

• 论 著 •

纳米载银凹凸棒的制备和表征及其抗菌性能*

王临艳¹, 宫 雪², 王建荣^{1△}

(1. 甘肃省妇幼保健院, 兰州 730050; 2. 西北师范大学化学化工学院, 兰州 730070)

摘要:目的 制备具有较强抗菌性的抗菌剂。方法 通过对凹凸棒黏土进行酸化、热及钠化处理后,在室温下采用原位还原的方法制备纳米载银凹凸棒。用红外光谱(FT-IR)、X射线衍射(XRD)分析表征。结果 纳米载银凹凸棒的红外吸收谱与纯凹凸棒基本相同,凹凸棒晶体结构没有变化。样品的元素分析说明纳米载银凹凸棒中银含量为 4.13%。用大肠杆菌和金黄色葡萄球菌进行抗菌实验表明,纳米载银凹凸棒具有较强的抗菌性能。结论 应用原位还原法可制得纳米载银凹凸棒抗菌剂。

关键词:银; 凹凸棒; 抗菌性能

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.07.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)07-0739-02

The preparation and characterization of nano-Ag-loaded vermiculite and its antibacterial ability

Wang Linyan¹, Gong Xue², Wang Jianrong^{1△}

(1. Stomatology of Gansu Provincial Maternity and Child-care Hospita, Lanzhou 730050, China; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Objective The antibacterials with high antibacterial was made. **Methods** The nano-Ag-loaded palygorskite was treated with acid, heat and sodium chloride, Used the method of original reducing to make Ag-carrying nanopalygorskite material in the room temperature, as raw material and was characterized by FT-IR spectrometry, XRD. **Results** the nano-Ag-loaded palygorskite had the similar IR spectrum with the purified palygorskite. The element analyse illustrated this kind of material contains 9.13% Ag. The antibacterial experiment exhibited that the nano-Ag-loaded vermiculite had high antibacterial activity for S. aureus and E. coli. **Conclusion** Used the method of original reducing to make Ag-carrying nanopalygorskite material.

Key words: silver; palygorskite; antibacterial activity

凹凸棒(palygorskite, ATP)是一种三维立体层链状镁铝硅酸盐,其晶体化学组成上广泛存在的异价类质同像置换及配位八面体边缘位镁离子占位特点,造成了凹凸棒晶体有较强的金属离子可置换性^[1]。晶体在结构上存在着四面体层上活性氧的相间倒转造成八面体带的非连续,构成链平行的孔道,孔道横截面约为 0.137 nm × 0.164 nm^[2]。另外凹凸棒晶粒非常细小,比表面积较大,这就使凹凸棒具有较强的吸附性^[3]。与同属于层状结构的膨润土等硅铝酸盐相比,具有更强的阳离子交换能力和较强的吸附性,有结晶好、性质稳定、矿物纯、易分选等优点。凹凸棒被广泛用于建筑、节能、环保、农牧业、园艺等领域,尤其在医药中的应用越来越受到人们的关注,如药物分散系统稳定剂、消化道黏膜保护剂、血液净化材料等^[4]。

抗菌剂是一些微生物高度敏感、少量添加到其他材料中即可赋予材料抗微生物性能的化学物质^[5]。无机抗菌剂是以银、锌、铜等金属离子为抗菌剂,与有机抗菌剂相比,无机抗菌剂具有耐热、杀菌效能强、持久性好、稳定性好、对人体无影响等优点,特别是载银无机抗菌剂表现出特别强的杀菌能力,在各个领域被广泛研究^[6]。抗菌材料在人们生活中具有不可替代的作用,因此开展凹凸棒矿物抗菌材料的研究具有广阔的应用前景。

本研究通过原位还原法制取凹凸棒抗菌剂,并用元素分析法分析了蛭石的载银量,采用红外光谱(FT-IR)和 X 射线衍射(XRD)方法研究银离子在凹凸棒表面负载的特征,并测定了其抗菌性能。

1 材料与方法

1.1 材料 凹凸棒黏土(甘肃凹凸棒有限公司),平均粒径为 325 目;聚乙烯吡咯烷酮(PVP,上海友盛化工科技有限公司);硝酸银(广州市鑫铂化工有限公司);乙二醇(无锡市飞鹏精细化工公司);巯基乙醇(上海森源精细化工有限公司);乙醇和试剂均为分析纯。在整个实验中均使用二次蒸馏水。

1.2 方法

1.2.1 凹凸棒预处理 酸处理:按文献[10]对凹凸棒进行酸处理,用低浓度的盐酸或硫酸浸泡 24 h。热处理:按文献[10]对凹凸棒进行热处理,将样品置于 600 °C 马弗炉中煅烧 3 h,升温速率为 15 °C/min。钠化处理:用蒸馏水清洗后,加入一定量 and 一定浓度的 NaCl 溶液,在较低温度下,恒温搅拌、振荡一段时间后,洗净烘干即可制得钠型凹凸棒。

1.2.2 纳米载银凹凸棒抗菌剂的制备 采用原位还原法制备。将 5 g 钠化凹凸棒分散在 50 mL 水中,加入 5 mL 巯基乙醇,常温下搅拌,超声分散 24 h 后离心,分别用水和乙醇洗涤,在 40 °C 真空干燥 24 h。取 0.2 g 上述凹凸棒于 50 g 乙二醇中,然后加入 2 g PVP,再次功率超声分散 24 h,随后将 0.5 g AgNO₃ 缓慢加入,同时搅拌 30 min,然后常温搅拌 12 h,离心分离后用水洗涤,干燥后即可得到纳米载银凹凸棒抗菌剂。

1.2.3 抗菌性能 实验标准菌株由兰州大学微生物实验室提供。本实验采用振荡法测定其生物活性,即抗菌性能。准备牛肉膏 3 g、蛋白胨 10 g、NaCl 5 g、琼脂 15~20 g、蒸馏水 1 000 mL。除琼脂外,将其他成份混合,溶解于蒸馏水中,调节

pH 值为 7.2~7.4, 然后加入琼脂加热使之溶解, 过滤除去沉淀, 分装于玻璃容器中, 经 121 °C 灭菌 15 min, 贮存备用^[7]。

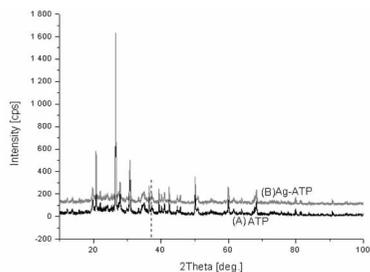
用去离子水、蛋白胨、牛肉膏、NaCl、琼脂加热溶解制备培养基, 调 pH 值约为 7.0, 高压灭菌后移入培养皿。用无菌生理盐水分别配制金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和大肠杆菌(*E. coli*)菌种的菌悬液, 浓度为 1.0×10^4 个/mL, 将 0.75 g 抗菌样品放入 100 mL 菌悬液中, 在摇床上以 300 r/min 振荡摇晃 1 h。取初始时刻和振荡灭菌 1 h 后的菌液各 0.5 mL, 用无菌生理盐水作适当稀释, 然后各取 1 mL 接种于灭菌的培养皿中, 于 37 °C 恒温培养 48 h 后, 取出平板计数。作平行样, 计算平均灭菌率 $[\text{灭菌率}\% = (\text{初始浓度} - \text{终止浓度}) / \text{初始浓度} \times 100\%]$, 同时作空白样对比实验。

1.3 测试与表征 X 射线衍射分析采用日本理学 D/mtx-rB 型 X 射线衍射仪, CuK α 靶, 狭缝 DS=SS=1°, Rs=0.3 mm, 管电压 40 KV, 管电流 80 mA, 步长 0.02°, 扫描范围 10°~100°。红外光谱采用 PE983 型红光分光光度计对样品进行分析, KBr 压片, 样重 2 mg, 测试范围从 4 000 cm^{-1} ~400 cm^{-1} 。原子吸收分析应用银含量原子吸收光谱仪 Z-5000 型(日本日立公司)。测试方法为取 0.1 g Ag-ATP 用浓硝酸在加热下溶解 Ag, 然后过滤溶液并洗涤, 标定为 100 mL 溶液, 用原子吸收光谱仪测定。

2 结 果

2.1 FT-IR 分析 凹凸棒和纳米载银凹凸棒具有相似的红外吸收特征, 主要吸收区及归属为: 高频区是 3 000~3 700 cm^{-1} , 其中 3 617 cm^{-1} 、3 548 cm^{-1} 为结构水 OH 的红外振动带, 3 400 cm^{-1} 为沸石水与 Kbr 吸收水伸缩振动有关; 中频区是 1 700~600 cm^{-1} , 其中 1 200~800 cm^{-1} 有 5~7 个强吸收带, Si-O 和 Si-O-Si 的对称和反对称伸缩振动, 800~600 cm^{-1} 为 Si-O-Si 对称伸缩振动和 M-OH 的振动区; 低频区是 600~400 cm^{-1} , 主要是 Si-O 弯曲振动, M-O 振动和 OH 平动耦合, 共 4~5 个吸收带。它们是凹凸棒的主要鉴定谱带^[8-10]。表面硫化凹凸棒的 FT-IR 图谱, 其中 2 927 cm^{-1} 处的红外吸收峰归属于硫醇中 S-H 的伸缩振动, 这说明硫醇分子成功吸附到凹凸棒表面。而纳米载银凹凸棒的红外吸收光谱中 S-H 的伸缩振动峰消失, 由此可以看出纳米载银凹凸棒与凹凸棒红外光谱基本相同。

2.2 XRD 分析 见图 1。A、B 分别是凹凸棒和载银凹凸棒的 XRD 图谱。从 A、B 的比较可以看出, 纳米载银凹凸棒的衍射峰与凹凸棒相一致, 证明这个方法制备的载银凹凸棒并没有改变凹凸棒的原有结构。而 $2\theta = 38.06^\circ$ 的衍射峰(图 1 中虚线所示)的出现说明银成功地加载到凹凸棒表面^[11-12]。



(A) 为纯凹凸棒; (B) 为纳米载银后的凹凸棒。

图 1 凹凸棒及纳米载银凹凸棒 X 射线衍射分析

2.3 原子吸收分析 纳米载银凹凸棒主要成份含 Ag 量为

4.13%, 含 SiO₂ 量为 79.28%。

2.4 抗菌性能 载银凹凸棒抗菌剂对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有较强的杀菌性能, 见表 1。

表 1 纯化凹凸棒和纳米载银凹凸棒的抗菌活性测定比较

样品	残余菌浓度(个/mL)		抗菌率(%)	
	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
对照组	$(3.3 \pm 0.15) \times 10^7$	$(3.3 \pm 0.15) \times 10^7$	0	0
凹凸棒	$(3.1 \pm 0.16) \times 10^7$	$(3.2 \pm 0.30) \times 10^7$	6	3
载银凹凸棒	0	0	100	100

3 讨 论

银的出现是现代医学的奇迹, 一种抗生素能杀灭 6 种致病生物菌, 而银能杀灭 650 种, 并能有效控制顽抗菌株, 极少量的银就能消灭大量的致病生物体。银对目前已知的几乎所有细菌和胞外病毒的存在都产生抑制作用, 同时, 因为浓度较低, 对人体无害, 而且不会产生任何的抗药性, 故银系无机抗菌剂中应用得最广泛的。对于金属银的灭菌机制, 目前有两种解释: 一种为金属银遇水, 能微量溶解出 Ag⁺, Ag⁺ 可强烈吸引细菌机体中与呼吸有关的酶蛋白的巯基, 并通过化学键结合在一起, 致使呼吸代谢受阻, 使细菌灭亡; 另一种为银具有催化氧化性能, 能将溶于水中的氧催化氧化成活性氧离子, 具有很强的氧化分解能力, 能将细菌氧化分解为二氧化碳和水^[13-15]。

近年来, 医院医疗器械带来的医院感染已层出不穷, 因此医用抗菌材料和制品的开发受到越来越多的关注。医用抗菌材料通过阻隔病原微生物将其抑制或杀灭, 从而有效降低机体致病风险。材料对致病微生物具有明显的抗菌、抑菌效果, 能在较长的时间内保持抗菌性能, 又具有良好的生物相容性, 对生命体无毒无害且保护环境。随着人类生活质量的提高, 医用抗菌材料的研究得到了迅猛发展。而医用抗菌材料就是在医用材料中加入有机或者无机抗菌剂, 因此抗菌剂的研发成为抗菌材料发展的关键。纳米载银抗菌剂属于无机抗菌剂, 具有安全、持久、耐热和抗菌谱广等优点, 这将其加入到医用材料中提供理论依据。

本组通过一种简单的方法, 成功地将纳米银均匀附载到处理过的凹凸棒表面。对样品的 XRD 和 FTIR 分析证明载银前后蛭石的结构并没有发生变化。元素分析表明其含银量为 4.13%, 且抗菌效果良好。该方法最大的特点是操作简单, 载银量较硅酸盐类高, 具有良好的应用前景。

参考文献

[1] 郑自立. 中国坡缕石[M]. 北京: 地质出版社, 1997: 47.
 [2] 王丽华, 段丽斌, 盛京. 聚丙烯凹凸棒土纳米复合材料结晶形态和形貌研究[J]. 高分子学报, 2004, 3(9): 424-428.
 [3] 朱海青, 周杰. 凹凸棒石载铜(银)抗菌剂的研制及性能研究[D]. 合肥: 合肥工业大学硕士论文, 2005.
 [4] Zhao A, Zhou J, Liu N. Preparation and characterization of Ming-guang palygorskite supported with silver and copper for antibacterial behavior[J]. Applied Clay Science, 2006, 33(19): 161-170.
 [5] 胡发社, 程海丽, 杨飞华, 等. 坡缕石型载银抗菌剂的研制[J]. 现代化工, 2001, 21(6): 35-37.
 [6] 陈天虎, 李宏伟. 凹凸棒石银纳米复合抗菌材料(下转第 743 页)

高、低水平的血浆黏度和各水平血沉项目。79.17%的项目每天每个批次仅需检测 1~2 个质控品,它们是各水平各切变率的全血黏度,各水平纤维蛋白原,中水平血浆和中、低水平的压积项目。20.83%的项目需要 3~6 个质控品,它们是各水平血沉、高、低水平血浆黏度和高水平压积项目。绝大多数实验室每天仅做 1 个批次 1 个水平的血流变质控并对所有血流变项目均采用 $\pm 2s$ 或 $\pm 3s$ 规则的做法存在低 Ped 的弊病,使质控方案的质量控制效率极低,这样的做法并不能满足临床对血流变检测的质量要求,当前应当提出质疑。 f 是误差发生率,表示检测方法过程的稳定性。 $f > 10\%$ 是不稳定的测定过程, f 在 $2\% \sim 10\%$ 之间是中等程度稳定的测定过程, $f < 2\%$ 是稳定的测定过程。在 3 个水平上 8 项血流变指标中,4.17%的项目测定过程不稳定, Ped 仅为 0.10, Pfr 在 0.075 左右,如高水平血沉。16.67%的项目是中等稳定的测定过程,如中、低水平血浆黏度,中水平血沉和高水平压积。它们的 Ped 波动在 0.15~0.57 之间, Pfr 在 0.038 左右,其中仅 25%的项目 Ped > 0.50 ,可见对其余 75%中等稳定测定项目采取积极的改良检测方法性能的措施和通过缩小 AL,增加 N、R 等方法以增加 Ped 等质控方案性能指标的必要性。79.17%的项目是稳定的测定过程, Ped 波动在 0.33~0.99 之间, Pfr 波动在 0.000 1~0.018 之间。从检测方法过程能力来看, $\Delta Sec > 3$, 应选择质控规则来最小化 Pfr; ΔSec 在 2~3 之间, 应选择质控规则来增加 Ped; 如果 $\Delta Sec < 2$, 应选择质控规则来增加 Ped, 增加 N 以增加质控图的直观检查; 如果 $\Delta Sec < 1$, 应选择质控规则来最大化 Ped, 增加 N 以增加质控图的直观检查以及采取必要的纠正措施。从质控方案性能特征来看, 当 $f > 10\%$ 时, Ped 要求在 0.90 以上。除了 $\Delta Sec < 2.0 s$, 为了保持 N 切实可行, 甚至允许 Pfr 增加到 0.10 或更高, 其 Ped 在 0.70~0.80 之间是必须的; 当 $f < 2\%$ 时, Ped 要求在 0.25~0.50 范围之内, Pfr 在 0.01 或更小。除了 $\Delta Sec < 2.0 s$, N 值小时, 其 Pfr 可升至 0.02~0.05; 当 f 在 $2\% \sim 10\%$ 之间时, Ped 至少为 0.50, Pfr 可达到 0.05。N 值一般每批为 1~4, 最差的情况时, 其最大值可达 4~8。血流变检测一般 N 取 1~4 即能满足临床质量要求。ZL6000 血流变仪配套质控品只有 1 个, 本组在实际应用中配置出 3 个水平的全血血流变质控物来满足临床对血流变质量控制的需

要, 通过上述研究可供临床选用, 其能对多项血液流变学指标进行质控, 可以稳定 3 个月, 重复性好, 87.5%的项目平均变异系数 $CV < 8.0\%$ 。

总之, 血流变检测项目过程能力研究是其质控方案设计和选择的基础, 对建立各临床实验室血流变检测项目个性化的质控方案, 血流变检测项目过程能力的改进与维持, 同一实验室不同时期和同一时期不同实验室间血流变检测结果互认和比较等均有十分重要的意义。

参考文献

- [1] Stoltz JF, Boisseau M, Levenson J, et al. Quality control in clinical hemorheology: preliminary study by three centers[J]. J Mal Vasc, 1994, 19(2): 143-146.
- [2] Holdt B, Lehmann JK, Schuff WP. Comparative evaluation of two newly developed devices for capillary viscometry[J]. Clin Hemorheol Microcirc, 2005, 33(4): 379-387.
- [3] 胡金麟, 李桂山, 钱自奋, 等. 临床血液流变学常用指标检测规范化的建议[J]. 中华检验医学杂志, 2000, 23(5): 318-320.
- [4] 王红杰, 李宇. 临床血液流变学检测技术全面质量管理探讨[J]. 中国血液流变学杂志, 2001, 11(2): 141-148.
- [5] 黄永富, 曹兴建. 临床实验室定量指标的过程能力与性能研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(3): 35-40.
- [6] 黄永富, 刘春霞, 曹兴建, 等. 血液分析方法的过程能力与性能及其室内质量控制方法的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2007, 22(6): 106-112.
- [7] 黄永富, 张孔志, 蒋赐思. 方法过程能力与性能评价在凝血试剂选择中应用的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 22(6): 30-34.
- [8] 石冬敏, 吴元健, 钮丽萍. 血液流变检测质控物制备方法探讨[J]. 中国血液流变学杂志, 2004, 14(2): 250-252.
- [9] U. S. Dept. of Health and Human Services. Medicare, Medicaid, and CLIA Programs; regulations implementing the Clinical Laboratory Improvement Amendment of 1988 (CLIA). Final Rule [J]. Fed Regist, 1992, 57(28): 7002-7186.
- [10] Krouwer JS, Astles CJ, Gregory FW, et al. CLSI/NCCLS EP21A: Estimation of Total Analytical Error for Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline, EP21-A[S]. Wayne, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003: 1-39.

(收稿日期: 2011-04-01)

(上接第 740 页)

制备方法和表征[J]. 硅酸盐通报, 2005, 2(4): 123-126.

- [7] 胡朝晖, 朱庆义, 刘本荣, 等. 军团菌选择性分离培养基及其实用性比较研究[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(3): 209-214.
- [8] 吕维平, 王海滨, 霍冀, 等. 抗菌材料进展[J]. 化工新型材料, 2003, 31(3): 7-10.
- [9] 季军晖, 史维明. 抗菌材料[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 195.
- [10] 李宏伟. 凹凸棒石抗菌复合材料制备及其抗菌试验研究[D]. 合肥: 合肥工业大学硕士学位论文, 2004.
- [11] 黄振宇. 蛭石的结构修饰及环氧树脂/蛭石纳米复合材料的制备

[D]. 北京: 中国地质大学硕士学位论文, 2005.

- [12] 余志伟, 王菡明, 王霞. 蒙脱石抗菌材料研究[J]. 矿物岩石, 2003, 4(2): 15-17.
- [13] 胡大千, 朱建喜. 辽宁清原未膨胀蛭石及其有机改性研究[J]. 非金属矿, 2001, 24(3): 14-15.
- [14] 卢红芳. 载树脂的制备及抗菌性能研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学硕士学位论文, 2007.
- [15] 马均宝, 赖胜华, 崔东岚, 等. 各类抗生素对阴沟肠杆菌的抗菌活性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(9): 781-785.

(收稿日期: 2010-11-10)