

石墨烯/银纳米复合材料的制备及其抗菌性能

张丽, 王林, 钱君芝, 陈金周, 牛明军
(郑州大学, 郑州 450000)

摘要: **目的** 研究石墨烯/银纳米粒子(AgNP/G)复合抗菌材料简单快捷的制备方法。**方法** 在碱性环境下采用原位还原法制备 AgNP/G 纳米复合材料。利用 X 射线衍射、红外、紫外和透射电镜等技术对 AgNP/G 复合材料的结构及形貌进行表征, 探讨其形成机理, 并通过平板计数法来观察 AgNP/G 复合材料的抗菌性能。**结果** 所制备的 AgNP/G 复合材料中, 形成的纳米银尺寸较小(15 nm)、粒径均一, 在石墨烯片层上分布均匀。当 AgNP/G 的抗菌质量浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 时, 抗菌率达到 98.7%。**结论** 碱的存在能加速银纳米粒子在石墨烯片层上的形成, 得到的 AgNP/G 复合材料抗菌性能优异。

关键词: 石墨烯/银纳米; 粒径; 抗菌性能

中图分类号: TB484.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2017)13-0036-05

Preparation and Antibacterial Properties of Graphene/Silver Nanocomposites

ZHANG Li, WANG Lin, QIAN Jun-zhi, CHEN Jin-zhou, NIU Ming-jun
(Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China)

ABSTRACT: The work aims to study the simple and quick methods used to prepare graphene/silver nanoparticle (AgNP/G) composite antimicrobial materials. AgNP/G nanocomposite was prepared in the alkaline environment in in-situ reduction method. The structure and morphology of AgNP/G composites were characterized by X-ray diffraction, infrared, ultraviolet and transmission electron microscopy. The formation mechanism of AgNP/G composites was investigated. The antimicrobial properties of AgNP/G composites were observed by plate counting method. In the prepared AgNP/G composite, the nano-silver formed was small in size (15 nm), uniform in particle size, and evenly distributed on the graphene sheet. When the antimicrobial concentration of AgNP/G was 20 $\mu\text{g/mL}$, the antibacterial rate could reach 98.7%. The presence of alkali can accelerate the formation of silver nanoparticles on the graphene sheet, and the prepared AgNP/G composite has excellent antibacterial properties.

KEY WORDS: graphene/silver nanoparticles; particle size; antibacterial properties

抗菌包装材料能够抑制包装内微生物的生长繁殖, 使食品和药品的货架寿命得到明显延长, 提高食品和药品的食用安全性。近年来, 纳米技术的快速发展为抗菌材料的制备提供了新的思路和方向。银纳米粒子由于其巨大比表面积和高反应活性, 表现出显著的抗菌性能^[1]。银纳米颗粒较高的表面能又使其在分散过程中极不稳定, 容易发生团聚, 影响其抗菌性能。具有二维片层结构、含有丰富表面官能团的石墨烯则成为固载银纳米粒子的最佳基底材料之一, 能够使银纳米粒子获得很好的分散性。此外, 石墨烯的尖锐片层边缘和与细胞相近的尺寸也使其具有一定的抗菌

性^[2], 同时, 固载的银纳米颗粒可以有效抑制石墨烯片层之间的堆叠, 从而促进两者间的协同抗菌^{3-4]}。

目前, 石墨烯-银纳米粒子(AgNP/G)的复合一般采用水热^[5]、化学还原^[6]、溶胶-凝胶^[7]以及电化学沉积^[8]等方法制备, 但上述制备方法过程比较复杂, 多数需要有毒的还原剂或者表面活性剂, 而且对负载银纳米粒子的形貌尺寸缺乏控制, 导致纳米银颗粒直径过大, 在石墨烯片层上分布不均匀等问题, 影响其后期的抗菌性能。文中在碱性条件下利用原位还原法直接制备出纳米银尺寸较小、颗粒直径较均一、分布均匀的 AgNP/G 复合材料。

收稿日期: 2017-04-17

基金项目: 国家自然科学基金 (21374106)

作者简介: 张丽 (1971—), 女, 博士, 郑州大学副教授, 主要研究方向为功能材料。

1 实验

1.1 材料

材料与试剂: 氧化石墨烯(GO), 实验室自制^[9]; 氢氧化钠, 分析纯, 西陇化工股份有限公司; 硝酸银, 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 无水乙醇, 分析纯, 天津市光复科技发展有限公司; 大肠杆菌 DH5 α , 郑州大学生物工程系提供; 液体肉汤培养基, 实验室自制; 吐温-80, 细胞培养级, 阿拉丁试剂有限公司。

1.2 石墨烯-银纳米复合材料的制备

首先按照相关文献^[9]的制备方法来制备氧化石墨烯(GO)。取 GO 水分散液 (10 mL, 0.5 g/mL) 逐滴加入 AgNO₃ 溶液 (10 mL, 0.5 g/mL) 中, 用超声进行均匀混合, 加入 NaOH (0.1 mol/L) 调节混合液的 pH 值为 11.7, 在 60 °C 恒温油浴条件下反应 0.5 h。反应结束后, 将混合液在 8000 r/min 高速下离心 0.5 h, 取下层分散液, 分别用乙醇、去离子水离心、重复洗涤 3 次, 得到在水中分散比较稳定的 AgNP/G。此外, 为了研究不同反应条件对产物结构及其性能的影响, 在上述反应基础上分别改变 pH 值、反应温度、反应时间以及反应物投料比来制备不同反应条件下的 AgNP/G。

1.3 抗菌实验

采用大肠杆菌 DH5 α 作为实验菌种, 根据 GB/T 21510—2008 纳米无机材料抗菌性能检测方法, 在检测不同浓度的 AgNP/G 对抗菌性的影响时, 使用平板计数方法进行计数和统计其抗菌率, 整个实验操作过程都是在无菌条件下进行。将 5 μ L 大肠杆菌菌液($10^6 \sim 10^7$ CFU/mL)加入 5 mL 的 AgNP/G 和生理盐水 (质量浓度为 9 g/L 的 NaCl) 混合分散液中 (质量浓度分别为 5, 10, 20 μ g/mL)。对照实验采用的是 GO 分散液或去离子水代替 AgNP/G 分散液, 在 37 °C 恒温摇床上培养 1 d。将上述实验样液稀释后, 用接种环将大肠杆菌分别接种在固体培养基上, 再在 37 °C 恒温箱中培养 2 d 后, 可以观察到每个培养皿中的大肠杆菌菌落的分布密度, 并用平板计数法进行计数, AgNP/G 抗菌率的计算: $R = (B - C) / B \times 100\%$ 。R 为抗菌率(%), B 为对照组在实验结束后实验样品中大肠杆菌的平均存活数 (CFU/mL), C 为在实验结束后实验样品中大肠杆菌的平均存活数 (CFU/mL)^[10]。

1.4 性能分析

1) 紫外吸收(UV-vis)光谱分析。采用 UV-2401PC 紫外-可见分光光度计(Shimadzu, Japan)进行测试。

2) X 射线衍射(XRD)光谱分析。使用 D8 Advamce (Bruker) X-ray diffractometer, 采用 1.5418 Å 发射器 (1 Å=0.1 nm) 获得, 扫描速率为 2(°)/min, 扫描区间为 5° ~ 80°。

3) 傅里叶红外(FIRT)光谱分析。采用 Spectrum GX FTIR system 仪器进行测试。

4) 透射电镜(TEM)分析。采用 FEI 公司生产的 Tecnai G2 F20s-twin 型电子显微镜进行测试。

2 结果与讨论

2.1 UV-vis 谱图分析

在 pH 值不同条件下制备 AgNP/G 的 UV-vis 谱见图 1。图 1 中 400 nm 附近的吸收峰代表纳米银表面等离子吸收, 可以说明制备的复合材料中有银纳米粒子的生成。由图 1a 可以看出, 随着 pH 值的不断增加, AgNP/G 的紫外吸收峰有明显上升的趋势, 这表明在碱性条件下有利于银纳米粒子的生成。当 pH 值为 11.7 时, AgNP/G 的紫外吸收峰最强, 说明大量的银纳米粒子生成并固载在石墨烯上。由图 1b—c 可以看出, 反应温度和反应时间也会影响银纳米粒子的形成及固载, 最佳的反应温度及时间为 60 °C 和 30 min。由图 1d 可知, 随着投料比 (AgNO₃ 与 GO 的质量比) 的增大, 生成并负载在石墨烯上的银纳米粒子也不断增多, 但当投料比大于 1 时, AgNP/G 复合材料在水中的分散性能变差。通过对不同反应条件的综合考察与分析, 当 pH 值为 11.7, 反应温度为 60 °C, 反应时间为 30 min, AgNO₃ 与 GO 质量比为 1 : 1 时制备的 AgNP/G 是最优的。后文对 AgNP/G 的表征如无特殊说明, 均为在优化反应条件下制备。

2.2 XRD 谱图分析

AgNP/G 和 GO 的 XRD 谱图见图 2。其中 AgNP/G 复合材料位于 38.3°, 44.4°, 64.6°, 77.6° 处的衍射峰分别对应于银的面心立方(111), (200), (220), (311) 晶面, 说明制备的复合材料中有银纳米粒子的生成。与 GO 的 XRD 谱图相比, AgNP/G 复合材料中 11.5° 处的衍射峰明显减弱, 而该峰对应于 GO 的(001)晶面, 可以说明在碱性条件下氧化石墨烯被部分还原^[11]。

2.3 FIRT 谱图分析

在不同 pH 条件下制备的 AgNP/G 复合材料的 FIRT 谱图 (样品制备条件同图 1a) 见图 3。GO 的特征吸收峰 3400, 1722, 1615, 1399, 1055 cm⁻¹ 分别对应于 O—H 的伸缩振动峰, C=O 的伸缩振动峰, C=C 的弯曲振动峰, O—H 的弯曲振动峰和环氧 C—O 的伸缩振动峰。在碱性条件下制备 AgNP/G 后, 1722 cm⁻¹ 处的特征峰基本消失, 可能是因为反应初期 COO⁻ 对 Ag⁺ 有较强的吸附定位作用^[12]。随着 pH 值的不断

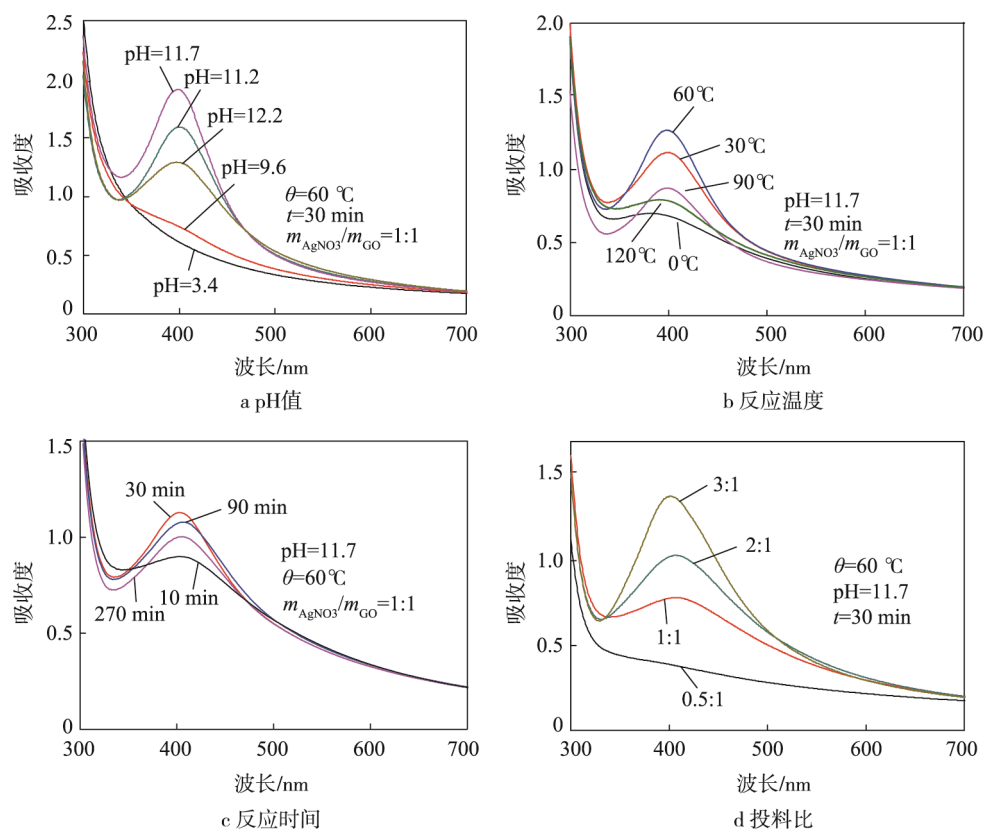
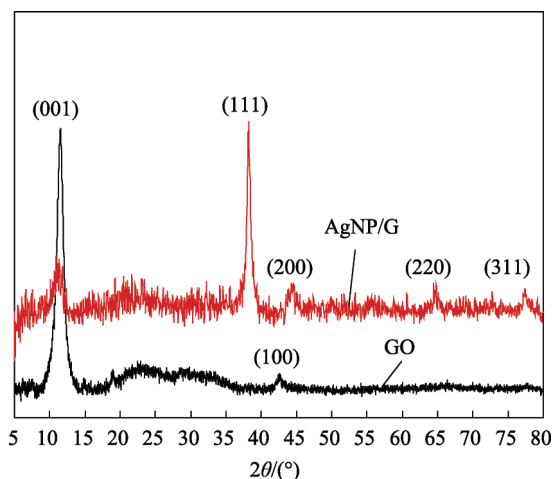
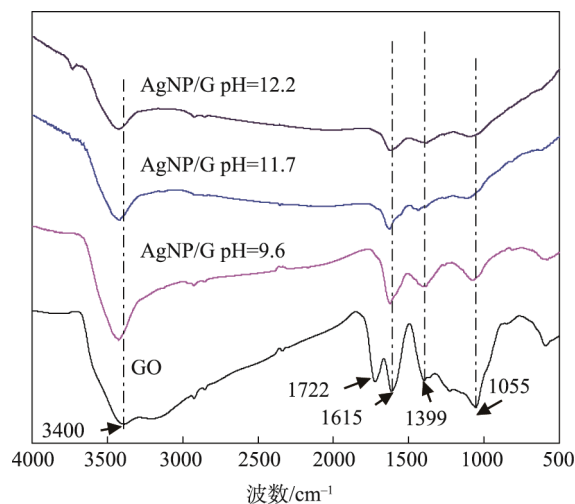


图1 不同反应条件下制备 AgNP/G 的 UV-vis 谱

Fig.1 The UV-vis spectra of AgNP/G prepared under different conditions

图2 AgNP/G 和 GO 的 XRD 图
Fig.2 XRD patterns of AgNP/G and GO

增大, 1055 cm^{-1} 处的振动峰明显减弱, 说明 GO 被部分还原, 且还原程度随着 pH 值的增大而变大。另外, 复合材料在 3400 和 1399 cm^{-1} 处的振动峰也有所减弱, 且发生了位移, 表明 Ag^+ 的还原与 GO 上的羟基有关。根据文献报道, GO 上的酚羟基具有一定的还原性^[13], 而强碱环境可能使 GO 对 Ag^+ 的还原能力得到增强。此外, NaOH 的存在也可能促进 AgOH 中间体的生成, 从而进一步加速 Ag^+ 的还原^[14-15]。

图3 GO 以及不同 pH 值条件下制备 AgNP/G 的 FIRT 图
Fig.3 FTIR of GO and AgNP/G prepared under different pH value

2.4 透射电镜形貌表征

GO 的透射电镜图见图 4a, 可以看到 GO 呈现透明的薄纱状结构且表面有褶皱, 主要是 GO 表面含氧官能团之间相互作用所导致的表面结构特征。优化条件下制备的 AgNP/G 纳米复合材料的电镜图见图 4b, 可以看到 GO 片层上均匀分布的球状银纳米粒子, 纳米粒子的粒径均一, 直径在 15 nm 左右。

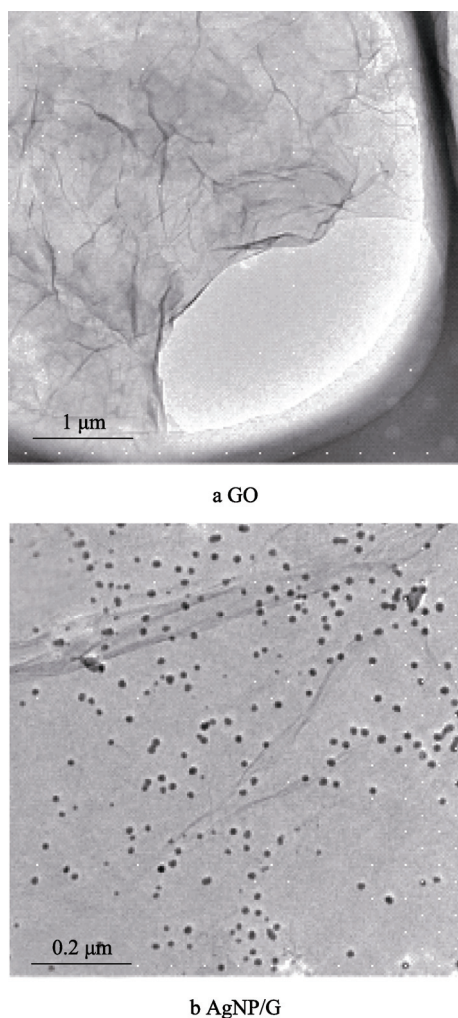


图 4 GO 和 AgNP/G 的 TEM 图像
Fig.4 TEM images of GO and AgNP/G

2.5 抗菌性能

采用平板计数法来检测 AgNP/G 对大肠杆菌的抗菌效果。大肠杆菌在固体培养基上形成的菌落情况和各实验组大肠杆菌的存活率见图 5。可知, 相对于没有抗菌剂的空白实验组(图 5a), GO 对大肠杆菌的生长具有一定的抑制作用(图 5b—d), 当 GO 的质量浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 时, GO 对大肠杆菌的抗菌率仅达到 60.3%。AgNP/G 表现出更加优异的抗菌性能(图 5e—g), 当 AgNP/G 质量浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 时, AgNP/G 对大肠杆菌的抗菌率可达到 98.7%, 由图 5 可明显看出 AgNP/G 具有优异的抗菌效果。研究表明, AgNP/G 纳米复合材料良好的抗菌效果并不是两组分抗菌性能的简单叠加, 而是石墨烯与银纳米粒子之间的协同作用产生的效应^[16—18]。纳米银固载在比表面巨大的石墨烯上, 能够防止银纳米颗粒的团聚, 提高纳米银的抗菌能力; 同时纳米银也可以防止石墨烯片层的堆叠, 充分发挥了石墨烯的抗菌效果。此外, 文中所制备的 AgNP/G 具有稳定的水分散性能, 使得复合石墨烯片层与细菌之间能够充分接触, 增强对细菌的吸附

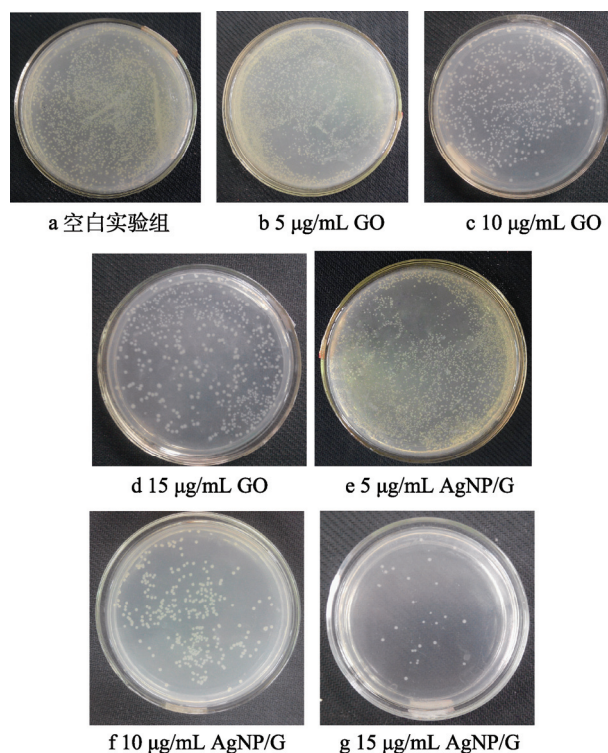


图 5 各实验组大肠杆菌菌落及存活率

Fig.5 The colony formed by escherichia coli of each experimental group and its survival rate

以及和细菌之间的相互作用, 充分发挥石墨烯和纳米银的抗菌功效。

3 结语

1) 在碱性环境中, 利用原位还原法制备了石墨烯-银纳米复合材料(AgNP/G)。该种制备方法简单、快捷, 制备的 AgNP/G 复合材料中纳米银颗粒尺寸较小、粒径均一, 在石墨烯片层上分布均匀, 且能稳定地分散于水相中。

2) 通过考察不同反应条件对 AgNP/G 制备的影响, 最终得到 AgNP/G 纳米复合材料制备的优化条件: pH 值为 11.7, 反应温度为 60 $^{\circ}\text{C}$, 反应时间为 30 min, 投料比为 1 : 1。XRD 和 FTIR 表征结果表明 Ag^+ 还原与 GO 上的羟基有关, 而强碱对 GO 的还原增强了 GO 对 Ag^+ 的还原性, 进一步加速了 Ag^+ 的还原。

3) AgNP/G 对大肠杆菌的生长具有优良的抑制能力。当 AgNP/G 质量浓度为 20 $\mu\text{g/mL}$ 时, 其抗菌率可达到 98.7%。

参考文献:

- [1] 徐维平. 基于银的复合纳米抗菌材料的研究[D]. 合肥: 中国科学技术大学, 2011.
XU Wei-ping. Study on Silver-based Composite Nanometer Antibacterial Materials[D]. Hefei: University

- of Science and Technology, 2011.
- [2] CHAD D V, KATHERINE R Z, SEOKTAE K, et al. Electronic-Structure-Dependent Bacterial Cytotoxicity of Single-Walled Carbon Nanotubes[J]. American Chemical Society Nanomere, 2010, 4(9): 5471—5479.
- [3] 秦静, 姜力文, 杨春苗, 等. 氧化石墨烯纳米银复合材料的制备及其抗菌性[J]. 化学环境, 2016, 35(3): 445—450.
- QIN Jing, JIANG Li-wen, YANG Chun-miao, et al. Preparation and Antimicrobial Properties of Graphene Nano-silver Composite[J]. Chemical Environment, 2016, 35(3): 445—450.
- [4] HE Guang-yu, DAI Wen, ZHAO Yi-tao, et al. A Facile Synthesis of Ag/Graphene-nanosheet Composite with Enhanced Antibacterial Activity and Acceptable Environmental Safety[J]. Monatshefte Fuer Chemie, 2014 (5): 3—10.
- [5] FARNAZ L, ZOHREH S, POORIA M, et al. One-step Hydrothermal Green Synthesis of Silver Nanoparticle-carbon Nanotube Reduced-graphene Oxide Composite and Its Application as Hydrogen Peroxide Sensor[J]. Sensors and Actuators B-Chemical, 2015(8): 389—398.
- [6] YANG Bi-wen, LIU Zhi-ming, GUO Zhou-yi, et al. In Situ Green Synthesis of Silver-graphene Oxide Nanocomposites by Using Tryptophan as a Reducing and Stabilizing Agent and Their Application in SERS [J]. Applied Surface Science, 2014(6): 22—27.
- [7] LU Wen-bo, LUO Yong-lan, CHANG Guo-hui, et al. Synthesis of Functional SiO₂-coated Graphene Oxide Nanosheets Decorated with Ag Nanoparticles for H₂O₂ and Glucose Detection[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2011(6): 4791—4797.
- [8] JIN Shi, CHEN Man, DONG Hai-feng, et al. Stable Silver Nanoclusters Electrochemically Deposited on Nitrogen-doped Graphene as Efficient Electrocatalyst for Oxygen Reduction Reaction[J]. Journal of Power Sources, 2015(4): 1173—1179.
- [9] ZHANG L, LI Y, SHI J, et al. Nonvolatile Rewritable Memory Device Based on Solution-processable Graphene/poly(3-hexylthiophene) Nanocomposite[J]. Material Chemistry and Physics, 2013, 142(2): 626—632.
- [10] GB/T 21510—2008, 纳米无机材料抗菌性能检测方法[S].
- GB/T 21510—2008, Nano-inorganic Materials Antibacterial Properties of Detection Methods[S].
- [11] FAN Xiao-bin, PENG Wen-chao, LI Yang, et al. Deoxygenation of Exfoliated Graphite Oxide under Alkaline Conditions: A Green Route to Graphene Preparation[J]. Advanced Materials, 2008(20): 4490.
- [12] WANG Xian-song, HANG Peng, FENG Li-li, et al. Green Controllable Synthesis of Silver Nanomaterials on Graphene Oxide Sheets via Spontaneous Reduction[J]. RSC Advances, 2012(2): 3816—3822.
- [13] TIAN Jing-qi, LIN Sen, ZHANG Ying-wei, et al. Environmentally Friendly, One-Pot Synthesis of Ag Nanoparticle Decorated Reduced Graphene Oxide Composites and Their Application to Photocurrent Generation[J]. Inorganic Chemistry, 2012(1): 4742—4746.
- [14] WANG X, WU H, KUANG R, et al. Shape-dependent Antibacterial Activities of Ag₂O Polyhedral Particles[J]. Langmuir, 2010, 26(4): 2774—2778.
- [15] NISHIMURE S, MOTT D, TAKAGAKI A, et al. Role of Base in the Formation of Silver Nanoparticles Synthesized Using Sodium Acrylate as a Dual Reducing and Encapsulating Agent[J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2011, 13(20): 9355—9343.
- [16] MA Ji-zhen, ZHANG Jin-tao, XIONG Zhi-gang, et al. Preparation, Characterization and Antibacterial Properties of Silver-modified Graphene Oxide[J]. Journal of Material Chemistry, 2011(21): 3350—3352.
- [17] ANDREIA F D F, DIEGO S T M, OSWALDO L A, et al. Anti-adhesion and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Supported on Graphene Oxide Sheets[J]. Colloid Surface B-Bionterfaces, 2014(3): 115—124.
- [18] MANASH R D, RUPAK K S, RABAH B, et al. The Synthesis of Citrate-modified Silver Nanoparticles in an Aqueous Suspension of Graphene Oxide Nanosheets and their Antibacterial Activity[J]. Colloid Surface B-Bionterfaces, 2013, 105(6): 128—136.