

文章编号: 1674-2869(2016)03-0236-04

氧化锌纳米棒阵列涂层的制备及其抗菌性能研究

张 恋¹, 杨 浩^{2*}

1. 武汉工程大学化学与环境工程学院, 湖北 武汉 430074;

2. 武汉工程大学化工与制药学院, 湖北 武汉 430074

摘 要: 采用水热法在锌片表面成功制备了三种不同长径比的氧化锌纳米棒阵列涂层, 通过X射线粉末衍射, 扫描电子显微镜和接触角测量仪对涂层的组成、形貌和润湿性进行了表征, 研究了涂层对表面黏附的金黄色葡萄球菌的抗菌性能, 并探讨了纳米棒阵列的长径比和表面润湿性对抗菌性能的影响。结果表明, 所制备的氧化锌纳米棒阵列涂层对金黄色葡萄球菌表现出良好的抗菌效果, 随着氧化锌纳米棒的长径比增加, 涂层表面黏附的死细菌逐渐增多, 这可能是由于涂层的亲水性提高而使锌离子在表面扩散速率增加导致的。

关键词: 氧化锌; 涂层; 纳米棒阵列; 抗菌性

中图分类号: TQ132.4; R318.08

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.1674-2869.2016.03.006

Preparation of ZnO Nanorod Array Coating and Its Antibacterial Property

ZHANG Lian, YANG Hao*

1. School of Chemistry and Environmental Engineering, Wuhan 430074, China;

2. School of Chemical Engineering and Pharmacy, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430074, China

Abstract: ZnO nanorod array coatings with three different aspect ratios were prepared on the surface of zinc plate via a hydrothermal method. The structure, morphology and surface wettability of the coatings were characterized by X-ray powder diffraction, scanning electronic microscopy, and optical contact angle meter. The antibacterial property of the ZnO coating against staphylococcus aureus was studied, and the effects of surface wettability and aspect ratio of nanorod on antibacterial properties were also discussed. The results show that the as-prepared ZnO nanorod array coatings have good antibacterial effect against staphylococcus aureus. With the increase of aspect ratio of ZnO nanorod, the amount of the dead bacteria adhered on the coating increases, probably due to the increase of surface diffusion rate of zinc ions caused by enhancement of hydrophilicity.

Keywords: ZnO; coating; nanorod array; antibacterial

1 引 言

近年来随着抗生素的滥用, 导致各种耐药菌和超级细菌的蔓延, 严重威胁着人类的身体健康^[1], 因此各种抗菌材料(也称抗菌剂)成为人们研究的重点。其中, 无机抗菌剂由于其优良的安全性、耐

久性、缓释性和化学稳定性, 特别是无机抗菌剂不易使细菌产生耐药性, 成为未来抗生素最有潜力的代替品^[2]。常见的无机抗菌剂包括纳米银、二氧化钛和氧化锌。其中纳米银的抗菌作用报道最多^[3], 但关于纳米银的细胞毒性问题使其在规模化生产和应用受到限制; 二氧化钛是一种优良的无机半

收稿日期: 2016-04-07

基金项目: 国家自然科学基金(21201135)

作者简介: 张 恋, 硕士研究生。E-mail: yxy.zl@foxmail.com

*通讯作者: 杨 浩, 博士, 副教授。E-mail: hyang@wit.edu.cn

导体,在紫外光照射下表现出很强的抗菌效果,但在无光照的条件下抗菌活性受到抑制^[4];氧化锌具有良好的生物相容性和低的细胞毒性,已在精细化学品和医用方面广泛应用.作为一种新型的无机抗菌剂,氧化锌具有抗菌持久、安全稳定和耐高温等优点^[5-6].与二氧化钛相比,氧化锌在无光照条件下仍然具有较好的抗菌作用,因此氧化锌相比其他的抗菌剂具有更好的应用前景.将氧化锌制成涂层,研究该涂层表面对细菌的抑制作用,对未来开发功能性抗菌涂层具有重要的意义.一方面,氧化锌的抗菌活性与其形貌和尺寸有关,不同形貌下的氧化锌在抗菌活性上表现出较大的差异^[7-8].另一方面,细菌会在一些特定形貌和润湿性的涂层表面具有较低的粘附特性,如纳米棒阵列涂层^[9-10],这些性质也会最终影响涂层表面粘附的细菌数量.因此,本论文通过合成不同长径比的氧化锌纳米棒阵列,研究不同形貌的氧化锌涂层对表面粘附细菌的抑制作用,最终为设计和开发新型的氧化锌防污涂层提供有力的数据支撑.

2 实验部分

2.1 实验试剂

锌片(厚度为0.15 mm)、二水合醋酸锌、无水乙醇和无水甲醇,均购自国药集团化学试剂有限公司;氢氧化钠购于天津市大陆化学试剂厂.以上试剂均为分析纯.

2.2 实验方法

2.2.1 氧化锌纳米棒阵列涂层的制备 不同长径比的氧化锌纳米棒阵列涂层参照文献^[11]的合成方法,制备过程如下:分别称取0.109 8 g二水合醋酸锌和0.2 g氢氧化钠,将它们分别溶于无水乙醇中,配制得到0.1 mol/L醋酸锌乙醇溶液和0.5 mol/L的氢氧化钠乙醇溶液,将两者分别超声10 min后混合,得到澄清均匀的溶液,再转移到容量为20 mL的聚四氟乙烯反应釜中,投入清洗干净的锌片后,然后置于150 ℃烘箱中反应24 h.反应结束后,取出锌片,用去离子水冲洗、干燥后得到样品S1.其他条件不变,当把二水合醋酸锌溶于无水甲醇,氢氧化钠溶于无水乙醇中,得到样品S2;当把二水合醋酸锌和氢氧化钠均溶于无水甲醇中,得到样品S3.

2.2.2 抗菌实验 将革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌(*S. aureus*, CCTCC AB 9993)接种到琼脂培养基

上,37 ℃恒温条件下培养24 h后,用接种环挑取琼脂板上的单菌落,置于PBS(pH为7.4)溶液中震荡使其分散均匀,然后用PBS溶液稀释菌液使其吸光值 $OD_{600} = 0.12$,通过平板计数法可知,此时对应的菌液浓度约为 10^8 CFU mL⁻¹,再用PBS溶液稀释5倍,使其细菌浓度约为 2×10^7 CFU mL⁻¹.

将空白锌片和不同长径比的氧化锌纳米棒阵列涂层置于六孔板中,完全浸没在5 mL的金黄色葡萄球菌的菌液中,浸泡时间为12 h.浸泡结束后,取出样品用PBS溶液冲洗2~3遍,再滴加2滴Live/Dead细胞活性荧光试剂(Invitrogen, Molecular Probes, USA),置于4 ℃下暗室存放15 min,取出后再次用PBS溶液冲洗2次,然后置于常温下自然干燥.使用Leica DMI 3000B型荧光显微镜($\lambda_{ex} = 450 \sim 490$ nm/ $\lambda_{em} = 515$ nm)观察涂层表面粘附的金黄色葡萄球菌,绿色表示活细菌,红色表示死细菌,荧光图像均是在200×拍摄的,每个样品至少拍摄5个不同的点,图像的荧光强度由图像分析软件Image-Pro Plus进行定量分析.

2.2.3 ZnO涂层的表征 采用德国布鲁克公司D8型XRD测量仪(Cu K α = 0.154 06 nm)对氧化锌涂层的化学成分进行分析,扫描范围为10°到80°,扫描速率为2 (°)/min.采用日本Hitachi公司S4800型扫描电子显微镜对氧化锌涂层的表面形貌和尺寸大小进行观察,加速电压为3 kV.采用德国Data-physic的OCA 20型接触角测量仪,水滴的体积3 mL,在样品上面至少停留10 s以达到稳定状态,再测量样品的静态水接触角,实验结果为5次实验的平均值.

3 结果与讨论

3.1 氧化锌涂层的表征

3.1.1 氧化锌涂层的组成 通过X射线粉末衍射(XRD)对水热法制备的氧化锌(ZnO)涂层成分进行了分析,如图1所示,将样品S1与氧化锌标准谱图JCPDS 75~576以及锌的标准谱图JCPDS 87~713进行对照,并用不同的符号对样品出现的峰进行标记,其中符号○代表锌的衍射峰,符号◇代表ZnO的衍射峰.结果表明,样品S1出现了底材锌片的衍射峰和ZnO的特征衍射峰,且没有其他杂峰出现,说明所制备的样品S1在锌片上得到了结晶性较好,纯度较高的ZnO.

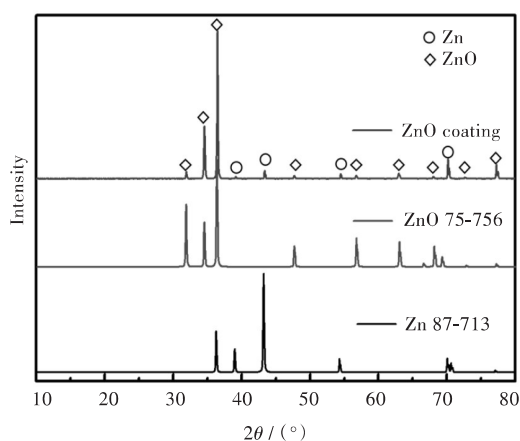


图1 水热法制备的ZnO涂层S1的XRD图谱
Fig. 1 XRD patterns of ZnO coating (S1) prepared by hydrothermal method

3.1.2 氧化锌涂层的形貌 图2分别是样品S1、S2和S3的SEM图,从图中可知,3个样品表面都分布了大量致密的阵列纳米棒结构,形貌较为均一。从图2(a),(b)可以看出,样品S1的纳米棒短而粗,直径在50~100 nm,长径比约为4:1;从图2(c),(d)可以看到,样品S2的纳米棒直径和S1差别不大,但是纳米棒的长径比相对S1较大,约为7:1;从图2(e),(f)可以看到,样品S3的纳米棒细而长,直径在30~50 nm,长径比大于10:1。上述结果说明,所制备的样品S1、S2和S3的纳米棒长径比是逐渐增加的。

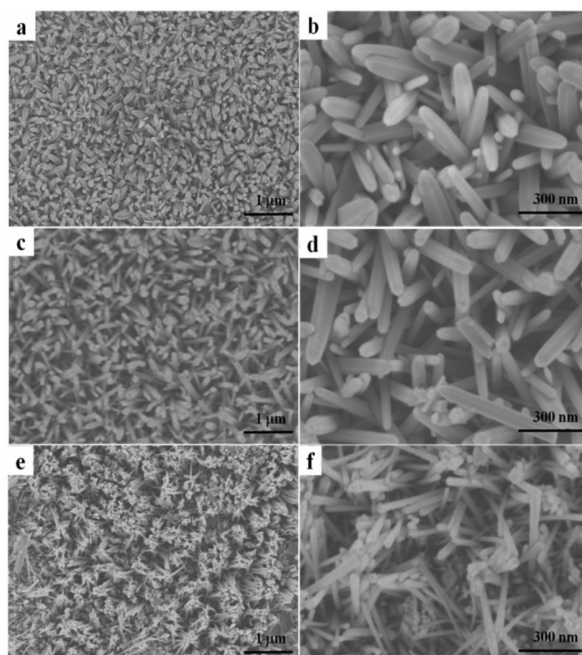


图2 氧化锌涂层
(a,b) S1,(c,d) S2,(e,f) S3的SEM图
Fig. 2 SEM images of the ZnO coatings
(a and b) S1; (c and d) S2; (e and f) S3

3.1.3 氧化锌涂层的润湿性 图3是空白锌片和氧化锌涂层的静态水接触角,从图中可以看出,空白锌片的静态水接触角较大,达到了102.3°,为疏水表面,而样品S1、S2和S3的水接触角分别为10.1°、8.2°和6.9°,为超亲水表面。随着氧化锌纳米棒的长径比增大,涂层表面的静态水接触角逐渐减小。由此可见,纳米棒的长径比会改变涂层表面的润湿性,长径比越大,亲水性越强,这一结果与前人报道是一致的^[12]。

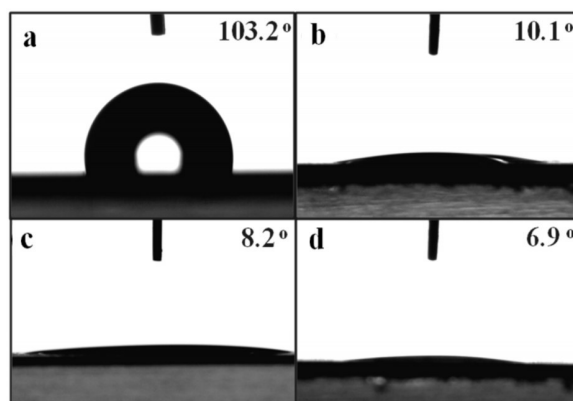


图3 静态水接触角
(a) 空白锌片;(b) S1;(c) S2;(d) S3
Fig. 3 Static water contact angles of the samples
(a) Zn; (b) S1; (c) S2; (d) S3

3.2 氧化锌涂层的抗菌性能研究

当样品在金黄色葡萄球菌菌液中的浸泡12 h以后,如图4所示,空白锌片上面粘附了大量的活细菌,而氧化锌纳米棒阵列涂层表面则出现了明显的死细菌,说明氧化锌涂层表现出较好的杀菌性能。比较样品S1、S2和S3的荧光图,随着纳米棒的长径比增加,涂层表面的死细菌逐渐增多,通过荧光强度统计结果(图5)进一步发现,氧化锌涂层表面的活细菌数量 $S1 > S2 > S3$,而死细菌数量 $S1 < S2 < S3$ 。分析其中可能的原因是,当样品在菌液中浸泡时,氧化锌会缓慢释放出锌离子,通过锌离子对细菌作用从而破坏细胞导致细菌死亡。当纳米棒的长径比增加时,其亲水性增强导致锌离子更容易在表面扩散,同时纳米棒直径减小也有利于加快锌离子的释放速度,最终使得样品的抗菌活性提高。

4 结 语

通过水热法在锌片表面成功制备了3种不同长径比的氧化锌纳米棒阵列涂层,实验结果表明,氧化锌纳米棒阵列涂层表现出优异的亲水性,并且对金黄色葡萄球菌具有较好的抗菌效果。随着

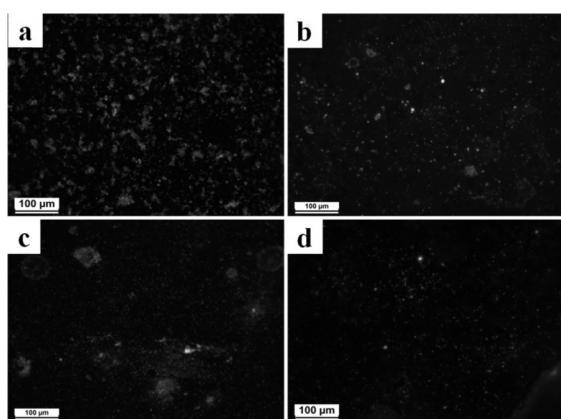


图4 样品浸泡12 h后粘附的 *S. aureus* 的荧光图

(a) 空白锌片;(b) S1;(c) S2;(d) S3

Fig. 4 Fluorescence graphs of (a) Zn, (b) S1, (c) S2 and (d) S3 immersed in *S. aureus* culture for 12 h

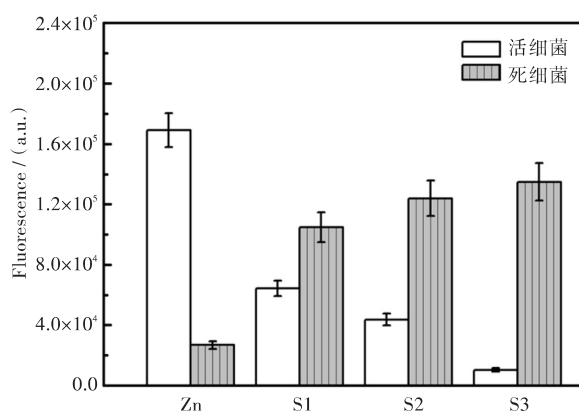


图5 空白锌片和样品S1、S2、S3上粘附的 *S. aureus* 荧光强度统计图

Fig. 5 Fluorescence intensities of *S. aureus* adhered on Zn, S1, S2 and S3, respectively

氧化锌纳米棒的长径比逐渐增加,涂层表面的亲水性增强,对金黄色葡萄球菌的杀菌作用也逐渐增强.这一结果为今后设计氧化锌抗菌涂层提供了理论依据和数据支撑.

参考文献:

- [1] COLLIGNON P. Superbugs in food: a severe public health concern[J]. Lancet infectious diseases, 2013, 13(8): 641-643.
- [2] HAJIPOUR M J, FROMM K M, ASHKARRAN A A, et al. Antibacterial properties of nanoparticles [J]. Trends in biotechnology, 2012, 30(10): 499-511.
- [3] 陈嵘, 荣凯峰, 吕中, 等. 纳米银的制备及其生物活性研究进展[J]. 武汉工程大学学报, 2010, 32(11): 1-7, 14.
- CHEN R, RONG K F, LYU Z, et al. Research progress on the synthesis and biological activities of silver nanoparticles[J]. Journal of Wuhan institute of technology, 2010, 32(11): 1-7, 14.
- [4] ETACHERI V, DI VALENTIN C, SCHNEIDER J, et al. Visible-light activation of TiO₂ photocatalysts: advances in theory and experiments[J]. Journal of photochemistry and photobiology C-photochemistry reviews, 2015, 25: 1-29.
- [5] XU X L, CHEN D, YI Z G, et al. Antimicrobial mechanism based on H₂O₂ generation at oxygen vacancies in ZnO crystals[J]. Langmuir, 2013, 29(18): 5573-5580.
- [6] KUMAR R, ANANDAN S, HEMBRAM K, et al. Efficient ZnO-based visible-light-driven photocatalyst for antibacterial applications [J]. Acs applied materials & interfaces, 2014, 6(15): 13138-13148.
- [7] STANKOVIC A, DIMITRIJEVIC S, USKOKOVIC D. Influence of size scale and morphology on antibacterial properties of ZnO powders hydrothermally synthesized using different surface stabilizing agents [J]. Colloids and surfaces B-biointerfaces, 2013, 102: 21-28.
- [8] RAGHUPATHI K R, KODALI R T, MANNA A C. Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles [J]. Langmuir, 2011, 27(7): 4020-4028.
- [9] PARK J, BAUER S, VON DER MARK K, et al. Nano-size and vitality: TiO₂ nanotube diameter directs cell fate[J]. Nano letters, 2007, 7(6): 1686-1691.
- [10] RANELLA A, BARBEROGLOU M, BAKOGIANNI S, et al. Tuning cell adhesion by controlling the roughness and wettability of 3D micro/nano silicon structures [J]. Acta biomaterialia, 2010, 6(7): 2711-2720.
- [11] CHENG B, SAMULSKI E T. Hydrothermal synthesis of one-dimensional ZnO nanostructures with different aspect ratios [J]. Chemical communications, 2004 (8): 986-987.
- [12] LAURENTI M, CAUDA V, GAZIA R, et al. Wettability control on ZnO nanowires driven by seed layer properties [J]. European journal of inorganic chemistry, 2013, 14: 2520-2527.

本文编辑:张 瑞