

彩色纳米银抗菌剂的制备及抗菌性能研究

牟登科¹ 周欢森¹ 钟建军¹ 贾晓菲² 冯敏玲² 赵玉珍³ 王悦辉^{1*}

(1.电子科技大学中山学院材料与食品学院,中山 528402;2.中山市农产品质量监督检验所,中山 528405;
3.清华大学材料科学与工程学院,北京 100086)

摘 要 以硝酸银为原料,柠檬酸钠为表面修饰剂,抗坏血酸或硼氢化为还原剂,在室温下合成出了黄色、紫色和蓝色的 3 种纳米银胶。透射电子显微镜表征表明黄色纳米银胶中主要是形状不规则的纳米银颗粒;紫色纳米银胶中主要是小尺寸三角形纳米银片和纳米银颗粒;蓝色纳米银胶中主要是大尺寸的三角形纳米银片。采用大肠杆菌为抗菌对象,详细研究了 3 种纳米银胶对大肠杆菌的抗菌作用。结果表明:3 种纳米银胶均具有良好的抗菌作用。其中,纳米银颗粒的抗菌作用最佳,其次是小尺寸纳米银片,大尺寸纳米银片的抗菌作用最弱。分析认为不同形貌纳米银抗菌作用与其活性和比表面积等有关。

关键词 纳米银胶,形貌,抑菌,最低抗菌浓度

中图分类号 O742

文献标识码 A

文章编号:1006-3536(2020)07-0093-03

DOI:10.19817/j.cnki.issn 1006-3536.2020.07.022

Preparation and property of colorful nano-silver antibacterial agent

Mou Dengke¹ Zhou Huansen¹ Zhong Jianjun¹ Jia Xiaofei² Feng Minling²
Zhao Yuzhen³ Wang Yuehui¹

(1.Department of Materials and Food,University of Electronic Science and Technology of China Zhongshan Institute,Zhongshan 528402;2.Zhongshan Agricultural Products Quality Supervision and Inspection Institute,Zhongshan 528405;3.Department of Materials Science and Engineering,Tsinghua University,Beijing 100086)

Abstract Three kinds of silver colloids with colors of yellow, purple, and blue, respectively, were synthesized at room temperature with silver nitrate as raw material, sodium citrate as surface modifier, ascorbic acid or borohydride as reducing agent. Transmission electron microscopy (TEM) results demonstrated that there were irregular silver nanoparticles, small triangular silver nanoplates and nanoparticles, and large triangular silver nanoplates in the yellow, purple and blue silver colloids, respectively. In order to reveal the three kinds of silver colloids antibacterial substance, escherichia coli as antimicrobial object was used. The experimental results showed that three kinds of silver colloids had good antibacterial properties. Among them, the antibacterial property of silver nanoparticles was the best, followed by small silver nanoplates, and the antibacterial property of large silver nanoplates was the weakest. The antibacterial properties of silver nanostructures with different morphologies were related to the activity and specific surface area of silver nanostructures.

Key words nano-silver colloid, morphology, antibacterial property, minimum antibacterial concentration

近 10 年来,纳米银作为一种新型抗菌剂因其强大的抑菌、杀菌作用及其广谱抗菌活性在消毒杀菌领域的研究和应用受到了广泛的关注^[1-6]。纳米银的抗菌机理主要包括与致病菌代谢酶中的巯基结合使酶失活;与暴露的细菌细胞壁发生肽聚糖反应形成可逆复合物,使细菌不能将氧和能量转运进细胞;与致病微生物中的 DNA 结合,导致 DNA 结构变

性,抑制 DNA 复制。此外,纳米银是非抗生素类抗菌剂,细菌对银离子不产生耐药性而具有长效的抗菌剂^[4-8]。目前,纳米银抗菌材料已经应用在织物、喷剂、塑料、玻璃和陶瓷以及妇科药膏等领域^[6-10]。

常用的纳米银抗菌材料主要有纳米银颗粒和纳米银胶^[11]。纳米银颗粒由于表面和界面效应、小尺寸效应等导致颗粒团聚严重,极大地影响了纳米银

基金项目:国家自然科学基金(61671140);中山市科技计划项目(2018SYF10)

作者简介:牟登科(1986-),女,硕士,实验员,主要研究方向为生物技术。

联系人:王悦辉。

颗粒的抗菌性和应用。因此,纳米银胶是目前应用的主要方式,常用的纳米银胶主要呈黄色。在实际应用中,如何满足消费者的不同需求,获得色彩丰富且抗菌性优异的纳米银抗菌剂引起了人们的关注。本研究以硝酸银为原料,柠檬酸钠为表面修饰剂,抗坏血酸或硼氢化钠为还原剂,在室温下合成黄、红和蓝色纳米银胶,并考察了 3 种色彩纳米银胶的显微结构和抗菌性。

1 实验部分

1.1 材料

硝酸银($\geq 99.8\%$)、柠檬酸三钠($\geq 99.0\%$)、硼氢化钠($\geq 95\%$)、抗坏血酸($\geq 99\%$);所用试剂均为分析纯;去离子水为实验室自制;大肠杆菌菌种来自本实验室保存的菌种;无纺布为市售。

1.2 纳米银的制备

黄色纳米银胶的制备:配制 80mL 20mmol/L 硝酸银溶液,在磁力搅拌情况下加入 0.0148g 柠檬酸钠,搅拌 5min 后,用注射器量取已溶解到冰冷去离子水中的 2.5mL 10mmol/L 硼氢化钠并快速注入到上述溶液中,继续搅拌 10min 后停止,室温下陈化 24h 备用。整个反应过程中,溶液颜色逐渐由无色变成深棕色,最终是桔黄色。

紫色和蓝色纳米银胶的制备:将 0.60mL 0.01mol/L 硝酸银与 23.5mL 2.5×10^{-4} mol/L 柠檬酸钠混合均匀,将 0.1mL 1.875mol/L 双氧水滴加到上述混合溶液中,磁力搅拌混合均匀。在磁力搅拌情况下,用注射器向上述混合溶液中注入 0.6mL 0.1mol/L 硼氢化钠,溶液颜色变为黄色,继续反应 15min,然后在室温下静置 2h 获得纳米银晶种,备用。分别量取 4mL 和 2mL 的纳米银晶种加入到两个干净的烧杯中,再分别加入 16mL 去离子水。向上述两个烧杯中分别先后加入 1.0mL 0.075mol/L 柠檬酸钠和 2.0mL 0.1mol/L 抗坏血酸混合溶液,磁力搅拌均匀。在磁力搅拌情况下,用注射器向上述两溶液中分别注入 1mL 0.01mol/L 硝酸银溶液,继续反应 30min,最终两种溶液的颜色分别是红色和蓝色。

1.3 抑菌实验

1.3.1 最低抑菌浓度

在无菌环境下操作,取若干支 10mL 试管,各加入 2mL 双倍营养肉汤,再分别加入 2mL 预先配制的 3 种颜色的纳米银胶,摇匀后再分别加入 0.1mL 含菌量为 108cfu/mL 的大肠杆菌悬液,作为阳性对

照。用无菌水代替纳米银以同样的方法制备接种样品,作为阴性对照。将全部样品放入恒温培养箱中,37℃下培养 2 天,观察到被检测样品中菌落的生长已经完全被抑制时的最低抗菌液浓度为该纳米银对该菌的最低抑菌浓度值(MIC)。

1.3.2 晕圈法

无菌操作大肠杆菌接种至装有 5mL 牛肉蛋白胨液体培养基的试管中,37℃下培养 18h。将牛肉膏蛋白胨琼脂培养基融化后倒平板,注意表面皿中培养基厚度均匀。无菌操作分别吸取 0.2mL 大肠杆菌菌种加入到上述平板中,用无菌三角涂棒涂布均匀。无菌操作用镊子取无菌滤纸片/无纺布分别浸入 3 种纳米银胶中润湿,在容器内壁沥去多余溶液,再将滤纸片/无纺布分别贴在平板上的相应位置。将上述平板倒置于 37℃保温 24h,用游标卡尺采用十字交叉法测量抑菌环的直径并记录。实验重复 6 次观察并记录抑菌的大小(直径)。

1.4 测试与表征

纳米银大小和形貌采用透射电镜(TEM, JEOL-JEM-200CX 型,日本电子公司)观察;采用紫外-可见分光光度计(760CRT 型,日本岛津仪器公司)测定样品的吸收光谱。

2 结果与讨论

2.1 3 种纳米银胶的分析

贵金属纳米颗粒,比如金、银等具有较强的表面等离子体共振效应,使得纳米粒子对光子能量产生了很强的吸收作用,从而使得纳米粒子在紫外-可见光波段具出较强的光谱吸收特性。吸收光谱的峰值所对应的吸收波长与纳米粒子的组成、结构、尺寸和形状等有关,所以具有不同微观结构特征的贵金属纳米粒子就会呈现出不同的颜色。通过调控实验参数获得了黄色、紫色和蓝色的纳米银水溶液,说明本实验所制备的纳米银形貌不同。图 1 为 3 种纳米银水溶液样品图片和相应纳米银胶的吸收光谱图。由图可见,黄色纳米银胶的吸收光谱在 392nm 有一明显吸收峰,对应类球形纳米银颗粒的特征吸收峰,峰形对称性良好,表明纳米银颗粒尺寸分布均匀。紫色纳米银胶吸收曲线在 332nm、418nm 和 558nm 处有 3 个明显的吸收峰,分别对应片状纳米银的面外四极子振动、面内四极子振动和面内偶极子振动,表明片状纳米银形成。蓝色纳米银胶的吸收光谱在 332nm、418nm 和 745nm 处有 3 个明显的吸收峰,很显然体系中形成了片状纳米银,而且纳米银片的

尺寸和尺寸分布范围均较紫色纳米银胶大。

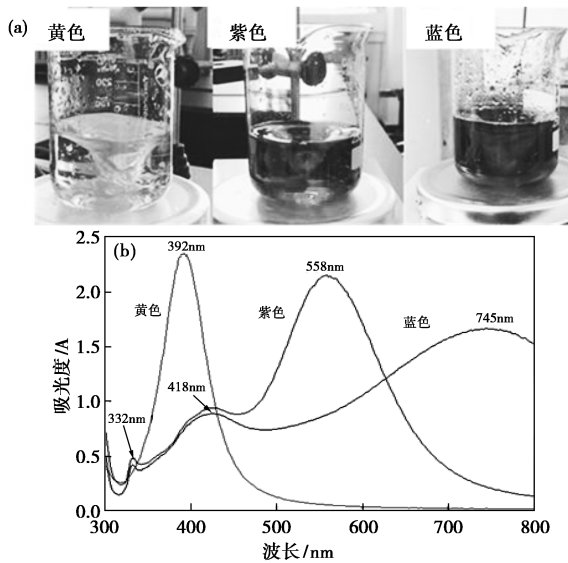


图 1 3 种纳米银水溶液样品图片(a)和相应纳米银胶的吸收光谱图(b)

图 2 为黄色、紫色和蓝色纳米银胶中纳米银的 TEM 图。由图可见,黄色纳米银胶中的纳米银颗粒主要是不规则形貌的颗粒,尺寸范围约 7~20 nm;紫色银胶中纳米银形貌主要是纳米银片和少量纳米银颗粒;蓝色银胶中纳米银形貌主要是尺寸较大的三角形纳米银片。

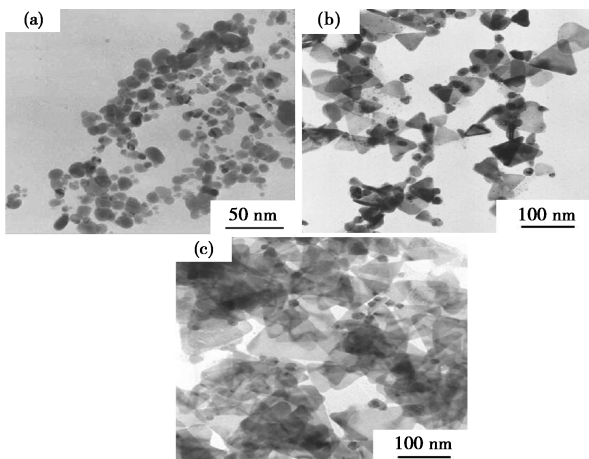


图 2 黄色(a)、紫色(b)和蓝色(c)纳米银胶中纳米银的 TEM 图

2.2 抗菌性分析

在相同浓度条件下,以大肠杆菌为实验目标物,考察时间对 3 种颜色纳米银胶抗菌性的影响,结果见图 3,其中 OD600 为溶液在 600 nm 波长处的吸光值。由图可见,大肠杆菌的生长曲线分为 3 个阶段,即生长延滞期、快速生长期和生长稳定期。3 种颜色纳米银均具有明显的抗菌作用,其中黄色纳米银颗粒的抗菌作用最强,其次是紫色小尺寸纳米银片,

蓝色大尺寸纳米银片的抗菌作用最弱。测试 3 种颜色纳米银胶对大肠杆菌的最小抑制浓度分别为 0.05 mg/mL、0.07 mg/mL 和 0.1 mg/mL。分析认为,黄色纳米银胶中主要是纳米银颗粒,由于纳米银颗粒尺寸小,不仅活性高,而且比表面积也较大,故抑菌作用最强。有文献报道^[4]三角形纳米银片由于自身的尖角和边缘大面积活跃的晶面使银离子的浸出量较高,抗菌活性较强,但本实验结果表明纳米银片中纳米银颗粒弱的抗菌作用减弱,这也许与本实验所制备的纳米银片形貌有关。

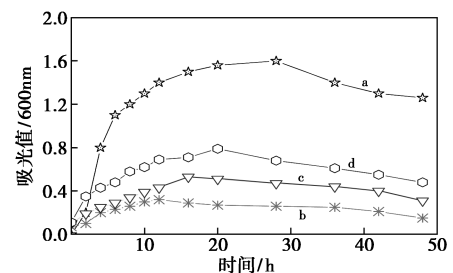


图 3 时间对空白(a)、黄色(b)、紫色(c)和蓝色(d)纳米银胶抗菌性能的影响

以滤纸和无纺布为材料对大肠杆菌抑菌圈实验的实物图见图 4。由图可见,滤纸片为基材时,黄色纳米银胶抑菌圈最大,说明抑菌作用最强。而以无纺布为基材时,3 种纳米银胶的抗菌作用差别不大。分析认为可能是因为无纺布浸渍吸附纳米银量少,抑菌作用差异表现不明显。

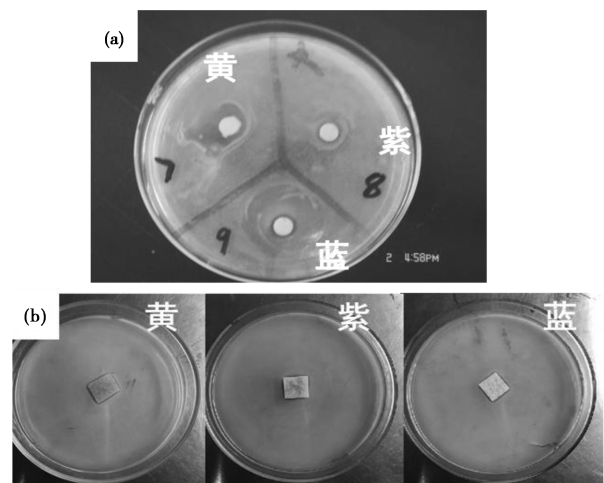


图 4 以滤纸(a)和无纺布(b)为材料对大肠杆菌抑菌圈实验的实物图

3 结论

(1)采用液相化学还原法分别制备了黄色、紫色和蓝色纳米银胶,结果表明黄色纳米银胶中主要是形状不规则的纳米银颗粒;紫色纳米银胶中主要是

(下转第 99 页)