

Synthesis and Properties of Clay-Base Antibacterial Nanomaterials

Bao-xiang Wang, Yi-chao Yin, Shou-shan Yu, Ke-zheng Chen*

College of Materials Science and Engineering,

Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China

Email: kchen@qust.edu.cn

Abstract: Inorganic antibacterial agent recently become a hotspot due to its effective, inexpensive, stable feature. Through an intercalation method, AgNO_3 and clay (bentonite) as raw materials was used to synthesis the clay/silver anti-bacterial nanocomposite. Clay/silver anti-bacterial nanocomposite was characterized by X-ray diffraction analysis (XRD), transmission electron microscopy (TEM) and UV-visible analysis (UV-vis), and their antibacterial properties are also studied. Through the ion exchange reaction, Ag^+ can be directly intercalated into the interlayer of bentonite. The (001) interlayer space is also increased from 1.25nm to 1.48nm. TEM photos show that the loading Ag nanoparticles on bentonite have the unique size between 20-30 nm. The antibacterial properties of clay/Ag nanocomposite against E. coli were studied. The results showed that the nano-clay as matrix composite particles have a very good antibacterial activity, its antibacterial ratio is above 98.5%.

Keywords: Intercalation; Nanocomposite; Clay; Antibacterial agent; E. coli

皂土/银纳米插层抗菌材料的合成及其性能研究

王宝祥, 尹贻超, 于寿山, 陈克正

材料科学与工程学院, 青岛科技大学, 青岛, 中国, 266042

Email: kchen@qust.edu.cn

摘要: 无机载银抗菌剂高效, 价廉, 作用持久等优点使其成为当前抗菌剂开发的热点之一。通过直接插层的方法, 使用皂土, AgNO_3 为原料制备以粘土为基体的载银纳米抗菌复合颗粒。通过 X 射线衍射分析 (XRD), 透射电子显微镜 (TEM) 和紫外可见分析 (UV-vis) 对合成的皂土/Ag 纳米抗菌复合颗粒进行研究。同时研究了纳米复合材料对大肠杆菌的抗菌性能。结果表明, 银离子通过离子交换反应, 可以插层于皂土的层间, 皂土 (001) 层间距从 1.25 nm 增加到 1.48 nm, 形成纳米插层结构。透射照片显示皂土载银能力较强, 分布均匀, 负载的银纳米颗粒粒径 20-30 nm。以粘土为基体的纳米抗菌复合颗粒具有很好的抑菌性能, 0.1 mg/ml 浓度下抑菌率大于 98.5 %。

关键词: 插层; 纳米复合颗粒; 粘土; 抗菌剂; 大肠杆菌

1 引言

纳米载银无机抗菌剂是银与纳米无机载体的复合体, 它是利用物理吸附、离子交换等方法将银固定在纳米载体上而获得的^[1-4]。纳米载体粒子较大的比表面积和极高的表面活性, 为抗菌剂与细菌的充分接触创造了良好的条件, 可以减少抗菌剂的使用量, 所以纳米载银无机抗菌剂在抗菌功能持久、效率高、耐高温、不易分解、安全卫生及广谱性等很多方面有了极大的

改善, 其性能优于传统抗菌剂, 可广泛应用于塑料、纤维、涂料、陶瓷等材料的抗菌处理中^[5-9]。无机载银抗菌剂具有高效, 价廉, 作用持久等优点, 成为当前抗菌剂开发的热点之一^[10-14]。虽然银系无机抗菌剂有如此好的性能, 但是由于银离子会转变为金属银或氧化银产生变色不稳定限制了它的使用。目前该抗菌剂合成方法大部分集中于对 Ag 的化合物或大粒子的金属 Ag 进行负载, 在杀菌过程中 Ag 被氧化变黑的现象不能很好的解决。如果以纳米粘土片层为基体, 直接负载单质纳米 Ag, 通过离子交换作用, 使纳米 Ag 能

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (50672039)

够插层到粘土的片层中, 粘土的片层可以起到保护作用, 从而实现银的缓慢释放, 在一定程度上可以防止氧化变黑的现象。

皂土 (Bentonite) 又名膨润土、白泥, 我国储量丰富, 是一种主要由蒙脱石 (Montmorillonite) 类矿物组成的粘土。化学成分为: $(Al_2, Mg_3)[Si_4O_{10}][OH]_2 \cdot nH_2O$ 。主要结构是由两层硅氧四面体夹一层铝氧八面体组成的 2:1 型粘土, 每个单位晶格结构的尺度仅为 1 nm^[15]。由于蒙脱石晶胞形成的层状结构存在某些阳离子, 如 Mg^{2+} 、 Na^+ 、 K^+ 等, 且这些阳离子与蒙脱石晶胞的作用很不牢固, 易被其它阳离子交换, 故具有较好的离子交换性。它为含水铝硅酸盐矿物, 矿物层间带有负电荷, 能吸收其他阳离子, 具有阳离子交换性质, 可以用来作为纳米银的载体, 而且成本低廉, 反应可控性强^[16-17]。

2 实验

2.1 原料和试剂

硝酸银: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 皂土, 化学纯, 上海试四赫维化工有限公司; 硼氢化钠 ($NaBH_4$): 化学纯, 国药集团化学试剂有限公司; 牛肉膏: BR, 北京奥博星生物技术有限公司; 蛋白胨: BR, OXOID LTD, ENGLAND; NaCl: 分析纯, 天津市博迪化工有限公司; 琼脂: BR, 青岛海燕琼胶有限公司; 酵母膏: BR, 北京奥博兴生物技术有限公司。

2.2 载银皂土纳米抗菌材料的制备

将 1.0 g 皂土分散到 100 ml 不同浓度 $AgNO_3$ (分别为 10 mM, 50 mM, 75 mM, 100 mM) 溶液中, 室温下搅拌 24 h。沉淀物离心后用去离子水反复洗涤三次, 然后加 100 ml 去离子水继续搅拌 3 小时至分散均匀, 最后加入 10ml 40mM 的 $NaBH_4$ 溶液继续搅拌 3 h, 溶液变成浅黑色。产物离心后用去离子水洗涤三次后烘干得到样品。

作为对照, 也分别制备了其它系列的离子插层型载银皂土抗菌材料和直接还原型载银皂土抗菌材料。将 1.0 g 皂土分散到 100 ml 不同浓度 $AgNO_3$ 溶液中, 室温下搅拌 24 h。不加还原剂, 沉淀物离心后用去离子水洗涤三次, 可以得到一系列离子插层型载银皂土抗菌材料。直接还原型载银皂土抗菌材料是另将 1.0 g 皂土分散到 100 ml 不同浓度 $AgNO_3$ 溶液中, 室温下搅

拌 24 h。最后加入 10ml 40mM 的 $NaBH_4$ 溶液继续搅拌 3 h 直接还原体系中的银离子为银单质而得到样品。

2.3 样品的性能表征

2.3.1 结构表征

X 射线衍射图谱由日本理学 Rigaku D/MAX-rA 型 X 射线衍射分析仪测得, $Cu K\alpha$ 靶, 管电压 40 kV, 管电流 100 mA, 扫描速率 5 °C/min; $\lambda = 0.15405981$ nm。透镜采用日本理学电子公司生产 JEM-2000EX 透射电子显微镜 (TEM), 加速电压 160 kV, 采用滴网法测试样品。紫外可见光光谱由美国 Varian 公司 Cary500 型紫外可见近红外仪测得, 波长 200-800 nm, 扫描速率 600 nm/min。

2.3.2 抑菌性能测试

采用琼脂平板法进行抗菌性能测试 (国家标准 GB/T 21510-2008)。平板菌落计数法是将待测样品经适当稀释, 使其中的微生物充分分散, 取一定量的稀释液接种到平板上, 经过培养, 由单个菌生长繁殖而形成肉眼可见的菌落, 即每一个单菌落代表原样品中一个单细菌。统计菌落数, 根据其稀释倍数和取样接种量即可换算出样品中的含菌数。称取适量蛋白胨、NaCl、酵母膏、NaOH 配置液体培养基, 再使用适量牛肉膏、蛋白胨、NaCl、NaOH 配置固体培养基; 最后选取大肠杆菌 (*E. coli*) 为抗菌性能测试菌种, 经灭菌的 LB 琼脂培养基于 37 °C 下与溶解在 0.9% 的生理盐水中的大肠杆菌混合均匀, 混匀后, 皂土/银纳米复合粒子的浓度分别为 0、100、500 $\mu g/mL$, 室温放置至琼脂培养基凝固后, 将培养皿倒扣在 37°C 恒温培养箱中培养 24 h, 做活菌培养计数, 每个实验重复 3 次。

3 结果与讨论

3.1 物相分析 (XRD 分析)

3.1.1 离子插层型载银皂土抗菌材料的 XRD 分析

如图 1 所示是采用离子插层法得到的一系列离子插层型载银皂土抗菌材料的 XRD 图谱。由于反应体系没有还原剂硼氢化钠, 银主要以离子形式存在。从图中可以看出纯皂土在 $2\theta = 7.02^\circ$ 处出现层状结构 (001) 面的特征衍射峰, 通过 Bragg 方程可计算出皂土片层间距为 1.25 nm。银离子通过离子交换反应, 置换掉

层间的可交换阳离子,形成银离子皂土/银离子插层化合物,插层后由图中可看出皂土(001)面的特征衍射峰发生了移动($2\theta = 6.24^\circ$),经计算可知其层间距变为1.415 nm,比纯皂土扩大了0.165 nm,证明银离子已进入皂土层间。而且随着反应物硝酸银浓度的提高,与之对应的是皂土(001)峰的强度在逐渐下降,这说明随着插层银离子量的增加,对皂土片层的解离作用明显增强,导致(001)峰强度的下降。

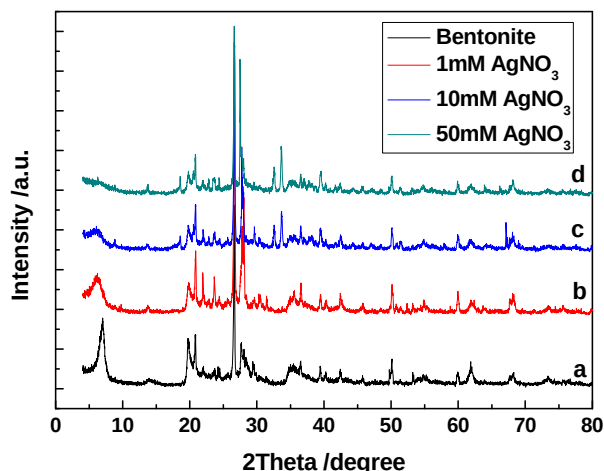


图1 离子插层型载银皂土抗菌材料的XRD图谱, (a) 皂土 (b) 1 mM AgNO₃, (c) 10 mM AgNO₃, (d) 50 mM AgNO₃条件下皂土/Ag 复合材料

Fig.1 XRD patterns of Ag⁺ intercalated bentonite antibacterial materials: Bentonite (a), Bentonite / Ag⁺ composite under the different concentration of AgNO₃: (b) 1 mM, (c) 10 mM, (d) 50 mM

3.1.2 直接还原型载银皂土抗菌材料的XRD分析

图2所示是采用直接还原路线制备的一系列直接还原型载银皂土抗菌材料的XRD图谱。随着反应物硝酸银浓度的提高,产物中的银纳米颗粒逐渐增多,银衍射峰的强度也在提高,而且由于反应体系采用直接还原法,得到产物形态除了有纳米银直接插层皂土的以外,皂土(001)面的特征衍射峰向小角度也发生了移动,显示纳米银的插层。然而体系中还有游离的单质纳米银和吸附在皂土表面的纳米银存在,所以在低的反应浓度下如10 mM AgNO₃也可观测到银的晶体衍射峰。银纳米颗粒的晶体结构符合JCPDS-89-3722,晶型是面心立方,主要晶面(111), (200), (220), (311)如图中所示。与之对应的是皂土(001)峰的强度在逐渐

下降,这可能跟插层银的量在增加,对皂土片层的解离作用明显增强,导致(001)峰强度的下降。

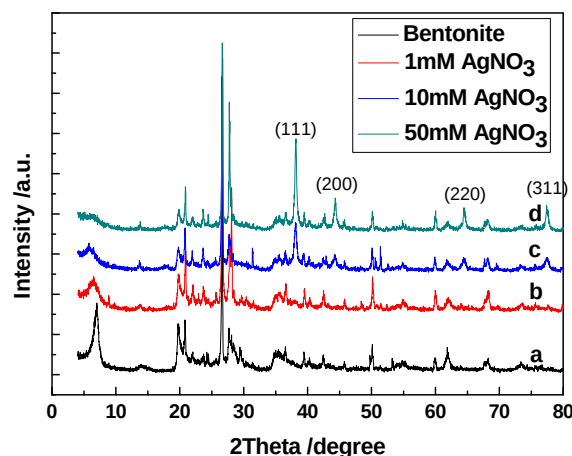


图2 直接还原型载银皂土抗菌材料的XRD图谱 (a) 皂土, (b) 1 mM AgNO₃, (c) 10 mM AgNO₃, (d) 50 mM AgNO₃条件下皂土/Ag 复合材料

Fig.2 XRD patterns of Direct Reduced bentonite/silver antibacterial nanomaterials (a) Bentonite, Bentonite / Ag nanocomposite under the different concentration of AgNO₃: (b) 1 mM, (c) 10 mM, (d) 50 mM

3.1.3 离心还原型载银皂土抗菌材料的XRD分析

图3是采用离心还原路线制备的一系列离心还原型载银皂土抗菌材料的XRD图谱。从图中可以看出纯皂土在 $2\theta = 7.02^\circ$ 处出现层状结构(001)面的特征衍射峰,通过Bragg方程可计算出皂土片层间距为1.25 nm。图3(b-e)为皂土/银纳米插层复合物的XRD图谱,由图中可看出(001)面的特征衍射峰发生了移动($2\theta = 5.96^\circ$),经计算可知其层间距为1.48 nm,比纯皂土扩大了0.23 nm,证明银已进入皂土层间。Ag⁺通过离子交换反应,进入到皂土的层间,使层间距增大。由于采用的合成路线是形成皂土/Ag⁺插层化合物后,再将其离心洗涤去掉了溶液中未反应的硝酸银,然后再用硼氢化钠还原,得到纳米银是以插层于皂土层间和吸附在皂土表面的形式存在,去掉了游离状态的单质银。随着反应物硝酸银浓度的提高,载银的量也在提高,尤其在50 mM和100 mM硝酸银浓度下,银的晶体衍射峰清晰可见。值得注意的是相比银离子插层而言,前者导致皂土(001)面层间距增加到1.48 nm,

这说明层间银离子被还原为纳米银后，原子态的银聚集长大成核，形成纳米银，继续撑大了片层间距。

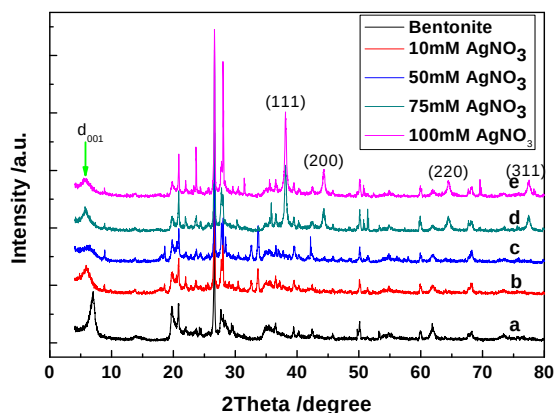


图 3 离心还原型载银皂土抗菌材料的 XRD 图谱 (a) 皂土, (b) 10mM AgNO_3 , (c) 50mM AgNO_3 , (d) 75mM AgNO_3 , (e) 100mM AgNO_3 条件下皂土/Ag 复合材料

Fig3 XRD patterns of Centrifugal Reduced bentonite/silver antibacterial nanomaterials (a) bentonite, Bentonite / Ag nanocomposite under the different concentration of AgNO_3 : (b) 10 mM, (c) 50 mM, (d) 75 mM, (e) 100 mM

3.2 载银皂土抗菌材料的形貌分析

图 4 为离心还原型皂土/银纳米复合颗粒 (100 mM AgNO_3) 的透射电镜照片, 从图中可以看出皂土负载银纳米颗粒的能力较强, 皂土上纳米银颗粒分布比较均一, 粒径都在 20–30 nm 之间。这首先是由于银离子通过离子交换反应, 置换掉层间的可交换阳离子, 形成银离子皂土/银离子插层化合物, 离子键的结合能力是比较强的, 被硼氢化钠还原后纳米银又被束缚于皂土的片层之间, 从而能够负载比较多粒径较小的纳米银颗粒。

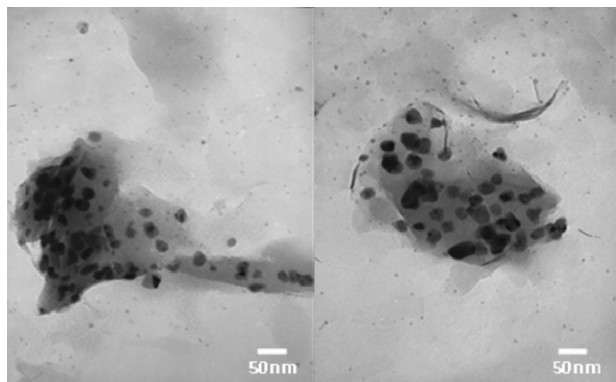


Fig.4 TEM images of Bentonite /Ag nanocomposite particles
图 4 皂土/Ag 纳米复合颗粒的透射电镜照片

3.3 紫外可见分析

3.3.1 直接还原型载银皂土抗菌材料的紫外可见光谱

从直接还原型载银皂土抗菌材料的紫外可见光谱 (图 5) 可以看出纳米银的特征吸收峰在 414 nm 附近, 是银的表面等离子体共振吸收峰, 由于是采用直接还原的方法, 体系中除了纳米银的插层, 还有游离的单质纳米银和吸附在皂土表面的纳米银存在, 所以在低的反应浓度下如 10 mM AgNO_3 也可观测到银的特征吸收峰。而且随着反应物硝酸银用量的增加, 414 nm 吸收峰的强度也在增加。

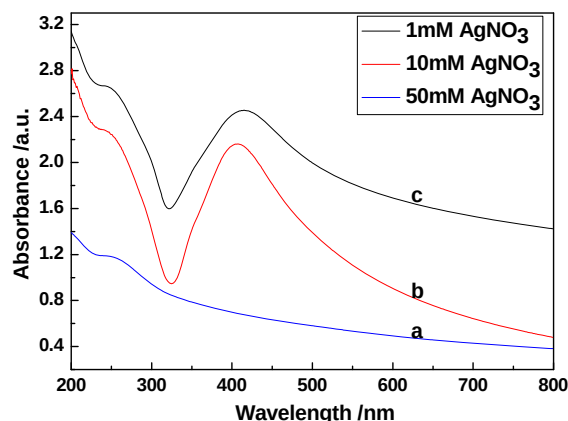


图 5 直接还原型载银皂土抗菌材料的紫外可见光谱 (a) 1 mM AgNO_3 , (b) 10 mM AgNO_3 , (c) 1 mM AgNO_3 条件下皂土/Ag 复合材料

Fig.5 UV-Vis spectra of bentonite/silver composite obtained by the directly reduced method, Bentonite / Ag composite under different concentration of AgNO_3 : (a) 1 mM, (b) 10 mM, (c) 50 mM

3.3.2 离心还原型载银皂土抗菌材料的紫外可见光谱

进而又考察了采用离心还原法制备的一系列皂土/银纳米颗粒紫外可见光谱, 由图 6

可见, 由于采用的合成路线是形成皂土/ Ag^+ 插层化合物后, 再将其离心洗涤去掉了溶液中未反应的硝酸银, 然后再用硼氢化钠还原, 得到纳米银是以插层于皂土层间和吸附在皂土表面的形式存在, 去掉了游离状态的单质银。相比直接还原的样品而言, 414 nm 的特征吸收峰在比较高的硝酸银用量下才能看到, 峰形变宽, 强度与直接还原的样品相比也降低了。

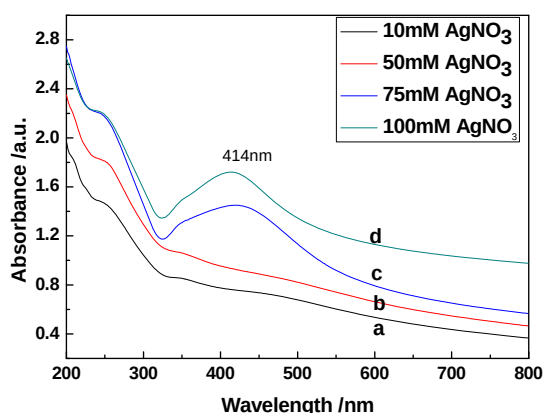


图 6 离心还原型载银皂土抗菌材料的紫外可见光谱 (a) 10 mM AgNO_3 , (b) 50 mM AgNO_3 , (c) 75 mM AgNO_3 , (d) 100 mM AgNO_3 条件下皂土/Ag 复合材料

Fig.6 UV-Vis spectra of bentonite/silver nanocomposite obtained by the Centrifugal Reduced method, Bentonite / Ag nanocomposite under different concentration of AgNO_3 : (a) 10 mM, (b) 50 mM, (c) 75 mM, (d) 100 mM

3.4 抑菌性能分析

在37℃的恒温培养箱中培养8小时后,进行菌落计数,并计算抑菌率,记录于下表1中。从得到的实验数据可知:直接还原型的皂土/Ag复合材料具有良好的抑菌性能,当浓度为0.5 mg/ml时,抑菌率可达到100%,缩小浓度到0.1 mg/ml后抑菌率依然很大,这是直接还原的样品中存在游离的Ag单质的原因;同样,离心后还原的皂土/Ag复合材料在0.5 mg/ml时抑菌率也达到了100%,缩小浓度到0.1 mg/ml,抑菌率下降到98.5%,相对于直接还原的皂土/Ag复合材料,离心后还原的材料中游离的Ag单质已被洗掉,起抑菌性能的主要是插层于皂土间和吸附在皂土表层的纳米Ag颗粒。

表 1 培养 8 小时后各样品所得菌落数及其抑菌率

Table 1 Bacterial counts and antibacterium rate of sample after 8 hours

测试组	菌落数	抑菌率
空白菌悬液	2725	
1 号样 (0.5mg/ml)	<10	100%
1 号样 (0.1mg/ml)	<10	100%
2 号样 (0.5mg/ml)	<10	100%
2 号样 (0.1mg/ml)	42	98.5%

注: 抑菌率计算公式为: 抑菌率=1 - 菌落数/空白菌落数×100%, 菌落数为平均值。1 号样为直接还原型的皂土/Ag 纳米复合材料 (50mM AgNO_3), 2 号样为离心后还原的皂土/Ag 纳米复合材料 (100mM AgNO_3)。

4 结论

利用溶液插层法,粘土(皂土)为基体,硝酸银做插层剂,硼氢化钠还原剂,来制备粘土基插层型载银纳米复合颗粒,银离子通过离子交换反应,可以插层于皂土的层间形成插层结构。离子插层型的皂土/ Ag^+ 纳米复合材料的(001)面的特征衍射峰发生了移动,其层间距为 1.415 nm,比纯皂土扩大了 0.165 nm,证明 Ag^+ 已进入皂土层间。离心还原型插层的皂土/Ag 纳米复合材料的(001)面的特征衍射峰也发生了移动,其层间距为 1.48nm,比纯皂土扩大了 0.23 nm,证明 Ag 已进入皂土层间,紫外可见光谱可以看出纳米银的特征吸收峰在 414 nm 附近。TEM 照片显示,皂土载银能力较强,负载的银纳米颗粒粒径 20-30 nm。以粘土为基体的纳米抗菌复合颗粒具有很好的抑菌性能。

References (参考文献)

- [1] Lizhi Zhang, Jimmy C Yu, Hoyin Yip, et al. Ambient Light Reduction Strategy to Synthesize Silver Nanoparticles and Silver-Coated TiO_2 with Enhanced Photocatalytic and Bactericidal Activities [J]. *Langmuir* 2003, 19: 10372-10380.
- [2] Debanjan Guin, Sunkara V Manorama, J Naveen Lavanya Latha, et al. Photoreduction of Silver on Bare and Colloidal TiO_2 Nanoparticles/Nanotubes: Synthesis, Characterization, and Tested for Antibacterial Outcome [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2007, 111: 13393-13397.
- [3] Poovathinodiyil Raveendran, Jie Fu, and Scott L. Wallen. Completely "Green" Synthesis and Stabilization of Metal Nanoparticles [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2003, 125: 13940-13941.
- [4] Yongwen Zhang, Huashong Peng, Wei Huang, et al. Hyperbranched Poly(amidoamine) as the Stabilizer and Reductant To Prepare Colloid Silver Nanoparticles in Situ and Their Antibacterial Activity [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2008, 11: 2330-2336.
- [5] Thiel J, Pakstis L, Buzby S, et al. Antibacterial properties of silver-doped titania [J]. *Small*, 2007, 3: 799-803.
- [6] Yongwen Zhang, Huashong Peng, Wei Huang, et al. Facile preparation and characterization of highly antimicrobial colloid Ag or Au nanoparticles [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2008, 325: 371-376.
- [7] Hongwei Ni, Zhigang Dan, Bofan Xu, et al. Antibacterial property of stainless steel implanted by Cu ions [J]. *Journal of Functional Materials*. 2005, 36(12): 1906-1908. 倪红卫, 但智钢, 许伯藩, 等. 铜离子注入 AISI 304 不锈钢的抗菌性能研究[J]. *功能材料*, 2005, 36(12): 1906-1908.
- [8] Cindy Gunawan, Wey Yang Teoh, Christopher P. Marquis, et al. R. Reversible Antimicrobial Photoswitching in Nanosilver [J]. *Small*, 2009, 5: 341-344.

- [9] Young Hwan Kim, Chang Woo Kim, Hyun Gil Cha, et al. Bulklike Thermal Behavior of Antibacterial Ag-SiO₂ Nanocomposites [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2009, 113: 5105–5110.
- [10] Niño-Martínez N, Martínez-Castañón G A, Aragón-Piña A, et al. Characterization of silver nanoparticles synthesized on titanium dioxide fine particles [J]. *Nanotechnology*, 2008, 19: 065711.
- [11] Tapan K. Sau, Andrey L. Rogach, Frank Jäckel, et al. Properties and Applications of Colloidal Nonspherical Noble Metal Nanoparticles [J]. *Advanced Materials*, 2010, 22, 1805–1825
- [12] Huanjun Zhang, Guohua Chen, Potent Antibacterial Activities of Ag/TiO₂ Nanocomposite Powders Synthesized by a One-Pot Sol-Gel Method [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43: 2905–2910.
- [13] Bo Hu, Shang-Bing Wang, Kan Wang, et al. Microwave-Assisted Rapid Facile “Green” Synthesis of Uniform Silver Nanoparticles: Self-Assembly into Multilayered Films and Their Optical Properties [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2008, 112: 11169–11174.
- [14] Priya R, Baiju K V, Shukla S, et al. Comparing Ultraviolet and Chemical Reduction Techniques for Enhancing Photocatalytic Activity of Silver Oxide/Silver Deposited Nanocrystalline Anatase Titania [J]. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2009, 113: 6243–6255.
- [15] Baoxiang Wang, Min Zhou, Zbigniew Rozynek, et al. Electrochemical properties of organically modified nanolayered laponite: influence of intercalation, adsorption and wettability [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2009, 19: 1816–1828.
- [16] Ying Ye, Yuhang Zhou, Meisheng Xia, et al. A New Type of Inorganic Antibacterial Material: Cu-bearing Montmorillonite and Discussion on Its Mechanism [J]. *Journal of Inorganic Materials*, 2003, 18(3): 569–574(Ch).
叶瑛,周玉航,夏枚生,等. 新型无机抗菌材料:载铜蒙脱石及其抗菌机理讨论[J]. *无机材料学报*, 2003, 18(3): 569–574.
- [17] Shaozao Tan, Jia Zheng, Yin Cheng, et al. Preparation and Characterization of the Antibacterial Modified Montmorillonites Containing Quaternary Phosphonium Cations [J]. *Journal of Inorganic Materials*, 2009, 24(3) : 507–511(Ch).
谭绍早, 郑佳, 陈茵, 等. 含季磷阳离子的抗菌改性蒙脱土的制备及表征[J]. *无机材料学报*, 2009, 24(3): 507–511.