

碳原子线的抗菌性能

何安坤^{1,2} 薛宽宏^{1,2} 周宁琳^{1,2,3} 沈 健^{*,1,2,3}

(¹ 南京师范大学江苏省生物医药功能材料工程研究中心, 南京 210097)

(² 南京师范大学化学与环境科学学院, 南京 210097)

(³ 南京大学江苏省界面化学工程技术研究中心, 南京 210093)

关键词: 碳原子线; 卡宾; 抗菌性; 抑菌环; 菌落数

中图分类号: O611.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2008)02-0329-05

Antibacterial Effects of Carbon Atom Wires

HE An-Kun^{1,2} XUE Kuan-Hong^{1,2} ZHOU Ning-Lin^{1,2,3} SHEN Jian^{*,1,2,3}

(¹ Jiangsu Engineering Research Center for Biomedical Function Materials, Nanjing Normal University, Nanjing 210097)

(² College of Chemistry and Environment Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097)

(³ Jiangsu Technological Research Center for Interfacial Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093)

Abstract: Antibacterial effects of a new material, carbon atom wires (CAWs), another allotropic form of carbon based on *sp* hybridization, were investigated by various methods including zone of inhibition, bacterial colonies and conductivity measurements. The bacteria used in the research were *Bacillus subtilis* (ATCC9372), *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) and *Proteus vulgaris* (49102). As experimental results indicated, CAWs exhibited well inhibitory effects on the bacteria tested. An excellent biocompatibility of pyrolytic carbon has been well recognized. The additional inherency of the new material against bacterial growth could be potentially utilized in medical applications.

Key words: carbon atom wires; carbyne; antibacterial effect, zone of inhibition, bacterial colonies

生物医用材料常用来诊断、治疗、修复或替换人体中损坏的组织、器官或改进其功能。这些材料应具有高强度、耐腐蚀的特点以及优异的抗疲劳性能,无毒性、无致敏性、无刺激性和无致癌性,对人体组织、血液、免疫系统等无不良作用。钛合金、不锈钢、陶瓷和有机高聚物已经广泛用作口腔材料、心血管材料、骨科材料等^[1,2]。然而在这些材料表面常常出现细菌的粘附和繁殖而导致相关组织被感

染,给患者增添很多痛苦和烦恼,因此生物材料的抗菌性引起越来越多的关注。

人们早就发现碳的生物相容性十分优异,具有出色的化学稳定性和突出的高强度、耐疲劳等物理性能,已被广泛用在人工心脏瓣膜、人工齿根、人工骨与人工关节、人工血管、人工韧带和肌腱等诸多方面^[3]。

实验结果显示,碳原子线(carbon atom wires,

收稿日期:2007-11-06。收修改稿日期:2007-12-01。

国家自然科学基金资助项目(No.20473039);国家高技术研究发展计划(863 计划)专项资助项目(No.2006AA032Z445);科技部重大基础研究前期研究专项资助项目(No.2005CCA00400);教育部博士点基金资助项目(No.20050319010);江苏省发改委资助项目(No.2004419);江苏省教育厅基金资助项目(No.JHjd03-008, JHB05-21)。

*通讯联系人。E-mail: jshen@njnu.edu.cn

第一作者:何安坤,女,28岁,硕士研究生;研究方向:生物医药功能材料。

CAWs)是以 sp 杂化键合、直径约为 0.2 nm 的线性碳^[4]。由于碳原子线分子链中每个碳原子都有 2 个电子参与大 π 共轭体系,分子链上存在众多可离域电子,这一特殊分子结构可能导致碳原子线表现出一些特殊性能。碳原子线不仅对于一些生物分子的电化学反应显示出高度的催化活性^[5,6],而且对于一些菌种具有良好的抗菌性。本文报告碳原子线的抗菌性能的研究结果。

我们采用的抗菌性能研究方法为抑菌环法、菌落数法和电导率法。抑菌环法和菌落数法是目前表征抗菌材料的抗菌性能的常用方法^[7-17],电导率法则是最近发展起来的新方法^[18]。

1 实验部分

1.1 碳原子线的制备

关于碳原子线的制备和表征,已另文发表^[4]。碳原子线由马铃薯淀粉在 Ar 、 H_2 气氛中,500~800 $^{\circ}\text{C}$ 温度下,以铁系金属作催化剂于管式炉中热解而成。热解产物用浓硝酸在装有回流冷凝管的烧瓶中、水浴上加热搅拌 1 h,反复清洗、过滤,滤饼在真空干燥箱中干燥 24 h 后备用。

1.2 实验菌种和培养基

本研究选用金黄色葡萄球菌 (ATCC25923)、普通变形杆菌(49102)、枯草杆菌(ATCC9372)作实验菌种,以牛肉膏蛋白胨作培养基。具体配方如下:固体培养基:氯化钠 5.0 g、牛肉膏 3.0 g、蛋白胨 10.0 g、琼脂 14.0 g、二次蒸馏水 1000 mL;液体培养基中不含琼脂,其余组成及含量均与固体培养基相同;两种培养基的 pH 值均用 NaOH 调整至 7.0~7.2。

1.3 抗菌性能的试验方法

1.3.1 抑菌环法

含试验菌种的固体培养基(1:100,体积比)涂敷在一培养皿中,将 0.1 g 碳原子线压片后置于培养基面上,然后将培养皿放入振荡培养箱 24 h 后观察抑菌环大小。

1.3.2 菌落数法

将不同质量的碳原子线加入含有同量液体培养基的试管中(碳原子线的表观浓度分别为 0、1.25、2.5 和 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$),用超声波振荡使成均匀悬浊液,按照 $V_{\text{菌液}}:V_{\text{液体培养基}}=1:100$ 的比例加入菌液,在振荡培养箱中振荡 24 h。对于金黄色葡萄球菌和普通变形杆菌,将振荡后的部分液体稀释 10^5 倍,分别取被稀释后的液体 0.1 mL 涂于固体培养基表面,放入振荡培养箱中再培养 24 h。

1.3.3 电导率法

从上述菌落数实验中含有不同浓度碳原子线、已在振荡培养箱振荡 24 h 后的含菌液体培养基取出 0.4 mL,加入 39.6 mL 无菌二次蒸馏水,混合均匀后置于电导池内测其电导率。

上述 3 种抗菌性能测试方法均在洁净工作台内进行,所使用的培养基和仪器,包括电导池、电极、微量移液器等均经灭菌锅或紫外线杀菌。

2 结果与讨论

2.1 抑菌环法

图 1 是碳原子线分别对枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、普通变形杆菌作用 24 h 后的抑菌环实验结果。图片中,在样片的周围出现了无菌生长的空白区,即抑菌环。抑菌环直径(mm)=空白区外围直径(mm)-样品直径(mm)。抑菌环越大说明该样品的抗菌性能越好。图 1a、1b、1c 的抑菌环直径分别是 10.3、10.2、7.2 mm,说明碳原子线对枯草杆菌、金

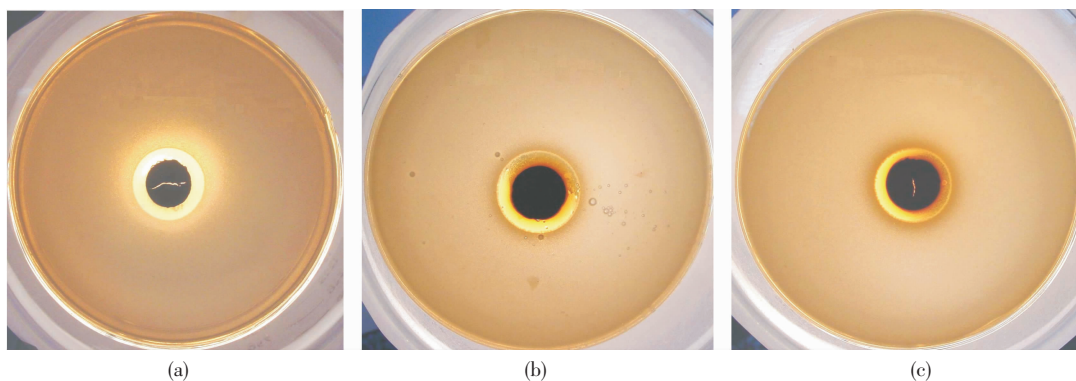


图 1 碳原子线对于枯草杆菌(a)、金黄色葡萄球菌(b)和普通变形杆菌(c)的抑菌环实验结果

Fig.1 Zone of inhibition test results for carbon atom wires against *Bacillus subtilis* (a), *Staphylococcus aureus* (b) and *Proteus vulgaris* (c)

色葡萄球菌、普通变形杆菌均有良好的抑制生长作用。

2.2 菌落数法

图 2 和图 3 是按实验方法 1.3.2 所述操作分别得到的,等量的金黄色葡萄球菌和普通变形杆菌在含有不同量的碳原子线(0、1.25、2.5、5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)的液体培养基中的菌落数实验结果。由这些图可以看

到,含有碳原子线的培养基(b,c,d)中的菌落数比不含有碳原子线的样品(a)少很多,说明碳原子线对金黄色葡萄球菌和普通变形杆菌具有良好的抑制生长作用。而且还可以看到,随着碳原子线浓度增大,其抗菌效果愈加显著。当碳原子线在液体培养基中的表观浓度达到 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,碳原子线基本上可以完全抑制这两种细菌的生长。

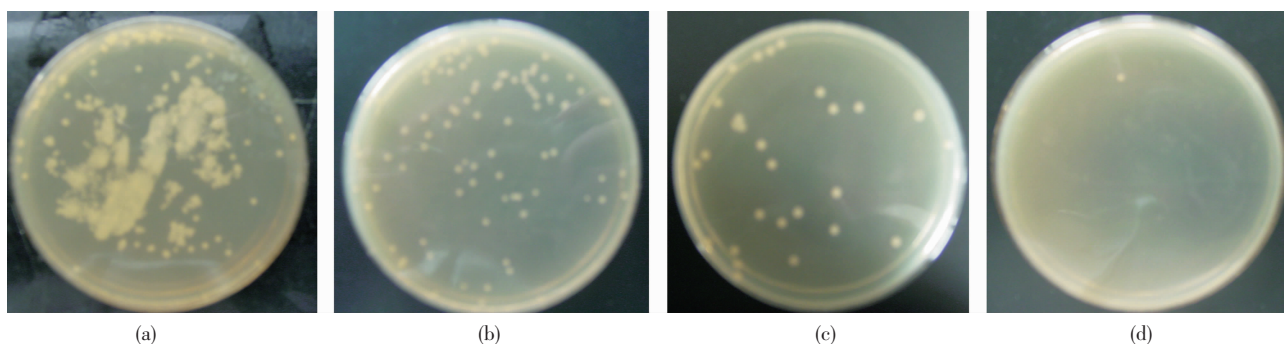


图 2 在含有等量金黄色葡萄球菌、不同量的碳原子线(a, 0; b, 1.25; c, 2.5; d, 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)的液体培养基中的菌落数实验结果

Fig.2 Bacterial colonies of *Staphylococcus aureus* in the culture media containing carbon atom wires at different apparent concentrations (a, 0; b, 1.25; c, 2.5; d, 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)

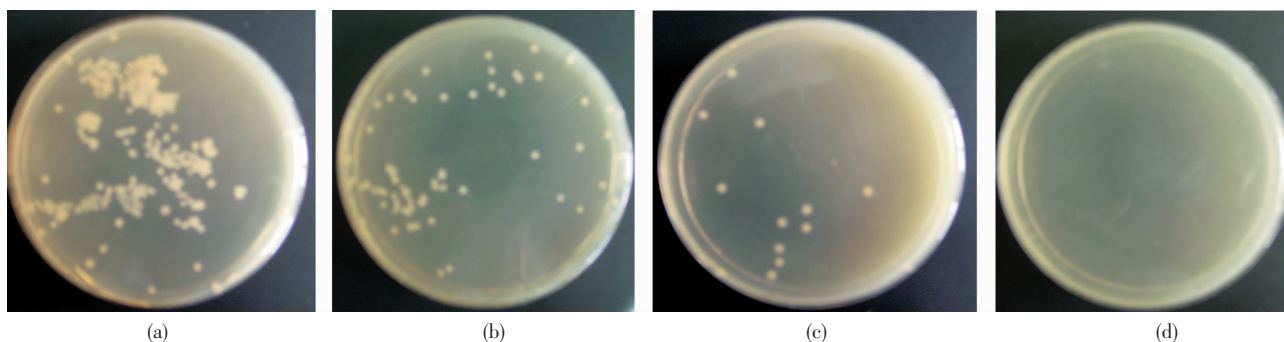


图 3 在含有等量普通变形杆菌、不同量的碳原子线(a, 0; b, 1.25; c, 2.5; d, 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)的液体培养基中的菌落数实验结果

Fig.3 Bacterial colonies of *Proteus vulgaris* in the culture media containing carbon atom wires at different apparent concentrations (a, 0; b, 1.25; c, 2.5; d, 5 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)

2.3 电导率法

按菌落数实验方法在振荡培养箱中振荡 24 h 后,分别含有枯草杆菌、金黄色葡萄球菌和普通变形杆菌、不同碳原子线表观浓度的液体培养基的电导率测量结果列于表 1。由表可知,含有不同碳原子线表观浓度的培养液的初始电导率几乎完全相等,表明碳原子线的浓度变化所引起的电导率差异可忽略不计。由表 1 显然还可看到,在相同实验条件下,加有碳原子线的培养基在培养前后的电导率变化值小于未加碳原子线的电导率变化值,说明碳原子线对于这 3 种细菌均具有抗菌性。随着碳原子线表观浓度的增大,其抗菌效果愈加增强。表中的负变化值可能由实验误差所致。

以上 3 种实验的结果均表明,碳原子线具有良好的抗菌性能。碳原子线分子链是由 sp 杂化键合而成的大 π 共轭体系,因此存在众多的可离域电子,这种结构十分有利于电荷传输,我们已获得的关于碳原子线对于一些氧化还原反应的电催化研究结果显示了它的这一特性^[4-6]。参考目前比较普遍接受的关于抗菌材料的几种作用机理^[7,8],碳原子线的抗菌作用可能是在水和空气存在的条件下通过形成催化活性中心,产生羟基自由基 $\cdot\text{OH}$ 及活性氧离子 O_2^- 而实现的。有关研究工作正在进行中。据已有文献报道,热解碳只有在表面修饰其它抗菌材料,如银后才具有抗菌性^[6]。而碳原子线所具有的抗菌性却是本身所固有的。碳原子线是碳的一种同素

表 1 分别含有枯草杆菌、金黄色葡萄球菌和普通变形杆菌, 以及不同表观浓度碳原子线的液体培养基在振荡培养箱中振荡 24 h 后的电导率测量结果

Table 1 Conductivity of cultures containing bacteria of *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Proteus vulgaris*, and carbon atom wires at different apparent concentrations, after 24 h growth of the bacteria respectively

c of CAWs / (mg·mL ⁻¹)	Bacteria								
	<i>Bacillus subtilis</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Proteus vulgaris</i>		
	κ_i / (S·m ⁻¹)	κ_f / (S·m ⁻¹)	$\Delta\kappa$ / (S·m ⁻¹)	κ_i / (S·m ⁻¹)	κ_f / (S·m ⁻¹)	$\Delta\kappa$ / (S·m ⁻¹)	κ_i / (S·m ⁻¹)	κ_f / (S·m ⁻¹)	$\Delta\kappa$ / (S·m ⁻¹)
0	1.99	2.12	0.13	1.99	2.17	0.18	1.99	2.33	0.34
1.25	1.98	2.10	0.12	1.98	2.13	0.14	1.98	2.18	0.20
2.5	1.99	2.09	0.10	1.99	2.11	0.12	1.99	2.14	0.15
5	1.99	1.98	-0.01	1.99	1.99	0.00	1.99	2.01	0.02

Notes c: concentration; κ_i : initial conductivity; κ_f : final conductivity after 24 h growth of a bacterium;

$\Delta\kappa = \kappa_f - \kappa_i$: conductivity change after 24 h growth of a bacterium.

异形体。它兼具通常碳材料的良好生物相容性, 因而, 碳原子线若用作生物医学材料, 将具有很大的应用前景。

参考文献:

- [1] CUI Fu-Zhai(崔福斋), LI Yan(李艳), LI Heng-De(李恒德). *Advanced Materials Industry(Xincailiao Chanye)*, **2005**, (5):48~52
- [2] CHEN Ai-Min(晨爱民), WAN Tao(万涛). *Journal of Wuhan University of Technology(Wuhan Ligong Daxue Xuebao)*, **2005**, **27**(8):116~118
- [3] CHUAN Xiu-Yun(传秀云), QIN Yong(秦永), CUI Rong-Guo(崔荣国). *Carbon. Techniques.(Tansu Jishu)*, **2004**, **23**(5):27~31
- [4] Xue K H, Tao F F, Shen W, et al. *Chem. Phys. Lett.*, **2004**, **385**(6):477~480
- [5] Xue K H, Liu J M, Wei R B, et al. *Chem. Phys.*, **2006**, **327**(2/3):319~326
- [6] Xue K H, Tao F F, Xu W, et al. *J. Electroanal. Chem.*, **2005**, **578**(2):323~329
- [7] JI Jun-Hui(季君辉), SHI Wei-Ming(史维明). *Antibacterial Materials(抗菌材料)*. Beijing: Chemical Industry Press, **2003**.293~348
- [8] JIN Zong-Zhe(金宗哲). *Inorganic Antibacterial Materials and Application(无机抗菌材料及应用)*. Beijing: Chemical Industry Press, **2004**.225~246
- [9] Charnock C, Brudeli B, Klaveness J. *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2004**, **21**(5):589~596
- [10] MENG Na(孟娜), ZHOU Ning-Lin(周宁琳), CHEN Ya-Hong(陈亚红). *Journal of Functional Materials(Gongneng Cailiao)*, **2007**, **7**(38):1190~1193
- [11] Nair M K M, Vasudevan P, Venkitanarayanan K. *Food. Control.*, **2005**, **16**(5):395~398
- [12] Dizman B, Badger J C, Elasri M O, et al. *Appl. Clay. Sci.*, **2007**, **38**(1/2):57~63
- [13] Adamopoulos L, Montegna J, Hampikin G, et al. *Carbohydr. Polym.*, **2007**, **69**(4):805~810
- [14] Khan S A, Saleem K, Khan Z. *Eur. J. Med. Chem.*, **2007**, **42**(1):103~108
- [15] Edwards-Jones V, Buck R, Shawcross S G, et al. *Burns.*, **2004**, **30**(8):772~777
- [16] Tang H Q, Feng H J, Zheng J H, et al. *Surf. Coat. Tech.*, **2007**, **201**(9/11):5633~5636
- [17] Bakumov V, Gueinzus K, Hermann C. *J. Eur. Ceram. Soc.*, **2007**, **27**(10):3287~3292
- [18] YAN Lian-He(严莲荷), AN Yong(安勇), LEI Wu(雷武). *Journal of Nanjing University of Science and Technology(Nanjing Ligong Daxue Xuebao)*, **1999**, **23**(6):542~545