doi:10.3969/j.issn.1673-9833.2013.02.005

磁性 MnFe₂O₄/Ag 复合纳米粒子的 制备与抑菌性能测试

黄春艳,李凌琰,贺诗阳,潘耀武,梁 洁,贺全国

(湖南工业大学 包装与材料工程学院,湖南 株洲 412007)

摘 要:采用水热法合成了磁性空心 $MnFe_2O_4$ 纳米粒子,然后用 3-氨丙基三乙氧基硅烷对其表面进行了 改性并吸附银离子,还原后成功制备了磁性 $MnFe_2O_4/Ag$ 复合纳米粒子,并采用 X 射线衍射仪、透射电镜、磁 强计、紫外光谱等对试样进行了表征。通过抑菌圈法对 $MnFe_2O_4/Ag$ 复合纳米粒子的抑菌性能进行了测试。结 果表明:磁性空心 $MnFe_2O_4$ 纳米粒子没有抑菌性能; $MnFe_2O_4/Ag$ 对大肠杆菌的抑菌圈半径为 1.78 cm,对金黄 色葡萄球菌的抑菌圈半径为 2.14 cm; $MnFe_2O_4/Ag$ 的抑菌持久性检测结果说明,所制备的载银磁性复合纳米粒 子抑菌剂的稳定性较好,抑菌性能较持久。

关键词: 空心 MnFe₂O₄; MnFe₂O₄/Ag 复合粒子; 抑菌性能; 3- 氨丙基三乙氧基硅烷 中图分类号: TQ465.91 文献标志码: A 文章编号: 1673-9833(2013)02-0021-05

The Preparation and Antibacterial Property Testing of Magnetic MnFe₂O₄/Ag Composite Nanoparticles

Huang Chunyan, Li Lingyan, He Shiyang, Pan Yaowu, Liang Jie, He Quanguo (School of Packaging and Material Engineering, Hunan University of Technology, Zhuzhou Hunan 412007, China)

Abstract: Magnetic hollow $MnFe_2O_4$ nanoparticles were prepared by hydrothermal method and the nanoparticles surface were modified by(3-aminopropyl) triethoxysilane(APTES), then absorbed silver ions. After reduction the magnetic $MnFe_2O_4/Ag$ composite nanoparticles were successfully prepared. The X-ray diffraction, transmission electron microscopy, magnetometer and ultraviolet spectrometer were applied to characterize the samples. Inhibition zone method was used to detect the antimicrobial effect of $MnFe_2O_4/Ag$ composite particles. The characterization and detection results showed that the parent hollow magnetic $MnFe_2O_4$ was not active in antimicrobial property, and the inhibition zone radius of the composite $MnFe_2O_4/Ag$ to *E.coli* was 1.78 cm and that to *S. aureus* was 2.14 cm. The $MnFe_2O_4/Ag$ antibacterial durability test results showed that Ag-carrying magnetic composite particles had high stable and lasting antibacterial performance.

Keywords : hollow $MnFe_2O_4$; $MnFe_2O_4/Ag$ composite particles; antibacterial property; (3-aminopropyl) triethoxysilane

收稿日期: 2013-01-20

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(11JJ6038, 11JJ5042),大学生创新计划基金资助项目(湖工大教字[2011-12])

作者简介:黄春艳(1987-),女,湖南郴州人,湖南工业大学硕士生,主要研究方向为生物传感器与纳米功能材料,

E-mail : hcy7207@163.com

通信作者: 贺全国(1973-), 男, 湖南常德人, 湖南工业大学教授, 博士, 主要从事生物传感器和纳米功能材料方面的教学与研究, E-mail: hequanguo@126.com

0 引言

目前的抗菌剂由于难于从基体中完全分离,因 而会对环境造成一定的污染,且浪费资源。如果磁 性纳米粒子表面被包覆上金或银,则所构成的复合 纳米粒子可以体现出金或银纳米粒子的表面化学性 质和磁性纳米粒子的磁学性质的双重优点。同时,其 有利于将金或银从反应混合物中分离出来,且复合 粒子有低毒性和生物相容性等优点[1-4]。章桥新等人 以硅烷偶联剂γ-巯丙基三甲氧基硅烷(γmercaptopropyl trimethoxysilane, MPTMS)为添加剂, 甲醛为还原剂,在Ag[(NH₃),]⁺溶液中制备出Ag壳层 厚度为10~15 nm的纳米Fe₃O₄/Ag核壳复合粒子,其 粒径为 40~60 nm^[5]。Gong Ping 等人制备的 Fe₃O₄/Ag 复合粒子不仅具有超顺磁性,还对大肠杆菌(E. coli)、表皮葡萄球菌(S. epidermidis)、枯草芽孢杆菌 (B. subtilis)均具有良好的抑菌性能⁶⁶。B. Chudasama 等人制备了核壳结构的 Fe_3O_4 -Ag复合粒子,该粒子 对革兰氏阴性菌和阳性菌均具有很好的抑菌效果, 且其最低抑菌浓度比某些抗生素的还要低,这种抗 菌剂表现出优良的抗菌特性和良好的分离效果四。

本课题组人员以银和磁性空心结构 $MnFe_2O_4$ 纳 米粒子作为构筑材料,制备了磁性纳米 $MnFe_2O_4/Ag$ 复合粒子,并且以大肠杆菌(*E. coli*)和金黄色葡萄 球菌(*S. aureus*)作为抑菌实验的菌种,测试了复合 粒子的抑菌性能和抑菌持久性能。

1 试验部分

1.1 试验材料与仪器

实验材料包括: FeCl₃·6H₂O,MnCl₂·4H₂O,NH₄Ac, 乙二醇(ethylene glycol, EG), 3-氨丙基三乙氧基硅 烷((3-aminopropyl)triethoxysilane, APTES), CH₃COOAg, HCOONa,乙醇(纯度为99.7%),均为 国产分析纯;实验用水为自制超纯水(18.2 MΩ)。

主要仪器有:透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM), JEM1230型,日本电子; X射 线粉末衍射仪(X-raydiffraction, XRD), Advanced-D8 型,德国 Bruker公司;振动样品磁强计(vibrating sample magnetometer, VSM), HH-15型,南京大学仪 器厂,南京百丁电子研究所;双光束紫外分光光度 计(UV-vis), Purkinje General T-1901型,北京普析 通用公司。

1.2 磁性 $MnFe_2O_4/Ag$ 复合粒子的制备与表征

1)复合粒子的制备 首先,根据已有文献[8]报道的水热法,制备磁 性空心 MnFe₂O₄ 纳米粒子; 然后,用 APTES 对制备 好的空心 MnFe₂O₄ 纳米粒子进行表面改性,使粒子 表面接枝上氨基^[9];最后,取 25 mL质量浓度为 1 g/ L的 APTES-MnFe₂O₄乙醇溶液、20 mL浓度为 0.1 mol/ L的 CH₃COOAg 水溶液,将它们混合并搅拌均匀后, 缓慢滴加浓度为 0.1 mol/L的 HCOONa 溶液 10 mL。反 应在 T=35 ℃, R=500 r/min 条件下进行。当溶液由棕 褐色变为黑色时,保持搅拌,80 min 后冷却至室温, 所有反应均在 N₂ 保护下进行。反应结束后用去离子 水清洗数次,即可得黑色 MnFe₂O₄/Ag 复合粒子^[10]。

2)纳米粒子的表征

采用 TEM 观察 $MnFe_2O_4/Ag$ 复合粒子和空心 $MnFe_2O_4$ 纳米粒子的内部结构,并观察粒子的粒径;

采用 XRD 对 $MnFe_2O_4/Ag$ 复合粒子和空心 $MnFe_2O_4$ 纳米粒子的晶型结构和组成成分进行测定分析;

采用 VSM 检测磁性纳米粒子的磁饱和强度,绘制磁滞回线;

利用 UV-vis 测定空心 $MnFe_2O_4$ 粒子改性前后和 $MnFe_2O_4/Ag$ 粒子的紫外光谱吸收情况。

1.3 MnFe₂O₄/Ag 的抑菌性能测试

取浓度为10° CFU/mL量级的*E. coli*和*S. aureus*菌液 250 μ L,分别滴在培养皿中的琼脂培养基上,在 培养基表面用涂布棒均匀涂抹 3次(每涂抹一次,平 板旋转 60°);盖好平皿,在室温下干燥 5 min。然后,将压制好的抑菌片(抑菌样品和对照样品,直径约 0.5 cm)小心放入已涂布好的培养皿中;再将培养皿 置于生化培养箱中,于 30 ℃条件下培养 18~24 h;最 后对其进行观察和测量,并计算抑菌圈半径 *R*:

R=抑菌圈外沿半径-抑菌片半径。

将抑菌圈测试的平板置于生化培养箱中,继续 培养8d后测量MnFe₂O₄/Ag的抑菌圈R值,并与前 面的试验结果进行对比,以验证样品的抑菌持久性。

2 结果与讨论



首先,用水热法制备磁性空心 MnFe₂O₄纳米粒 子,由于 MnFe₂O₄纳米粒子的表面富含羟基,因而可 以和多种基团进行缩合。用 APTES 进行表面改性后, MnFe₂O₄纳米粒子表面接枝上裸露的氨基。游离的 Ag⁺可以与氨基形成配位键,使得 Ag⁺紧密地吸附在 MnFe₂O₄纳米粒子表面。最后,用甲酸根离子还原吸 附的银离子,即变为纳米银负载在 MnFe₂O₄粒子上, 形成 MnFe₂O₄/Ag 复合纳米粒子。

2.1 TEM 和粒径分布分析

图 2 是 $MnFe_2O_4$ 和 $MnFe_2O_4/Ag$ 的 TEM 图和对应 的粒径分布图。





b) MnFe2O4/Ag的TEM图

a) MnFe₂O₄的TEM 图





d) MnFe2O4/Ag 粒径分布图

图 2 样品的 TEM 图和对应的粒子粒径分布图 Fig. 2 TEM images of samples and the corresponding diameter distribution

从图 2 所示的 TEM 图 (图 a 和图 b)中可以看出, MnFe₂O₄和 MnFe₂O₄/Ag 均为多孔或空心结构的纳米 微粒。对比图 a 和图 b 可以发现,图 a 中的粒子有部 分的空心结构,在图 b 中没有看到比较明显的空心 结构,但在粒子表面可以看到有粒子包覆。因此,可 认为这是图 b 中的空心结构被负载的实心粒子填充 而未显示出来。

从 $MnFe_2O_4$ 和 $MnFe_2O_4/Ag$ 粒子的粒径分布图中可知,经过负载后的粒子相比负载前的粒子,其粒径明显增大。这说明 $MnFe_2O_4$ 粒子被Ag包裹,即成功制备了 $MnFe_2O_4/Ag$ 复合纳米粒子。

2.2 XRD分析

为了确定复合粒子的晶型结构和组成成分,对 $MnFe_2O_4$ 和 $MnFe_2O_4/Ag$ 纳米微粒进行了XRD测定, 所得结果见图 3。



图 3 $MnFe_2O_4/Ag$ 和 $MnFe_2O_4$ 的 XRD 图谱 Fig. 3 XRD pattern of $MnFe_2O_4/Ag$ and $MnFe_2O_4$ nanoparticles

由图 3 所示 XRD 图谱中,可以观察到尖锐的衍 射峰,这说明各粒子的结晶状态良好。将图中曲线 b的主要衍射峰与 PDF 卡片 74-2403 号一一比对,可 以发现其与标准 MnFe₂O₄ 相近,因而可以证明所得 产物成分主要为 MnFe₂O₄。此外,图中曲线 a 中除了 有 MnFe₂O₄的衍射峰外,还出现了与PDF卡片 89-3722 号相对应的衍射峰,而这正是 Ag 的标准图谱。因而 说明在此样品中,除了 MnFe₂O₄ 外,还有纳米银的存 在,而且由于纳米银附着在 MnFe₂O₄ 粒子的表面,从 而导致了 MnFe₂O₄ 的峰谱减弱。这一结果同样验证 了 MnFe₂O₄/Ag 复合纳米粒子的成功制备。

2.3 磁学性能分析

用 VSM 磁强计检测了 $MnFe_2O_4$ 和 $MnFe_2O_4/Ag$ 样 品的磁饱和强度,并绘制了其磁滞回线,见图 4。





图 4 中,曲线 b 所示磁滞回线是没有经过修饰和 改性的 MnFe₂O₄ 粒子的,它表现出了良好的超顺磁 性,磁饱和强度高达68.51 emu · g⁻¹。图中曲线 a 所示 磁滞回线是经过银包覆的 MnFe₂O₄ 纳米粒子的,其 磁饱和强度为 44.48 emu · g⁻¹。这是由于 Ag 的负载降 低了 $MnFe_2O_4$ 的导磁系数作用,其磁饱和强度比原 始的 $MnFe_2O_4$ 纳米粒子要小,这也从侧面证实了有 Ag 负载在 $MnFe_2O_4$ 纳米粒子表面^[11-12]。

2.4 紫外光谱分析

图 5 所示为 $MnFe_2O_4$ 改性前后以及 $MnFe_2O_4/Ag$ 的紫外 - 可见光谱图。



图 5 MnFe₂O₄ 改性前后和 MnFe₂O₄/Ag 溶液的 紫外-可见吸收光谱图

Fig. 5 UV visible absorption spectra of aqueous solutions of $MnFe_2O_4$, APTES-MnFe_2O₄ and $MnFe_2O_4/Ag$

从图 5 中可以看出,改性前的 $MnFe_2O_4$ 从 300 nm 一直到 600 nm 均没有出现明显的紫外吸收峰(见曲 线 a),而经过 APTES 改性后的 $MnFe_2O_4$ 在相同的波 长范围内同样没有出现紫外吸收峰(见曲线 b)。然 而在 $MnFe_2O_4/Ag$ 的紫外吸收曲线中(见曲线 c),在 401 nm 处出现了一个明显的吸收峰,与纳米银的特 征吸收峰很相近。由此进一步说明 Ag 纳米粒子负载 在 $MnFe_2O_4$ 粒子表面^[13-15]。

2.5 MnFe, O₄/Ag 复合粒子的抑菌性能测定

图 6是 MnFe₂O₄和 MnFe₂O₄/Ag 分别对 *E. coli*和 *S. aureus* 的抑菌圈图。由图 6中的图 a,可测量得 MnFe₂O₄/Ag 对 *E. coli* 的抑菌圈 *R* 值为 1.78 cm;由图 6中的图 b,测得 MnFe₂O₄/Ag 对 *S. aureus* 的抑菌圈 *R* 值为 2.14 cm。而图 6中的图 c和 d中,没有观察到明 显的抑菌圈,这表明原始的 MnFe₂O₄粒子对 *E. coli*和 *S. aureus* 均没有明显的抑制效果。





a) MnFe₂O₄/Ag ^对 E. coli 的抑菌圈

b) MnFe₂O₄/Ag 对 S. Aureus 的抑菌圈





c) MnFe₂O₄ 对 E. coli d) MnFe₂O₄ 对 S. aureus 的抑菌圈 的抑菌圈 图 6 MnFe₂O₄/Ag和 MnFe₂O₄分别对 E. coli和 S. aureus 的抑菌圈图

Fig. 6 Bacteriostatic circle diagram of $MnFe_2O_4/Ag$ and $MnFe_2O_4$ to *E. coli* and *S. aureus*

图 6 所示测试结果表明, $MnFe_2O_4/Ag$ 对 S. aureus 的抑菌性能比对 E. coli 的强,这一结果与一般抗菌 剂的结论一致;而采用本方法制备的空白 $MnFe_2O_4$ 粒 子对这两种菌均没有明显的抑菌作用。

2.6 抑菌持久性检测

将上述 MnFe₂O₄/Ag 抑菌圈测试的平板在 30 ℃恒 温箱中培养 8 d,然后通过观察抑菌圈的大小情况来 判断其抑菌性能的持久性。图 7 所示是培养 8 d 后的 MnFe₂O₄/Ag 抑菌持久性检测结果图。



a) E. coli的抑菌圈

b) S. aureus 的抑菌圈

图 7 MnFe,O₄/Ag抑菌平板培养 8 d 后的抑菌圈图

Fig. 7 Bacteriostatic circle diagram of MnFe₂O₄/Ag after 8 days of antibacterial plate culture

从图 7 可知,抑菌平板培养 8 d后, MnFe₂O₄/Ag 对 *E. coli* 的抑菌圈 *R* 值为 1.73 cm,对 *S. aureus* 的抑 菌圈 *R* 值为 2.08 cm;相较于 8 d前的抑菌圈 (大肠杆 菌和金黄色葡萄球菌的 *R* 值分别为 1.78 cm 和 2.14 cm) 仅有 0.05 ~ 0.06 cm的减小。由此说明, MnFe₂O₄/Ag复 合粒子的稳定性较好,对大肠杆菌和金黄色葡萄球 菌的抑菌性持久有效。

3 结论

本研究用水热法制备了空心结构的 $MnFe_2O_4$ 纳 米粒子,然后在APTES改性的基础上,合成了磁性 空心 $MnFe_2O_4/Ag$ 复合纳米粒子:

1) TEM, VSM, XRD, UV-vis 表征结果证明了

MnFe₃O₄载银的成功;

2) 抑菌圈实验结果表明, $MnFe_2O_4/Ag$ 对 *E. coli* 的抑菌圈 *R* 值为 1.78 cm, 对 *S. aureus* 的抑菌圈 *R* 值 为 2.14 cm; 而本方法制备的空白 $MnFe_2O_4$ 对选用的 2 种菌没有抑菌性能;

3)抑菌性能的持久性检测结果表明,所制备的 磁性 MnFe₂O₄/Ag 复合纳米粒子的稳定性较强,抗菌 性能较持久。

4)所制备的空心磁性载银复合纳米粒子在常温 下具有优良的磁学性能,容易进行磁性分离。因此, 它在水和其他材料的消毒和抑菌方面有潜在的应用 价值。

参考文献:

- Zhou Li, Gao Chao, Xu Weijian. Magnetic Dendritic Materials for Highly Efficient Adsorption of Dyes and Drugs [J]. Applied Materials & Interfaces, 2010, 2(5): 1483–1491.
- [2] Gao Jinhao, Gu Hongwei, Xu Bing. Multifunctional Magnetic Nanoparticles: Design, Synthesis, and Biomedical Applications[J]. Accounts of Chemical Research, 2009, 42 (8): 1097–1107.
- [3] Corr S A, Rakovich Y P, Gun'ko Y K. Multifunctional Magnetic-Fluorescent Nanocomposites for Biomedical Applications[J]. Nanoscale Research Letters, 2008, 3(3): 87-104.
- [4] 吴朝辉,曾 蕾,贺全国,磁性空心纳米粒子的制备及
 其生物医学应用[J],湖南工业大学学报,2010,24(4):
 69-74.

Wu Zhaohui, Zeng Lei, He Quanguo. Magnetic Hollow Nanoparticles Preparation and Its Biomedical Application [J]. Journal of Hunan University of Technology, 2010, 24(4): 69–74.

[5] 章桥新,杨丽宁,张佳明,等.磁性核壳 Fe₃O₄/Ag 纳米
 复合粒子的制备及性能[J]. 硅酸盐学报,2007,35(8):
 987-990.

Zhang Qiaoxin, Yang Lining, Zhang Jiaming, et al. Preparation of Magnetic Core-Shell Fe_3O_4/Ag Nanoparticles and Its Properties[J]. Journal of the Chinese Ceramic Society, 2007, 35(8): 987–990.

- [6] Gong Ping, Li Huimin, He Xiaoxiao, et al. Preparation and Antibacterial Activity of Fe₃O₄@Ag Nanoparticles[J]. Nanotechnology, 2007, 18: 1–7.
- [7] Chudasama B, Vala A K, Andhariya N, et al. Enhanced Antibacterial Activity of Bifunctional Fe₃O₄-Ag Core-Shell Nanostructures[J]. Nano Research, 2009, 2: 955–965.
- [8] He Quanguo, Huang Chunyan, Wu Zhaohui, et al. Hollow Magnetic Ferrites MFe₂O₄ (M=Fe, Mn, Co, Zn) Fabrication and Comparison by Using Double Ammonium Salts Orientation[J]. Nanoscience and Nanotechnology Letters, 2012, 4(6): 585–592.
- [9] He Quanguo, Zeng Lei, Wu Wei, et al. Preparation and Magnetic Comparison of Silane-Functionalized Magnetite Nano-Particles[J]. Sensors and Materials, 2010, 22(6): 285– 291.
- [10] 贺全国,刘 军,黄春艳,等.磁性Fe₃O₄/Ag复合纳米 粒子制备与抗菌性能[J].稀有金属材料与工程,2013 (已接收).

He Quanguo, Liu Jun, Huang Chunyan, et al. Preparation and Antibacterial Activity of Magnetic Fe₃O₄/Ag Composite Nanoparticles[J]. Rare Metal Material and Engineering, 2013 (Accepted).

- [11] Santra S, Tapec R, Theodoropoulou N, et al. Synthesis and Characterization of Silica-Coated Iron Oxide Nanoparticles Inmicroemulsion: The Effect of Nonionic Surfactants[J]. Langmuir, 2001, 17(10): 2900–2906.
- [12] Wang Lingyan, Luo Jin, Fan Quan, et al. Monodispersed Core-Shell Fe₃O₄@Ag Nanoparticles[J]. Journal of Physical Chemistry B, 2005, 109(46): 21593–21601.
- [13] Mandal M, Kundu S, Ghosh S K, et al. Magnetite Nanoparticles with Tunable Gold or Silver Shell[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 2005, 286(1): 187–194.
- [14] Gao Jining, Ren Xiangling, Chen Dong, et al. Bimetallic Ag-Pt Hollow Nanoparticles: Synthesis and Tunable Surface Plasmon Resonance[J]. Scripta Materialia, 2007, 57(8): 687– 690.
- [15] Chen Langxing, Zhao Wenfeng, Jiao Yufen, et al. Characterization of Ag/Pt Core-Shell Nanoparticles by UVvis Absorption, Resonance Light-Scattering Techniques[J]. Spect Acta Part A, 2007, 68(3): 484–490.

(责任编辑:廖友媛)