

可溶性 BVP 功能树脂理化因素对抗菌活性的影响*

宗敏华 刘 耘 杜 伟 罗 旭 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吡啶型(BVP)树脂的浓度、处理菌液的细胞浓度、悬浮介质、温度及 pH 等因素对可溶性 BVP 树脂抗菌活性的影响,比较了 BVP 树脂对不同微生物的抗菌活性,探讨了 BVP 树脂用于水处理的可能性。

关键词 可溶性吡啶型树脂, 抗菌活性

分类号 Q939·99 **文献标识码** A **文章编号** 0253-2654(1999)-04-0250-04

* 广东省自然科学基金资助项目 (No. 960297)

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

** 华南理工大学材料学院高分子材料科学与工程系

1998-06-29收稿, 1998-12-07修回

EFFECT OF PHYSIOCHEMICAL FACTORS ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOLUBLE PYRIDINIUM-TYPE POLYMER

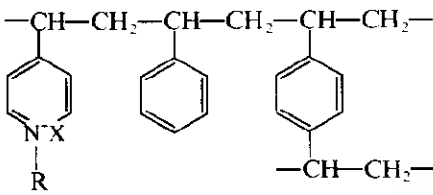
Zong Minhua Liu Yun Du Wei Luo Xu Li Guangji

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

Abstract The effect of the concentration of poly-N-benzyl-4-vinylpyridinium bromide, cell concentration, suspending medium, temperature and pH on the antibacterial activity of the polymer was systematically investigated. The comparative study of the antimicrobial activity of the polymer against different microbes was made and the possibility of the utilization of the polymer for water treatment was preliminarily explored.

Key words Soluble pyridinium-type polymer, Antibacterial activity

BVP树脂是指一类具有



结构的碱性阴离子交换树脂,其中 X^- 为卤素离子,R可以是苄基、烷基,未经交联者,即不含二乙烯基苯的BVP树脂为可溶性BVP树脂,含有二乙烯基苯的聚合物在水中不溶解,为不溶性BVP树脂。近十年来,日本川端成彬教授等对这类树脂与水中微生物的相互作用进行过一些研究,表明了BVP树脂是一类新型的抗菌活性很强的功能高分子材料^[1]。刘耘等曾在其基础上研究过可溶性BVP树脂的抗菌作用,发现可溶性BVP树脂的抗菌作用与不溶性BVP不同,主要表现为对细胞的杀灭作用,并系统地研究了可溶性BVP树脂的结构与其抗菌活性的关系。进一步的研究发现该树脂对不同微生物细胞抗菌活性有较大的差异;理化因素对树脂的抗菌活性有显著的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 可溶性吡啶型树脂:由华南理工大学高

分子材料科学与工程系提供。

1.1.2 菌种:大肠杆菌(*Escherichia coli*)MIG1.45;枯草杆菌(*Bacillus subtilis*)MIG1.19;酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)MIG2.83;绳状青霉(*Penicillium funiculosum*)MIG3.104,由广东省菌种保藏中心提供。

1.1.3 培养基:营养琼脂培养基,用于培养细菌,成份:牛肉膏0.5g,蛋白胨1.0g,NaCl0.5g,琼脂1.5~2.0g,定容至100mL水中。

察氏培养基,用于培养霉菌,成份:蔗糖3.0g,NaNO₃4.3g,K₂HPO₄0.1g,KCl0.05g,MgSO₄0.05g,FeSO₄0.001g,琼脂1.5~2.0g,定容至100mL水中。

麦汁培养基,用于培养酵母,成份:10°Bx麦芽汁,琼脂1.5~2.0g,定容至100mL水中。

1.1.4 生活污水:取自饭堂排污管。

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24~36h的菌苔用无菌蒸馏水或其它悬浮介质配制成一定浓度的初始菌液,用1.2.3所述方法准确测定其细胞浓度。

1.2.2 树脂的预处理:将树脂在60℃~80℃下真空干燥后,真空保存备用。准确称取一定量的树脂,加2mL无水乙醇助溶后,用蒸馏水或其它悬浮介质定容至100mL配制成不同浓度的树脂溶液。

1.2.3 活菌浓度的测定:用倾注平板法^[3]测定菌液中活菌的浓度。

1.2.4 树脂抗菌活性的测定:在50mL三角瓶中加入10mL树脂溶液和10mL初始菌液或生活污水,于恒温下,120r/min水浴振荡,定时取1mL菌液用无菌蒸馏水稀释,按1.2.3所述方法测定菌液中活菌的浓度。

2 结果与讨论

2.1 树脂浓度对其抗菌活性的影响

可溶性BVP树脂抗大肠杆菌的活性随着其浓度的增大而提高,当浓度变化范围为50~100mg/L时,这种趋势尤为显著。然而,树脂浓度高于100mg/L时,其抗菌效果受浓度的影响不大(图1)。这是因为浓度太高时树脂的分子链不能充分伸展,部分功能基团被屏蔽。从树脂的利用率方面考虑,适宜的树脂浓度为100mg/L。

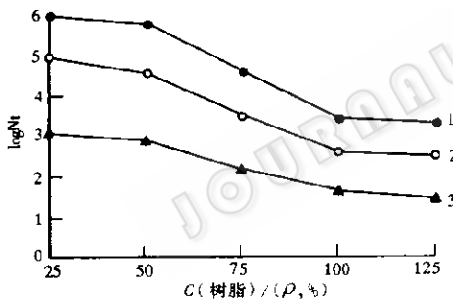


图1 树脂浓度对其抗菌活性的影响

处理时间: 1. 0.5min, 2. 3min, 3. 5min

悬浮介质: 无菌蒸馏水, 初始菌液浓度: 1.58×10^6 cells/mL, 温度: 30℃

2.2 菌液浓度对树脂抗菌活性的影响

初始菌液浓度为 1.5×10^7 cells/mL, 3.0×10^6 cells/mL, 1.5×10^6 cells/mL 和 1.0×10^6 cells/mL 时,树脂在30℃抗菌作用1min,菌悬浮中残存活菌浓度依次为: 2.0×10^5 cells/mL, 8.0×10^3 cells/mL, 1.0×10^2 cells/mL, 80 cells/mL。可见,菌液中的细胞浓度较低时,树脂的抗菌活性较高,随着初始菌液浓度的提高,树脂抗菌活性急剧下降。这是因为,随着初始菌液中细胞浓度的提高,细胞在悬浮介质中的分散较差,易于成团,单

位细胞与树脂分子接触的概率下降,接触表面积减少。

2.3 温度对树脂抗菌活性的影响

温度对树脂的抗菌活性有较大的影响。在研究范围内,树脂的抗菌活性随着温度的升高而增大。在其它条件不变的情况下,温度由25℃升至40℃,抗菌作用1min,初始浓度为 6.3×10^6 cells/mL 的菌悬液中残存活菌的浓度由 5.0×10^2 cells/mL 降低为 20 cells/mL。其原因是随着温度的升高,分子运动加剧,树脂分子与细胞之间碰撞机会增多;其次,在较高的温度下,树脂分子通过细胞壁扩散进入细胞的速度加快。

2.4 悬浮介质对树脂抗菌活性的影响

悬浮介质为无菌生理盐水、无菌自来水,含0.1%葡萄糖的无菌蒸馏水及无菌蒸馏水时树脂的抗菌活性顺序为:无菌生理盐水 < 无菌自来水 < 含0.1%葡萄糖的无菌蒸馏水 < 无菌蒸馏水。当悬浮介质中含有有机分子和无机离子时,树脂的抗菌活性大幅度下降,并且无机离子对树脂抗菌活性之影响大于有机分子,这与不溶性BVP树脂的抗菌特性相符^[4]。因为BVP树脂属阳离子杀菌剂,其杀菌的机理是树脂分子首先吸附到细胞表面,而树脂表面带正电荷的吡啶盐与带负电荷的细胞之间的静电力是导致这种吸附作用的主要原因^[1]。悬浮介质中的有机分子可能吸附到树脂表面,从而屏蔽了树脂表面的活性部位(吡啶盐基团),降低了树脂的抗菌活性。悬浮介质中的无机负离子与树脂表面的吡啶盐基团的相互作用减少了树脂表面的正电荷,故使树脂的抗菌活性下降。可见,只有先用其它的方法除去悬浮介质中的有机分子和无机离子,才能充分发挥BVP树脂的抗菌作用。

2.5 pH对树脂抗菌活性的影响

研究了树脂在pH为6.0、7.0及8.0的0.01mol/L磷酸缓冲液中的抗菌活性,在此范围内,pH对树脂抗菌活性的影响甚小。然而,缓冲液中的负离子大大降低了树脂的抗菌活性。

2.6 树脂对不同微生物细胞的抗菌活性

川端等人的研究表明, BVP树脂对不同细菌的抗菌活性有显著的差异^[1], 但未研究该树脂对其它微生物细胞的抗菌活性。本研究比较了可溶性 BVP树脂对具有代表性的大肠杆菌、枯草杆菌、酿酒酵母和绳状青霉的抗菌活性(表1)。显然, 树脂对所研究的几种微生物细胞均有较强的抗菌作用, 但对不同微生物的抗菌活性又有明显的不同, 对细菌的杀灭作用大大强于其对酵母和霉菌的杀灭作用。这主要是因为各种微生物细胞表面所带的负电荷不同, 因而与树脂间的亲和力有一定的差异; 其次, 不同微生物的细胞壁结构差异甚大, 这就使得树脂分子扩散进入细胞的难易程度不同^[6]。

表1 树脂对不同微生物细胞的除菌系数

菌种	No(cells/mL)	RC ^a
<i>Escherichia coli</i> MIG1.45	1.1×10^5	37.30
<i>Bacillus subtilis</i> MIG1.19	6.25×10^5	33.53
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> MIG2.83	1.2×10^5	21.91
<i>Penicillium funiculosum</i> MIG3.104	4.5×10^4	16.36

树脂浓度: 100mg/L, 温度 30℃, RC^a 为树脂的除菌系数^[3], $RC = (v/wt)(No/Nt)$, 其中 W 为树脂重量(mg), V 为菌液体积(mL), t 为树脂与菌液的接触时间(min), No 为初始菌液的活菌浓度(cells/mL), Nt 为菌液与树脂接触 tmin 后的活菌浓度(cells/mL)

2.7 树脂对生活污水中微生物细胞的杀灭作用

树脂对取自饭堂排污管的生活污水中微生物细胞有较强的杀灭作用(表2)。可见该树脂

在水处理中具有较好的应用开发前景。尽管可

表2 可溶性BVP树脂对生活污水中微生物细胞的杀灭作用

(时间min)	(活菌浓度 ^a cells/mL)	(活菌浓度 ^b cells/mL)
0	5.5×10^5	3.09×10^5
1	1000	1900
3	315	620
5	83	95
10	65	58

a: 基于营养琼脂培养基上菌落数, b: 基于麦汁培养基上菌落数

溶性 BVP树脂是一种低毒的杀菌剂, 但其用于水处理不仅可能带来二次污染, 而且由于难以回收循环利用而增加成本。不难设想, 将可溶性 BVP树脂接枝于不溶性的载体上可望解决上述问题。有关的研究工作正在进行之中。

参 考 文 献

- [1] Kawabata N, Nishiguchi M. Appl Environmental Microbiology, 1988, 54:2532~2535.
- [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. 应用微生物实验法, 北京: 中国轻工业出版社, 1993.
- [4] Nakagawa Y, Yamano Y, Tawaratini T et al. Appl Environmental Microbiology, 1982, 43: 1042~1050.
- [5] Tashiro T. J Appl Polymer Sci, 1991, 43: 1369~1377.
- [6] Kawabata N, Ueno Y, Torh K et al. Agric Biol Chem, 1987, 51: 1085~1090.