing University, 2009.
- [12] 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 Lingli, Sun Dongping, Wu Qinghang, et al. Influence on yield and structure properties of bacterial cellulose produced by different methods[J]. Journal of Microbiology, 2007, 47(5):914-917.

优惠销售中国工程塑料复合材料技术研讨会《论文集》及论文集光盘

中国合成树脂供销协会加工与应用分会为了配合 2000~2015 年先后召开的中国工程塑料复合材料技术研讨会,共编辑、出版了 16 本《论文集》。其内容涉及工程塑料及通用塑料的合成与改性、加工、应用、测试、模具、设备新技术,以及文献综述、评论等,突出了我国工程塑料行业发展规划、热点分析。现尚有部分《论文集》,以及应广大读者要求加工制作的论文集光盘,现以优惠价格(含邮费)销售,欢迎订阅。

1. 2004~2015 年中国工程塑料复合材料技术研讨会《论文集》,优惠价 350 元/套。

2. 2000~2015 年中国工程塑料复合材料技术研讨会论文集光盘,优惠价 300 元/盘。本光盘除收录 2000~2015 年 16 本《论文集》的全部内容外,还包括约 3 100 人次的会议代表通讯录。

邮局汇款

收款地址:山东济南市天桥区田庄东路 3 号

收款单位:《工程塑料应用》杂志社

邮编:250031

电话:(0531)85878223 85878057 85878278

传真:(0531)85947355

银行汇款

户名:山东非金属材料研究所

开户银行:济南市工商银行经十一路支行

帐号:1602001229014425546

网上订购: <http://www.epa1973.com>