

季铵盐型纳米气相二氧化硅衍生物的合成、表征及生物学活性

徐霞^{1,2}, 杨秦欢¹, 雷万学¹, 李正军¹, 何壮志¹, 林芳¹, 张廷有^{1*}

1. 四川大学皮革化学与工程教育部重点实验室, 四川 成都 610065
2. 郑州大学医学实验中心, 河南 郑州 450052

摘要 以纳米气相 SiO₂ 为载体, 以 - 氯丙基三甲氧基硅烷作偶联剂, 用 N,N'-二甲基十四烷基叔胺进行了季铵化反应制备季铵盐型纳米气相二氧化硅衍生物。用红外光谱, DSC 和激光粒度 Zeta 电位仪对纳米气相二氧化硅季铵盐衍生物进行了表征和测定, 用悬菌定量实验 (Suspension quantitative test) 研究了其抗菌性能。结果表明: (1) - 氯丙基三甲氧基硅烷通过与纳米气相二氧化硅表面羟基的反应键合到二氧化硅表面, 随着 - 氯丙基三甲氧基硅烷的用量增加, 纳米气相二氧化硅表面羟基被取代程度也增加; (2) 纳米气相二氧化硅的零电位在 pH 4.8, 纳米气相二氧化硅季铵盐衍生物的零电位在 pH 10.5, 季铵盐的引入使其零电位发生了较大的位移; (3) 所制备的纳米气相二氧化硅季铵盐衍生物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌以及白色念珠菌在振荡作用 15 min 后, 平均抑菌率分别为 99.99%, 99.99% 和 94.12%。

关键词 纳米气相二氧化硅; FTIR; DSC; 抗菌

中图分类号: TQ91 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-0593(2006)03-0444-04

引言

纳米气相二氧化硅 (nano-fumed silica, 简称: NFS) 作为一种轻质的多孔超微细无机新材料之一, 其粒径小, 无毒, 有大的比表面积、高化学纯度及高分散性能, 具有高透明、高绝热等光、热性质, 在光催化、微电子和透明绝热等领域具有很好的发展前景。

纳米气相二氧化硅表面有丰富硅羟基的存在, 可以对其表面有机化改性 (包括烷基化、酯化等, 国内外都有不少报道^[1-3])。改性后的纳米气相二氧化硅由于其结构具有无机物和有机物的双重性, 具有无机物和有机物不能同时兼备的许多特性, 可以在医用材料、橡胶^[4]、涂料^[5,6] 和卫生洁具等中使用。通过活泼的表面羟基固载上抗菌基团, 可以得到性能更优的不易流失的抗菌材料。但是, 抗菌材料的抗菌活性与抗菌基团引入的量的多少有直接关系, 因此, 有必要研究抗菌基团引入的方法以及反应进行的程度。本文是将纳米气相二氧化硅作为载体, 用 - 氯丙基三甲氧基硅烷作偶联剂与叔胺进行季铵化反应, 制备以无机纳米材料为载体的高分子抗菌剂。抗菌材料的合成分为两步, 第一步为 - 氯丙基三甲氧基硅烷在纳米气相二氧化硅表面的引入, 第二步是用键合到纳米气相二氧化硅上面的 - 氯丙基三甲氧基硅烷上的氯

原子作为活性中心, 与二甲基十四烷基叔胺进行反应, 得到季铵盐改性的纳米二氧化硅粉体抗菌材料。在此合成反应中, 第一步为比较重要的反应, 是决定第二步抗菌基团引入的关键。由此, 通过红外光谱对纳米气相二氧化硅固载硅烷偶联剂的产物进行定量表征。还对研制的高分子杀菌剂的分散系进行了 Zeta 电位测定和抗菌性能测试。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

傅里叶变换红外光谱仪 (Nicolet, USA), 激光粒度 Zeta 电位仪 (MALVERN 公司), 差示扫描量热仪 (德国 NETZSH), 纳米气相二氧化硅 (粒径: 40 nm, 广州吉必时科技实业有限公司), N,N'-二甲基十四烷基叔胺, 购自江苏飞翔化工股份有限公司, - 氯丙基三甲氧基硅烷, 购自应城市得邦化工新材料有限公司, 甲苯, 乙腈等均为分析纯。

1.2 菌种

大肠杆菌 *Escherichia coli* (8099), 金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus* (ATCC6538) 以及白色念珠菌 *Candida albicans* (ATCC10231) 均为河南省防疫站所赠。伊红美蓝培养基 (北京奥博新生物技术责任有限公司), LB 液体和固体培养基 (自配)。

收稿日期: 2005-06-18, 修订日期: 2005-09-19

基金项目: 教育部博士点基金 (20050610047) 资助项目, 河南省教育厅自然科学研究计划项目 (2004922008) 资助

作者简介: 徐霞, 女, 1965年生, 郑州大学医学实验中心副教授, 在读博士 *通讯联系人

1.3 纳米气相二氧化硅季铵盐衍生物的合成

1.3.1 纳米气相二氧化硅(NFS)与 γ -氯丙基三甲氧基硅烷的反应

称量 5 g 干燥的 NFS, 加入 40 mL 的甲苯, 搅拌一定时间后, 慢慢加入少量的水, 并且在搅拌的状态下分别滴加 0.006 81, 0.013 6, 0.020 4, 0.027 2 和 0.034 1 mol 的 γ -氯丙基三甲氧基硅烷, 加热到指定温度, 反应 6 h, 过滤, 得到一系列不同取代程度的改性纳米气相二氧化硅-1 (Modified nano-fumed silica-1, 简称 MNFS-1)。将得到的 MNFS-1 在索氏抽提器中用甲苯抽提 24 h, 除去没有反应的 γ -氯丙基三甲氧基硅烷, 真空干燥, 得到纯化的 MNFS-1。

1.3.2 纳米气相二氧化硅季铵盐衍生物的合成

称量 5 g 的 MNFS-1 (滴加 0.034 1 mol γ -氯丙基三甲氧基硅烷改性的 MNFS-1), 在乙腈中搅拌 30 min 后, 在搅拌的状态下滴加 0.03 mol 的 N,N-二甲基十四烷基叔胺, 加热反应一段时间, 用乙腈抽提 24 h, 真空干燥, 得到纯净的 N,N-二甲基十四烷基叔胺改性的季铵盐纳米气相二氧化硅衍生物 (简称 MNFS-2)。

1.4 测试和表征

采用 NICOLET FTIR 红外光谱仪和 NETZSH 差示扫描量热分析仪分别对产物进行红外和差示扫描量热法测试。并采用 MALVERN 激光粒度 Zeta 电位仪测定分散系的 Zeta 电位。

1.5 抗菌实验

分别称取 0.5 g 所研制的杀菌剂于三个 150 mL 锥形瓶中, 再加入 10 mL 10^8 cfu \cdot mL $^{-1}$ 的菌悬液, 90 mL 无菌水, 分别振荡作用 5, 15, 30 min 后, 静置 30 min, 取 1 mL 作用后的菌悬液作 10 倍梯度稀释后, 取 1 mL 于培养皿中, 加入融化后冷至 40 左右的培养基, 摇匀, 于 37 培养 72 h, 计算存活菌数和杀菌率。

2 结果与讨论

2.1 NFS 和 MNFS-1 红外光谱分析

在常温下, NFS 和 MNFS-1 的红外光谱如图 1 所示。

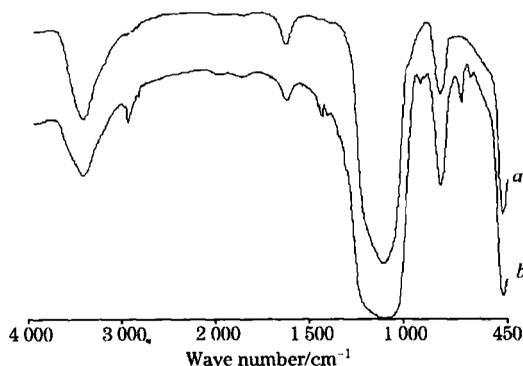


Fig 1 The IR spectra of NFS and MNFS-1

a, NFS; b, MNFS-1

通过比较图 1 中的 a 和 b 可见: NFS 在 3 430 cm $^{-1}$ 处有

一个较强的吸收峰, 为 NFS 表面硅羟基的吸收峰; 在 MNFS-1 的 IR 中, 表面硅羟基吸收峰 3 430 cm $^{-1}$ 减弱^[7], 并且出现 3 000 ~ 2 850 cm $^{-1}$ 之间的 C-H, 1 438 cm $^{-1}$ C-H, 说明 γ -氯丙基三甲氧基硅烷已经键合到 NFS 表面上。

为了测定加入 γ -氯丙基三甲氧基硅烷的量与 NFS 反应的程度的关系, 根据参考文献 [7], 定量测定了硅羟基的吸收峰的峰面积与加入 γ -氯丙基三甲氧基硅烷的量的关系。准确称取 0.001 00 g MNFS-1, 加入 0.260 00 g 研成细粉的 KBr, 混匀后压片, 测定压片厚度, 然后进行红外光谱分析, 结果如图 2 所示。从图 2 可以看出, 在相同的反应条件下, 加入硅烷偶联剂的量越大, 产物表面羟基被取代的越多, 表面羟基的吸收峰越小, 而产物中 $-CH_2$ 吸收相应增大。

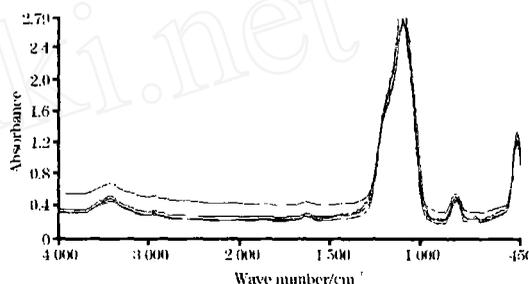


Fig 2 The IR spectra of a series of MNFS-1

根据 Lambert-Beer 定律计算得到 γ -氯丙基三甲氧基硅烷改性的纳米气相二氧化硅的表面羟基吸收峰的峰面积与 γ -氯丙基三甲氧基硅烷量的关系如图 3 所示。

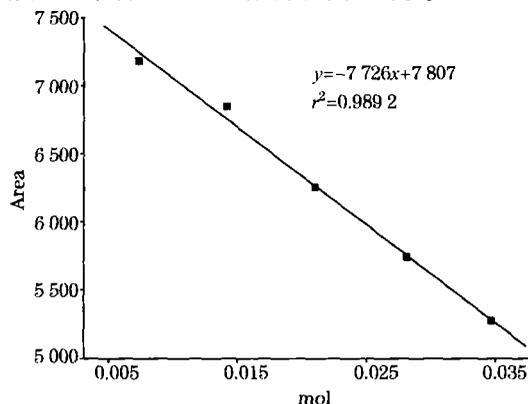


Fig 3 The relationship between the quantity of γ -chloropropyltrimethoxysilane and the IR absorption peak area of surface hydroxyl of MNFS-1

在 0.006 81 和 0.034 1 mol 的范围内, 加入硅烷偶联剂的量与 IR 吸收峰面积成正比, 由此, 可以通过测定表面羟基的吸收峰的面积确定键合的硅烷偶联剂的量, 从而确定抗菌基团量的引入。

2.2 NFS 和 MNFS-1 的湿热稳定性

图 4 和图 5 分别为 NFS 和 MNFS-1 的 DSC 图。图 4 和图 5 明显不同, 且 NFS 在 72.6 有一个很强的吸热峰, 而和 γ -氯丙基三甲氧基硅烷反应后的产物在 258 有一个放热峰, 这是形成新的化合物的表现。

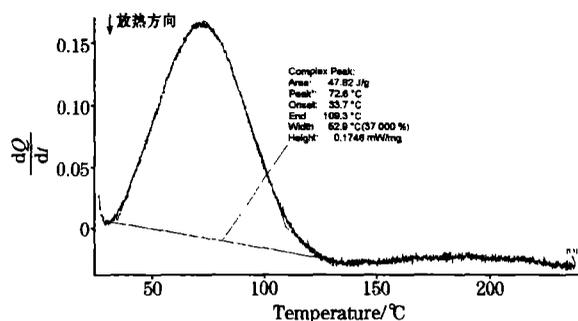


Fig 4 NFS diagram of DSC

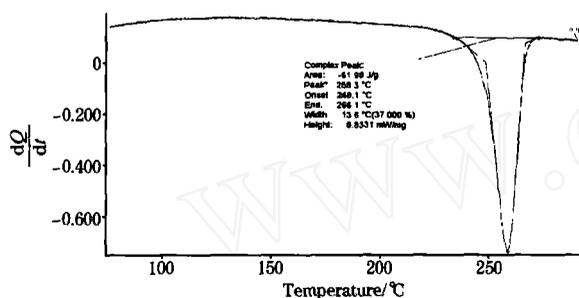


Fig 5 MNFS-1 diagram of DSC

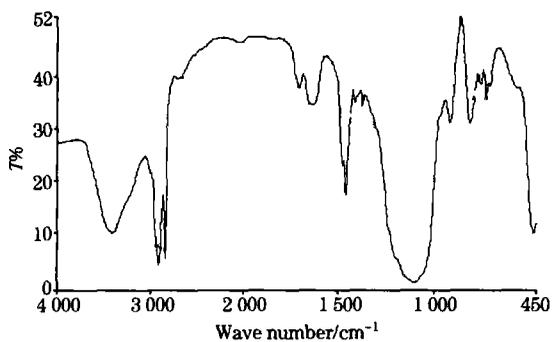


Fig 6 IR spectrum of MNFS-2

2.3 MNFS-2 红外光谱分析

从图 6 中可以看出,在 $2850 \sim 3000 \text{ cm}^{-1}$ 处 CH_2 特征峰明显加强,并且存在 $\text{C}-\text{N}$ 伸缩振动吸收峰 1372 cm^{-1} ,这表明 N,N -二甲基十四烷基叔胺和 MNFS-1 发生了季铵化反应,生成了季铵盐衍生物。

2.4 Zeta 电位分析

图 7 反映了悬浮液的 pH 值对 NFS 和 MNFS-2 的 Zeta 电位的影响。由图 7 可以看出, NFS 零电位的 pH 值约为 4.8,当溶液的 $\text{pH} < 4.8$ 时, NFS 的表面带正电;当溶液的 $\text{pH} > 4.8$ 时, NFS 的表面带负电,并且随着 pH 值增大, Zeta 电位绝对值增大。同样可以看出, MNFS-2 的零电位的 pH 值约为 10.5,并且它的表面所带的电荷的变化规律与 NFS 相同。

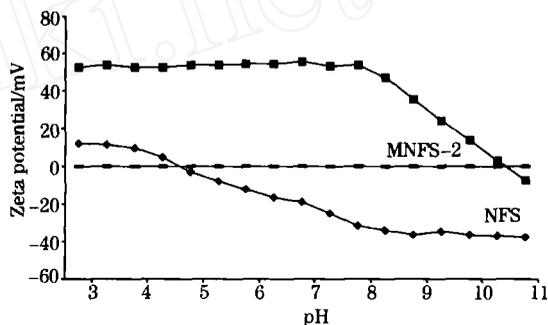


Fig 7 pH titration graph of NFS and MNFS-2

由图 7 可以看出:由于 NFS 的零电位在 $\text{pH} 4.8$,故粒子在水介质中通常带负电,并且随 pH 的增高,负电荷增多。而 MNFS-2 的零电位在 $\text{pH} 10.5$ 附近,故粒子在水介质中通常带正电,这是由于 MNFS-2 表面键合有季铵阳离子的缘故。

2.5 MNFS-2 抗菌实验

悬菌实验表明, MNFS-2 与大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌作用不同的时间,其抑菌效果不同,结果见表 1。

Table 1 Bacteriostatic efficacy of MNFS-2 after exposure for different periods of time

微生物	对照组平均菌数	作用不同时间的平均抑菌率/ %		
		5 min	15 min	30 min
大肠杆菌	29 500 000	97.99	99.99	99.99
金黄色葡萄球菌	182 000 000	99.85	99.99	99.99
白色念珠菌	15 900 000	89.74	94.12	95.23

注:实验温度为 20°C ; 实验中实验结果为 3 次实验平均值

从表 1 可以看出:随着微生物与合成的抗菌材料作用时间的变化,其抑菌率发生相应的变化,与作用时间呈正相关,所合成的抗菌材料对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌性优于对白色念珠菌。

细菌细胞膜是在细胞壁与细胞质之间的一层柔软而富有弹性的具有高度选择性的半渗透性薄膜,由蛋白质和磷脂组成,基本结构为双层磷脂,其中镶嵌蛋白质带有负电荷。季铵盐阳离子表面活性剂本身就是抗菌性能较强的抗菌剂,其作用机理主要是正负电荷吸引,产生吸附作用,季铵盐小分

子吸附到细菌表面,然后穿透细胞壁,与细胞膜结合,扰乱细胞膜组成,使胞内物质如 RNA, DNA 和 K^+ 等泄漏使细菌死亡^[7]。

大分子化后的季铵盐型抗菌材料的灭菌机理目前尚不清楚,但一般认为,其作用过程是由于季铵盐分子带正电,经大分子化后,相对分子质量增大,电荷密度提高。由于微生物细胞表面带负电,可以将细菌吸附到其表面,然后与细胞膜结合,扰乱细胞膜的组成。

季铵盐改性的纳米气相二氧化硅属于大分子化的季铵盐

化合物,其作用机理也应该服从上述步骤,本文合成的 MNFS-2 在水溶液中(pH 7)其 Zeta 电位为 10.5,因此有较强的抑菌作用。

3 结 论

1. 利用纳米气相二氧化硅表面上的羟基,以 γ -氯丙基三甲氧基硅烷作偶联剂,再与叔胺进行季铵化反应可以制备纳米气相二氧化硅季铵盐衍生物粉体抗菌材料。

2. 红外光谱和 DSC 证明了 γ -氯丙基三甲氧基硅烷已键

合到纳米气相二氧化硅表面;红外光谱证明了其进一步和 N,N-二甲基十四烷基叔胺季铵化。纳米气相二氧化硅的零电位在 pH 4.8,纳米气相二氧化硅季铵盐衍生物的零电位在 pH 10.5,季铵盐的引入使其零电位发生了较大的位移。

3. 悬菌定量实验方法测定纳米气相二氧化硅季铵盐衍生物粉体抗菌材料对大肠杆菌(8099),金黄色葡萄球菌(ATCC6538)以及白色念珠菌(ATCC10231)的 15 min 抑菌率分别为 99.99%,99.99%,94.12%,改性纳米气相二氧化硅对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌有很强的抗菌效果,对真菌的抗菌效果略弱一些。

参 考 文 献

- [1] Gun'ko V M, Skubiszewska-Zieba J, Leboda R. *Journal of Colloid and Interface Science.*, 2004, 269(2): 403.
- [2] Voronin E F, Gun'koa V M, Guzenkoa N V. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2004, 279: 326.
- [3] LIU Li-zhu, ZHANG Ying-tang, LIANG Bing, et al (刘立柱, 张营堂, 梁冰, 等). *Journal Harbin University Science and Technology (哈尔滨工业大学学报)*, 2004, 9(1): 99.
- [4] HU Guang-fa, HUANG Jie (扈广法, 黄捷). *China Synthetic Rubber Industry (合成橡胶工业)*, 2002, 25(3): 248.
- [5] CHU Jiu-rong, WEN Xu-ming, SUN Hui-gang (储九荣, 温序铭, 孙会刚). *Journal of Chinese Ceramic Society (硅酸盐学报)*, 2001, 29(3): 291.
- [6] YANG Xiao-hong, ZHU Wei-ling (杨晓鸿, 朱薇玲). *Journal of Chinese Ceramic Society (硅酸盐学报)*, 2005 33(5): 547.
- [7] WANG Juan, ZHANG Chang-rui, FENG Jian, et al (王娟, 张长瑞, 冯坚, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析)*, 2005, 25(7): 1045.
- [8] LU Dian-nan, ZHOU Xuan-rong, XING Xiao-dong. *Acta Polymerica Sinica (高分子学报)*, 2004, (1): 107.

Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Nano-Fumed Silica Derivative with Quaternary Ammonium Salts

XU Xia^{1,2}, YANG Qin-huan¹, LEI Wan-xue¹, LI Zheng-jun¹, HE Zhuang-zhi¹, LIN Fang¹, ZHANG Ting-you^{1*}

1. The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610065, China

2. The Center of Medical Experiment, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

Abstract Nano-fumed silica reacted with γ -chloropropyltrimethoxysilane as a coupling agent, and then by quaternization with N,N-dimethyl-N-tetradecylamine, finally the nano-fumed silica derivative with quaternary ammonium salts was obtained. The nano-fumed silica derivative was investigated by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), differential scanning calorimeter (DSC), and Zeta sizer nano series. The antimicrobial properties of the nano-fumed silica derivative against selected microorganisms were tested by the quantitative suspension method. The results revealed that (1) γ -chloropropyltrimethoxysilane can be bound to the surface of the nano-fumed silica. With increasing the amount of γ -chloropropyltrimethoxysilane, the amount of surface hydroxyl groups of nano-fumed silica decreases. (2) The Zeta potential showed that the isoelectric point of the nano-fumed silica and the modified nano-fumed silica is pH 4.8 and pH 10.5, respectively. The shift of the isoelectric point is due to the quaternary ammonium groups. (3) The obtained nano-fumed silica derivative has significant inhibition effect on the growth of microorganisms, and the bactericidal rates in 15 min for E. coil (8099), S. aureus (ATCC6538) and C. albicans (ATCC10231) were 99.99%, 99.99% and 94.12%, respectively.

Keywords Nano-fumed silica; Fourier transform infrared spectroscopy; Differential scanning calorimeter; Antimicrobial

*Corresponding author

(Received Jun. 18, 2005; accepted Sep. 19, 2005)