

锌盐种类对纳米 ZnO-玉米秸糠复合滤柱抗菌性能的影响

李孟, 高欣, 唐晓宁, 张恒, 段会超, 陈毅龙

(昆明理工大学 化学工程学院, 云南 昆明 650500)

摘要: 玉米秸糠 (CSC) 是一种低成本、可持续的生物质资源, 由于天然的多孔结构, 可用作过滤材料。利用简易的化学沉淀法在秸糠上负载 ZnO 纳米粒子 (ZnO NPs), 用于水体的净化杀菌。不同锌源对 ZnO NPs 的生长形态和化学特性有显著影响, 从而产生多种抗菌活性。以乙酸锌为锌源制备的复合滤柱显示出较优异的抗菌效果, 在过滤 5 min 后对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌率分别达到了 94.5% 和 90.5%。分析其抗菌机理推测为 CSC 的分级多孔结构对细菌有一定的截留作用, 继而使细菌与纳米粒子发生物理摩擦以及与活性氧 (ROS) 和水合锌离子产生化学反应, 使其细胞膜受损、细胞内成分渗漏最终导致细菌死亡。

关键词: 玉米秸糠; ZnO 纳米粒子; 水体杀菌; 抗菌机理

中图分类号: TB39

文献标识码: A

文章编号: 1002-185X(2021)11-4037-08

空气、水、医疗器械和植入物的细菌污染是人类健康和环境的主要问题^[1]。抗菌材料是一类具有杀灭和抑制细菌生长、繁殖的功能材料^[2]。其中, ZnO 作为无机抗菌剂因其无毒、稳定、抗菌效果广泛且持久等特点^[3], 比同类的抗菌剂更具有优势^[4]。而单纯的 ZnO NPs 具有易团聚、难回收等缺点, 为了克服此类问题, 赋予金属颗粒更好的分散性、抗菌性和可回收性, ZnO NPs 在形成的过程中通常需要一定的承载物^[5], 所以开发廉价高效、绿色环保、内在结构友好的功能载体是实现纳米氧化锌基抗菌材料可持续化发展的一个基础性问题。玉米秸秆是我国最丰富的农业废弃物, 可再生, 资源利用率低, 它主要由皮和糠组成的, 秸皮部分被大量用在制浆造纸方面, 而糠部则利用率较低^[6]。从化学成分分析可知, 糠部含有丰富的木质素和碳水化合物, 两者大分子中分别具有较多的酚羟基和脂肪族羟基, 有利于锌离子的吸附及原位生长。还具有丰富的薄壁细胞^[7], 其比表面积大、反应可及性高, 为金属纳米粒子的固载提供了极佳的场所, 同时也为细菌和氧化锌粒子的充分接触并发生反应提供了较大的可能性^[7,8]。另外, 由许多导管细胞组成的维管束, 是植物的输导组织^[9], 有利于液体的通过, 其为天然多通道结构, 因此, 玉米秸糠作为具有三维多微通道立体构造的生物质, 具有固载金属抗菌粒子, 用

于水净化的潜在特质^[10]。

本研究将玉米秸糠(CSC)作为载体, 提出了原位生长并负载 ZnO NPs 的又一类丰富的原料来源, 为扩展农业废弃秸秆功能化应用提供了实验和理论基础。同时利用玉米秸糠特殊的天然多孔结构可作为一种三维复合过滤柱, 探索水中大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的去除作用, 并分析锌盐种类对滤柱抗菌性能的影响, 为水的高效消毒提供了一条经济有效的途径。

1 实验

1.1 实验药品

六水合硝酸锌 ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$)、氯化锌 ($ZnCl_2$)、二水合乙酸锌 ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$)、七水合硫酸锌 ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$)、氢氧化钠 (NaOH)、氯化钠 (NaCl): 分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司; 酵母膏、胰蛋白、琼脂粉: 北京奥博星生物技术有限责任公司。

1.2 制备 CSC-ZnO NPs 复合滤柱

玉米秸秆收获于云南昆明地区, 风干后除去叶和皮得到秸糠部分。选择直径(1.4 ± 0.2) cm 的茎秆, 手工切割成长度为(3 ± 0.2) cm 的小段备用。抗菌滤柱采用化学沉淀法制备, 如图 1 所示。用 4 种锌盐 ($Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$, $ZnCl_2$, $Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$,

收稿日期: 2020-11-17

基金项目: 国家自然科学基金 (51963012); 国家级大学生创新创业训练计划 (202010674039); 昆明理工大学学生课外学术科技创新基金 (2020BA157)

作者简介: 李孟, 女, 1995 年生, 硕士生, 昆明理工大学化学工程学院, 云南 昆明 650500, E-mail: 18313507473@163.com

ZnSO₄·7H₂O) 分别配制 0.3 mol/L 的溶液, 并测定了溶液的初始 pH 值。将 CSC 在室温 (18±3 °C) 下置于锌溶液中浸泡 35 h, 同时在 350 r/min 下连续搅拌, 使溶液充分润湿 CSC。随后, 将 CSC 转移到浓度为 0.2 mol/L 的 NaOH 溶液中, 在 40 °C 下超声辅助反应 8 h, 反应式如图 1 中的 R1 所示。用纯水清洗至中性, 冷冻干燥保持形状。然后将其放入 100 °C 的烘箱中 24 h, 使其充分转化为氧化锌, 转化反应如图 1 中的 R2 所示。最后, 通过改变锌盐的种类, 制备了 4 种不同的滤柱样品, 分别表示为 CSC-ZnO^{Nit}、CSC-ZnO^{Chl}、CSC-ZnO^{Acc} 和 CSC-ZnO^{Sul}。

1.3 CSC 和 CSC-ZnO NPs 复合材料的表征

采用日本日立公司 SU8020 高分辨率场发射扫描电子显微镜 (SEM) 观察样品形貌。用电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP-OES, PerkinElmer Optima 8000DV, 美国) 对硝酸处理后的样品进行锌含量的检测。采用压汞仪 (美国麦克仪器公司, Autopore IV9510) 检测 CSC 及其纳米复合材料的大孔结构。样品的整体晶相通过 X 射线衍射仪 (XRD, 荷兰帕纳科公司, X'pert-3) 在 2θ 为 10°~80° 范围内测量确定。纤维素的 (002) 晶面和 ZnO NPs 的 (101) 晶面的结晶尺寸 (D, nm) 使用 Scherrer 方程^[11] (1) 计算:

$$D = k\lambda(\beta_{1/2} \cos \theta)^{-1} \quad (1)$$

式中, *k* 是谢勒常数(0.94), *λ* 是 X 射线波长(0.154056 nm), *β*_{1/2} 是衍射峰的半峰宽, *θ* 是衍射角。

用下列方程 (2) 计算结晶度指数^[11] (CrI):

$$CrI = [(I_{002} - I_{am}) / I_{002}] \times 100\% \quad (2)$$

式中, *I*₀₀₂ 是 (002) 面最大衍射强度, *I*_{am} 是无定形纤维素衍射峰的强度。利用 Jade 6.0 对 X 射线衍射谱进行了分析。利用傅里叶红外光谱仪 (FT-IR, 美国尼高力仪器公司, Nicolet 560) 在 400~4000 cm⁻¹ 的测量波长范围内分析材料结构中的官能团。用 X 射线光电子能谱仪 (XPS, 美国赛默飞公司, ESCALAB250Xi) 对材料

进行全谱宽扫描和窄扫描, 定性分析 CSC-ZnO NPs 复合材料表面的元素组成和化学键合状态, 样品结合能荷电校正采用 C 1s 在 284.60 eV 校准, 应用 GasaXPS 软件对所有高分辨率光谱进行曲线拟合分析。

1.4 抗菌性能检测

采用平板涂布法测定滤柱的抗菌性能。选用革兰氏阴性大肠杆菌 (E.coli, 菌株保藏编号: CCTCC AB 204033) 和革兰氏阳性金黄色葡萄球菌 (S.aureus, 菌株保藏编号: ATCC 25923) 作为实验菌株。将菌株接种到 Luria broth (LB) 液体培养基中在 37 °C、200 r/min 培育至对数生长期。稀释得到浓度为 5×10⁸ CFU/mL 的菌液。取 20 mL 的菌液在 0.02 MPa 的压力下以 0.6 mL/s 的速度通过滤柱, 每过滤一次用时 12 s, 再循环过滤下一次, 间隔 1 min 取 100 μL 滤液涂布在琼脂板上。然后把涂好的平板置于恒温培养箱中培养 15~18 h。每个平板上的菌落在孵育后计数。以未过滤的菌液或用纯 CSC 过滤的菌液作为空白对照, 使用公式 (3) 计算抗菌率 (R):

$$R = (A - B) / A \times 100\% \quad (3)$$

其中, *A* 和 *B* 分别是过滤处理前后细菌的数量。

1.5 细胞内活性氧 (ROS) 的测定

利用极性荧光染料 2, 7-二氯荧光素二乙酸酯 (DCFH-DA) 检测细胞内 ROS 的产生。DCFH-DA 本身不具有荧光性, 可自由穿过细胞膜, 进入细胞后, 被细胞内的酯酶水解成 DCFH。复合材料在一定条件下产生的 ROS 会穿透细胞壁和细胞膜进入体内, 将无荧光的 DCFH 氧化成具有荧光性的二氯荧光素 (DCF), 且荧光强度与 ROS 产生的水平成正比。通过用 Guava® easyCyte 6-2 L 型流式细胞仪 (Millipore, Billerica, MA, USA) 检测滤液中 ROS 的相对含量, 即可判断由复合材料产生并进入菌体内的 ROS 水平。

2 结果与分析

2.1 复合材料的表征

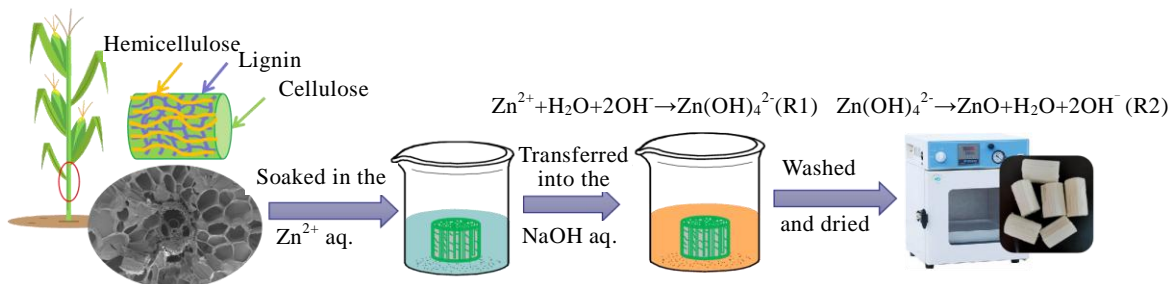


图 1 CSC-ZnO NPs 复合滤柱制备流程图

Fig.1 Schematic for the synthesis process of the CSC-ZnO NPs filter column

2.1.1 形貌分析

CSC 浸渍于 4 种不同的锌盐溶液中，通过化学沉淀法在细胞表面原位生长出具有不同形貌的氧化锌纳米颗粒如图 2 所示。从图中可以看出，CSC-ZnO^{Nit} 的 ZnO 呈片状且聚集成簇；CSC-ZnO^{Chl} 的 ZnO 为米粒状；而 CSC-ZnO^{Ace} 的 ZnO 为梭形花状贴合在薄壁细胞表面，说明 ZnO 以 CSC 细胞表层为基底原位生长而成，且大小和分布较为均匀，颗粒之间有足够空隙；CSC-ZnO^{Sul} 的 ZnO 为单个花瓣状堆积在一起。结果表明，锌盐的阴离子类型在决定 ZnO NPs 的形态方面起着重要作用^[12]。在 ZnO NPs 颗粒的成核阶段，各种类的阴离子会通过离子吸附到 ZnO 晶体的 (0001) 面上而影响其方向的生长，从而导致了 ZnO NPs 在 CSC 中生成了不同的形貌^[13]。

2.1.2 化学结构分析

通过 ICP 检测了由 4 种锌盐制备的复合滤柱中氧化锌的负载量，结果如表 1 所示，单位质量的玉米秸穰中 ZnO 的负载量在 249.3 至 519.0 mg 之间，此差异可能由于锌盐溶液中阴离子和阳离子之间的相互作用力不同所致。从表 1 中可以看到 CSC-ZnO^{Sul} 负载量是最低的，推测这是由于硫酸根离子是 4 种阴离子中络合性最强的离子，因而降低了 CSC 对锌离子的亲和力。在以硝酸锌为锌源的反应体系中，ZnO 晶体的生长没有溶解/再沉淀的过程，这种简单的转化过程有利于提高其负载量^[14]。与其它基于生物物质的最佳复合材料相比^[5]，CSC 表现出了更显著的 ZnO NPs 的固载能力。

利用 X 射线衍射研究了 CSC 和 CSC-ZnO NPs 复合材料的晶体结构。如图 3a 所示，CSC 在 $2\theta = 14.7^\circ$ 、 16.3° 和 22.7° 处有特征峰，分别对应于纤维素 I 的 (101)、(10 $\bar{1}$)和(002)晶面^[15]。在复合样品中，除了纤

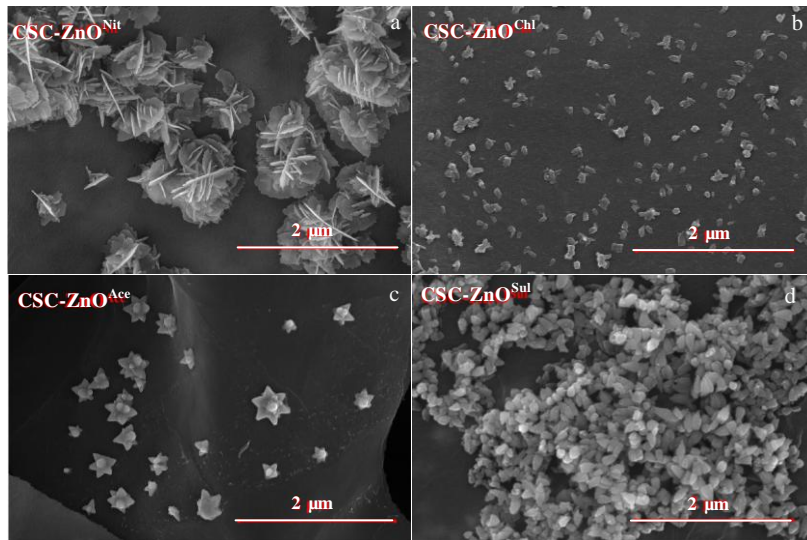


图 2 在 CSC 中不同锌盐制备的 ZnO NPs 的 SEM 形貌

Fig.2 SEM morphologies of the as-prepared ZnO NPs loaded in the CSC from different zinc salts: (a) CSC-ZnO^{Nit}, (b) CSC-ZnO^{Chl}, (c) CSC-ZnO^{Ace}, and (d) CSC-ZnO^{Sul}

表 1 玉米秸穰及 4 种复合滤柱的特性数值

Table 1 Properties of corn stalks with or without immobilization of ZnO NPs from different zinc salts

Sample	ZnO-loaded amount/mg g ⁻¹	CrI/%	ZnO NPs crystal size/nm
CSC	-	33.3	-
CSC-ZnO ^{Nit}	519.0	52.0	23.5
CSC-ZnO ^{Chl}	303.0	46.9	15.4
CSC-ZnO ^{Ace}	276.7	50.0	19.3
CSC-ZnO ^{Sul}	249.3	51.6	17.8

维素 I 的典型衍射峰外，在 $2\theta = 31.7^\circ$ 、 34.4° 、 26.2° 、 47.5° 、 56.6° 、 62.8° 、 67.9° 、 76.9° 处出现了新的特征峰，分别对应于 ZnO 六方纤锌矿晶型的 (100)、(002)、(101)、(102)、(110)、(103)、(112)、(202) 晶面，表明复合材料中的 ZnO 具备较高纯度^[11]。此外，4 种复合物的 ZnO 特征峰的峰强变化与 ICP 检测的 ZnO 负载量相一致，即负载量越大，峰强越明显。计算了复合材料的 CrI，与原 CSC 相比，均有所增加，是因为在制备过程中脱除部分无定形成分，如低分子量的半纤维素及木质素，4 种复合样结晶度之间的区别可能由锌盐溶液初始的 pH 不同所致。采用 Debye-Scherrer 公式计算 CSC-ZnO NPs 复合材料中 ZnO 的晶

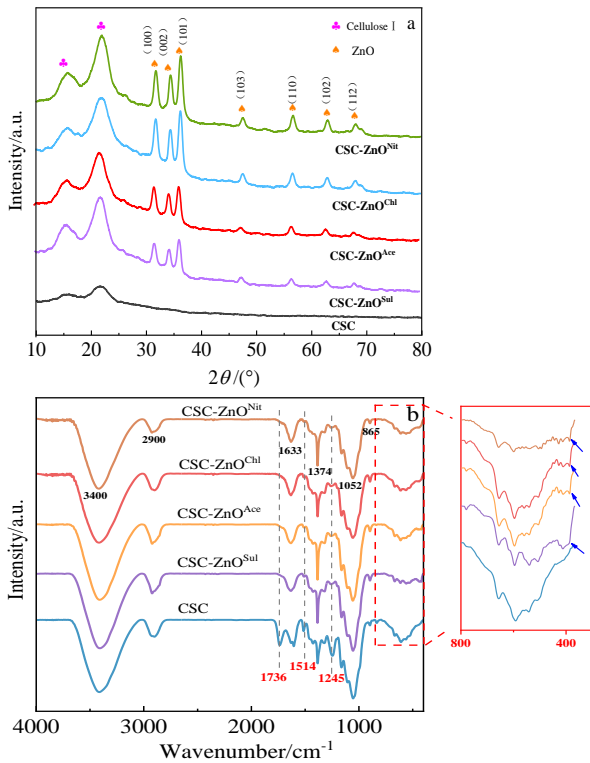


图 3 CSC 和 CSC-ZnO NPs 的 XRD 图谱及 FT-IR 光谱
Fig.3 XRD patterns of the CS and CSC-ZnO NPs (a), FT-IR spectra of the CS and CSC-ZnO NPs (the inserted image shows an enlarged FT-IR at 400~800 cm⁻¹ wavenumber) (b)

粒尺寸在 15.4~23.5 nm 范围内，如表 1 所示，因锌盐的种类不同而有所区别。

图 3b 是 CSC 及其复合样品的 FT-IR 光谱。由图可知，所有样品保留了 CSC 的特征基团。这说明锌盐种类的改变对 CSC 的化学结构没有影响。CSC-ZnO NPs 的局部放大光谱显示在波数为 470 cm⁻¹ 附近出现了 Zn-O 拉伸峰^[4]，证实 ZnO 在 CSC 中的附着。在 CSC 光谱中，1736 cm⁻¹ 为木质素和半纤维素的 C-O 伸缩振动峰，然而，它在 CSC-ZnO NPs 复合物的光谱中完全消失，1514 cm⁻¹ 为木质素的芳香环振动峰，其峰强在 4 种复合样品中的也显著降低，说明在复合过程中，CSC 中的部分木质素和半纤维素被去除。进一步证实了 XRD 中复合材料结晶指数的增加是由部分无定型组分的去除所致。此外，1245 cm⁻¹ 处表示纤维素的 O-H，在 CSC-ZnO NPs 样品中也消失了，这可能是由锌离子与 CSC 的 -COOH 或 -OH 等官能团之间的络合或静电作用所致^[11]。

CSC-ZnO NPs 复合滤柱及 CSC 的 XPS 结果如图 4 所示。全谱图中除了碳、氧元素的峰以外还出现了锌元素的特征峰，4 种复合物的 Zn 2p 的窄谱图中的 Zn 2p_{1/2} 与 Zn 2p_{3/2} 2 个峰之间的自旋分离能大约为 23 eV 证明 Zn²⁺ 是以氧化态的形式存在^[16]，验证了 ZnO

NPs 的成功负载。在 C 1s 的窄谱图中，复合物的 C4 峰消失了，表明 CSC 细胞表面的阿拉伯-4-O-甲基-葡萄糖醛酸类的半纤维素多糖含量显著降低^[6]，分析是由于在碱转化的制备过程中所致。此外，与 CSC 相比 4 个 CSC-ZnO NPs 样品的 C1 峰面积明显减少，导致 C2 和 C3 峰面积增加，这些现象表明因溶解了一部分非纤维素大分子而使材料表面的纤维素浓度增加^[11]。图 4d 显示了 O 1s 的窄谱图。原料 CSC 中只出现了 2 个峰 (O1 和 O2)，对于 CSC-ZnO NPs 复合物，在 530.2~530.3 和 531.6~531.7 eV 的能带附近出现了 2 个新的峰 (O3 和 O4)，分别对应于 ZnO 的晶格氧以及其表面缺陷产生的缺陷氧^[17]，与 CS 相比，复合材料的 O1 峰往较高的结合能方向偏移，推断羟基等含氧基团是 ZnO NPs 与玉米秸稈生物聚合物连接的位点，起着成核作用^[11]。所以，上述分析为秸稈中 ZnO NPs 的生长提供了充分的证据。

2.1.3 孔隙结构分析

通过高倍扫描电镜观察到 CSC 内部的天然分层多孔结构，是由于其含量较高的薄壁组织和导管细胞所致，如图 5a 和 5b 所示，薄壁细胞上有许多微米尺度的椭圆形孔，导管细胞由垂直排列的通道组成，这些通道有序排列并连接在一起，这种特殊的结构方便了液体分子在玉米秸稈中的渗透和运输。

CSC 和 CSC-ZnO NPs 复合样的孔隙结构对其渗透率和流量有很大的影响。运用孔隙流动模型来评价玉米秸稈本身及其复合柱的水渗透性和水流量。基于该模型，样品的渗透率^[18] (P_m) 涉及到溶液粘度 (μ)、孔隙率 (f)、平均孔径 (r_p) 和厚度 (δ) 等滤柱的性能参数，其计算如式 (4) 所示：

$$P_m = fr_p^2 / 8\mu\delta \quad (4)$$

根据方程 (5) 估算相应复合材料的水流量 (U)^[18]：

$$U = P_m \Delta P \quad (5)$$

其中， ΔP 为样品真空抽吸压力差 (MPa)。计算结果如表 2 所示，由于玉米秸稈中的大孔结构和通道，所有样品都表现出较大的水流量。CSC 滤柱的流量为 $875.8 \times 10^3 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ，负载 ZnO 纳米粒子后急剧下降到 $77.6 \times 10^3 \sim 154.7 \times 10^3 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ ，表明复合材料孔隙尺寸的减小对流动阻力产生了影响。4 种复合滤柱水流量大小排列顺序为：CSC-ZnO^{Sul} > CSC-ZnO^{Chl} > CSC-ZnO^{Ace} > CS/ZnO^{NIt}，此差异主要取决于 CSC 负载了不同量及不同形态的 ZnO 颗粒后使得材料中的孔隙率和平均孔径发生变化，如图 5c 和 5d 所示，ZnO NPs 的载入使复合柱的导管细胞内部变得越加粗糙，薄壁细胞表面的微孔变小，进而增加了复合材料的比表面积，减小了孔径和孔隙率，降低了渗透率和水流量；

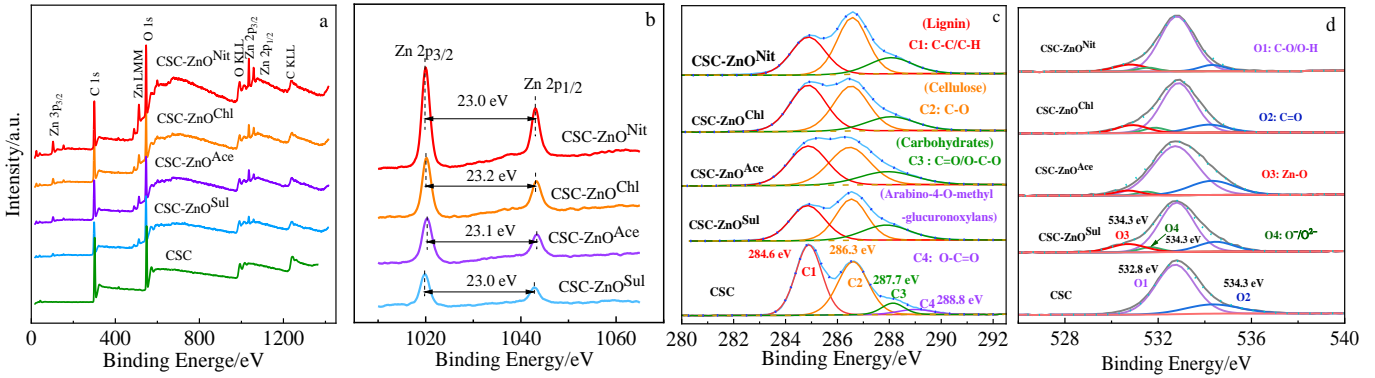


图 4 CSC-ZnO NPs 复合滤柱和 CSC 的 XPS 全谱图及 Zn 2p、C 1s、O 1s 窄谱图

Fig.4 XPS spectra of CSC-ZnO NPs and CSC: (a) full spectra, (b) Zn 2p narrow spectra, (c) C 1s narrow spectra, and (d) O 1s narrow spectra

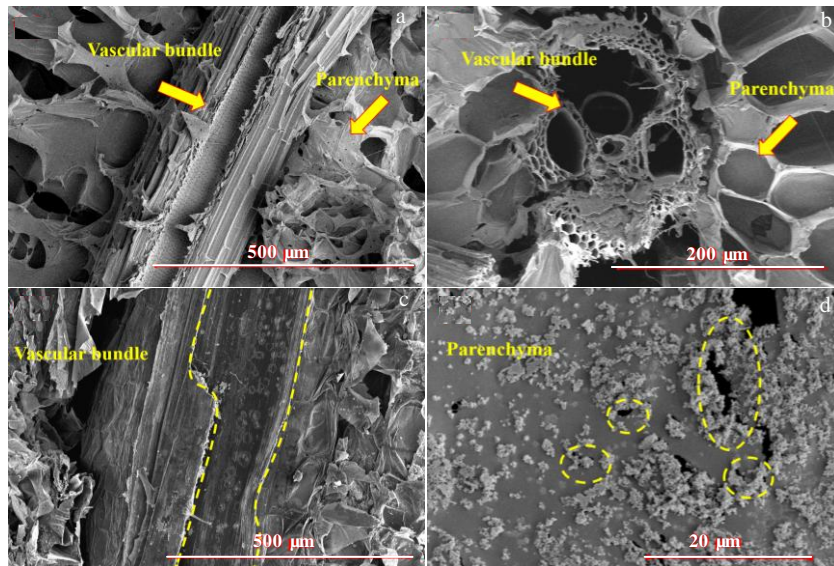


图 5 CSC 负载 ZnO NPs 前纵剖面、横截面及负载后导管细胞内部、薄壁细胞表面的 SEM 照片

Fig.5 SEM images of corn stalk core before and after the immobilization of ZnO NPs: (a) longitudinal and (b) cross sections for the raw CSC; (c) inside of the vascular and (d) surface of the parenchyma for the CSC-ZnO NPs

表 2 CSC 和 CSC-ZnO NPs 复合样品的孔隙结构分析数据

Table 2 Data obtained from pore structure analysis of CSC and CSC-ZnO NPs composite samples

Sample	$S_{Hg}/m^2 g^{-1}$	$D_{Ave}/\mu m$	Porosity/%	$P_m/\times 10^{-3} ms^{-1} MPa^{-1}$	$U/\times 10^3 L m^{-2} h^{-1}$
CSC	10.4	14.6	94.5	1216.4	875.8
CSC-ZnO ^{Nit}	22.6	4.5	88.7	107.7	77.6
CSC-ZnO ^{Chl}	21.5	5.4	90.1	157.6	113.5
CSC-ZnO ^{Ace}	23.1	4.7	82.7	109.6	78.9
CSC-ZnO ^{Sul}	18.2	6.2	93.2	214.9	154.7

然而，增加的表面积和降低的通过能力却有助于细菌在过滤的过程中与 ZnO NPs 的充分接触^[19]，从而增强复合柱的抗菌效果^[20]。此复合滤柱在结构上大致保持了玉米秸秆本身的通道结构，因此，与其他纤维素类等的抗菌滤膜^[18]相比较，是一种节能便利的过滤材料，更适合于水净化领域，且在生物分离过程中体现高效灭菌的优越性。

2.2 复合滤柱的抗菌效能

在真空过滤条件下，选用 E.coli 和 S.aureus 2 种致病菌来评估 CSC-ZnO NPs 复合滤柱的抗菌特性。图 6a 和 6b 为 4 种滤柱分别对 2 种细菌的抗菌率曲

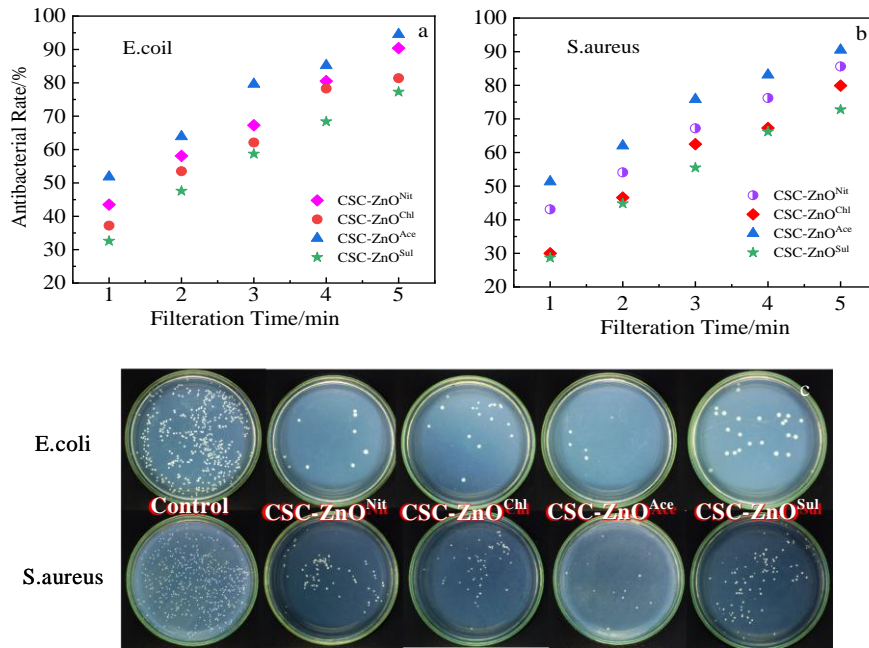


图 6 4 种复合滤柱对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌率曲线及过滤 5 min 后的抗菌效果图

Fig.6 Antibacterial rate curves of the four hybrid columns for *E. coli* (a) and *S. aureus* (b); images for bactericidal effect of the control sample and four CSC-ZnO NPs complex columns by filtration for 5 min against the bacteria (c)

线, 由于滤柱本身的特殊孔径结构, 水处理速度较快, 随着过滤时间的增加, 所有复合滤柱的抗菌率明显上升, 其中, CSC-ZnO^{Ace} 柱在过滤 5 min 后抗菌率分别达到 94.5% (*E. coli*) 和 90.5% (*S. aureus*), 表现出较优异的抗菌效果。图 6c 为未过滤及过滤 5 min 后细菌在平板上的生长情况, 可以直观看出通过 CSC-ZnO NPs 复合柱过滤后的菌液菌落数明显减少。结果表明, 不同锌盐制备的滤柱对 *E. coli* 和 *S. aureus* 均具有较高的抗菌能力, 其抗菌效果依次排序为 CSC-ZnO^{Ace}>CSC-ZnO^{Nit}>CSC-ZnO^{Chl}>CSC-ZnO^{Sul}。此外, 所有类型的复合滤柱对 *E. coli* 的毒性都高于 *S. aureus*, 这可能与这 2 种细菌细胞壁结构的差异有关。革兰氏阳性菌的细胞壁由多层肽聚糖组成, 结构紧密, 抗损伤能力强, 而革兰氏阴性菌只是被一层薄薄的肽聚糖和脂多糖的外膜包裹着, 细胞壁较薄^[21]。

2.3 抗菌机理分析

CSC-ZnO NPs 复合滤柱对水体具有优异的抗菌性能, 为此进一步分析其抗菌机理, 证实其抗菌效果。图 7a 和 7b 分别为被截留在原料 CSC 上形态完好的 *E. coli* 和 *S. aureus*, 这充分证明了 CSC 的各向异性和多孔结构对水体中的细菌有一定的物理截留作用。当负载了 ZnO NPs 之后, 截留的细菌会与 ZnO NPs 充分接触, 产生物理损伤致使细菌破裂而死, 如图 7c 和 7d 所示。因此, ZnO NPs 的微观形貌在此起到了决定性的作用,

如 CSC-ZnO^{Ace} 复合样中的 ZnO 呈花状, 且花瓣较为尖锐对细菌的损伤就更为严重^[21], 这也解释该样品具有较高抗菌效果的内在原因。因此, 推断水中部分细菌数量的减少是基于 CSC 的微孔道构造, 使滞留于柱内的细菌与纳米 ZnO NPs 之间的充分接触所致。

ZnO NPs 的另一杀菌机制主要是由于表面的氧空位所产生的 ROS 基团(O²⁻、OH 和 H₂O₂ 等) 进入细菌细胞, 破坏胞内的稳态平衡, 造成细菌因细胞氧化损伤而死亡^[17]。如图 8 所示, 用复合柱处理后 2 种细菌细胞内 ROS 水平均高于未过滤菌液的对照样品, 随着过滤时间从 1 min 增加到 5 min, 细菌细胞中的 ROS 含量逐渐增加, 由此表明 ROS 诱导细菌死亡是复合滤柱具有抗菌性能的原因之一。由于滤柱本身是不透光的材料, 因此说明 ZnO NPs 主要是在无光照的条件下产生了 ROS^[17]。通过 CSC-ZnO^{Ace} 复合柱过滤 5 min 后, 2 种细菌内部都检测到较高的 ROS 含量, 这也充分解释为何此滤柱具有较高的抗菌效能。然而, 在相同的过滤条件下, *S. aureus* 内部的 ROS 相对量要远大于 *E. coli* 的。这是因为两种细菌结构不同, 使得产生的 ROS 对细菌作用的靶位不同所致。即革兰氏阴性细菌的包膜是 ROS 的主要靶点, 细菌包膜很容易被破坏, 使细菌裂解内部物质流出, 而对于革兰氏阳性细胞, ROS 攻击的主要是细胞内成分, 细胞只是发生皱缩而未破裂, 所以细胞内部检测到的 ROS 含量相对较高^[22]。

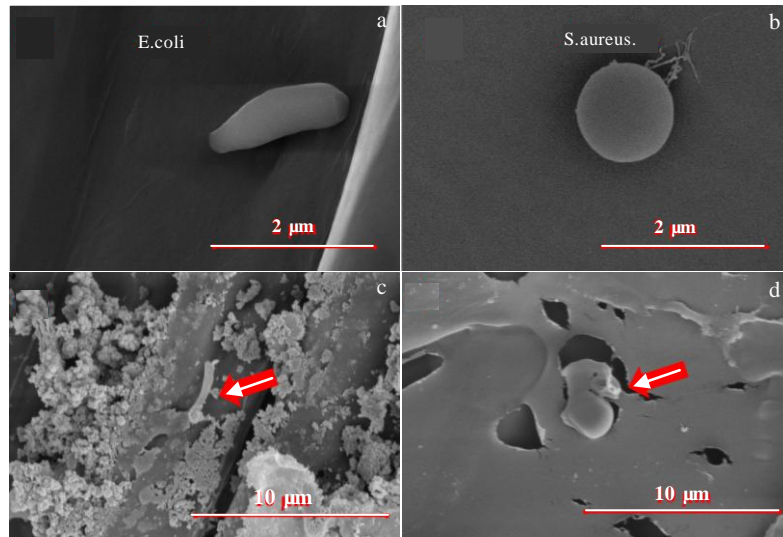


图 7 CSC 截留的细菌及 CSC-ZnO^{Ace} 滤柱处理后的细菌

Fig.7 Bacteria retained in CSC (a, b) and after the treatment by CSC-ZnO^{Ace} filter column (c, d)

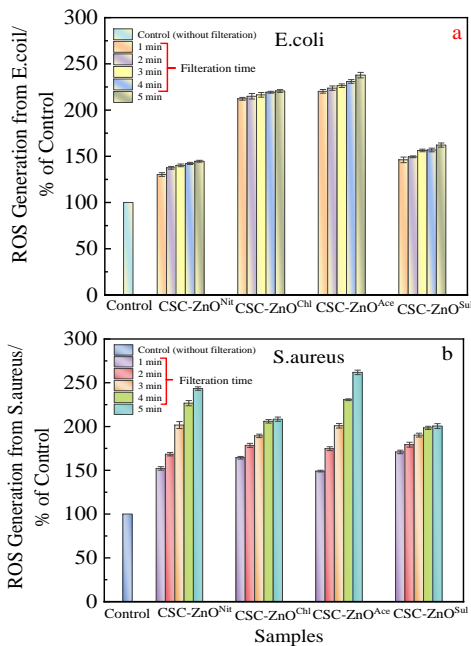


图 8 CSC-ZnO NPs 滤柱处理后大肠杆菌和金黄色葡萄球菌细胞内产生 ROS 的相对量

Fig.8 Relative amounts of intracellular ROS in E.coli (a) and S.aureus (b)

此外, ZnO NPs 的静电特性也是抗菌机制中的一种。氧化锌在含水的介质中由于存在水合离子 ($ZnOH_2^+$) 使其表面带有强烈的正电荷, 细菌表面也因存在游离的 $-COOH$ 而带负电荷, 因此, 细菌与 ZnO NPs 会发生静电作用, 加速细胞的摄取和吞噬纳米粒子, 导致细胞中毒^[23]。综上所述, 图 9 总结了 CSC-ZnO NPs 复合材料

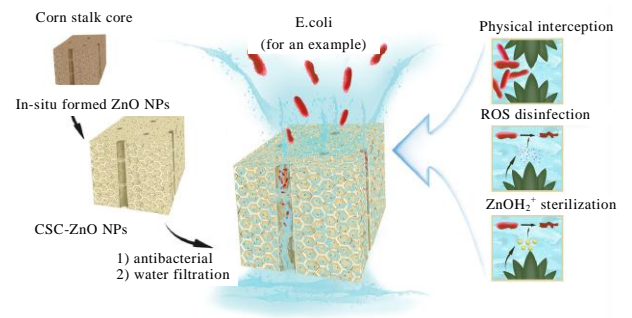


图 9 CSC-ZnO NPs 复合滤柱的抗菌机理图

Fig.9 Antibacterial mechanism of CSC-ZnO NPs compound column

对水体中致病菌的杀灭机理。由于生物质滤柱本身的三维多孔结构会截留细菌, 增强了微生物与 ZnO NPs 之间的相互作用。因此, 滤柱内部具有纳米尺寸的 ZnO 可以通过物理磨损、ROS 渗透及水合锌离子干扰使细菌的细胞膜受损, 细胞间组分渗漏或破坏, 最终导致细菌死亡。

3 结 论

1) 采用简易的沉淀法以玉米秸穰和 4 种锌盐为原料, 成功制备了新型 CSC-ZnO NPs 复合滤柱。玉米秸穰天然独特的结构不仅促进了 ZnO NPs 在其组织上的原位生长, 而且可以作为水过滤器件。

2) 锌纳米粒子的结构和抗菌性能取决于锌盐的种类。通过 FT-IR、XRD、XPS 等测试结果验证玉米秸穰中纳米氧化锌的存在。根据抗菌性能检测, CSC-ZnO^{Ace} NPs 复合滤柱表现出了高效的杀菌能力, 5×10^8

CFU/mL 的菌液只需要 5 min 的过滤处理就能将细菌杀灭 90% 以上, 达到优良的抗菌效果。

3) 由于 CSC 的分层多孔结构, 附载的 ZnO NPs 与滞留在滤柱中的细菌间可发生物理摩擦以及 ROS 的渗透和水合粒子内化作用, 使细菌不同程度的死亡。

参考文献 References

- [1] Xing Yan(邢岩), Ye Yanli(叶艳丽), Cheng Jing(成婧) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2020, 49(2): 676
- [2] Deng Pingye(邓平晔), Bai Xinde(白新德), Ye Bin(叶彬). *Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2004, 33(12): 1279
- [3] Wu Jing(吴景), Ze Wei(曾威), Kuang Meixia(邝美霞) *et al. Acta Materiae Compositae Sinica*(复合材料学报)[J], 2020, 37(12): 1
- [4] Li Xiaobao(李小保), Zhou Xiaolong(周小龙), Meng Erjia(孟尔佳). *Guangdong Chemical Industry*(广东化工)[J], 2019, 46(19): 3
- [5] Petkova P, Francesko A, Fernandes M M. *ACS Applied Materials & Interfaces*[J], 2014, 6: 1164
- [6] Li Zhiyong, Zhai Huamin, Zhang Yan *et al. Industrial Crops and Products*[J], 2012, 37(1): 130
- [7] Vafakhah S, Bahrololoom M E, Bazarganlari R *et al. Journal of Environmental Chemical Engineering*[J], 2014, 2(1): 356
- [8] Cao Yuhe, Wang Keliang, Wang Xiaomin *et al. Electrochimica Acta*[J], 2016, 212: 839
- [9] Xu Cailong, Gao Yingbo, Tian Beijing *et al. Field Crops Research*[J], 2017, 200: 71
- [10] Li Yi, Li Chun, Qi Hui *et al. Chemical Physics*[J], 2018, 506: 10
- [11] Raula M, Rashid M H, Paira T K *et al. Langmuir*[J], 2010, 26(11): 8769
- [12] Hu Zeshan, Oskam Gerko, Penn R Lee *et al. Journal of Physical Chemistry B*[J], 2003, 107: 3124
- [13] Rhee H, Dzombak David A, *Langmuir*[J], 1999, 15: 6875
- [14] Zhang H, Chen K L, Gao X *et al. Carbohydrate Polymers*[J], 2019, 217: 190
- [15] Fu F, Li L, Liu L *et al. ACS Applied Materials & Interfaces*[J], 2015, 7(4): 2597
- [16] Fan T, Qian Q, Hou Z *et al. Carbohydrate Polymers*[J], 2018, 200: 63
- [17] Prasanna V Lakshmi, Vijayaraghavan R. *Langmuir*[J], 2015, 31: 9155
- [18] Wang X, Cheng P, Liu N *et al. Journal of Membrane Science* [J], 2020, 601: 117 935
- [19] Mao Huaming(毛华明), Zhang Bin(张彬), Tang Xiaoning(唐晓宁) *et al. Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2019, 48(4): 2667
- [20] Mohamed S M Kamal, Ganesan K, Milow B *et al. RSC Advances*[J], 2015, 5(109): 90 193
- [21] Cai Q, Gao Y, Gao T *et al. ACS Applied Materials & Interfaces*[J], 2016, 8(16): 10 109
- [22] Han L, Patil S, Boehm D *et al. Applied Environmental Microbiology*[J], 2016, 82(2): 450
- [23] Mishra P K, Mishra H, Ekielski A *et al. Drug Discovery Today*[J], 2017, 22(12): 1825

Effects of Zinc Salts on Antibacterial Properties of Nano ZnO-Corn Stalk Core Composite Filter

Li Meng, Gao Xin, Tang Xiaoning, Zhang Heng, Duan Huichao, Chen Yilong

(Faculty of Chemical Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: Corn stalk core (CSC) is low-cost and sustainable biomaterials, which can be used as a filtration material due to its naturally porous structure. A simple method of chemical precipitation was applied to load ZnO nanoparticles (ZnO NPs) into the core, which was used for water purification and sterilization. The different zinc sources have an obvious effect on morphology and chemical characteristics of ZnO immobilized in CSC, leading to a variety of antibacterial activities. The composite biofilter prepared from zinc acetate shows the excellent antibacterial effect, and the antibacterial rates of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* reach 94.5% and 90.5%, respectively, after filtration for 5 min. The antibacterial mechanism of the hybrid column might be ascribed to the interception of bacteria by hierarchical porous structure of CSC, resulting in an increase of the physical friction with nanoparticles and chemical reactions with reactive oxygen species (ROS) and hydrated zinc ions. Consequently, the cell membranes of bacteria are damaged and the components in cells are leaked, finally leading to the death of bacteria.

Key words: CSC; ZnO nanoparticles; water sterilization; antibacterial mechanism

Corresponding author: Gao Xin, Ph. D., Associate Professor, Faculty of Chemical Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, P. R. China, E-mail: drgaoxin@sina.com