

可溶性 BVP 功能树脂组成对抗菌活性的影响*

宗敏华 刘 耘 刘丽卿 卢耀华 李光吉**

(华南理工大学生物工程系 广州 510641)

摘要 系统地研究了可溶性 BVP 树脂对 *Escherichia coli* 的抗菌作用,探讨了树脂的吡啶盐含量、平衡离子类型、第二单体及 R₁基团结构、分子量及聚合方法等对其抗菌活性的影响。

关键词 可溶性吡啶型聚合物,大肠杆菌,抗菌活性

分类号 Q939.99 **文献识别码** A **文章编号** 0253-2654(1999)-03-0065-168

* 广东省自然科学基金资助项目 (No.960297)

** 华南理工大学高分子材料科学与工程系
1998-06-29收稿,1998-12-07修回

EFFECT OF POLYMER COMPOSITION ON ITS ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOLUBLE PYRIDINIUM-TYPE POLYMER*

Zong Minhua Liu Yun Liu Liqing Lu Yaohua Li Guangji

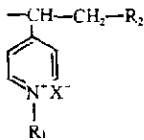
(Biotechnology Department, South China University of Technology, Guangzhou 510641)

Abstract Antibacterial action of soluble BVP polymer against *E. coli* was systematically investigated. The effect of pyridinium group content, counterion type, structure of the second monomer and R_1 group, molecular weight and copolymerization of the polymer on its antibacterial activity was explored.

Key words Soluble pyridinium-type polymer, *E. coli*, antibacterial activity

* The Project Supported by Guangdong Provincial Natural Science Foundation of China (No. 960297)

可溶性吡啶型树脂(BVP),是指一类具有



结构的能溶于水的线性碱性阴离子交换树脂,其中 X^- 为卤素离子, R_1 为苄基或烷基, R_2 为第二单体。近十年来,日本川端成彬教授等人对这类树脂与水中微生物细胞的相互作用进行过初步的研究,表明了可溶性BVP树脂是一类新型的抗菌活性很强的功能高分子材料^[1]。然而,他们的研究仅限于 R_1 为苄基,没有第二单体的特殊情况,未能深入系统地研究树脂组成、结构与抗菌性能的关系。国内的一些学者对这类树脂的制备和结构进行过一些探讨,但均未涉及其抗菌活性的研究。本文系统地研究可溶性BVP树脂的组成对其抗菌活性的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

BVP树脂:具有不同组成的可溶性BVP树脂,由华南理工大学高分子材料科学与工程系提供。

菌种:大肠杆菌(*E. coli*)MIG1.45,由广东省菌种保藏中心提供。

培养基:牛肉膏0.5g,蛋白胨1.0g,NaCl

0.5g,琼脂1.5~2.0g,用无菌蒸馏水定容至100mL,pH7.2~7.5。

1.2 方法

1.2.1 初始菌液的配制:用麦氏比浊法^[2]将菌龄为24h的菌苔用无菌蒸馏水配制成浓度为 10^6 cells/mL数量级的初始菌液,用1.2.3所述方法准确测定其浓度。

1.2.2 树脂的预处理:将树脂在 $60^\circ\text{C} \sim 80^\circ\text{C}$ 下真空干燥后,真空保存备用。准确称取20mg树脂,加2mL无水乙醇助溶后,用无菌蒸馏水定容至100mL。

1.2.3 活菌浓度的测定:用倾注平板法^[3]测定菌悬液中的活菌浓度。

1.2.4 树脂抗菌活性的测定:在50mL三角瓶中加入10mL树脂溶液及10mL初始菌液,于 30°C ,120r/min水浴振荡,定时取1mL菌液用无菌生理盐水稀释,按1.2.3所述方法测活菌浓度。用残留活菌浓度的大小来表征树脂抗菌活性的强弱。

1.2.5 树脂吡啶盐含量测定:用佛尔哈德法^[4]测定树脂的吡啶盐含量。

1.2.6 树脂分子量的表征:用粘度法^[5]测得的树脂特性粘度来表示树脂分子量的相对大小。

2 结果和讨论

2.1 吡啶盐含量对树脂抗菌活性的影响

吡啶盐含量(Cq)不同的树脂对大肠杆菌抗

菌作用如图1所示。当树脂的 C_q 值较低时,其抗菌活性随着 C_q 的增大而显著增强。从可溶性BVP树脂的分子结构来看,它是一种季铵盐型的聚合物,属阳离子抗菌剂,其对水中微生物细胞具有杀灭作用^[6]。其抗菌作用是按以下方式进行的^[1]:①吸附到细胞表面;②通过细胞壁扩散;③结合到细胞质膜上;④破坏细胞质膜;⑤胞内物质析出及细胞死亡。严格地说,影响上述每一步的因素都将对树脂的抗菌活性产生影响。由于所研究的几个样品分子量相近,且分子量较低,它们抗菌活性的差异主要源于第一步,即树脂分子吸附到细胞表面的过程,而树脂表面带正电荷的吡啶盐与带负电荷的细胞表面之间的静电力是导致这一吸附现象的主要原因之一。故不难理解树脂的抗菌活性随着其 C_q 的增大而增强这一现象。然而,当 C_q 较大时,树脂的抗菌活性非但不随 C_q 的增大而增强,反随 C_q 的增大而减弱,这就说明吡啶盐含量不是影响树脂抗菌活性的唯一因素,树脂的抗菌活性对树脂的其它性质亦有较大的依赖性。该结果与Kawabata等人的研究结果有所差异^[17]。

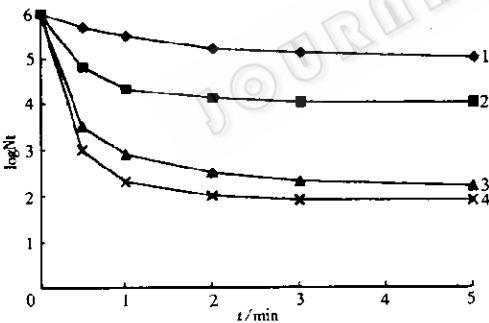


图1 吡啶盐含量对树脂抗菌活性的影响

吡啶盐含量: 1. 1.11, 2. 1.69, 3. 2.95, 4. 2.49

第二单体: 苯乙烯, 季铵化试剂: 溴化苄

2.2 第二单体结构对树脂抗菌活性的影响

第二单体结构对树脂抗菌活性有显著的影响。初始菌液浓度为 1.0×10^6 cells/mL时,第二单体分别为甲基丙烯酸丁酯,丙烯酸丁酯,丙烯酸乙酯,丙烯酸甲酯的树脂抗菌作用1分钟,菌悬液中的活菌浓度依次为 2.0×10^4 cells/mL, 1.3×10^4 cells/mL, 7.9×10^3 cells/mL, 6.3×10^3

cells/mL。可见树脂的抗菌活性随着第二单体碳链的加长而下降。因为所研究的几个样品 C_q 相近,故树脂表面的电荷密度相近,其与细胞表面的静电力差异甚小。然而,*E. coli*是一种高度亲水菌,它与亲水性较大的树脂的吸附作用较大^[6]。随着第二单体碳链的加长,树脂的亲水性下降,因而细胞表面的吸附作用减弱,从而抗菌活性下降。

2.3 R_1 基团结构对树脂抗菌活性的影响

R_1 基团分别为直链烷基 $C_{16}H_{33}-$, $C_{12}H_{25}-$, $C_8H_{17}-$, C_4H_9- , C_2H_5- 的树脂,抗菌作用1分钟,初始菌液浓度为 1.0×10^6 cells/mL的菌悬液中的活菌浓度依次为 2.5×10^4 cells/mL, 1.6×10^3 cells/mL, 6.3×10^2 cells/mL, 4.0×10^2 cells/mL, 2.5×10^2 cells/mL,说明碳链长度对树脂抗菌活性的影响与第二单体链长对树脂抗菌活性的影响一致,即随着碳链的加长,树脂的抗菌活性下降。同样可用碳链长短对树脂亲水性的影响加以说明。

2.4 平衡离子对树脂抗菌活性的影响

采用不同的季铵化试剂可得到平衡离子为 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 的树脂,这些树脂抗菌活性按平衡离子为 Cl^- 、 Br^- 、 I^- 的顺序依次增强(若初始菌液浓度为 1.0×10^5 cells/mL,抗菌作用1分钟,菌悬液中的活菌浓度依次为: 6.3×10^2 cells/mL, 1.3×10^2 cells/mL, 40cells/mL)。这与表1所列平衡离子不同的树脂之吡啶盐含量的大小顺序相吻合,说明平衡离子对树脂抗菌活性的影响主要是通过影响吡啶盐含量,进而影响树脂与细胞表面的静电力而实现的。另外,细胞与树脂表面的吸附实际上是其与平衡离子在树脂表面的竞争性吸附,由于不同平衡离子与树脂间的亲和力顺序为 $Cl^- > Br^- > I^-$,故细胞吸附在上述平衡离子的树脂表面的难度顺序亦与之相同。

表1 季铵化试剂对树脂吡啶盐含量的影响

季铵化试剂	平衡离子	吡啶盐含量 C_q (mmol/g树脂)
C_4H_9Cl	Cl^-	0.22
C_4H_9Br	Br^-	1.45
C_4H_9I	I^-	1.88

2.5 分子量对树脂抗菌活性的影响

通过改变引发剂用量或聚合温度可得到功能基含量相近而分子量不同的树脂。研究表明,树脂的抗菌活性随其分子量的增大而提高。如特性粘度分别为52.2, 82.1, 84.3, 98.4的树脂,抗菌作用1分钟可使初始浓度为 1.0×10^7 cells/mL的菌悬液中的活菌浓度依次降为: 3.2×10^3 cells/mL, 1.6×10^2 cells/mL, 60 cells/mL, 30 cells/mL。Kawabata等人发现,可溶性BVP树脂的抗菌活性大大高于其相应的单体^[1],可见可溶性BVP树脂的大分子链结构形式对其抗菌活性有重要的影响。树脂的分子量不同,则大分子链的电荷密度及其在菌悬液中的形态、亲水性等均不同,导致抗菌活性的不同。

2.6 聚合方法对树脂抗菌活性的影响

聚合方法对树脂抗菌活性有显著影响。悬浮聚合所得树脂之抗菌活性大大高于溶液聚合。如悬浮聚合所得树脂抗菌作用1分钟,可使初始浓度为 1.0×10^6 cells/mL的菌悬液之活菌浓度下降为40 cells/mL,而在相同条件下,溶液聚合所得树脂作用后的菌悬液中的活菌浓

度为 3.2×10^3 cells/mL。这一方面是因为前者的分子量大大高于后者,另一方面,不同聚合方法所产生的树脂在分子结构等方面的差异也可能对树脂的抗菌活性有重要的影响。有关的研究将有助于深入了解BVP树脂的抗菌机理。

参 考 文 献

- [1] Kawabata N, Nishiguchi M. *Appl Environmental Microb*, 1988, 54: 2352~2535.
- [2] 韩文瑜. 病原细菌检验技术, 长春: 吉林科技出版社, 1992.
- [3] 方心芳. 应用微生物学实验法, 北京: 中国轻工业出版社, 1993.
- [4] 武汉大学. 分析化学, 北京: 人民教育出版社, 1978.
- [5] 复旦大学. 高分子实验技术, 上海: 复旦大学出版社, 1983.
- [6] Li G, Shen J, Zhu Y. *J Appl Polym Sci*, 1996 62: 2247~2255.
- [7] Kawabata N, Hayashi T, Matsumoto T. *Appl Environmental Microb*, 1993, 46: 203~210.
- [8] Kawabata N, Ueno Y, Torii K *et al. Agric Biol Chem*, 1987, 51: 1085~1090.