

含稀土铽的载锌抗菌硅胶的制备及协同抗菌机理

毛华明, 张 彬, 唐晓宁, 胡艳玲, 姜苗苗, 陈一凡

(昆明理工大学, 云南 昆明 650500)

摘 要: 通过溶胶-凝胶法制备出含稀土元素铽的载锌抗菌硅胶, 采用单因素实验得到较佳的制备条件: 锌离子浓度为 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 稀土元素铽浓度为 $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 反应时间为 1 h。选用 X 射线衍射仪(XRD)、扫描电子显微镜(SEM)、X 射线光电子能谱仪(XPS)和电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP)等对材料进行表征。结果表明: 含稀土铽的载锌抗菌硅胶为无定形态, 结构蓬松多孔, 锌和铽以氧化物的形态负载于硅胶孔隙中, 锌、铽元素含量分别为 1.82%和 0.073%。抗菌检测结果表明该材料对大肠杆菌的生长速率具有抑制作用, 添加稀土铽后材料的抗菌率从 72%提高到 87%。由协同效应因子(SEF)和协同系数(T/E)判断可知, 稀土铽在材料中起到协同抗菌作用。通过材料的比表面积、孔径和锌离子负载量的检测结果, 对稀土协同抗菌机理进行初步分析。

关键词: 抗菌硅胶; 锌; 稀土; 协同抗菌机理

中图分类号: TB34

文献标志码: A

文章编号: 1002-185X(2019)08-2667-10

随着生活水平的提高, 人们对健康的生活环境要求越来越高, 为了防止日常生活中一些致病细菌的危害, 绿色、环保、能够有效持续杀死致病细菌的抗菌材料成为研究的重点。无机抗菌材料具有较好的抗菌持续性、耐热性、安全性等优点, 已经广泛应用于陶瓷、塑料、涂料、橡胶工业等领域。无机抗菌材料的核心成分是抗菌离子^[1,2], 抗菌离子主要有银、铜、锌离子及其氧化物, 抗菌离子通过物理吸附、离子交换等方式附着在载体上, 从而形成无机抗菌材料^[3]。如: 克拉科夫雅盖隆大学的 Jędrzejczyk 等^[4]用离子交换的方式将银离子固定在八面体沸石中, 将其改性之后加入纸浆中, 制得具有抗微生物特性的新型纸张。马来西亚博特拉大学的 Alswat 等^[5]用共沉淀法制备出氧化铜-沸石纳米材料, 通过抗菌检测结果表明, 含有 8% (质量分数)氧化铜纳米粒子的氧化铜-沸石纳米材料对枯草芽孢杆菌和猪霍乱沙门氏菌具有最高的抗菌活性。常见的抗菌离子中, 银和铜的抗菌性能强于锌, 但银型无机抗菌材料的制备成本高, 且易氧化变色; 而由于铜离子的颜色, 限制了铜型无机抗菌材料的使用范围。相比之下, 锌型无机抗菌材料具有生产成本低、稳定性好、白度高, 兼具光催化等优点, 但其抗菌性能相对较低, 如: 阿拉伯医科大学的 Yousefshahi 等^[6]研究了银、氧化铜和氧化锌纳米粒对家禽业中沙门氏菌和弯曲杆菌的抗菌性能, 结果表明, 银、氧化

铜和氧化锌纳米粒对所有弯曲杆菌的抗菌性能均为 $\text{Ag} \geq \text{CuO} \geq \text{ZnO}$ 纳米颗粒。因此如何提高其抗菌性能, 将会成为今后锌型无机抗菌材料研究的重点^[7]。

稀土元素具有特殊 4f 壳层电子构型, 使其在永磁材料、催化剂、发光材料等领域得到广泛应用^[8-10], 研究表明, 稀土与抗菌剂之间存在着协同抗菌效应, 可促使材料的抗菌性能明显提高^[11]。因此本研究选用由溶胶-凝胶法制备的硅胶为载体, 锌为抗菌离子, 稀土铽作为添加剂, 制备出含稀土铽载锌抗菌硅胶。经检测, 该材料具有孔径大, 比表面积大和结果蓬松等优良性能, 且抗菌性能明显提高。

1 实 验

实验原料: 硅酸钠 (12%)、碳酸氢钠 (1 mol/L), 七水合硫酸锌 (分析纯), 五水合硝酸铽, 国药集团化学试剂有限公司; 硝酸 (30%~40%), 成都金山化学试剂有限公司; PBS 缓冲液 (0.01 mol/L), 北京索莱宝科技有限公司; 氯化钠 (分析纯), 天津市风船化学试剂科技有限公司; 酵母膏、胰蛋白胨、琼脂粉, 北京奥博星生物技术有限责任公司。

实验采用溶胶-凝胶法制备含稀土铽载锌抗菌硅胶: 将浴热好的一部分硅酸钠和碳酸氢钠注入恒温反应器中, 在 400~500 r/min 转速下进行反应; 待反应完成之后, 调低转速至 200~300 r/min, 加入剩余的硅酸

收稿日期: 2018-11-30

基金项目: 国家重点研发计划重点专项 (2017YFC0210303)

作者简介: 毛华明, 男, 1994 年生, 硕士生, 昆明理工大学理学院, 云南 昆明 650500, E-mail: mhm78229@163.com

钠和碳酸氢钠进行下一步反应；反应结束后调 pH 值至 5~6，再加入 20 mL $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硝酸铽溶液，反应 5 min 之后再加入 20 mL $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫酸锌溶液，反应 1 h 之后结束，趁热抽滤，并用去离子水洗涤。滤饼放入烘箱中干燥，即得到锌-铽型抗菌硅胶。锌-铽抗菌硅胶制备工艺流程如图 1。

选用由荷兰帕纳科有限公司生产的 X 射线衍射仪 (XRD, 型号: X/pert-3, 非单色 $\text{Cu K}\alpha$ 辐射源), 在 2θ 为 $10^\circ\sim 80^\circ$ 范围内以 50 eV 的通过能量进行检测, 分析其衍射谱图, 研究材料的形态。

采用日本日立公司 SU8010 高分辨场发射扫描电子显微镜 (SEM), 在放大倍数为 2.5 K 和 100 K 下观察添加稀土前后载锌抗菌硅胶的微观结构, 在观察之前用铂进行溅射涂覆试样。并用 Mod550i 型电制冷能谱仪 (EDS) 对抗菌硅胶表面锌和铽元素的含量进行半定量分析。

用美国赛默飞公司 ESCALAB250Xi 型 X 射线光电子能谱仪 (XPS), 对材料进行全谱宽扫描和窄扫描, 定性分析锌和铽元素在抗菌硅胶中的负载形态。

将一定量抗菌材料加入到含有细菌的液体培养基中, 会抑制细菌的生长, 通过绘制细菌生长曲线来探究抗菌硅胶对细菌生长速率的影响^[12], 并明确主要的抗菌成分。选用革兰氏阴性菌 *E. coli* 为实验菌株 (菌种购自中国典型培养物保藏中心, 菌株保藏编号: CCTCC AB 204033), 细菌培育采用 Luria-Bertani (LB) 培养基。取一定量处于对数生长期的细菌加入 LB 液体培养基中, 并加入 1.25 g/L 的抗菌硅胶, 取一组不加抗菌硅胶的菌液培养基作为空白对照, 放置于 37°C 的恒温摇床中 (转速为 200 r/min) 振荡培养, 每隔 1 h 取一定量菌液, 通过紫外-可见分光光度计测试其在波长 600 nm 处的光密度值 (OD_{600}), 以此来检测抗菌硅胶对细菌生长速率的影响。

为了更加直观反应材料的抗菌性能, 通过培养基平板上形成的菌落数计算抗菌率, 进行抗菌性能对比。取以上材料处理后孵育 1 h 的菌液, 取上清液用 PBS

缓冲液稀释一定倍数 (空白样细菌液稀释至 CFU 为 $5\times 10^6\sim 6\times 10^6$ 个/mL), 均匀涂布在 LB 固体培养基上, 放置恒温培养箱中, 在 37°C 下培养 18~24 h 之后, 统计菌落数, 计算抗菌率。

通过涂布平板法检测出材料的抗菌率, 选用协同效应因子 (SEF) 和协同系数 (T/E) 来判定协同抗菌效应^[13,14]。

采用 JW-BK22 型比表面及孔径分析仪 (BET), 在 80 K 下记录抗菌硅胶对 N_2 吸附-解吸等温线, 分析了添加稀土前后抗菌硅胶的比表面积和孔径变化情况。通过美国瓦里安公司 720-ES 型电感耦合等离子体发射光谱仪 (ICP), 对抗菌硅胶中锌和铽元素的含量进行定量分析, 对比添加稀土铽元素前后材料中锌离子负载量的变化情况。

通过分析材料的 BET 和 ICP 检测结果, 解释了稀土铽对材料的比表面积、孔径和锌离子负载量影响的原因, 并对稀土协同抗菌机理进行初步的分析。

2 结果与讨论

2.1 不同反应条件对抗菌率的影响

本实验在 pH 值为 5~6, 转速为 $400\sim 500 \text{ r/min}$, 反应温度为 $80\sim 90^\circ\text{C}$ 的条件下, 选取对材料抗菌性能影响较大的 3 个反应条件 (锌离子浓度, 铽离子浓度, 反应时间), 分别进行单因素实验分析, 探究它们对产品抗菌性能的影响规律。从而得到较佳的制备条件。

2.1.1 锌离子浓度对锌-铽抗菌硅胶抗菌率的影响

锌离子浓度是影响锌-铽抗菌硅胶的主要因素, 本实验在反应时间为 1 h, 铽离子浓度为 $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的条件下, 探究不同锌离子浓度 ($0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 对材料抗菌性的影响, 结果如图 2 所示。由图 2 可知, 当锌离子浓度从 $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 材料的抗菌率呈上升趋势, 锌离子浓度为 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 材料的抗菌率达到最大 87%, 当锌离子浓度超过 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, 材料的抗菌率趋于平稳。初步判断是因为, 当体系中锌离子浓度低于 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 由于未达到硅胶的吸附饱和度, 因此随着锌离子浓度的增加, 锌离子的负载量也随之增加, 所以材料的抗菌率呈快速上升趋势。当锌离子的浓度超过 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 后, 硅胶表面孔隙的吸附量已经接近饱和, 过量的锌以离子的形态游离于溶剂中, 最后随着抽滤、洗涤流失。

为了验证该体系中加入锌离子浓度为 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 硅胶中锌离子的负载量是否接近饱和, 对图 2 中的 6 个抗菌硅胶样品进行 ICP 检测, 探究添加锌离子浓度与实际负载量之间的关系, 结果如图 3 所示。由



图 1 锌-铽抗菌硅胶制备工艺流程

Fig.1 Preparation process of zinc-terbium antibacterial silica gel

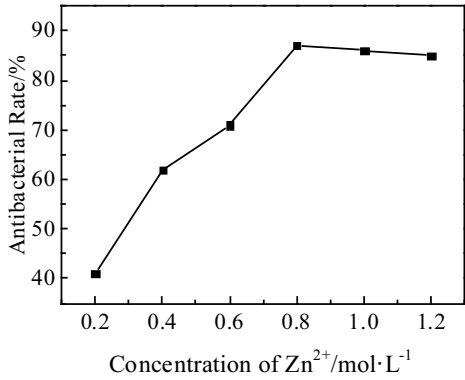


图 2 材料抗菌率与锌离子添加量的关系

Fig.2 Relationship between antibacterial rate of material and zinc ion concentration

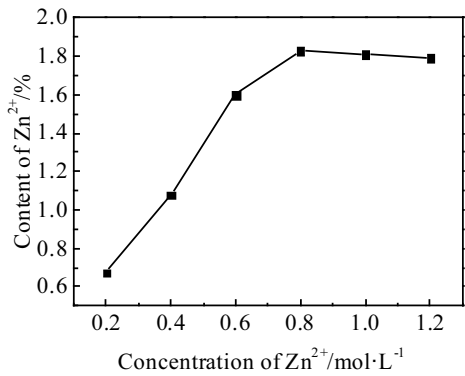


图 3 负载量与锌离子添加量间的关系

Fig.3 Relationship between the amount of load and the amount of zinc ions added

图 3 可知，当添加锌离子浓度从 0.2 mol·L⁻¹ 增加到 0.8 mol·L⁻¹ 时，硅胶孔隙中锌离子的负载量呈上升趋势，当锌离子浓度超过 0.8 mol·L⁻¹ 后，锌离子负载量趋于稳定。即，当锌离子浓度低于 0.8 mol·L⁻¹ 时，硅胶孔隙中的锌离子未达到吸附饱和度，所以锌离子的负载量呈上升趋势，材料的杀菌性也随之升高；而当添加的锌离子浓度超过 0.8 mol·L⁻¹ 后，硅胶中锌离子的负载量已趋于饱和，所以材料的杀菌率也随之呈平缓趋势。

2.1.2 铽离子浓度对锌-铽抗菌硅胶抗菌率的影响

稀土铽作为一种添加剂，对锌-铽抗菌硅胶的抗菌性能影响显著，因此实验在铽离子浓度为 0.0005、0.001、0.003、0.005、0.007、0.009 mol·L⁻¹ 的条件下（反应时间为 1 h，锌离子浓度为 0.8 mol·L⁻¹），探究了不同铽离子浓度的添加对材料抗菌性能的影响，结果如图 4 所示。由图 4 可知，当铽离子浓度从 0.0005

mol·L⁻¹ 增加到 0.003 mol·L⁻¹ 时，材料的抗菌率呈上升趋势，铽离子浓度为 0.003 mol·L⁻¹ 时，材料的抗菌率达到最高 87%，当铽离子浓度超过 0.003 mol·L⁻¹ 后，材料的抗菌率呈下降趋势。初步判断是因为稀土铽的半径要比锌的大得多，其活性也比锌要强，硅胶优先吸附铽离子，当硅胶孔隙内吸附的铽离子过多，反而阻止了锌离子的吸附，使得锌离子的负载量减少，从而导致材料的抗菌率降低^[15,16]。

为了验证添加铽的浓度是否对锌的负载量有影响，对图 3 中的 6 个抗菌硅胶进行 ICP 检测，探究铽离子添加量与铽离子和锌离子实际负载量间的关系，结果如图 5 所示。由图 5 可知，当添加铽离子浓度从 0.0005 mol·L⁻¹ 增加到 0.003 mol·L⁻¹ 时，硅胶中铽离子和锌离子的负载量均呈上升趋势，当铽离子浓度为 0.003 mol·L⁻¹ 时，锌离子的负载量达到最高 1.82%。当

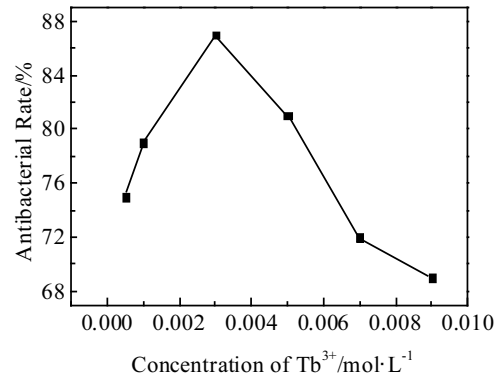


图 4 材料抗菌率与铽离子添加量的关系

Fig.4 Relationship between antibacterial rate of material and terbium ion concentration

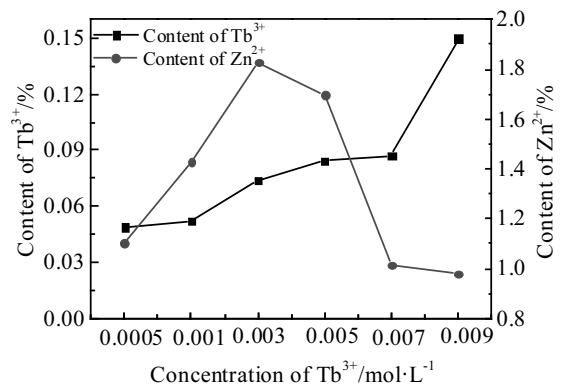


图 5 铽离子和锌离子负载量与铽离子添加量间的关系

Fig.5 Relationship between the loading of terbium ions and zinc ions and the amount of terbium ions added

铽离子浓度大于 $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，铽离子的负载量仍呈上升趋势，而锌离子的负载量则呈下降趋势。由此可证明铽离子的添加确实影响了材料中锌离子的负载。当铽离子浓度低于 $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，硅胶孔隙的吸附没有达到饱和，因此铽离子和锌离子的负载量呈上升趋势；当铽离子浓度高于 $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，由于硅胶中的孔隙被大量铽离子优先占据，并随着铽离子添加量的不断增加，铽离子取代了锌离子在硅胶中的位置，从而导致锌离子的负载量降低，材料的杀菌率也因此呈下降趋势。

2.1.3 反应时间对铽-铽抗菌硅胶抗菌率的影响

反应时间是影响铽-铽抗菌硅胶抑菌率的主要因素之一，因此本实验在反应时间为 0.5、1、1.5、2、2.5、3 h 的条件下（锌离子浓度为 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，稀土铽离子浓度为 $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ），探究了不同反应时间对材料抗菌率的影响，结果如图 6 所示。由图 6 可知，在 0.5 h~1.0 h 反应时间段，材料的抗菌率呈上升趋势，反应进行 1.0 h 时，材料的抗菌率达到最高 87%，当反应时间超过 1 h 后，材料的抗菌率呈下降趋势。初步判定是因为在 0.5~1.0 h 反应时间段，硅胶粒径较小，在体系中分散均匀，所以锌离子和铽离子迅速负载在硅胶上，离子负载量增加得较快。当反应时间超过 1 h 后，反应容器中的水分开始大量蒸发，使得硅胶发生不断团聚现象，所以材料的粒径增大，与细菌接触表面积降低，抗菌性能下降，所以材料的抗菌率降低。

为了验证反应时间是否对抗菌硅胶的粒径有影响，采用激光粒度分析仪对图 5 中的 6 个抗菌胶进行检测，结果如图 7、8 所示。图 7 为粒径分布图，从图可知，随着反应时间的延长，粒径分布向正方向偏移，说明材料粒径变大，且粒径分布均匀性变差。图 8 为

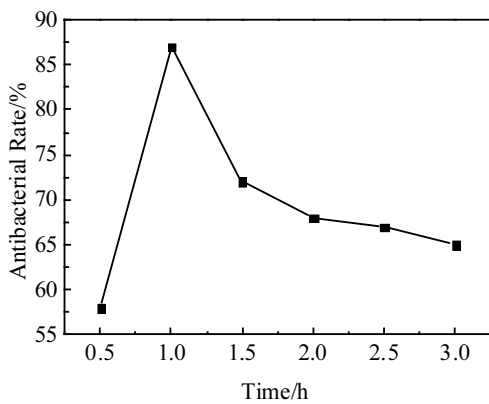


图 6 材料抗菌率与反应时间的关系

Fig.6 Relationship between the antibacterial rate of material and the reaction time

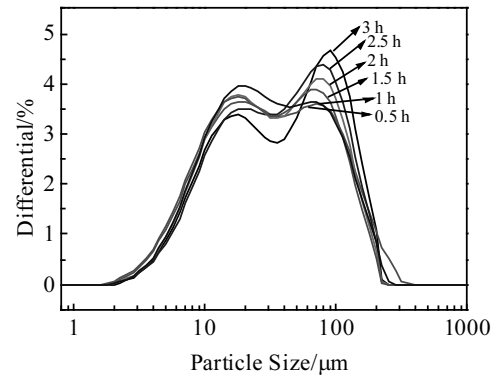


图 7 抗菌硅胶的粒径分布图

Fig.7 Particle size distribution of antibacterial silica gel

反应时间对平均粒径的影响，从图可知，当反应时间在 0.5~1 h 以内，材料的平均粒径逐渐减小，当反应时间超过 1 h 后，材料的平均粒径呈逐渐增大。由于本实验所用的铽、铽离子溶液呈酸性，当加入硅胶溶液中，使得体系中 pH 值略减小，有助于降低硅胶的团聚程度，所以在反应时间 0.5~1 h 以内，材料的平均粒径减小。当反应时间超过 1 h 时，由于容器中水分大量蒸发，造成硅胶团聚加剧，所以材料的粒径增大，比表面积减小，与细菌接触表面积降低，造成抗菌性能下降。

综上所述，制备含稀土元素铽载铽抗菌硅胶的较优条件为：铽离子浓度 $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，铽离子浓度 $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，反应时间 1 h。在此条件下制备出的材料平均粒径较小，其抗菌率可达 87%。

2.2 材料的表征

2.2.1 材料形态分析

为了确定抗菌硅胶的形态，选用 XRD 进行表征，结果如图 9 所示。图 9 中共有 3 条谱线，a 谱线为纯

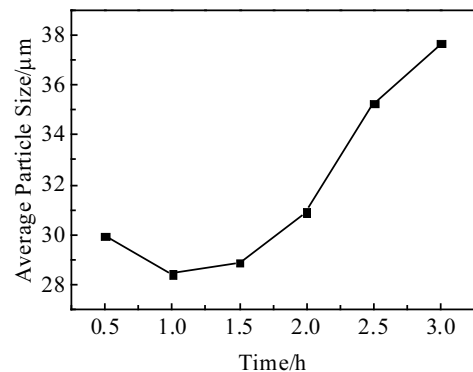


图 8 平均粒径与反应时间的关系

Fig.8 Relationship between the average particle size and the reaction time

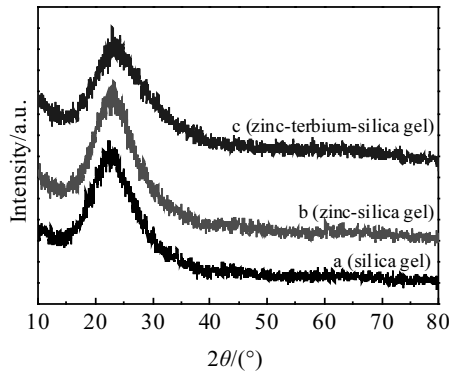


图 9 添加不同元素的硅胶 XRD 图谱

Fig.9 XRD patterns of silica gel doped with different elements

硅胶谱线，b 谱线为单载锌型硅胶谱线，c 谱线为锌-铽-硅胶谱线。从 a 谱线可以看出，在 2θ 为 $15^\circ\sim 30^\circ$ 处出现 1 个包峰，在其它角度没有出现特征峰，证明纯硅胶呈无定形态。图中 b 谱线和 c 谱线在 2θ 为 $15^\circ\sim 30^\circ$ 处均出现 1 个包峰，同样在其它角度没有出现特征峰，即 2 种材料均呈无定形态，说明了添加稀土铽和锌没有改变硅胶本身的特性，因此锌-铽抗菌硅胶可适用于硅胶所应用的所有领域。在锌-铽抗菌硅胶的

谱线中，并没有出现锌和铽的相关特征峰，这是由于我们使用的 XRD 检出限为 5%，通过 ICP 对材料整体进行分析发现，锌元素的质量分数为 1.84%，铽元素的质量分数为 0.073%，即材料中 2 种元素含量均低于 XRD 的检出限，所以谱图中没有锌和铽对应化合物的相关特征峰。

2.2.2 材料形貌和元素分析

通过 SEM 对添加稀土前后载锌抗菌硅胶的形貌进行表征，并用 EDS 对抗菌硅胶表面元素成分和含量进行检测，结果如图 10 和图 11 所示。图 10 为添加稀土前后载锌抗菌硅胶的扫描电镜照片，图 10a、10b 为载锌抗菌硅胶，图 10c、10d 为添加铽的载锌抗菌硅胶。图 11 为对应图 10 中添加稀土前后材料的 EDS 能谱分析图。图 11a 为载锌抗菌硅胶，图 11b 为添加铽的载锌抗菌硅胶。由图 10 可知，添加稀土前后的载锌抗菌硅胶，均为不规则形状，结构蓬松多孔，平均粒径较小。从外观形貌上观察，添加微量的稀土铽对载锌抗菌硅胶的结构形貌没有太大的影响。从图 11 可知，材料的表面含有大量的硅、氧元素，而锌元素含量较低。对比图 11a 和 11b 可知，添加稀土后硅胶载体上锌元素的质量分数从 0.25% 增加到 0.34%，原子分数从 0.07% 增加到 0.12%，说明添加稀土能够促进锌离子的

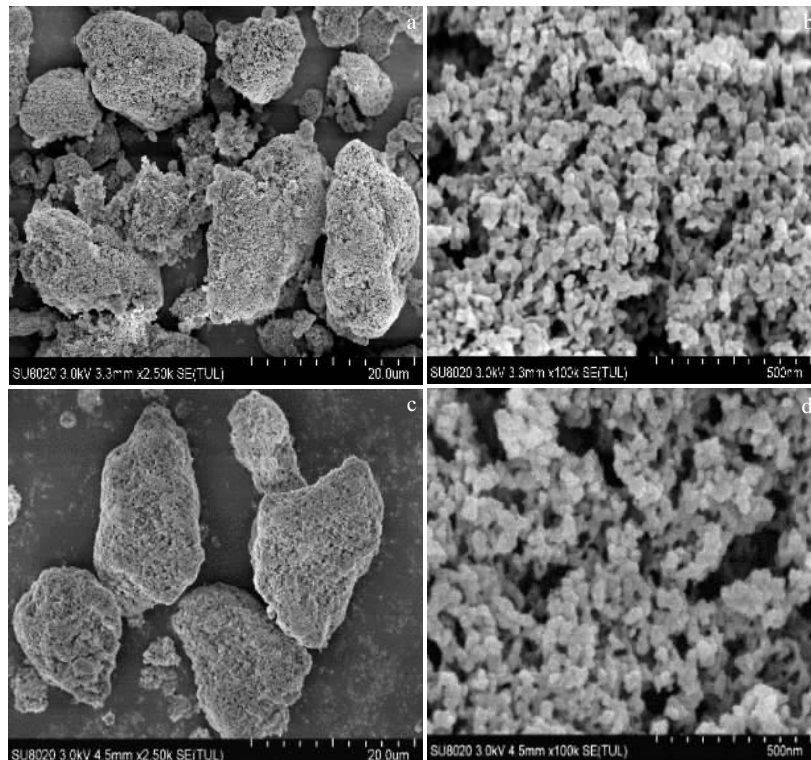


图 10 抗菌硅胶的 SEM 照片

Fig.10 SEM images of antibacterial silica gel: (a, b) Zn-silica gel and (c, d) Zn-Tb-silica gel

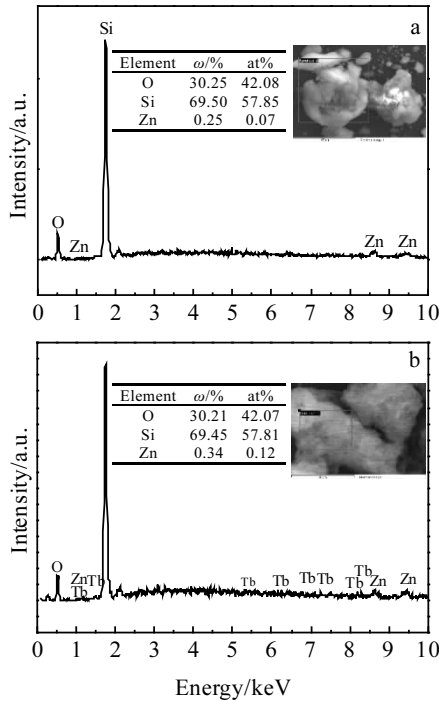


图 11 抗菌硅胶的 EDS 能谱

Fig.11 EDS spectra of antibacterial silica gel: (a) Zn-silica gel and (b) Zn-Tb-silica gel

负载。但是在 EDS 半定量分析中没有检测到铽元素的含量，这是因为 EDS 半定量分析的检出限为 0.1% (质量分数)，含量低于 0.1% 的元素不易被检测出来，而通过 ICP 检测可知，铽元素的负载量为 0.073% (质量分数)，远低于 EDS 的检出限，所以没有检测到铽元素。

2.2.3 锌和铽负载形式分析

为了确定抗菌硅胶中锌、铽离子的存在形态，运用 XPS 定性分析锌和铽在硅胶中的化学状态，分别对锌和铽进行全谱宽扫描和窄扫描，结果如图 12 所示。

图 12a 为锌-铽抗菌硅胶全谱图，图 12b 为锌元素窄谱图，图 12c 为铽元素窄谱图。由谱图图 12a 可以看出，抗菌硅胶表面含有 C、O、Si、Na、Zn 和 Tb 元素，说明硅胶载体上有锌和铽元素的存在，但其峰形不明显。因为 XPS 对材料表面的检测深度为 5 nm 左右，而抗菌硅胶表面 Zn 和 Tb 元素的质量分数仅为 1.82% 和 0.073%，所以全谱图中，Zn 和 Tb 的峰形不明显。

为了进一步研究 Zn 和 Tb 的存在形态，对 Zn 和 Tb 元素进行窄扫描。由图 12b 可知，Zn 的 2p 区域的光谱显示出 2 个主要峰型，集中在 1021.87 eV 的 2p_{3/2} 和 1045.11 eV 的 2p_{1/2}。判断 Zn 的化学状态，主要由 2p_{3/2} 决定，根据报道和查阅仪器手册，在 ZnO 的窄谱图中，结合能为 1021 eV 的 Zn 2p_{3/2} 峰型，代表 ZnO 中 Zn²⁺ 的信号^[17,18]，即图 12b 中 Zn 2p_{3/2} 的结合能与 ZnO 中 Zn 2p_{3/2} 的结合能是接近的，说明 Zn 是以 ZnO 的形态存在于硅胶中，进而可知，材料中的有效抗菌成分为 ZnO。由图 12c 可知，Tb 的 3d 区域的光谱显示出主要峰型为 1277.22 eV 的 3d_{3/2} 和 1241.58 eV 的 3d_{5/2}，根据报道和查阅仪器手册，Tb₂O₃ 中 3d 区域的 2 个主要峰型：1277 eV 的 Tb 3d_{3/2}，1241 eV 的 Tb 3d_{5/2}^[17,18]，代表 Tb₂O₃ 中 Tb³⁺ 的信号。即图 12c 中 Tb 3d_{3/2} 和 Tb 3d_{5/2} 的结合能与 Tb₂O₃ 中两峰型的结合能是接近的，说明 Tb 是以 Tb₂O₃ 的形态存在于硅胶中。

2.2.4 材料抗菌性能检测

通过检测大肠杆菌在液体培养基中生长至 9 h 的生长速率来研究不同材料的抗菌活性，结果如图 13 所示。由图 13 中 a 曲线可知，前 3 h 细菌增长得较快，处于对数生长期（该期细菌生长繁殖速率快，代谢旺盛），3 h 之后细菌增长速度减慢，处于稳定区（该期的生长菌群总数处于平稳阶段）。由 b 曲线可知，其生长周期和对照组一致，但 OD 值有所降低（OD 值表示被检测物吸收掉的光密度，OD=l g (1/trans)，其中

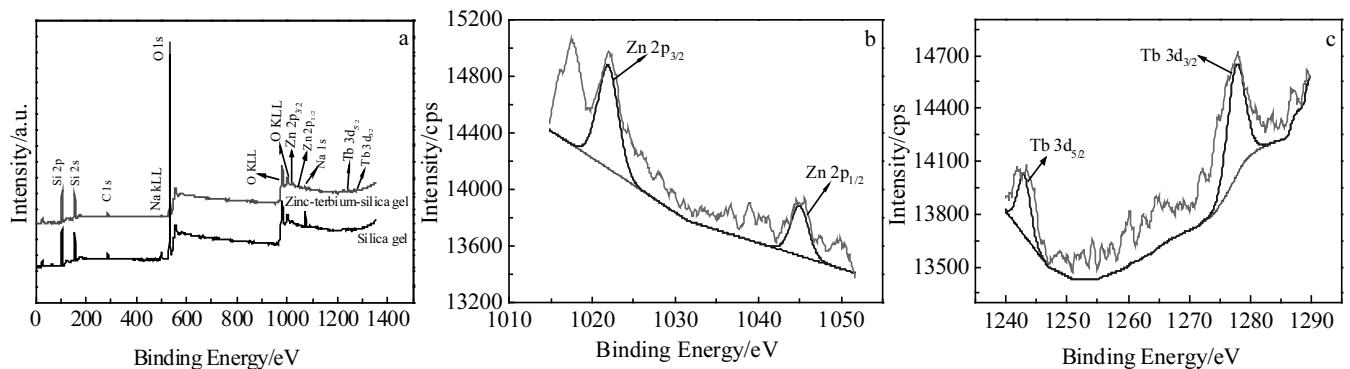


图 12 锌-铽抗菌硅胶的 XPS 图谱

Fig.12 XPS patterns of zinc-terbium antibacterial silica gel: (a) full spectrum, (b) Zn narrow spectrum, and (c) Tb narrow spectrum

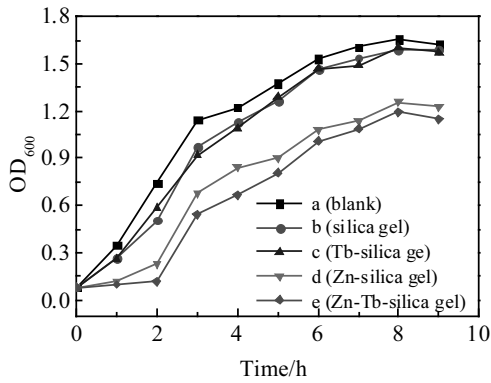


图 13 材料对大肠杆菌生长曲线的影响
Fig.13 Effect of materials on the growth of E. coli

trans 为检测物的透光值), 说明细菌浓度相比于对照组偏低。因为纯硅胶没有抗菌性, 所以初步推测是因为硅胶具有多孔蓬松的结构, 其吸附性能良好, 当与细菌接触时, 部分的细菌会被吸附到硅胶表面, 从而沉积到试管底部, 致使细菌浓度降低, 造成了 b 曲线 OD 值有所降低。由 c 曲线可知, c 曲线与 b 曲线相似, 说明硅胶中微量的稀土铽没有抑菌性能。由 d 曲线可知, d 曲线与对照组相比在 1~2 h 细菌生长速率明显降低, 对数生长期延迟了 1 h 左右, 说明载锌抗菌硅胶具有抑制细菌繁殖的作用。由 e 曲线可知, 与对照组 a 曲线相比, 锌-铽抗菌硅胶使细菌对数生长期延迟了 2 h, 相比于锌-抗菌硅胶, 表现出更加良好的抑菌性

能。通过以上对材料的抗菌活性检测结果可知, 纯硅胶和铽-硅胶没有抑菌性能, 锌-硅胶具有抑菌性能, 当铽、锌元素共掺杂到硅胶中, 其抑菌性能明显优于锌型抗菌硅胶。

以上讨论了材料对细菌生长速率的影响, 下面通过平板菌落数直观地反应材料抗菌性能, 选取以上材料处理后孵育 1 h 的菌液, 用 PBS 缓冲液稀释一定倍数后进行涂布平板法检测, 结果如图 14 所示。图 14a~14e 分别是空白样、纯硅胶、铽-硅胶、锌-硅胶、锌-铽-硅胶的菌落计数结果, 从图中可以看出, 纯硅胶没有杀菌效果, 单载铽的硅胶抗菌率为 4% (硅胶的吸附作用), 单载锌抗菌硅胶有抗菌性能, 抗菌率为 72%, 添加铽后的载锌抗菌硅胶具有良好的抗菌性能, 抗菌率达到 87%。

综上所述, 通过溶胶-凝胶法制备了含稀土铽载锌抗菌硅胶, 材料中主要的抗菌成分是氧化锌 (ZnO), 稀土 Tb 以氧化态(Tb₂O₃)负载在硅胶载体上。添加锌和稀土后其结构蓬松、粒径小、呈无定形态, 并未影响硅胶的结构和特性。通过抗菌活性检测, 添加稀土后材料的抗菌性能明显提高, 弥补了锌抗菌性低的缺陷, 拓宽了锌型抗菌材料的应用领域。

2.3 稀土协同抗菌研究

协同效应是指将 2 种或 2 种以上的组分相加或联合在一起, 所产生的作用大于各组分单独应用时作用的总和。协同效应在抗菌材料研究中的报道较多, 根据不同物质之间存在协同效应, 将多种物质通过组分

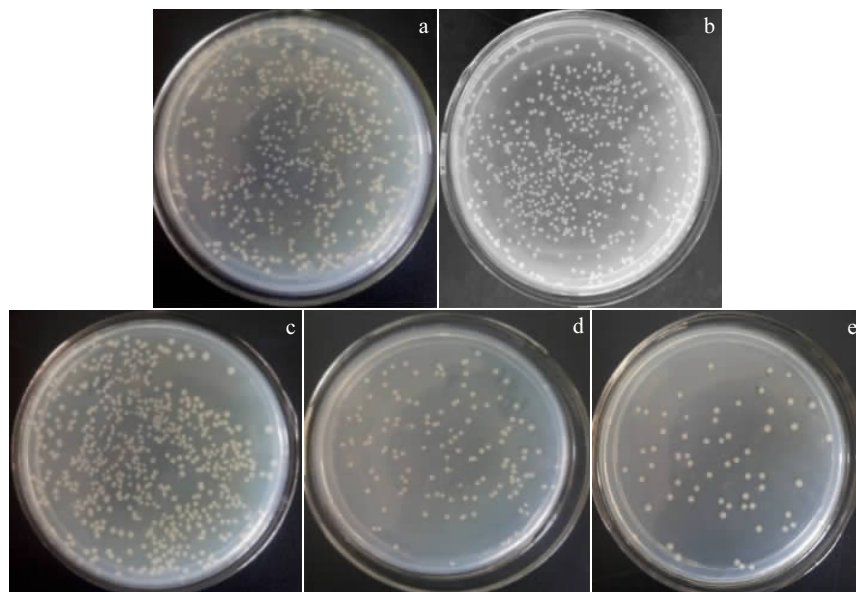


图 14 硅胶的抗菌性能检测图

Fig.14 Antibacterial performance of the silica gel: (a) blank, (b) silica gel, (c) Tb-silica gel, (d) Zn-silica gel, and (e) Zn-Tb-silica gel

相加联合使用，从而达到更好的抗菌效果^[19-21]。本研究将稀土铽添加到载锌抗菌硅胶中，得到抗菌性能更加优异的铽-载锌抗菌硅胶，通过对比添加稀土前后材料的抗菌性能，判定稀土对材料具有协同抗菌作用，并通过各种检测，探究稀土协同作用的原因，进而对协同抗菌作用进行初步的解释。

2.3.1 稀土协同抗菌效应的判定

稀土铽的添加可提高载锌抗菌硅胶的抗菌性能，即存在稀土协同抗菌作用，为探究这种协同抗菌作用，采用协同效应因子（SEF）与协同系数（T/E），首先对材料的协同效应进行判定^[13,14]。

协同效应因子的计算公式为：

$$SEF = \eta_{Zn-Tb} - \eta_{Zn} - \eta_{Tb}$$

式中： η_{Zn-Tb} 为铽-载锌抗菌硅胶的抗菌率， η_{Zn} 为单载锌型抗菌硅胶的抗菌率， η_{Tb} 为单载铽型抗菌硅胶的抗菌率。

对于协同效应因子 SEF，当 $SEF > 0$ 时，体系间存在协同效应，且 SEF 越大，协同效应越明显；当 $SEF \leq 0$ ，则体系间没有协同效应。

协同系数的计算公式为：

$$T/E = \omega_{Zn} \cdot \omega_{Tb} / \omega_{Zn-Tb}$$

式中： ω_{Zn} 为单载锌型抗菌硅胶的细菌存活率， ω_{Tb} 为单载铽型抗菌硅胶的细菌存活率， ω_{Zn-Tb} 为铽-载锌型抗菌硅胶的细菌存活率。

对于协同系数 T/E，当 $T/E > 1$ 时，体系间存在协同效应；当 $T/E \leq 0$ 时，则体系间没有协同效应。

通过对添加稀土铽的最优样进行抗菌性能检测，对比单独载锌和单独载铽型硅胶的抗菌性能，判断稀土铽对材料是否存在协同抗菌效应。将抗菌检测结果代入协同效应因子和协同系数公式：

$SEF = \eta_{Zn-Tb} - \eta_{Zn} - \eta_{Tb}$ ($\eta_{Zn-Tb} = 87\%$ ， $\eta_{Zn} = 72\%$ ， $\eta_{Tb} = 4\%$)，得 $SEF = 0.11$ 。

$T/E = \omega_{Zn} \cdot \omega_{Tb} / \omega_{Zn-Tb}$ ($\omega_{Zn} = 28\%$ ， $\omega_{Tb} = 96\%$ ， $\omega_{Zn-Tb} = 13\%$)，得 $T/E = 2.07$ 。

由以上计算结果可知，协同效应因子 $SEF = 0.11 > 0$ ，协同系数 $T/E = 2.07 > 1$ ，由此判断稀土铽与材料之间存在协同抗菌效应。

2.3.2 稀土协同抗菌作用分析

由以上对协同效应因子 SEF 与协同系数 T/E 的分析可知，稀土铽具有协同抗菌作用。稀土协同作用的相关研究指出，添加稀土可以降低材料的表面能，进而增加材料的比表面积^[15,16,22]；此外，稀土的添加起到收缩孔径，提高材料吸附性能的作用，从而更有利于离子的负载^[23]。因此本研究将从稀土铽对材料的比表面积、孔径和孔隙分布等性质的影响，探讨稀土铽

的协同抗菌作用。具体采用 BET 和 ICP 对添加稀土前后的抗菌硅胶的比表面积、孔径和锌离子的负载量进行分析。

2.3.2.1 比表面积及孔径

为了对比添加铽元素前后材料的比表面积和孔径变化情况，对硅胶、铽-硅胶、铽-载锌硅胶进行 BET 检测，结果如图 15 所示。图 15a 中共有 3 条拟合曲线，分别为硅胶、铽-硅胶和铽-载锌硅胶对氮气多点吸附的拟合曲线。从图 15a 可知，3 种材料的等温吸附拟合曲线均为直线，且拟合相关系数较高，表明均为多分子层吸附，满足 BET 方程。图 15b 为 BET 及孔径检测图，由图可知，纯硅胶的比表面积为 $80 \text{ m}^2/\text{g}$ ，孔径为 21 nm ，负载铽后的抗菌硅胶比表面积增大至 $102 \text{ m}^2/\text{g}$ 、孔径减小为 16 nm ，因为铽颗粒吸附在硅胶的孔隙和表面上，使硅胶表面更加粗糙，扩大了硅胶比表面积，孔径减小。添加微量稀土铽后，抗菌硅胶的比表面积从 $102 \text{ m}^2/\text{g}$ 增加到 $187 \text{ m}^2/\text{g}$ ，孔径从 16 nm 减小到 10 nm 左右，说明稀土铽的添加在一定程度上降低了硅胶表面能，减少了硅胶的团聚，从而使硅胶比表面积增大^[15,16,22]；并使得硅胶的孔径收缩，进而增强硅胶吸附性能^[23]。比表面积增大可以增加抗菌硅

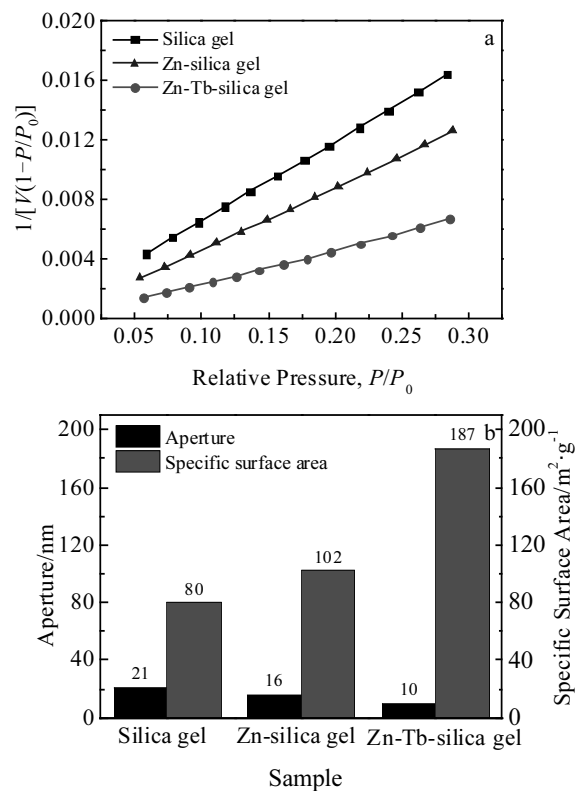


图 15 抗菌硅胶比表面积及孔径检测图

Fig.15 Adsorption fit curves (a) and specific surface area and aperture (b) of the antibacterial silica gel

胶与细菌的有效接触面积, 孔径收缩可以提升其吸附性能, 从而提高锌离子的负载量, 两者均能使抗菌硅胶的抗菌性能有所提高。

2.3.2.2 锌和铽元素定量分析

为了确定添加稀土前后材料中锌离子含量的变化, 对 Zn-硅胶和 Zn-Tb-硅胶进行了 ICP-OES 检测, 检测结果如表 1 所示。由表 1 可知, 添加铽后, 硅胶中锌离子的负载量从 1.05% 提升到 1.82%, 即锌离子的负载量明显升高。与 2.3.2.1 中的研究结果相符, 即当稀土与锌共掺杂时, 由于稀土铽的加入, 提高了材料中抗菌成分锌离子的负载量, 从而提高了铽型抗菌硅胶的抗菌性能。

2.3.3 稀土协同抗菌机理

研究表明稀土铽在通常状态下呈三价, 它的电负性较低, 当与其他金属离子共掺杂时, 优先吸附在载体表面, 稀土与 O、H 有极强的化学亲和力, 可以降低材料的表面能, 增大比表面积^[15,16]。因此当稀土铽与锌共掺杂到硅胶中, 稀土铽优先吸附在硅胶表面, 一部分铽离子将夺取硅胶表面羟基中的氧, 使得抗菌硅胶表面能降低, 减小硅胶团聚程度, 抗菌硅胶的比表面积增大, 提升了抗菌硅胶与细菌的有效接触面积, 另一部分稀土铽在表面形成活性位点, 促使锌离子被大量吸附在活性位点周围, 形成较大的离子集合体, 当被吸附的锌离子达到一定浓度后, 硅胶表面和孔隙内形成浓度差, 因此锌离子逐步向硅胶孔隙内扩散, 从而提高了锌离子的负载量^[15,24-27]。还有一部分稀土铽离子优先进入硅胶孔隙, 与羟基结合形成活性位点, 从而收缩孔径, 吸附性能增强^[23], 使锌离子扩散到硅胶空隙内, 然后被活化位点吸引, 并在此位点上叠加生长, 当锌离子足够多时, 会在孔隙内形成晶体生长, 并对孔隙进行部分填充和分割, 使原来的孔隙平均内径减小, 内壁粗糙, 进而增加了比表面积。如图 16 为锌、铽离子负载示意图, 橙色代表锌离子, 黄色代表铽离子。

综上所述, 添加到抗菌硅胶中的稀土铽, 既能夺取硅胶表面羟基上的氧, 降低硅胶的比表面能, 增大比表面积; 也能在硅胶表面形成活性位点, 促进锌离子负载; 还能与硅胶内部羟基结合, 形成活化位点, 增强吸附性, 促进锌离子负载, 从而达到提高材料抗菌性能的作用。

表 1 ICP-OES 定量分析

Table 1 ICP-OES quantitative analysis ($\omega/\%$)		
Sample	Zn ²⁺	Tb ³⁺
Zn-silica gel	1.05	-
Zn-Tb-silica gel	1.82	0.073

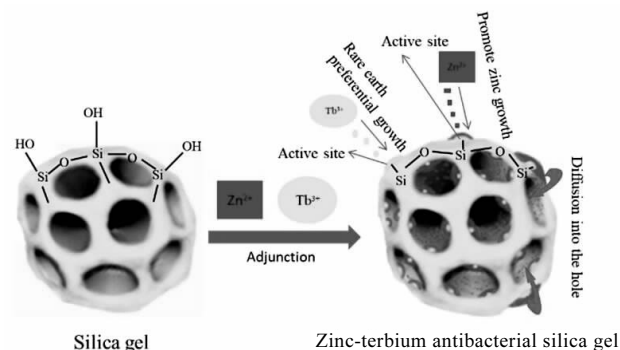


图 16 锌、铽离子负载示意图

Fig.16 Schematic diagram of the Zn²⁺, Tb³⁺ load

3 结 论

1) 采用溶胶-凝胶法制备出含稀土元素铽的载锌抗菌硅胶, 通过单因素实验发现, 锌离子浓度为 0.8 mol·L⁻¹, 铽离子浓度为 0.003 mol·L⁻¹, 反应时间为 1 h 时, 制备出的材料抗菌性能较好, 抗菌率达到 87%。

2) 添加稀土铽后的材料呈无定形态, 结构蓬松多孔, 锌、铽元素存在于硅胶载体上, 并分别以 ZnO 和 Tb₂O₃ 形态存在。

3) 添加稀土铽后的材料可延迟大肠杆菌生长 2 h。材料的抗菌率从 72% 提高到 87%, 抗菌性能明显提升。

4) 选用协同效应因子和协同系数判定稀土铽与材料之间存在协同抗菌效应。添加稀土离子铽后, 材料的比表面积增大, 锌离子的负载量增高。稀土离子铽既可夺取硅胶表面羟基上的氧, 降低硅胶的比表面能, 增大比表面积; 也可在硅胶表面和内部形成活性位点, 增强吸附性, 促进锌离子负载, 从而达到提高材料抗菌性能的作用。

参考文献 References

- [1] Taghipour T, Karimipour G, Ghaedi M *et al.* *Ultrasonics Sonochemistry*[J], 2018, 41: 389
- [2] Mao C P, Zhang B, Tang X N *et al.* *Journal of Rare Earths*[J], 2014, 32(9): 900
- [3] Li S, Wang Q T, Yu H Q *et al.* *Journal of Porous Materials*[J], 2018, 25(6): 1797
- [4] Jędrzejczyk R J, Turnau K, Chlebda D K *et al.* *Cellulose*[J], 2018, 25(2): 1353
- [5] Alswat A A, Ahmad M B, Hussein M Z *et al.* *Journal of Materials Science & Technology*[J], 2017, 33(8): 889

- [6] Yousefshahi H, Aminsobhina M, Shokri M *et al.* *European Journal of Translational Myology*[J], 2018, 28(3): 7545
- [7] Qi K, Cheng B, Yu J *et al.* *Journal of Alloys & Compounds*[J], 2017, 727: 792
- [8] Dukes D, Gonzales H B, Ravi S *et al.* *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*[J], 2018, 123(1): 288
- [9] Giehn G, Steentjes S, Hameyer K. *IEEE Transactions on Magnetics*[J], 2018, 54(3): 1
- [10] Jiang J, Zou Z, Li Y. *Ferroelectrics*[J], 2018, 527(1): 70
- [11] Li H, Tang X N, Zhang B *et al.* *Materials & Processing Report*[J], 2016, 32(2): 65
- [12] Perdikaki A, Galeou A, Pilatos G *et al.* *ACS Applied Materials & Interfaces*[J], 2016, 8(41): 27 498
- [13] Zhong Y L, Pang X Y, Zhang M *et al.* *Journal of Food Safety & Quality*[J], 2018, 9(4): 706
- [14] Preuer K, Lewis R P I, Hochreiter S *et al.* *Bioinformatics*[J], 2017, 34(9): 1538
- [15] Cheng Xianhua(程先华), Xie Chaoying(谢超英). *Journal of The Chinese Rare Earth Society*(中国稀土学报)[J], 1994, 12(4): 336
- [16] Liu Y, Liu X Q, Liu Z L *et al.* *Materials Science and Technology*[J], 2018, 34(9): 1142
- [17] Strohmeier B R, Hercules D M. *Journal of Catalysis*[J], 1984, 86(2): 266
- [18] Marr G V. *Handbook on Synchrotron Radiation: Vacuum Ultraviolet and Soft X-ray Processes*[M]. North Holland: Elsevier, 2013
- [19] Chi H, Holo H. *Current Microbiology*[J], 2018, 75(3): 272
- [20] Zhang S B, Yang X H, Tang B *et al.* *Chemical Engineering Journal*[J], 2018, 336: 123
- [21] Morsy M K, Elsabagh R, Trinetta V. *Food Control*[J], 2018, 92: 249
- [22] Zue S F, Sun X J, Lv N N *et al.* *ACS Appl Mater Interfaces*[J], 2014, 6(15): 11 988
- [23] Xue D X, Belmabkhout Y, Shekhah O *et al.* *Journal of the American Chemical Society*[J], 2015, 137(15): 5034
- [24] Prakash A, Malhotra R. *Applied Organometallic Chemistry*[J], 2018, 32(2): e4098
- [25] Truffault L, Rodrigues D F, Salgado H R N *et al.* *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*[J], 2016, 147: 151
- [26] Zhang B, Lin Y, Tang X N *et al.* *Journal of Rare Earths*[J], 2010, 28(S1): 451
- [27] Kumar P, Yadav A K, Joshi A G *et al.* *Materials Characterization*[J], 2018, 142: 593

Preparation and Synergistic Antibacterial Mechanism of Terbium/Zinc Antibacterial Silica Gel

Mao Huaming, Zhang Bin, Tang Xiaoning, Hu Yanling, Jiang Miaomiao, Chen Yifan
(Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: Terbium/zinc antibacterial silica gel was prepared by sol-gel method. The better preparation conditions were obtained by controlling single factor variable experiments: the concentration of zinc ion $0.8 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the rare earth terbium concentration $0.003 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and reaction time 1 h. And as-prepared materials were characterized by X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and inductive coupled plasma emission spectrometer (ICP) analyses. The results show that the antibacterial silica gel is amorphous, and its structure is fluffy and porous. The zinc and terbium exist in the form of ZnO and Tb₂O₃, and the contents of Zn and Tb are 1.82% and 0.073%, respectively. The antibacterial test results show that the material has an inhibitory effect on the growth rate of E.coli. The antibacterial rate of the material after adding rare earth terbium increases from 72% to 87%. Synergistic antibacterial effect of rare earth on materials was judged by synergistic effect factor (SEF) and synergy coefficient (T/E), and terbium is a synergistic antimicrobial agent in materials. The synergistic antibacterial mechanism of rare earth was preliminarily analyzed through the results of the specific surface area, pore size and the loading capacity of zinc ions.

Key words: antibacterial silica gel; zinc; rare earth; synergistic antibacterial mechanism

Corresponding author: Zhang Bin, Ph. D., Professor, Faculty of Science, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, P. R. China, E-mail: zhangbin7526@163.com