

文章编号:1008-1542(2012)02-0107-06

# P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶的制备及 抗菌活性研究

张立锁<sup>1</sup>, 安 静<sup>2</sup>, 罗青枝<sup>2</sup>, 王少鹏<sup>1</sup>, 王德松<sup>1,2</sup>

(1. 河北科技大学化学与制药工程学院, 河北石家庄 050018; 2. 河北科技大学理学院, 河北石家庄 050018)

**摘 要:**以硝酸银为前驱体, 聚合物 P(AA-co-HEA) 为还原剂和稳定剂, 采用液相化学还原法, 制备了一系列分散性良好、尺寸可控、粒度分布均匀的纳米银。考察了聚合物的中和度、反应温度、P(AA-co-HEA) 的化学组成及含量对纳米银粒子尺寸的影响; 用透射电子显微镜(TEM)、傅里叶变换红外光谱仪(FTIR) 等对纳米银复合溶胶的形态和组成进行了分析表征。抗菌测试结果表明, 复合溶胶对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都具有较高的抑菌活性。

**关键词:**纳米银; 聚合物; 复合溶胶; 表征; 抑菌活性

中图分类号: O632.5 文献标志码: A

## Preparation of P(AA-co-HEA)/Ag nanocomposite sol and its antibacterial activity

ZHANG Li-suo<sup>1</sup>, AN Jing<sup>2</sup>, LUO Qing-zhi<sup>2</sup>, WANG Shao-peng<sup>1</sup>, WANG De-song<sup>1,2</sup>

(1. College of Chemical and Pharmaceutical Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China; 2. College of Sciences, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018, China)

**Abstract:** A series of silver nanoparticles with good dispersion, controllable size and uniform size distribution were prepared by liquid phase reduction method with silver nitrate as precursor and P(AA-co-HEA) prepared in our laboratory as the stabilizing agent and reducing agent, respectively. The effects of neutralization degree of the copolymer, reaction temperature, composition and content of P(AA-co-HEA) on sizes of silver nanoparticles were investigated. The chemical composition and morphological structure of P(AA-co-HEA)/Ag nanocomposite sol were characterized by fourier transform infrared spectrometer (FT-IR), transmission electron microscope (TEM), and so on. The antibacterial experiments show that the as-prepared nanocomposite sol has excellent antibacterial activities both to *Escherichia coli* and *Staphylococci aureus*.

**Key words:** silver nanoparticles; polymer; nanocomposite sol; characterization; antibacterial activity

银具有高效、持久、安全、广谱等特点, 是最常见的无机抗菌剂<sup>[1-2]</sup>。纳米银具有量子效应和小尺寸效应, 其抗菌活性明显高于大尺寸的银粒子。纳米银粒子的合成方法很多, 主要包括微乳液法、沉淀法、离子液体法、溶胶凝胶法、化学还原法、超声波法等<sup>[3-11]</sup>, 其中化学还原法是近几年制备纳米银的常用方法。YU 等在水溶液中以溴化十六烷基三甲铵(CTAB)为稳定剂, 采用甲醛还原硝酸银制备了形态可控的纳米银片<sup>[12]</sup>。KHAN 等以 *N*-异丙基丙烯酰胺和丙烯酸共聚物为稳定剂, 在微波辅助下以葡萄糖还原硝酸银制备了具有

收稿日期: 2011-11-21; 责任编辑: 张士莹

作者简介: 张立锁(1985-), 男, 河北石家庄人, 硕士研究生, 主要从事纳米复合材料方面的研究。

通讯作者: 王德松教授。E-mail: dswang06@126.com

良好稳定性的纳米银微溶胶<sup>[13]</sup>。WEI等以聚乙烯吡咯烷酮(PVP)为稳定剂,在液相中用磷酸三丁酯(TBP)还原硝酸银制备了疏水性的纳米银溶胶,然后用相转移法在疏水纳米银溶胶中加入蒸馏水并搅拌,制备了具有良好稳定性和分散性的亲水纳米银溶胶<sup>[14]</sup>。SATHISHKUMAR等以姜黄块茎的汁和粉末作为还原剂,在水溶液中还原硝酸银,制备出粒度小、粒径分布均匀且具有良好的抗菌性能的纳米银<sup>[15]</sup>。

将纳米银分散于聚合物中制备聚合物基抗菌复合材料,具有成本低、应用范围广、绿色无毒等优点<sup>[3]</sup>,其广泛应用于医疗器械、纺织用品、涂料等许多领域,目前已成为极为重要的抗菌材料之一。但是,由于极高的比表面能,纳米银极易聚集成团,很难以纳米尺寸均匀分散于聚合物基体中,从而限制了其抗菌性能的充分发挥。因此,有效提高纳米银在聚合物基体中的分散性,是目前聚合物/银纳米复合材料的研究热点。

丙烯酸和丙烯酸羟乙酯的共聚物(P(AA-co-HEA))含有丰富的羟基(-OH),可以在水溶液中将银离子( $Ag^+$ )原位还原为银。由于共聚物中同时含有羟基和羧基,可发生酯化反应而形成不溶的空间网络结构,因此含有纳米银的P(AA-co-HEA)可作为抗菌材料基材,应用于表面抗菌领域。笔者采用溶液聚合法制备P(AA-co-HEA),并应用液相化学还原法还原硝酸银,制备出一系列分散性良好、粒径可控的纳米银,考察了P(AA-co-HEA)/Ag纳米复合溶胶的抗菌性能。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂及仪器

硝酸银:分析纯,上海精细化工材料研究所提供;氢氧化钠:分析纯,天津市标准科技有限公司提供;聚丙烯酸和丙烯酸羟乙酯的共聚物(P(AA-co-HEA)):自制;无糖营养肉汤:北京陆桥技术有限责任公司提供;营养琼脂:北京奥博星生物技术有限责任公司提供;大肠杆菌(*Escherichia coli*):ATCC 44725;金黄色葡萄球菌(*Staphylococci aureus*):ATCC 26003。

场发射透射电子显微镜(G2F20型,荷兰Tecnai公司提供);粒度分布仪(ZEN2600型,美国Malvern公司提供);傅里叶变换红外光谱仪(Prestige-21型,日本Shimadzu公司提供);高压蒸汽灭菌器(YXQG02型电热式,山东新华医疗器械股份有限公司提供);回转式恒温调速摇瓶柜(YPW-I型,上海通特电讯设备厂提供);电热式恒温培养箱(HHB11-600型,天津市华北实验仪器有限公司提供);分光光度计(752型,上海光谱仪器有限公司提供)。

在场发射透射电子显微镜下观察复合溶胶中银粒子的形貌及分散情况,并用粒度分布仪测定复合溶胶中银粒子的粒径。将提纯处理后的复合粒子粉末与KBr干粉混合后进行研磨,然后压制成透明的薄片,用傅里叶变换红外光谱仪测定复合物样品及参照样品的红外光谱。

用高压蒸汽灭菌器对抗菌实验中所用的器皿及培养基进行灭菌,在回转式恒温调速摇瓶柜中进行接种后液体培养基的培养,在电热式恒温培养箱中进行接种后固体培养基的培养,用分光光度计对菌液进行吸光度的测量。

### 1.2 P(AA-co-HEA)/Ag纳米复合溶胶的制备

取25 mL质量分数为20%的P(AA-co-HEA)水溶液,在搅拌条件下加入设计量的质量分数为5.0%的NaOH溶液,中和共聚物中的丙烯酸单元,中和度分别为20%,40%,60%,80%和100%;然后,各自加入40 g质量分数为1.25%的硝酸银溶液,并补加去离子水,使样品质量均为100 g。将以上样品置于20℃下进行氧化还原反应1周,制备P(AA-co-HEA)/Ag纳米复合溶胶。

采用丙烯酸单元中和度为60%的P(AA-co-HEA),在不同反应温度(20,30,40,50,60℃)、不同共聚物化学组成(共聚物分子中 $m(\text{HEA}) : m(\text{AA})$ 为2:8,3:7,4:6,5:5,6:4)、不同共聚物浓度(10%,15%,20%,25%,30%,皆为质量分数)条件下制备纳米银复合溶胶。

### 1.3 P(AA-co-HEA)/Ag纳米复合溶胶的抑菌性能测试

以常温下中和度为60%时制备的样品为抑菌剂,分别进行革兰氏阴性菌(大肠杆菌)和革兰氏阳性菌(金黄色葡萄球菌)的抑菌性能测试。首先,在3个盛有98 mL无糖营养肉汤培养基的锥形瓶中分别加入稀释10倍的样品、不含银的共聚物以及无菌水各1 mL,摇匀后均加入1 mL培养24 h的大肠杆菌原液,在回转式恒温调速柜中进行培养。以加入无菌水的一组作为对照品,用分光光度计在460 nm波长下测定各组菌液在4,6,8,10,12,14 h的吸光度,并计算抑菌率。用相同的方法测试金黄色葡萄球菌的抑菌性能。

抑菌率的计算公式如下：
$$\text{抑菌率} = (A - B) / A \times 100\%$$

式中： $A$  为对照样品的吸光度； $B$  为相应样品的吸光度。

在培养皿中分别接入稀释 100 倍的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌原液，用稀释 10 倍的样品作为抗菌圈，培养 24 h，观察其抑菌性能。

## 2 结果与讨论

### 2.1 反应条件对纳米复合溶胶中银粒子粒径的影响

图 1 为共聚物中丙烯酸单元的中和度对 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶的外观状态及溶胶中纳米银粒径大小的影响结果。

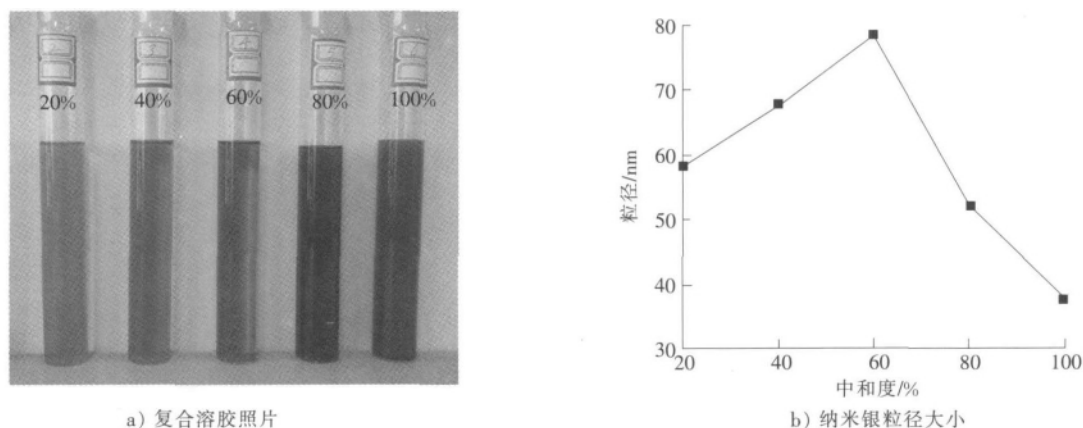


图 1 不同中和度下 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶照片及溶胶中纳米银粒径大小

Fig. 1 Picture of P(AA-co-HEA)/Ag nanocomposite sol at different neutralization degrees and the corresponding sizes of Ag nanoparticles

从图 1 a)可知，随着反应体系中共聚物丙烯酸单元中和度的提高，复合溶胶颜色逐渐变深（由金黄色逐渐变为深褐色）。图 1 b)显示，所制备的溶胶中纳米银粒径为 30~80 nm，银粒子的粒径随着共聚物中和度的增大先增大后减小。这一实验结果表明，纳米银粒径的变化与共聚物中丙烯酸单元中和度紧密相关。在 P(AA-co-HEA)水溶液中加入硝酸银稀溶液后， $\text{Ag}^+$  需扩散到聚合物分子链上的羟基位置才能被还原为银原子，因此  $\text{Ag}^+$  扩散速度及其在聚合物分子链周围的浓度影响着其还原速率及纳米银粒子的生成及长大过程。在较低中和度范围内(20%~60%)，随着共聚物中和度的提高，共聚物分子链中羧酸根离子( $-\text{COO}^-$ )含量增多，使聚合物分子链更加舒展，有利于  $\text{Ag}^+$  向羟基的扩散；同时羧酸根离子的静电引力作用也有利于  $\text{Ag}^+$  向共聚物链靠拢，使扩散速度增加，有利于  $\text{Ag}^+$  的还原反应，但产生的银原子浓度不足以成核，而更容易在纳米银粒子表面沉积生长，因而其粒径逐渐增大。随着共聚物中和度进一步提高至一定范围(60%~100%)时，由于羧酸根离子的静电排斥作用，使得共聚物分子链逐渐趋向于伸展状态，同时中和过程引入反应体系的电解质离子的增加也促使  $\text{Ag}^+$  在共聚物分子链周围的浓度增大， $\text{Ag}^+$  向聚合物分子链的扩散不再是  $\text{Ag}^+$  还原反应的制约因素， $\text{Ag}^+$  与羟基的快速还原反应可造成银原子局部浓度增大而聚集形成新的银粒子。在反应体系银的物质的量确定的条件下，形成的银粒子数目越多，银粒子粒径必然越小。因此银粒子的粒径随着共聚物中和度的增大呈现出先增大后减小的结果。

图 2 显示了共聚物中和度为 60%、共聚物质量分数为 25%时制备的纳米银粒径大小随制备反应温度的变化情况。由图 2 可知，在温度为 20~60 °C 时，纳米银粒径由 79 nm 逐渐增至 221 nm。这是因为反应温度的提高加快了  $\text{Ag}^+$  向聚合物分子链的扩散速度，增大了羟基还原  $\text{Ag}^+$  的反应速率，使局部  $\text{Ag}^0$  浓度增大，更有利于银晶粒的生长，增大其晶粒尺寸。

图 3 为 20 °C 下、共聚物中和度为 60%、共聚物质量分数为 25%时共聚物分子链中 HEA 单元和 AA 单元的质量比对溶胶中纳米银粒径尺寸的影响。从图 3 可以看出，随着 HEA 单元质量的增加，样品中纳米银的粒径由 119 nm 逐渐减小至 43 nm。这是因为随着 HEA 单元质量的增多，共聚物分子链上羟基数目增多，

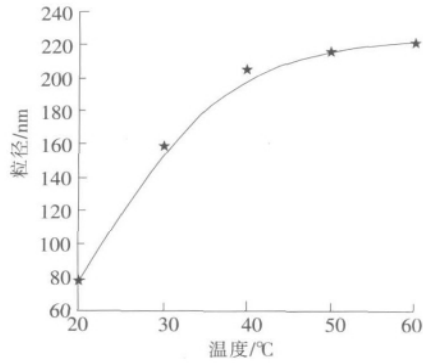


图2 反应温度对纳米银粒径大小的影响

Fig. 2 Effect of reaction temperature on sizes of Ag nanoparticles

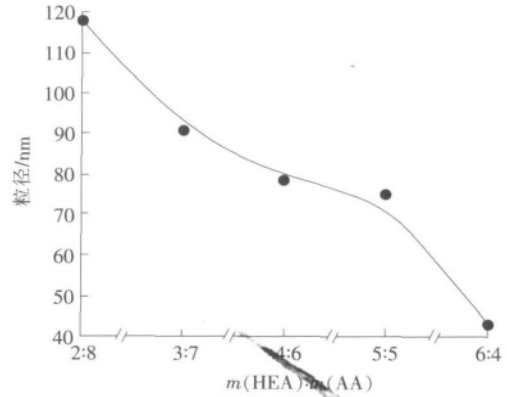


图3 HEA和AA质量比对纳米银粒径大小的影响

Fig. 3 Effect of molar ratio of HEA and AA on sizes of Ag nanoparticles

还原  $Ag^+$  的反应点位增多,使纳米银粒子成核几率增大,形成更多的纳米银粒子。同时共聚物中 AA 单元质量减少,相同中和度时羧酸根离子浓度降低,对  $Ag^+$  的静电吸引力减小,  $Ag^+$  向共聚物分子链扩散的能力减小,  $Ag^+$  的局部浓度降低,不利于银晶粒的生长反应。因此,随着共聚物中 HEA 单元质量的增多,所形成的纳米银尺寸减小。

图4是常温下、中和度为60%时纳米银粒径随体系中 P(AA-co-HEA) 水溶液质量分数的变化趋势。由图4可知,聚合物质量分数由10%增加到30%时,纳米银粒径由151 nm 逐渐减小至59 nm。这是因为随着聚合物质量分数的增加,羟基在反应体系的分布密度增大,使  $Ag^+$  与羟基反应还原生成银粒子的几率增加,同时聚合物质量分数的增加使聚合物对纳米银粒子的包裹作用增强,聚合物的空间位阻效应阻隔了纳米银粒子的团聚和增大。

### 2.2 TEM 分析

图5为常温下、中和度为60%、聚合物质量分数为25%时的复合溶胶中纳米银粒子的TEM图。由图5可知,所制备的纳米银粒子呈椭球形,粒径为40~60 nm。粒子没有大规模的团聚现象,分散性良好,尺寸均匀。这表明在聚合物溶胶体系中合成出的纳米银粒子未发生大规模团聚。由于反应过程中没有其他试剂的

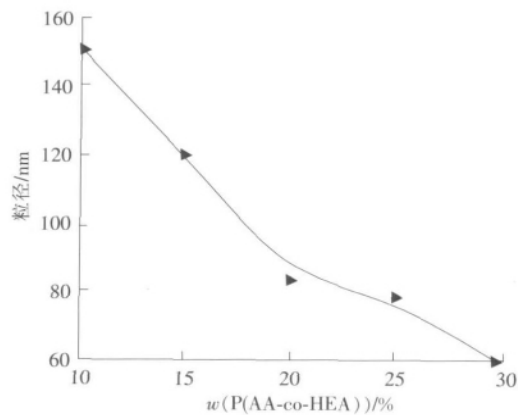


图4 P(AA-co-HEA)水溶液质量分数对纳米银粒径大小的影响

Fig. 4 Effect of P(AA-co-HEA) concentrations on sizes of Ag nanoparticles

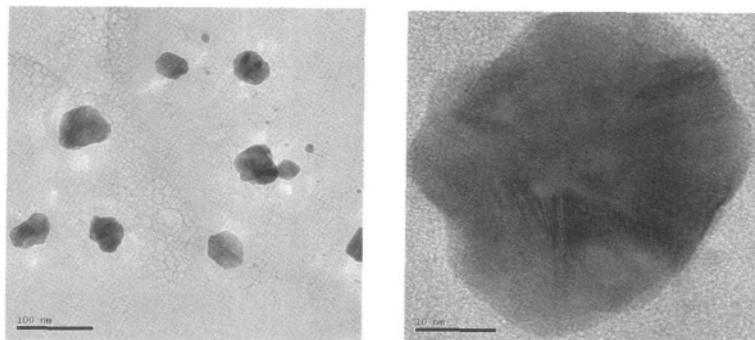


图5 纳米银粒子的TEM图

Fig. 5 TEM micrograph of Ag nanoparticles

加入,因此,共聚物 P(AA-co-HEA)分子作为纳米粒子保护剂,对控制纳米粒子的尺寸和形状起着十分重要的作用。

### 2.3 红外光谱(FTIR)分析

图6为纳米银, P(AA-co-HEA)共聚物和 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶的红外光谱图。在 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶的谱图中,  $3\ 444\ \text{cm}^{-1}$  处和  $1\ 730\ \text{cm}^{-1}$  处分别为聚合物中  $-\text{OH}$  和  $-\text{C}=\text{O}$  的伸缩振动吸收峰;  $2\ 900 \sim 3\ 000\ \text{cm}^{-1}$  处为  $-\text{CH}_3$  和  $-\text{CH}_2-$  中  $\text{C}-\text{H}$  键的对称和不对称伸缩振动吸收峰;  $1\ 570\ \text{cm}^{-1}$  和  $1\ 402\ \text{cm}^{-1}$  处为纳米银的特征吸收峰。这说明该样品为纳米银和聚合物的复合物,纳米银镶嵌在 P(AA-co-HEA)共聚物中,从而阻止了纳米银粒子的团聚。

### 2.4 抗菌性能分析

图7为不同浓度的 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶分别对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抗菌效果图。结果显示,2种细菌在抗菌圈外生长良好,在抗菌圈内几乎没有细菌,该复合溶胶对2种细菌抑菌效果明显,并且抑菌剂浓度越高,抑菌效果越显著。

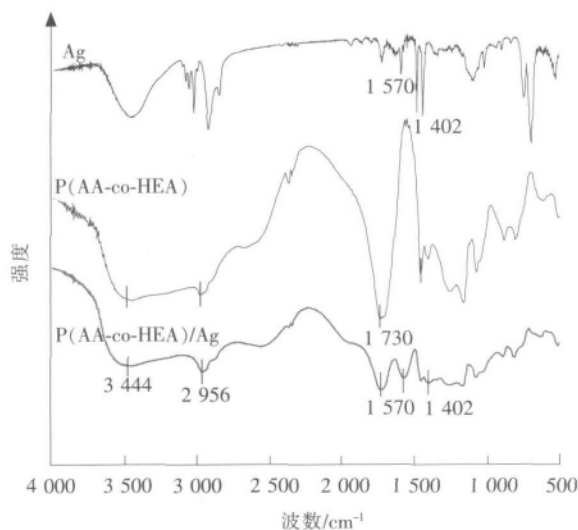


图6 FTIR图

Fig. 6 FTIR spectra

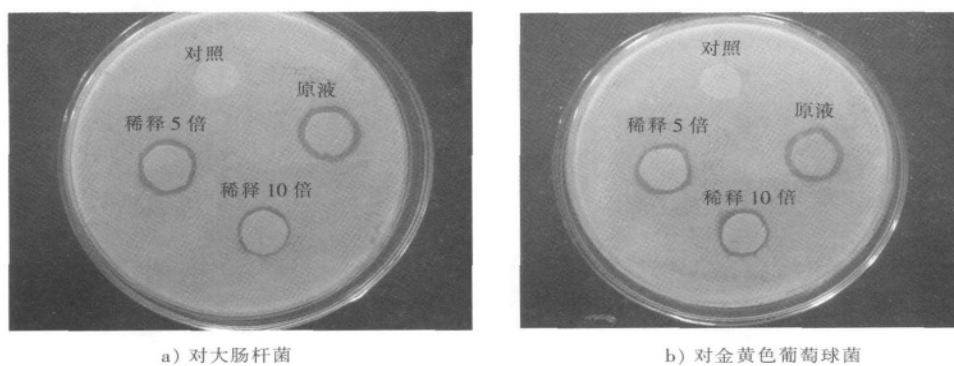


图7 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶抗菌效果照片

Fig. 7 Antibacterial effect picture of P(AA-co-HEA)/Ag nanocomposite sol

图8a)为 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶及 P(AA-co-HEA)分别对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌性能对比图。从图8a)可以看出,纯共聚物对2种细菌的抗菌能力微弱,而复合溶胶则对2种细菌都显示出很强的抑菌活性。图8b)为 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶的抑菌能力随时间的变化趋势。从图8b)可以看出,前10h,该样品对2种细菌的抑菌率逐渐升高,在12h左右抑菌率达到高值并较为稳定。而且,该样品对大肠杆菌的抗菌能力略强于金黄色葡萄球菌。此结果与纳米银的抑菌机理有关。纳米银在光的作用下与水或空气作用转变为银离子( $\text{Ag}^+$ ),然后进入菌体与细菌的蛋白质和核酸接触并与其中的官能团反应。根据银与细菌表面电荷的相互作用原理, $\text{Ag}^+$ 对革兰氏阴性菌具有相对更强的抑菌活性<sup>[3]</sup>。

## 3 结 语

本实验用一种简单、温和的液相还原法,通过调节体系的中和度、反应温度、P(AA-co-HEA)的化学组成及含量对纳米银粒子的尺寸进行控制,制备了一系列 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶。通过 TEM, FTIR 等手段对该溶胶进行了分析表征,得到了该系列溶胶中纳米银粒子的粒径为  $40 \sim 220\ \text{nm}$ ,各样品中纳米银分散性良好、尺寸均匀。将 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶用于大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌实验,结果

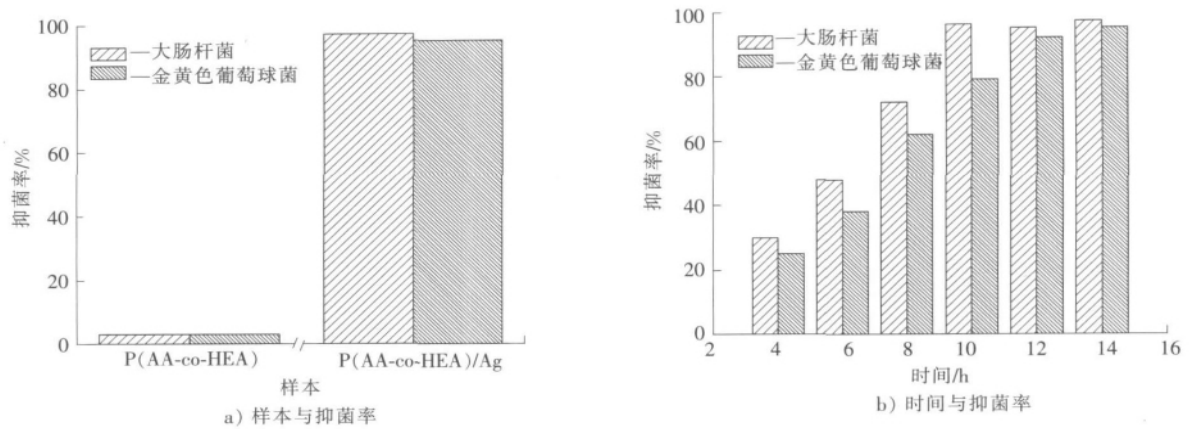


图8 P(AA-co-HEA)共聚物和 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶的抗菌性能

Fig. 8 Antibacterial activities of P(AA-co-HEA) and P(AA-co-HEA)/Ag nanocomposite sol

显示 P(AA-co-HEA)/Ag 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌均具有优良的抑菌活性。由于本实验方法简便,所制备的 P(AA-co-HEA)/Ag 复合溶胶稳定性好、抑菌效果显著,所以具有广阔的应用前景。

#### 参考文献:

- [1] ALT V, BECHERT T, STEIRUCKE P, et al. An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement[J]. *Biomaterials*, 2004, 25: 4 383-4 391.
- [2] MONTEIRO D, GORUP L, TAKAMIYA A, et al. The growing importance of materials that prevent microbial adhesion: Antimicrobial effect of medical devices containing silver[J]. *Antimicrobial Agents*, 2009, 34: 103-110.
- [3] 李敏娜, 罗青枝, 安 静, 等. 纳米银粒子制备及应用研究进展[J]. *化工进展* (Chemical Industry and Engineering Progress), 2008, 27(11): 1 765-1 771.
- [4] KHANNA P, SINGH N, CHARAN S, et al. Synthesis and characterization of Ag/PVA nanocomposite by chemical reduction method [J]. *Mater Chem Phys*, 2005, 93(1): 117-121.
- [5] XIE Y W, YE R Q, LIU H L. Synthesis of silver nanoparticles in reverse micelles stabilized by natural biosurfactant[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects*, 2006, 279: 175-178.
- [6] ZHOU M, CHEN S H, ZHAO S Y. One-step synthesis of Au-Ag alloy nanoparticles by a convenient electrochemical method[J]. *Physica E*, 2006, 33: 28-34.
- [7] SOLANKI J, MURTHY Z. Highly monodisperse and sub-nano silver particles synthesis via microemulsion technique[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects*, 2010, 359: 31-38.
- [8] ZHOU Q, QIAN G Z, LI Y, et al. Two-dimensional assembly of silver nanoparticles for catalytic reduction of nitroaniline[J]. *Thin Solid Films*, 2008, 516(6): 953-956.
- [9] ULLAH M, KIM L, CHANG SIK H. Preparation and optical properties of colloidal silver nanoparticles at a high Ag<sup>+</sup> concentration [J]. *Materials Letters*, 2006, 60(12): 1 496-1 501.
- [10] ABBASI A, MORSALI A. Syntheses and characterization of AgI nano-structures by ultrasonic method: Different morphologies under different conditions[J]. *Ultrasonic Sonochemistry*, 2010, 17: 572-578.
- [11] 安 静, 王德松, 罗青枝, 等. 银/聚合物纳米复合材料[J]. *化学进展* (Progress in Chemistry), 2008, 20(6): 859-868.
- [12] YU L G, ZHANG Y H. Preparation of nano-silver flake by chemical reduction method[J]. *Rare Metal Materials and Engineering*, 2010, 39(3): 1 401-1 404.
- [13] KHAN A, EITONI A, ALROKAYAN S, et al. Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using poly-N-isopropylacrylamide/ acrylic acid microgel particles[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochem Eng Aspects*, 2011, 377: 356-360.
- [14] WEI S S, XU X Y, LIU Y J, et al. Preparation of hydrophobic nano-silver colloid and aqueous nano-silver colloid by phase transfer[J]. *Materials Chemistry and Physics*, 2011, 126: 12-15.
- [15] SATHISHKUMAR M, SNEHA K, YUN Y. Immobilization of silver nanoparticles synthesized using curcuma longa tuber powder and extract on cotton cloth for bactericidal activity[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 7 958-7 965.
- [16] 安 静, 田志颖, 罗青枝, 等. 银/聚苯乙烯纳米复合粒子的制备与表征[J]. *河北科技大学学报* (Journal of Hebei University of Science and Technology), 2010, 31(4): 303-308.
- [17] 安 静, 罗青枝, 李雪艳, 等. 银/聚吡咯纳米复合材料的制备与结构表征[J]. *河北科技大学学报* (Journal of Hebei University of Science and Technology), 2010, 31(5): 409-412.