

表面接枝季铵盐型聚合物的纤维素纤维 ——灭菌机理研究*

卢滇楠 周轩榕 邢晓东 王晓工** 刘 铮**

(清华大学化学工程系 北京 100084)

摘 要 以大肠杆菌 JM105 (*E. Coli* JM105) 为模拟体系, 系统研究一种新型聚阳离子型表面接触抗菌材料及其单体的抗菌过程和机理. 采用平板计数法测定该单体的最低抑菌浓度以衡量其抗菌能力, 采用扫描电镜法和 β -半乳糖苷酶活性考察该单体对大肠杆菌的抑制作用过程及其机理. 分别采用静态和动态吸附法考察聚阳离子型表面接触抗菌材料对大肠杆菌的吸附性能, 测定吸附在材料表面菌体 TTC-脱氢酶的活性和菌体呼吸活性以揭示该材料的抗菌作用机理, 并采用电镜观察抗菌纤维表面菌体形态随时间的变化. 结果表明, 聚阳离子型表面接触抗菌材料的单体可导致大肠杆菌细胞壁破裂, 由此破坏细胞膜并导致细胞凝聚而死亡. 该消毒剂的灭菌过程由吸附和杀灭两步构成, 前者为快速过程, 而后者则是慢速过程.

关键词 DMAE-BC, 聚阳离子表面接触抗菌材料, 抗菌动力学, 内膜渗透性, 动态穿透, 抗菌机理

饮用水净化技术的研究对于人类社会的可持续性发展具有重要的意义^[1,2]. 固相表面接触抗菌材料进行饮用水处理是一种新型饮用水灭菌技术, 该技术将小分子消毒剂通过共价接枝的方法固定多孔固体介质表面, 利用该表面同水体进行接触消毒. 与采用可溶性小分子消毒剂的消毒技术相比^[3,4], 固相表面接触抗菌材料进行饮用水处理的优点是避免了消毒剂对水体及环境的二次污染. 固体表面形成高浓度消毒剂区, 可加速灭菌速度. 此外, 固定化消毒剂有利于回收和再利用^[5-8].

对于表面接触抗菌材料而言, 所接枝的抗菌单体是影响灭菌效果的关键, 也是当前水消毒技术研究的核心. 目前共价型高分子抗菌剂的研究主要集中于季铵盐、季膦盐及吡啶盐等. 这些高分子抗菌剂可有效地降低溶液中的活菌数, 且高分子化的抗菌材料比相同结构的小分子单体的抗菌性和稳定性均有大幅度的提高^[9-13]. 但目前对于高分子抗菌剂的抗菌机理, 即其抗菌作用基于杀菌还是抑菌, 尚没有明确的定论或直接的证据. 这主要是由于固相表面的菌体形态及其生物学活性测定较为困难, 特别是当菌体的总体浓度很低时, 定量的测定就更为困难.

本文中自行合成了一种新型的共价接枝季铵盐型抗菌单体甲基丙烯酰氧乙基-苄基-二甲基氯

化铵 (Methacryloxyethyl benzyl dimethyl ammonium chloride, DMAE-BC) 的表面接触抗菌材料, 以大肠杆菌 JM105 为典型致病菌体系, 研究该单体及接枝该单体的抗菌纤维的抗菌能力及其机理. 首先通过平板计数法和电镜观测法来直接测定单体对菌的杀灭作用及灭菌过程, 然后通过测定水溶液中大肠杆菌胞内酶 β -半乳糖苷酶的活性来确定大肠杆菌细胞壁是否发生破裂, 以阐述杀菌机理. 在考察接枝 DMAE-BC 的表面接枝消毒剂的抗菌作用时, 首先测定了该纤维对菌的动态和静态吸附及其最小抑菌浓度, 然后通过测定 TTC 脱氢酶的活性以及反应器溶氧性能的变化来考察吸附在纤维表面的菌的呼吸活性的变化, 由此阐述抗菌纤维的杀菌过程动力学. 最后采用 SEM 观测抗菌纤维表面菌的形态变化, 以进一步阐述抗菌纤维的抗菌机理. 上述研究方法具有一定的普适性, 可应用于其它固相接触抗菌材料的表征和作用机理的研究等.

1 实验部分

1.1 原料

菌体 *E. Coli* JM105, LB 培养基培养 18 h; 液体 LB 培养基含有胰蛋白胨 (Oxoid, UK)、酵母浸膏 (Oxoid, UK) 和 NaCl (北京精细化工厂); 固体培养基在上述成分基础上加入 2% 的琼脂 (WAKO). 纤

* 2003-03-26 收稿, 2003-07-10 修改稿; ** 通讯联系人

纤维素纤维(Cellulose fiber)由宝洁公司提供.硝酸铈铵(Ammonium cerium (IV) nitrate) ($(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{NO}_3)_6$),中国医药(集团)上海试剂公司,分析纯,分子量 548.23.氯化苄(Benzyl chloride): $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2\text{Cl}$,上海试剂三厂,分子量 126.59,沸点 $177 \sim 181^\circ\text{C}$,密度(20°C) $1.099 \sim 1.103 \text{ g/cm}^3$,分析纯.甲基丙烯酸 2-(*N,N*-二甲基氨基)乙酯(Methylacrylic acid 2-(*N,N*-dimethylamino) ethyl ester: $\text{C}_8\text{H}_{15}\text{NO}_2$,东京化成工业株式会社,分子量 143.18,分析纯.

1.2 抗菌单体和材料的制备

1.2.1 季铵盐抗菌单体的制备 以二氯甲烷为溶剂,在单口瓶中加入甲基丙烯酸 2-(*N,N*-二甲基氨基)乙酯和氯化苄,投料摩尔比为 1:1.加入少量的对苯二酚作为阻聚剂.加热回流反应 6 h,冷却有大量白色晶体析出,抽滤,在真空烘箱中室温干燥. $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3): $\delta = 6.7$ (s, 1H), 5.82 ~ 6.41 (m, 3H), 4.14 ~ 4.22 (t, 2H), 4.02 ~ 4.08 (t, 2H), 1.54 ~ 1.71 (m, 2H), 0.87 ~ 0.94 (t, 3H).

1.2.2 纤维素纤维接枝 在 50 mL 的锥形瓶中加入定量的纤维素纤维,硝酸铈铵和季铵盐单体,加入 10 mL 去离子水,加入氮气鼓泡 10 min,然后密封,在恒温水浴中反应一段时间.接枝后的纤维素用丙酮洗涤,然后抽提 12 h,干燥.称重.评价接枝共聚反应的最重要的基本概念之一即为接枝率(Percentage of grafting),在本论文中我们简称其为 P_g ,其定义如下式所示:

$$P_g(\%) = \frac{W_g - W_0}{W_0} \times 100$$

其中 W_g 表示接枝后纤维素纤维的质量, W_0 表示接枝前纤维素纤维的质量.

1.3 最小抑菌浓度(MIC)的测定

最小抑菌浓度(Minimal inhibited concentration, 以下简称 MIC)是指药物抑制微生物生长的最低浓度.采用液体稀释法测定 DMAE-BC 的 MIC.在试管中加入 2 mL LB 液体培养基作为稀释液,加入 2 mL 含有 50 mg/mL 抗菌单体 LB 培养基,然后逐级稀释,形成一组含有不同递减浓度的药物试管,然后逐管加入 2 mL 的含有 10^7 CFU/mL 的 *E. Coli* 菌液,在 37°C 条件下培养 24 h,用 600 nm 波长作浊度测定,以不长菌管的抗菌单体计量为该单体的 MIC.

1.4 DMAE-BC 的抗菌动力学测定

选择含有 10^7 CFU/mL 的菌液 25 mL,分别加入一定量的单体,配成 12.5 mg/mL, 25 mg/mL 和 60 mg/mL 的溶液.混合菌液在 37°C , 170 r/min, 培养不同时间,取 100 μL 培养液,逐级稀释涂布在固体 LB 培养基上,培养 24 h 后测定菌落数.

1.5 接枝 DMAE-BC 抗菌材料吸附/抗菌动力学

取 0.2, 0.5 和 0.8 g 接枝 DMAE-BC 单体的抗菌材料加入到 100 mL, 109 CFU/mL 的 *E. Coli* JM105 菌液中.混合菌液在 37°C , 170 r/min 下培养,培养不同时间,取 100 μL 菌液,逐级稀释涂布在固体 LB 培养基上,培养 24 h 后测定菌落数.

1.6 TTC 活性测定

TTC 活性检测采用朱南文介绍的方法^[14]. 2 mL 的 0.1 mol/L 葡萄糖溶液, 2 mL 的 1 g/L 的 TTC 溶液 2 mL 和 2 mL 的 0.05 mol/L 的 Tris-HCl 缓冲液(pH 8.5)直接混合,然后加入 1 mL 的菌液.混合溶液在 37°C 下静止一定时间后,加入 2 滴浓 H_2SO_4 终止反应.加入 5 mL 甲苯将反应产物 TF 从水相中萃取出来,取有机相 4000 r/min 离心 5 min,以甲苯为参比,490 nm 处测定 TF 含量.

1.7 穿透曲线测定

调整 *E. Coli* 菌液浓度为 $A_{600} = 1.500$,使该浓度菌液向上通过含有一定质量抗菌纤维的薄层柱.为了保证薄层柱填充的均匀性,一定质量的抗菌纤维在去离子水中充分溶胀,然后在特定模具内真空过滤,将滤饼填充到薄层柱中.采用部分收集器收集泵驱动流出液.用空白体系测定装置柱前死体积为 0.85 柱体积,此参数用于吸附穿透曲线的数据校正.

1.8 内膜渗透性

采用 Lehrer 提出的方法^[15],即以 ONPG 为底物,测定大肠杆菌 β -半乳糖苷酶催化 ONPG 形成 ONP,体系吸光度随时间的变化来判断大肠杆菌内膜是否遭到破坏.在 1.1 mL PBS 缓冲溶液(pH 7.4),同时加入 150 μL , 10^8 CFU/mL 菌液和 150 μL ,加入底物 25 mol/L MONPG 培养 15 min 后,加入不同体积 50 mg/mL 的抗菌单体,用缓冲液将总体积调成 2.0 mL,检测 400 nm 处吸光度值随时间的变化.

1.9 扫描电镜测定

用抗菌单体和抗菌纤维处理过的菌体采用戊二醛固定、临界点干燥和镀金之后,利用扫描电镜观察菌体和纤维形态变化.

2 结果与讨论

2.1 抗菌单体 DMAE-BC 抗菌性能、过程和机理

2.1.1 抗菌单体 DMAE-BC 的抗菌性能 在微生物对数生长阶段加入抗菌单体以更好地表征抗菌单体的抗菌性能.选取培养时间为 3 h 的大肠杆菌菌液,加入 DMAE-BC 并使其终浓度为 25 mg/mL,测定混合液在 600 nm 处吸光度随时间的变化,以表征细菌总浓度随时间的变化,以不加单体的空白菌液为对照,结果如图 1 所示.

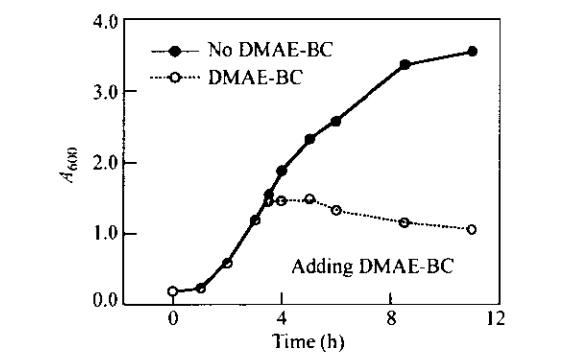


Fig. 1 DMAE-BC inhibiting the growth of *E. Coli*

由图 1 可知,空白菌液的吸光度随时间延长而持续上升,而样品菌液的吸光度在加入 DMAE-BC 后迅速停止上升并逐步下降,表明大肠杆菌的生长被抑制.

图 2 为抗菌单体 DMAE-BC 的 MIC 测定曲线,从图中可知,当菌浓度为 10^7 CFU/mL 时,DMAE-BC 的 MIC 值为 6 mg/mL,同传统的小分子消毒剂(MIC 值一般在 1~100 μ g/mL)相比单体 DMAE-BC 的抗菌效果明显较差^[9].

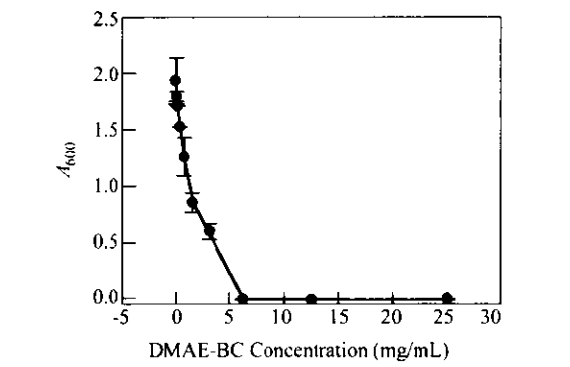


Fig. 2 The MIC determine curve for DMAE-BC

2.1.2 DMAE-BC 的抗菌动力学特性 在菌浓度为 10^7 CFU/mL 的样品液中,加入不同浓度的

DMAE-BC 单体,单体浓度分别为 2、4、10 倍 MIC,然后采用平板计数法测定菌液中菌浓随时间的变化曲线,如图 3 所示.

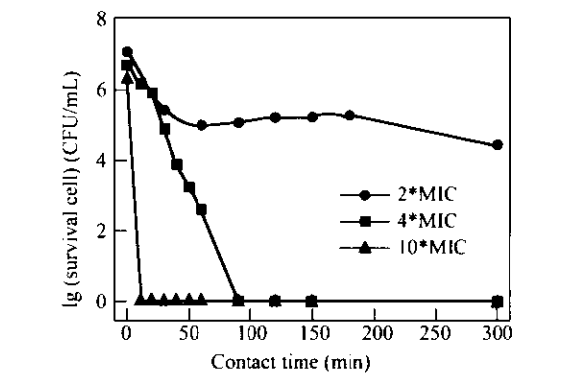


Fig. 3 Antibacterial kinetic curve for DMAE-BC

由图 3 可知,当单体浓度为 4 倍 MIC 时,在 90 min 内,菌浓由 10^7 CFU/mL 降到 0 CFU/mL.若浓度进一步升高为 10 倍 MIC,则在 5 min 内即可达到上述效果.这一结果与其它类型的季铵盐类抗菌单体是类似的^[16].

2.1.3 DMAE-BC 抗菌过程观察 采用 SEM 观察在抗菌单体作用下大肠杆菌形态发生的变化,如图 4 所示.

图 4(a)为正常大肠杆菌,呈典型的棒状菌,细胞边界清晰.图中存在正在分裂的菌体,其凹陷位置位于菌体的中心.图 4(b)为接触单体 15 min 的情形,此时菌体发生变形和聚集,菌体表面粗糙并出现颗粒状突起,菌体边界开始变得不明显,在某些菌体的两端开始出现分裂.图 4(c)为接触单体 2 h 的情形,菌体形变更加显著并发生团聚,表面粗糙并发生有粘连,出现细胞碎片.图 4(d)为经过湿热灭菌后的菌体形态,菌体团聚在一起,菌体之间边界不明显,但表面光滑,没有明显的细胞碎片,这同图 4(c)是不同的,表明二者的杀菌机理有异.

2.1.4 单体 DMAE-BC 抗菌机理 大肠杆菌细胞内具有 β -半乳糖苷酶,若细胞发生破裂,则 β -半乳糖苷酶会释放到溶液中.因此,测定加入 DMAE-BC 后菌液中 β -半乳糖苷酶即可判定菌是否发生细胞破裂.实验中考察了空白体系及分别加入 100、200 和 500 μ L 的 50 mg/mL 的 DMAE-BC 单体后,菌液中 β -半乳糖苷酶反应生成 ONP 的量随时间的变化,如图 5 所示.

图 5 结果显示未加 DMAE-BC 的菌液在

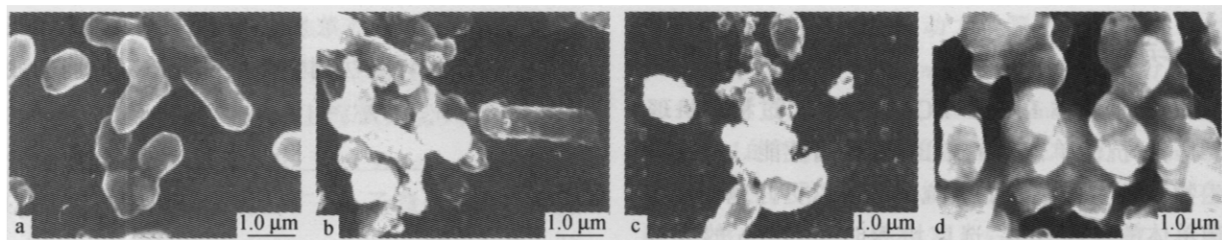


Fig. 4 SEM photographs of *E. Coli* treated with DMAE-BC

a) live *E. Coli*; b) contacted with 25 mg/mL DMAE-BC for 15 min; c) contacted with 25 mg/mL DMAE-BC 2 h; d) *E. Coli* treated with high temperature sterilization

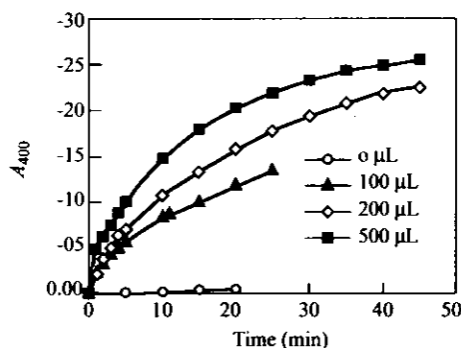


Fig. 5 Change of permeability in inner membrane at the action of DMAE-BC

400 nm 处的吸光度值不随时间而变化,表明细胞内膜没有受到破坏.而加入 DMAE-BC 后,菌液在 400 nm 处的吸光度值随时间推移而显著上升,表明细菌内膜被破坏,释放出 β -半乳糖苷酶.由此可知 DMAE-BC 的作用位点是在菌体的内膜上.随着抗菌单体浓度的不断增加,吸光度上升幅度越明显,表明单体裂解菌的速度加快,抗菌效果得以强化,这与图 3 的结果是一致的.

2.2 接枝 DMAE-BC 的纤维素纤维抗菌性能、过程和机理

2.2.1 抗菌纤维素纤维抗菌性能

将抗菌单体 DMAE-BC 接枝在抗菌纤维上(接枝率 60%),得到新型共价型固相接触抗菌材料.实验中发现,该抗菌材料能快速强烈地吸附大肠杆菌,导致上清液中菌浓迅速降低并超出吸光度法的检测下限.为此,采用氯化三苯基四氮(TTC)显色法来考察抗菌纤维的抗菌行为.TTC 是一种小分子物质,可以通过细胞壁和细胞膜被活菌摄取,在脱氢酶作用下转化为红色的三苯基甲撑(TF),因此测定 TTC 的摄取量即可作为衡量细胞活性的一个重要指标.实验中空白菌液为对照,分别测定空白纤维素及接枝有抗菌单体 DMAE-BC 抗菌材料摄取

TTC 的特性,如图 6 所示.

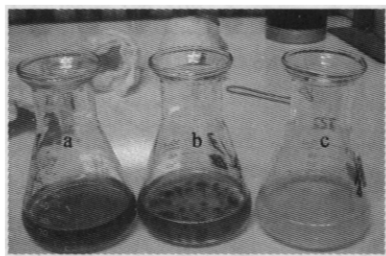


Fig. 6 Comparison of *E. Coli* activity under different conditions

a) *E. Coli* JM105 broth without fiber;
b) *E. Coli* JM105 broth with ungrafted fiber;
c) *E. Coli* JM105 broth with DMAE-BC-grafted fiber

图 6(a)是空白菌液的测定结果.此时整个悬浊液显红色,表明菌体具有活性,能够将 TTC 转化为 TF.图 6(b)是空白纤维素的测定结果,同样,整个悬浊液显红色,部分菌体吸附在纤维上.表明空白纤维素无抗菌功能.图 6(c)是抗菌材料接触菌体的测定结果,此时在纤维表面和悬浊液均为未显红色.表明此时菌体均并被杀灭.

2.2.2 抗菌纤维的吸附动力学和吸附选择性

首先测定抗菌材料的吸附动力学,结果如图 7 所示.在 100 mL、菌浓为 10^9 CFU/mL 的菌液中加入 0.8 g 抗菌材料,5 min 内菌浓即可降低到 10^2 CFU/mL,即降低 7 个数量级.30 min 后检测不到活菌.从图中还可看出,在所有的情形下,加入抗菌纤维后初期菌浓迅速下降,然后趋缓,这表明抗菌纤维的抗菌过程可能是由两个不同阶段组成的,前者可能是快速吸附阶段,而后者则可能是杀菌阶段.

为进一步阐述该抗菌材料对菌的吸附特性,采用柱上吸附法分别测定了空白纤维素和抗菌材料的吸附曲线.分别将 0.1517 g 抗菌材料和空白纤维素填充到自制的薄层柱中,吸附线速度为

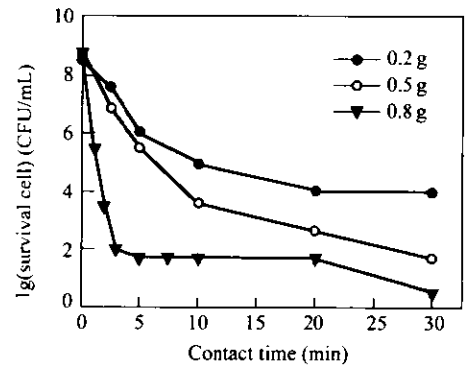


Fig. 7 Adsorption dynamic curve for DMAE-BC fiber

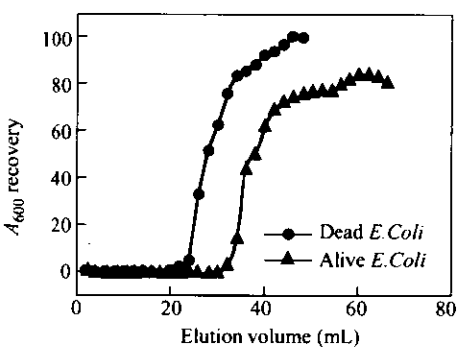


Fig. 9 Breakthrough curves of live and dead bacteria

0.76 m/h,得到穿透曲线如图 8 所示.

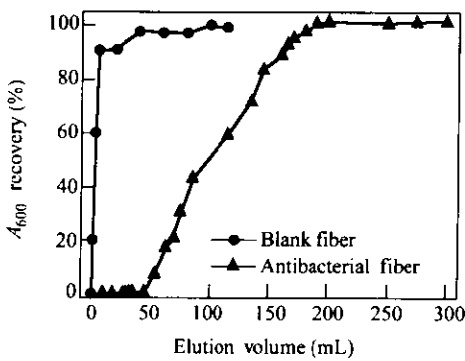


Fig. 8 Breakthrough curves of different fibers

由图 8 可知,空白纤维素填充柱时瞬时即被穿透,表明空白纤维对于大肠杆菌无吸附能力.与之相比,接枝 DMAE-BC 的抗菌纤维的吸附能力很高,经实验结果计算得到空白纤维素的吸附容量仅为 0.2 g 干菌/克纤维,而抗菌材料的吸附容量为 4.8 g 干菌/克接枝纤维.这主要是细胞表面带负电的大肠杆菌与材料表面高密度正电的 DMAE-BC 的静电吸引力所致.

为进一步揭示该材料对不同状态的大肠杆菌的吸附特性,采用高温湿热灭菌法制得死菌和培养 18 h 的活菌,采用薄层柱法测定两者的动态穿透曲线,如图 9 所示.

图 9 表明,抗菌材料对活菌的吸附能力高于其对死菌的吸附能力,这可能是有于二者在表面形态和化学组成上的差异所致,如图 4 中(a)和(d)所示.

2.2.3 抗菌材料的抗菌过程动力学 采用呼吸活性测定法来考察被纤维吸附的菌的存活状态.实验中混和 10 mL 菌龄为 18 h 的大肠杆菌菌

液和 0.1 g 接枝率为 50% 的抗菌材料,接触不同时间后,检测混和液的耗氧速度.定义原始菌液的耗氧速度为 1,对应的菌的活力亦为 1,由此可从测得的相对耗氧速度,并计算得出溶液中菌的相对活性.由此得到加入抗菌纤维后溶液中菌的相对活力变化曲线,结果如图 10 所示.

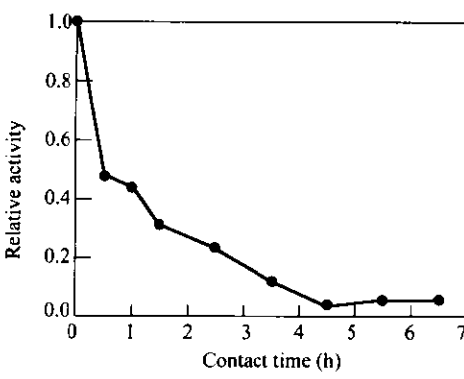


Fig. 10 Sterilizing kinetic curve

图 10 表明,随着抗菌材料同菌体接触时间的增加,菌体呼吸活性降低,表明菌体在死亡.同图 7 相比,在接触 30 min 后,上清液中虽然检测不到活菌的存在,但是吸附在抗菌材料表面的菌体仍然存在活性(原始活性的 50%),过较长时间后,菌体才完全丧失活性.此实验证明了抗菌材料的抗菌过程分为两个过程:吸附和灭活.吸附过程是一个快速过程,其主要依靠材料表面同大肠杆菌表面的静电力相互作用;而灭活过程相对而言是一个慢过程,其主要是接枝纤维表面单体的疏水基团发挥作用造成菌体的死亡,因此吸附到材料表面的菌体需要经过一段时间才能完全丧失活性.

2.2.4 抗菌纤维的抗菌过程观测 采用扫描

电镜对抗菌材料和其表面的菌体进行观察,结果如图 11 所示。

图 11(a)为典型的抗菌材料表面,其表面光滑具有清晰的纹路.图 11(b)和图 11(c)表明了接触 5 min 后抗菌材料表面的变化.可以看出该表面明显吸附菌斑,视野中同时具有形态正常的大肠杆菌和发生形变的大肠杆菌,后者主要在抗菌材料的表面.这表明在短接触时间内,抗菌材料主要是吸附菌体,而杀灭过程尚未完全进行.图 11(d)为抗菌材料和大肠杆菌接触 2 h 后的形态.此

时,在材料表面观察到具有完整形态的菌体显著减少,且覆盖了一层粘性物质,同时也可以观察到极少量的完整的大肠杆菌,这可能是胞内泄漏出的物质掩盖了抗菌材料表面的吸附和灭菌活性位点,使得残余大肠杆菌可正常生长.图 11 的结果进一步证实抗菌材料的灭菌过程由快速的吸附和相对缓慢的杀灭这两步构成,这与上述平板计数法测定的活菌数随时间变化曲线的结果是一致的。

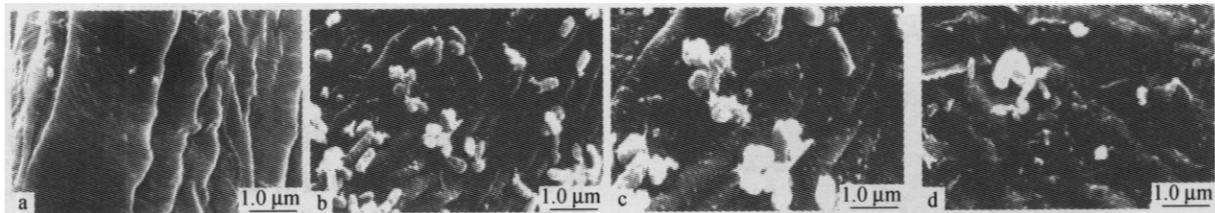


Fig. 11 SEM photographs of *E. Coli* treated with DMAE-BC grafted fiber

a) Blank fiber (DMAE-BC immobilized); b) Contacted with fiber for 5 min($\times 5400$); c) Contacted with fiber for 5 min; d) Contacted with fiber for 2 h

综上所述,通过实验考察了季铵盐类单体 DMAE-BC 和 DMAE-BC 接枝的抗菌材料的灭菌过程,证实了二者对大肠杆菌均有杀灭作用.实验表明,DMAE-BC 的最小抑菌浓度(MIC)为 6 mg/mL.电镜观测结果表明 DMAE-BC 导致菌体发生团聚和分裂,从而导致细菌死亡.进一步研究表明,加入单体后的菌液中可测得 β -半乳糖苷酶,证实该单体对菌的细胞壁的裂解作用.TTC 脱氢酶活性测定法证实了接枝 DMAE-BC 单体对大肠杆菌的杀灭作用.吸附实验结果表明,未接枝 DMAE-BC 单体的空白纤维素基本不吸附大肠杆菌,而接枝该单体后的抗菌材料对大肠杆菌具有很强的吸附

能力,对于活菌的吸附能力更强.这种吸附主要是由于静电作用力所致.采用平板计数法和呼吸活性测定法的测定加入抗菌纤维后菌浓和菌呼吸活性的变化过程,结果表明抗菌材料的杀菌过程由吸附和杀菌两步构成,其中,吸附过程速度快,而杀菌过程速度较慢,这与电镜法直接观测的结果是一致的。

本文所采用的 ONPG 测定法,TTC 法,动态穿透曲线法以及呼吸活性测定法同样适用于表征和研究类似的抗菌材料的抗菌特性,综合运用上述方法为新型抗菌材料的研制和实际应用提供了可靠的分析手段。

REFERENCES

- 1 Martijn Theo. Water in europe. In: Fielding M, Farrimond M, eds. Disinfection by-products in Drinking Water. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1999. 3 ~ 8
- 2 Yu Huifang(于惠芳), Ma Zheng(马峥), Zhang Zhenliang(张振良). Environmental Protection(环境保护), 1999, 259(5): 13 ~ 17
- 3 Bessems Eugene. International Biodeterioration and Biodegradation, 1998, 41(3 ~ 4): 177 ~ 183
- 4 Chen Yongjun(陈拥军), Li Bengao(李本高), Wang Xieqing(王燮卿). Petroleum Processing and Petrochemicals(石油炼制与化工), 1997, 28(1): 56 ~ 63
- 5 Ebi N, Imazato S, Noiri Y, Ebisu S. Dental Materials, 2001, 17(6): 485 ~ 491
- 6 Seckin T, Onal Y, Yesilada O, Gultek A. J Mater Sci, 1997, 32(22): 5993 ~ 5999
- 7 Syaliuddin T, Hisamitsu H, Toko T, Igarashi T, Goto N, Fujishima A, Miyazaki T. Biomaterials, 1997, 18(15): 1051 ~ 1057
- 8 Yoshida K, Tanagawa M, Atsuta M. J Biomed Mater Res, 1999, 47: 516 ~ 522
- 9 Imazato S, Ebi N, Tarumi H, Russell R R B, Kaneko T, Ebisu S. Biomaterials, 1999, 20: 899 ~ 903
- 10 Kawabata N. Prog Polym Sci, 1992, 17: 1 ~ 34
- 11 Kanazawa A, Ikeda T, Endo T. J Appl Polym Sci, 1994, 52: 641 ~ 647

- 12 Li G, Shen J, Zhu Y. J Appl Polym Sci, 2000, 78: 641 ~ 647
- 13 Zhou Xuanrong(周轩榕), Lu Diannan(卢滇楠), Shao Manjun(邵曼君), Xing Xiaodong(邢晓东), Wang Xiaogong(王晓工), Liu Zheng(刘铮). Chemical Journal of Chinese University(高等学校化学学报), 2003, 24(6): 1131 ~ 1135
- 14 Zhu Nanwen(朱南文), Min Hang(闵航), Chen Meici(陈美慈), Zhao Yuhua(赵宇华). China Biogas(中国沼气), 1996, 2: 3 ~ 5
- 15 Lehrer R I, Barton A, Ganz T. Journal of Immunological Methods, 1988, 108: 153 ~ 158
- 16 Kanazawa A, Ikeda T, Endo T. J Polym Sci A Polym Chem, 1993, 31: 3003 ~ 3011

QUATERNARY AMMONIUM SALT (QAS) GRAFTED CELLULOSE FIBER ——PREPARATION AND ANTI-BACTERIAL FUNCTION

LU Diannan, ZHOU Xuanrong, XING Xiaodong, WANG Xiaogong, LIU Zheng

(Department of Chemical Engineering, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract Surface contact disinfecting technique is a newly developed method for water sterilization. An experimental protocol to elucidate the anti-bacterial process and mechanism was proposed and applied to a novel surface contact disinfectant made of cellulose fiber grafted with DMAE-BC, using *E. Coli*, as a model bacterium. The minimum inhibition concentration (MIC) of the monomer, defined as a concentration at which the growth of *E. Coli* in water is completely inhibited, was determined by the plate counting method. MIC was then used as an index to characterize disinfection capability of the monomers. The disinfection mechanism of the monomer was further investigated by measuring the activity of β -galactosidase and observing the cell morphology with a scanning electron microscope (SEM). To elucidate the disinfection process and mechanism of the grafted fiber, the steady state and dynamic adsorption of *E. Coli* on the fiber was examined, respectively. The TTC-dehydrogenase activity and respiration activity of *E. Coli* adsorbed on the fiber surface were also determined. The results showed that the sterilization process by the grafted fiber was composed of two steps, in which the adsorption of *E. Coli* bacteria on the fiber surface driven by electrostatic interaction was a fast process and cell-lysis was a relatively slow process.

Key words DMAE-BC, Polycationic surface contact antibacterial material, Antibacterial kinetics, Inner membrane permeability, Kinetic penetration, Anti-bacterial mechanism