

# 石墨烯/ZnO 纳米复合物的制备及其抗菌性能研究

李珊珊<sup>1</sup> 万思康<sup>1</sup> 郭梦雅<sup>1</sup> 杨 阳<sup>1</sup> 鲁 鹏<sup>1,2\*</sup>

(1.广西大学轻工与食品工程学院,广西清洁化制浆造纸与污染控制重点实验室,南宁 530004;  
2.齐鲁工业大学制浆造纸科学与技术教育部/山东省重点实验室,济南 250353)

**摘 要** 以石墨烯为改性剂,醋酸锌为锌源,采用水热合成法制备石墨烯/ZnO 纳米复合物。随着石墨烯在反应体系中用量的增加,石墨烯/ZnO 纳米复合物的形貌和抗菌性能存在显著差异。 $m(\text{石墨烯}):m(\text{ZnO})$  为 0.02 时,纳米 ZnO 在石墨烯片层表面负载分布均匀,石墨烯/ZnO 纳米复合物尺寸较小,抗菌性能较纯纳米 ZnO 显著提高,最低抑菌浓度从  $313\mu\text{g/mL}$  降至  $157\mu\text{g/mL}$ 。石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸的透光性能优良,对李斯特氏菌和大肠杆菌的抑菌率分别为 98.3% 和 99.1%,可作为新型功能材料用于食品、药品的抗菌包装。

**关键词** 氧化锌,石墨烯,纳米复合物,抗菌性能,包装材料

## Synthesis and antibacterial activity of graphene/ZnO nanocomposite

Li Shanshan<sup>1</sup> Wan Sikang<sup>1</sup> Guo Mengya<sup>1</sup> Yang Yang<sup>1</sup> Lu Peng<sup>1,2</sup>

(1.Institute of Light Industry and Food Engineering,Guangxi Key Laboratory of  
Clean Pulp and Papermaking and Pollution Control,Guangxi University,Nanning 530004;  
2.Key Laboratory of Pulp and Paper Science & Technology of Ministry of  
Education/Shandong Province,Qilu University of Technology,Jinan 250353)

**Abstract** Graphene/ZnO nanocomposites were prepared by hydrothermal method,in which zinc acetate was used as the source of  $\text{Zn}^{2+}$  and graphene as the modifier.The morphology and antibacterial properties of prepared nanoparticles significantly varied with the ratio of graphene in the reaction system.The particle size of nanocomposites was relatively small when the  $m(\text{graphene}):m(\text{ZnO})$  ratio was 0.02,and the distribution of ZnO nanoparticles on the surface of graphene was relatively homogeneous.The antibacterial potency of nanocomposites increased significantly compared to ZnO,the minimum inhibitory concentration (MIC) reduced from  $313\mu\text{g/mL}$  to  $157\mu\text{g/mL}$ . The nanocomposites coated cellophane showed good light transmission performance,with an inhibitory rate against *Listeria monocytogens* and *Escherichia coli* of 98.3% and 99.1%,respectively.The nanocomposites coated film can be used as a potential new functional material in food and pharmaceutical antimicrobial packaging.

**Key words** zinc oxide,graphene,nanocomposite,antibacterial activity,packaging material

在食品、药品包装领域,制备具有抗菌性能的包装材料是净化内包装环境、保障人体健康的有效措施<sup>[1]</sup>。氧化锌(ZnO)作为一种无机抗菌剂,具备无毒、非迁移性、耐热性好、抗菌范围广、不易产生耐药性等功能,作为塑料等有机高分子材料的功能添加剂,广泛应用于抗菌包装材料的制备<sup>[2]</sup>。然而,ZnO 的抗菌效率相对较低,在实际应用中存在添加量大、抗菌效果差等局限性。因此,有效改善 ZnO 的抗菌性能,对制备高效抗菌包装材料具有重要作用<sup>[3]</sup>。ZnO 的抗菌效果主要依赖于光催化条件下产生的

活性氧组分的杀菌作用<sup>[4]</sup>。石墨烯是具有单原子层厚度的二维碳原子晶体,具有特殊的电子输运特性和极高的载流子迁移率<sup>[5]</sup>。石墨烯可以与 ZnO 形成复合材料,复合材料能有效分离光生电子和空穴,提高纳米 ZnO 的光催化效率<sup>[6-7]</sup>。

本研究以 ZnO 为主要抗菌剂,通过水热合成工艺,将 ZnO 纳米粒子负载于石墨烯表面,利用石墨烯特殊的电子输运特性,提升 ZnO 的光催化抗菌效果,并作为抗菌剂用于常规包装材料的表面涂覆,以制备新型抗菌功能包装材料。

**基金项目:**制浆造纸科学与技术教育部/山东省重点实验室开放基金资助(KF201617);广西高等学校科学研究项目(KY2015YB007);广西清洁化制浆造纸与污染控制重点实验室主任基金项目(ZR201604)

**作者简介:**李珊珊(1983-),女,讲师,从事功能包装材料研究。

**联系人:**鲁鹏(1984-),女,讲师,从事抗菌功能材料研究。

## 1 实验部分

### 1.1 原料与仪器

醋酸锌、氢氧化钠、无水乙醇均为分析纯,天津市大茂化学试剂厂;石墨烯,四川大学提供;单增李斯特菌(革兰氏阳性菌)和大肠埃希氏菌(革兰氏阴性菌),购自中国工业微生物菌种保藏管理中心;脑心浸出液肉汤、营养肉汤、营养琼脂、琼脂粉,购自北京陆桥科技有限责任公司。

超净工作台(SW-CJ-1F型),苏州安泰空气技术有限公司;霉菌培养箱(MJ-70-I),上海一恒科学仪器有限公司;电热式压力灭菌器(XFH-40MA型),浙江新丰医疗器械有限公司。

### 1.2 纳米 ZnO 的合成

取 3.951g 醋酸锌溶于 30mL 去离子水中,磁力搅拌并缓慢滴加 1mol/L 氢氧化钠溶液,调节 pH=11,将混合物转移到 50mL 聚四氟乙烯内衬的不锈钢反应釜中,于 120℃ 反应 18h,冷却至室温,用去离子水和无水乙醇洗涤,将沉淀物置于 50℃ 烘箱中干燥,得到纳米 ZnO。

### 1.3 石墨烯/ZnO 纳米复合物的合成及表征

称取 3.951g 醋酸锌溶于 30mL 去离子水中。按照纳米 ZnO 理论生成质量的 1.0%、2.0%、3.0% 分别称取石墨烯粉末 0.0146g、0.0292g、0.0437g,在 5mL 无水乙醇冰浴中超声分散 60min,然后分别与醋酸锌溶液混合,调节 pH=11,磁力搅拌 90min 后转移到 50mL 聚四氟乙烯内衬的不锈钢反应釜中,于 120℃ 反应 18h,冷却至室温,用去离子水和无水乙醇洗涤,将沉淀物于 50℃ 烘箱中干燥,得到石墨烯/ZnO 纳米复合物粉末。

纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物的形貌采用扫描电子显微镜[SEM, Phenom Pro F6502 型,复纳科学仪器(上海)有限公司]和透射电子显微镜(TEM, HT7700 Exalens 型,日本 Hitachi 公司)进行表征。纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物的粒径采用纳米粒度分析仪(ZS90X 型,英国马尔文)进行测量。

### 1.4 抗菌玻璃纸的制备

以玻璃纸薄膜为基材,纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物为抗菌剂,聚己内酯为粘结剂,采用浸渍法涂覆制备抗菌玻璃纸。分别称取一定量的纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物分散于丙酮中配制成分数 1.0% 的分散液,与质量分数 1.0% 的聚己内酯丙酮溶液等体积混合均匀,将裁剪好的玻璃

纸浸渍于该涂覆液中,30s 后取出置于通风橱,挥发去除丙酮,即可制得抗菌玻璃纸。

根据 GB/T 2410—2008《透明塑料透光率和雾度的测定》,利用分光光度计法对制备的抗菌玻璃纸进行透光率测定。实验用紫外-可见分光光度计(SPECORD PLUS 型,德国耶拿)测试波长范围在 200~700nm。

### 1.5 抗菌性能测定

纳米材料抗菌剂的最低抑菌浓度(MIC)是指抑制和杀灭细菌等微生物的最小悬浊液浓度<sup>[8]</sup>。采用琼脂稀释法将不同浓度的抗菌剂(纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物)溶解在琼脂培养基中,然后点种细菌,通过细菌生长与否,确定抗菌剂抑制受试菌生长的 MIC<sup>[9]</sup>。以无菌操作方式取抗菌剂样品 0.2g,加入 40mL 灭菌磷酸缓冲液中,充分振荡,配成质量浓度为 5000μg/mL 均匀分散的悬液,然后用磷酸缓冲液将该悬液依次稀释成质量浓度分别为 2500, 1250, 625, 313, 157, 79, 39μg/mL 的抗菌液。分别取上述不同质量浓度的抗菌液 10mL 加入平皿,再加入 50℃ 的双倍琼脂培养基 10mL,摇晃平皿,使两者混合均匀,待凝固后用加样器取 1μL 菌悬液(含菌量约为 10<sup>7</sup>cfu/mL 的李斯特菌菌液或大肠杆菌菌液)点种于含抗菌液培养基的平皿,以同样方法接种不含抗菌成分的琼脂平板,作为对照。将接种后的平板于 37℃ 培养箱中倒置培养 18~24h,观察结果。菌落生长被完全抑制的最低抗菌液浓度为该样品对受试菌的 MIC。

采用振荡烧瓶实验法,在液体中通过快速长时间振荡,增加微生物与抗菌产品中抗菌剂的接触,根据抑菌率大小判断抗菌产品是否具有抑菌能力。称取 0.75g 用纳米 ZnO 或石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆的玻璃纸并剪切成 10mm×10mm 样片,放入 250mL 三角烧瓶中,分别加入 70mL 磷酸缓冲液和 5mL 菌悬液(李斯特菌菌液或大肠杆菌菌液),使菌悬液在磷酸缓冲液中的浓度为 1×10<sup>4</sup>~5×10<sup>4</sup>cfu/mL。将三角烧瓶固定在振荡摇床上,于 20~25℃ 条件下以 300r/min 转速振摇 1h。分别吸取振荡前和振荡后样液各 1.0mL,与磷酸缓冲液混合进行稀释后,以琼脂倾注法接种平皿,每个样液接种 2 个平皿,于 37℃ 培养 18~24h 后进行活菌计数。对照样片组以不含抗菌剂、未经涂覆的玻璃纸为测试样。实验重复 3 次,按公式(1)计算抑菌率:

$$\text{抑菌率} = \frac{\text{样本振荡前平均菌落数} - \text{样本振荡后平均菌落数}}{\text{样本振荡前平均菌落数}} \times 100\% \quad (1)$$

## 2 结果与讨论

### 2.1 石墨烯/ZnO 纳米复合物的粒径分布及形貌表征

石墨烯/ZnO 纳米复合物合成过程中,反应体系中的  $\text{Zn}^{2+}$  吸附在石墨烯表面,通过水热反应生成 ZnO 纳米粒子,ZnO 纳米粒子负载于石墨烯表面,借助石墨烯特殊的二维结构和载流效应,有效分离光生电子和空穴,提高纳米 ZnO 光催化产生活性氧组分(ROS)的效率<sup>[10]</sup>,从而达到增强 ZnO 抗菌效果的目的。

图 1 为纳米 ZnO、质量比不同的石墨烯/ZnO 纳米复合物粒径分布图。由图可知:不添加石墨烯时,合成的纳米 ZnO 粒径集中分布在 200~400nm 之间,平均粒径为 244nm。当  $m(\text{石墨烯}):m(\text{ZnO})=0.01$  时,由于反应体系中石墨烯的添加量相对较少,反应过程中只有少量纳米 ZnO 附着在石墨烯片层的表面,大部分纳米 ZnO 呈游离散落分布状态,因此产物的粒径仍主要分布在 310nm 左右。此外,在 2000~3000nm 粒径范围之间出现微弱峰值,为石墨烯片层或石墨烯/ZnO 纳米复合物特征尺寸分布区域。当  $m(\text{石墨烯}):m(\text{ZnO})$  的比例从 0.01 增加到 0.03 时,随着 ZnO 水热合成过程中石墨烯添加量的逐渐增加,合成产物的粒径分布趋于分散,产物主要分布在 100~600nm 范围,少量产物分布在 2000~3000nm。其中,粒径分布在 100~600nm 范围的主要是纳米 ZnO,粒径分布在 2000~3000nm 范围的为石墨烯/ZnO 纳米复合物。

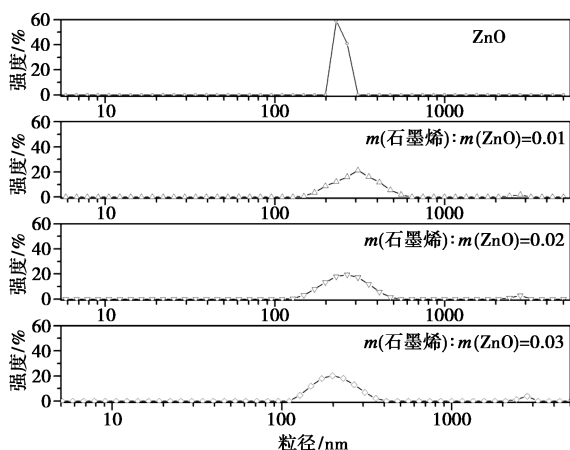


图 1 纳米 ZnO、质量比不同的石墨烯/ZnO 纳米复合物粒径分布图

图 2 为纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物的 SEM 图和 TEM 图。从 SEM 图中可以明显看出,纳米 ZnO 粒径较小,分布均匀;在 ZnO 水热合成过

程中添加石墨烯后,制备的石墨烯/ZnO 纳米复合物尺寸较大,石墨烯片层出现明显的团聚现象,并且表面负载大量纳米 ZnO 颗粒。借助 TEM 分析可以看出,纳米 ZnO 成功负载于褶皱状的石墨烯片层表面,ZnO 颗粒分布均一。

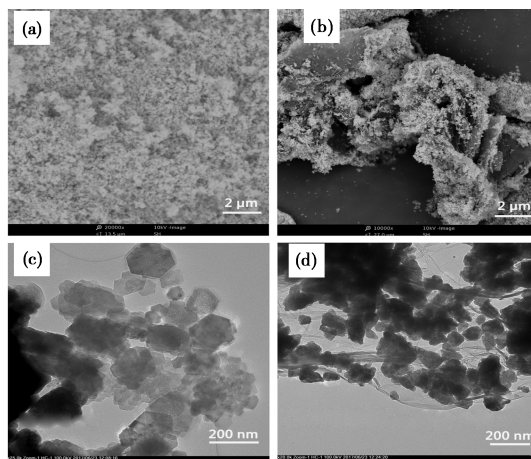


图 2 纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物的 SEM 图和 TEM 图

[(a)和(b)分别为纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物 SEM 图;  
(c)和(d)分别为纳米 ZnO、石墨烯/ZnO 纳米复合物 TEM 图)

### 2.2 石墨烯/ZnO 纳米复合物的抗菌性能

表 1 为质量比不同的石墨烯/ZnO 纳米复合物抗菌性能。由表可知,石墨烯/ZnO 纳米复合物的抗菌性能比纳米 ZnO 的抗菌性能好,且随着石墨烯与 ZnO 质量比的增加,复合物的抗菌效果越显著。由于纳米 ZnO 的抗菌作用主要依赖光催化条件下产生的 ROS<sup>[11]</sup>,石墨烯/ZnO 纳米复合物中石墨烯组分能有效分离光生电子和空穴,提高纳米 ZnO 的光催化产生 ROS 的效率,因此起到了显著改善纳米 ZnO 抗菌效果的作用。

表 1 质量比不同的石墨烯/ZnO 纳米复合物抗菌性能

| 样品                      | MIC/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) |            |
|-------------------------|------------------------------------------|------------|
|                         | 单增<br>李斯特菌                               | 大肠<br>埃希氏菌 |
| 纳米 ZnO                  | 313                                      | 313        |
| 石墨烯/ZnO 纳米复合物(质量比 0.01) | 313                                      | 157        |
| 石墨烯/ZnO 纳米复合物(质量比 0.02) | 157                                      | 157        |
| 石墨烯/ZnO 纳米复合物(质量比 0.03) | 157                                      | 157        |

由表 1 还可以看出: $m(\text{石墨烯}):m(\text{ZnO})=0.02$  时,石墨烯/ZnO 纳米复合物对李斯特菌和大肠杆菌的 MIC 均为  $157\mu\text{g}/\text{mL}$ ,继续增加石墨烯用量后,MIC 未出现下降趋势。由于石墨烯比较昂贵,其含量越高,复合物的成本越高,经济性越差,综

合石墨烯/ZnO 纳米复合物的抗菌性能,确定以  $m(\text{石墨烯}):m(\text{ZnO})=0.02$  合成的复合物作为最优抗菌剂,将其涂覆在玻璃纸包装材料表面,考察其抗菌性能。

### 2.3 石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸的抗菌性能

通过测定涂覆玻璃纸的抑菌率发现,涂覆抗菌剂的玻璃纸的抗菌效果明显优于未涂覆抗菌剂的玻璃纸,且石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸的抑菌率较纳米 ZnO 涂覆玻璃纸的抑菌率有较大提升。玻璃纸、纳米 ZnO 与石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸的抑菌效果对比见图 3。实验结果表明:纳米 ZnO 涂覆玻璃纸对李斯特菌和大肠杆菌的抑菌率分别为 61% 和 64%;而石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸对李斯特菌和大肠杆菌的抑菌率可达到 98.3% 和 99.1%。

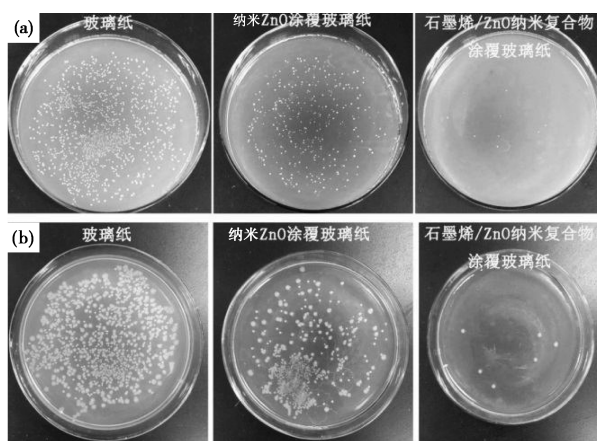


图3 玻璃纸、纳米 ZnO 与石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸的抑菌效果对比图

[(a)单增李斯特菌;(b)大肠埃希氏菌]

此外,3 种玻璃纸均展现出良好的透光性能。由图 4 可以看出:在 600nm 波长(可见光波段中心)处<sup>[12]</sup>,未涂覆抗菌剂的玻璃纸透光率为 91.4%,纳米 ZnO 涂覆玻璃纸的透光率为 80.7%,石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸的透光率为 72.3%。

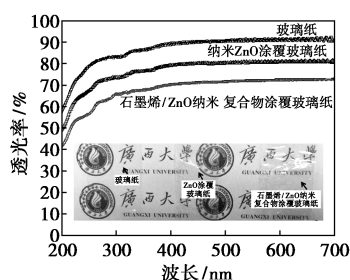


图4 玻璃纸、纳米 ZnO 与石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸的透光性能

从 3 种玻璃纸透光性展示效果(见插图)可以明显看出,石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸作为包装材料对产品展示性能影响不大,可以在赋予玻璃纸抗菌功能的基础上保持其可透性良好的优点。

### 3 结论

(1)在水热合成法制备纳米 ZnO 的反应体系中,引入并调整石墨烯用量,可显著地改善产物的形貌和抗菌性能。

(2)当  $m(\text{石墨烯}):m(\text{ZnO})=0.02$  时,纳米 ZnO 可以在石墨烯片层表面实现均匀负载,制备的石墨烯/ZnO 纳米复合物 MIC 降为  $157\mu\text{g/mL}$ ,约为纳米 ZnO( $313\mu\text{g/mL}$ )的 1/2。

(3)石墨烯/ZnO 纳米复合物涂覆玻璃纸的透光性能优良,对李斯特氏菌和大肠杆菌的抑菌率均大于 98%,具有作为抗菌功能包装材料的潜能。

### 参考文献

- [1] 张春月,焦通,刘云,等.纳米氧化锌在抗菌食品包装中的应用研究进展[J].食品科学,2014,35(1):274-279.
- [2] 何星平,杨鹏飞,况慧娟,等.纳米氧化锌在食品领域中的应用及安全性研究进展[J].食品安全质量检测学报,2016,7(11):4525-4530.
- [3] Esmailzadeh H, Sangpour P, Shahraz F, et al. Effect of nano-composite packaging containing ZnO on growth of Bacillus subtilis and Enterobacter aerogenes[J]. Materials Science & Engineering C, 2016, 58: 1058-1063.
- [4] 况慧娟,杨林,许恒毅,等.纳米氧化锌抗菌性能及机制的研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2015,29(1):153-157.
- [5] Hu W, Peng C, Luo W, et al. Graphene-based antibacterial paper[J]. ACS Nano, 2010, 4(7): 4317-4323.
- [6] 潘启亮,赵建国,邢宝岩,等.孔状氧化锌/石墨烯复合材料制备及其电化学性能研究[J].应用化工,2016,45(8):1434-1437.
- [7] 马晶,褚佳,祖雪薇,等.氧化锌/石墨烯复合材料的水热制备及其光催化性能[J].中国科技论文,2015,10(18):2130-2135.
- [8] 高艳玲,刘熙,王宗贤,等.纳米金属氧化物对食品污染菌的杀、抑能力研究[J].食品科学,2005,26(4):45-48.
- [9] 李婷,钟泽辉,邵杰,等.食品抗菌包装材料的研究进展[J].包装学报,2011,3(2):34-36.
- [10] Xu Tongguang, Zhang Liwu, Cheng Hanyun, et al. Significantly enhanced photocatalytic performance of ZnO via graphene hybridization and the mechanism study[J]. Applied Catalysis B: Environmental, 2011, 101(3/4): 382-387.
- [11] Tam K, Djuricic A, Chan C, et al. Antibacterial activity of ZnO nanorods prepared by a hydrothermal method[J]. Thin Solid Films, 2008, 516(18): 6167-6174.
- [12] Çağlar Meriçer, Minelli M, Angelis M G D, et al. Atmospheric plasma assisted PLA/microfibrillated cellulose (MFC) multi-layer biocomposite for sustainable barrier application[J]. Industrial Crops & Products, 2016, 93: 235-243.

收稿日期:2017-08-11

修稿日期:2018-10-26