

载银羟基磷灰石抗菌粉体和陶瓷的制备及抗菌性能

徐伏秋 陈华军* 丁梧秀

(洛阳理工学院环境工程与化学系, 洛阳 471023)

摘要: 采用水热法一步合成载银羟基磷灰石抗菌粉体(Ag-HA), 并将其应用于抗菌陶瓷的制备。研究结果表明水热条件下 HA 实际载银量与 AgNO_3 加入量存在较好的线性关系。XRD 和 TEM 分析结果显示 Ag-HA 与 HA 具有相同的晶体结构, 水热条件下 Ag^+ 取代 Ca^{2+} 在 HA 晶体中的位置, 生成 $\text{Ag}_x\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 。Ag-HA 长度随 Ag^+ 掺入量的增加而增大, 当 Ag^+ 掺入量增加至 1.50% 时, Ag-HA 由棒状生长为晶须状。选择 4.50% Ag-HA 作为抗菌粉体, 其掺入量为 9wt% 时, 陶瓷的抗菌率 >99.9%, 此时釉料中 Ag_3PO_4 含量为 0.56%, 低于目前研究中釉料中 Ag_3PO_4 添加量(2wt%~4wt%), 不但在一定程度上解决了抗菌陶瓷产品成本较高的问题, 而且满足 JC/T 897-2002(抗菌陶瓷制品抗菌性能)对抗菌陶瓷抗菌性能的要求。

关键词: 银; 羟基磷灰石; 水热合成; 抗菌; 陶瓷

中图分类号: O613.72

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2013)12-2582-05

DOI: 10.3969/j.issn.1001-4861.2013.00.362

Preparation and Antibacterial Property of Ag-Doped Hydroxyapatite Antibacterial Powders and Antibacterial Ceramic

XU Fu-Qiu CHEN Hua-Jun* DING Wu-Xiu

(Department of Environment and Chemistry, Luoyang Institute of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

Abstract: Silver doped hydroxyapatite antimicrobial powders were synthesized by one-step reaction, then it was used for preparing antibacterial ceramic. The experimental results show that there was a significant linear correlation between silver content of HA and quantity of silver nitrate at hydrothermal condition. The XRD patterns and TEM photos indicate that HA and Ag-HA have the same crystal structure, and Ca^{2+} in HA crystals is displaced by Ag^+ and $\text{Ag}_x\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ was produced at hydrothermal condition. The length of Ag-HA antimicrobial powders increases with the increase of content of Ag^+ in Ag-HA. Ag-HA antimicrobial powders went from sticks to whisker when the contents of Ag^+ in Ag-HA exceeds 1.5%. 4.50% Ag-HA was selected as antimicrobial powders, an antibacterial rate of antibacterial ceramic is above 99.9%. and at this point, the mass fraction of Ag_3PO_4 in antimicrobial glazes is 0.56%, which was far below 2wt%~4wt% of Ag_3PO_4 in antimicrobial glazes of ongoing research. This technology can not only reduce the cost of producing antibacterial ceramic, but also meet JC/T 897-2002 demands for antibacterial properties of antibacterial ceramic.

Key words: Ag; hydroxyapatite(HA); hydro-thermal method; antibacterial property; ceramic

一般把具有 $\text{M}_{10}^{2+}(\text{ZrO}_4)_6^{3-}\text{X}_2$ -组成的结晶矿物称为磷灰石, 磷灰石的晶体结构很容易产生化学元素的置换, 其中最引人关注的就是羟基磷灰石

$[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, 简称为 HA 或 HAp。由于 HA 与生物硬组织中的磷酸钙有相似的化学成分和结构, 又有良好的生物活性和生物相容性, 是一种非常有希

收稿日期: 2013-01-04。收修改稿日期: 2013-05-26。

国家自然科学基金(No.51279073)和河南省科技攻关课题(No.132102310367)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: chj790118@163.com

望的生物陶瓷材料,成为医学材料的研究热点^[1-2]。近年来, Ag^+ 由于其优良的抗菌性得到了广泛关注^[3-5]。一般认为,银化合物或银金属离子可通过阻碍微生物的呼吸、电子迁移,阻碍酶的合成、破坏蛋白质、损伤细胞膜,干扰 DNA 的结合等方式起到杀菌作用^[6-7],相对于 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 等具有更好的抑制和杀灭细菌的效果^[8-10]。 Ag^+ 担持在 HA 上,因此本质上是安全的。所以银系抗菌粉体成为无机抗菌材料中最重要的一大门类。目前国内外对银系抗菌粉体的研究主要集中在硅酸盐系、磷酸盐系以及氧化物等为载体的抗菌粉体方面,相关的报道也较多^[11-18],而以 HA 为载体的抗菌粉体研究相对较少。当前, Ag^+ 掺杂 HA 的制备方法以离子交换法为主^[19],该方法的缺点是 Ag^+ 与载体的结合较弱,导致 Ag^+ 快速游离而不能保持制品长久的抗菌性,此外使用初期游离出的 Ag^+ 浓度太大也具有毒性,因而不宜采用离子交换法制造抗菌粉体。

本文以水热法一步合成载银羟基磷灰石抗菌粉体(Ag-HA),通过 XRD 和 TEM 等手段对抗菌粉体成分和形貌进行表征,并将制备的抗菌粉体应用于抗菌陶瓷的制备。采用中华人民共和国建材行业标准 JC/T 897-2002(抗菌陶瓷制品抗菌性能)测定抗菌陶瓷的杀菌率。通过上述研究,为该制备方法在抗菌陶瓷实际生产中的应用奠定理论基础。

1 实验方法

1.1 主要试剂和仪器

硝酸钙($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, AR),磷酸氢二铵($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, AR),硝酸银(AgNO_3 , AR),十二烷基苯磺酸钠(SDBS, AR),氨水($\varphi=50\%$, AR),无水乙醇(AR)等。大肠杆菌(ATCC 1818)、金黄色葡萄球菌(ATCC 1811)及黑曲霉临床株型及琼脂培养皿。

B8-Focus 型 X 衍射仪(德国 Bruker 公司),JEM-2100 高分辨透射电子显微镜(日本电子公司);反应釜($\varphi 50 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$,烟台科立化工设备有限公司)。

1.2 Ag-HA 的水热合成

称取 2.13 g 硝酸钙和一定质量的硝酸银、0.10 g 十二烷基苯磺酸钠(SDBS)溶于适量水中,搅拌使其溶解,再用氨水调溶液 $\text{pH}>10$,另取 6.36 g 磷酸氢二铵适量溶于水,同样调溶液 $\text{pH}>10$,在不断搅拌下将磷酸氢二铵逐滴滴加到硝酸钙和硝酸银的混合溶液中,继续搅拌 30 min 后转移至反应釜,在不同水热条件下改变硝酸银加入量进行合成实验。

反应产物经抽滤,去离子水洗涤 2~3 次,再用无水乙醇洗 2~3 次,于 80~90 °C 烘干、研细。

1.3 Ag-HA 银含量的测定

采用福尔哈德法测定抗菌粉体中银含量,准确称取 2.000 g 抗菌粉体,加水 100 mL,加 HNO_3 ($\varphi=50\%$)5.0 mL,加热溶解。冷却后加 2.0 mL 铁铵矾指示剂,以 $0.100 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{NH}_4\text{SCN}$ 标准溶液滴定,先生成 AgSCN 白色沉淀,当有红色的 $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$ 出现即为终点。根据抗菌粉体的质量和 NH_4SCN 标准溶液的用量计算银含量。

1.4 陶瓷的抗菌性实验

采用中华人民共和国建材行业标准 JC/T 897-2002(抗菌陶瓷制品抗菌性能),测定抗菌陶瓷的杀菌率。一般认为一种抗菌材料若能对芽孢杆菌、葡萄球菌有好的抗菌效果,则认为该抗菌材料具有广谱抗菌性。因此本文选择大肠杆菌、金黄色葡萄球菌种菌作为试验菌株,按照通常的培养方法培养并获得。

2 结果与讨论

2.1 Ag-HA 的载银量与 XRD 分析

按照 1.2 试验方法,固定 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 SDBS 用量分别为 6.36 g、2.13 g 和 0.10 g,反应温度为 180 °C,反应时间为 5 h。改变反应过程中 AgNO_3 加入量,按照 1.3 试验方法测定产物 Ag-HA 抗菌粉体实际载银量,考察 AgNO_3 加入量对 Ag-HA 抗菌粉体实际载银量和粉体结构的影响。实验结果如图 1 和图 2 所示。

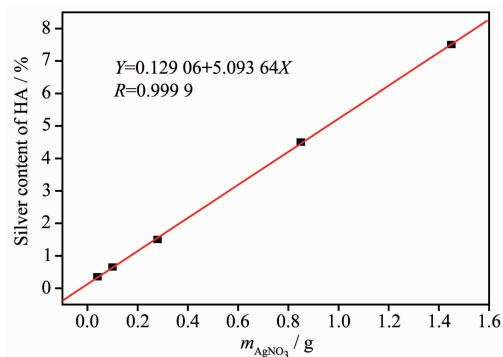


图 1 硝酸银加入量与粉体实际载银量的线性关系

Fig.1 Linear relationship between quantity of silver nitrate and silver content of HA

由图 1 可见,当 AgNO_3 加入量为 0~1.45 g 时,粉体的实际载银量(y)与 AgNO_3 加入量(x)存在线性关系,线性方程为 $y=0.129 06+5.0936 4x$ ($R=0.999 9$)。

粉体实际载银量稍低于 AgNO_3 加入量,说明有少量 Ag^+ 残留于母液中。继续增加 AgNO_3 加入量,所得粉体的 XRD 图出现 Ag_3PO_4 的衍射峰,见下图 2。

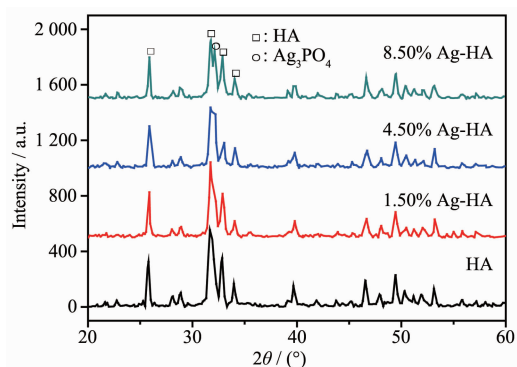


图 2 不同含银量样品的 XRD 图

Fig.2 XRD patterns of the products with various Ag fraction

图 2 为 HA 和 Ag-HA 的 XRD 图。 $2\theta=25.80^\circ$ 、 31.68° 、 32.84° 和 33.96° 处的 4 个峰是 HA 的特征峰。Ag-HA 与 HA (PDF No.09-432) 具有相同的晶体结构。另外,此前研究结果^[20]说明 Ag^+ 取代 Ca^{2+} 在 HA 晶体中的位置,生成 $\text{Ag}_x\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 。

2.2 Ag^+ 掺杂量对 Ag-HA 形貌的影响

图 3 为 HA、0.65% Ag-HA 和 1.50% Ag-HA 用 TEM 获得的晶粒形貌图。

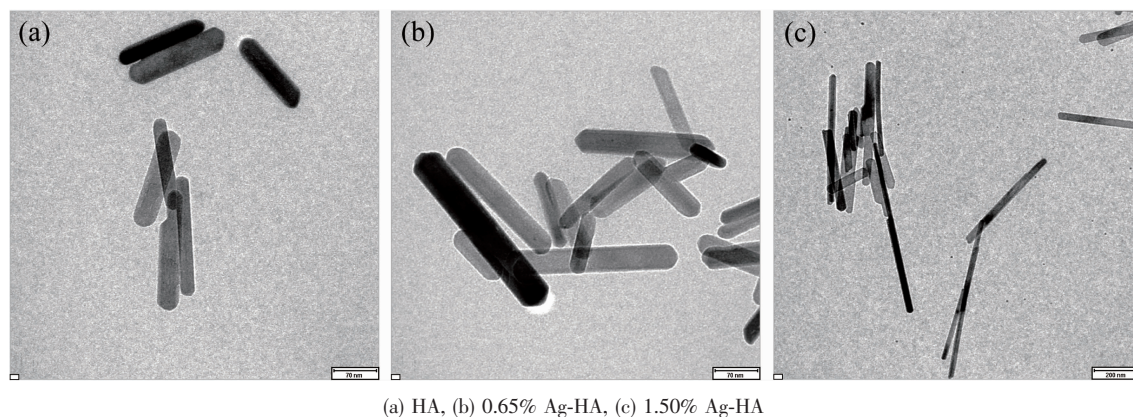
由图 3 可见,HA 晶体中 Ca^{2+} 被 Ag^+ 取代后,晶体形貌发生较大变化,表现为随着 Ag^+ 掺入量的增

加,粉体的直径变化不大,但棒的长度逐渐增大。当 Ag^+ 掺入量增加至 1.50% 时,Ag-HA 由棒状生长为晶须状。这是因为 HA 在结晶结构上存在平行于 c 轴的通道, Ca^{2+} 很容易被 Ag^+ 、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 等金属离子替代,本研究中 Ag^+ 沿 c 轴进入晶胞取代 Ca^{2+} 位置,生成 $\text{Ag}_x\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 。由于二者价态上的差异,结构中存在未饱和的电场力,导致晶体生长变形。故当银掺入量增大时,HA 晶体是沿晶轴方向生长的,样品的长度增加,由棒状生长为晶须状。

2.3 Ag-HA 抗菌粉体类型对陶瓷抗菌性的影响

按照 1.2 实验条件制备 0.35% Ag-HA、0.65% Ag-HA、1.50% Ag-HA、4.50% Ag-HA、7.50% Ag-HA 等 Ag 含量不同的抗菌粉体。将抗菌粉体加入到一定质量的原厂釉料中,超声分散均匀后加入纤维素和水调节釉料粘度和水分含量,所得釉料即为抗菌釉。首先固定各种类型抗菌粉体的掺入量均为 9%,采用 1.4 试验方法考察抗菌粉体类型对抗菌陶瓷抗菌性能的影响。实验过程中目标菌种为大肠杆菌,陶瓷抗菌性能检测标准为中华人民共和国建材行业标准 JC/T 897-2002 (抗菌陶瓷制品抗菌性能),结果见表 1。

由表 1 可见,当抗菌粉体掺入量一定时,陶瓷的抗菌性能随 Ag-HA 抗菌粉体中 Ag^+ 掺入量的增加而增大。因为 Ag^+ 带正电荷,吸引载负电荷的细菌,并与蛋白质的中的巯基(-SH)结合形成牢固的共



(a) HA, (b) 0.65% Ag-HA, (c) 1.50% Ag-HA

图 3 不同 Ag 含量的磷灰石的 TEM 照片

Fig.3 TEM images of the products with various Ag fraction

表 1 抗菌粉体类型对陶瓷抗菌性能的影响

Table 1 Influence of antibacterial agent types on antibacterial performance of ceramic

Types of antibacterial agent	0% Ag-HA	0.65% Ag-HA	1.50% Ag-HA	4.50% Ag-HA	7.50% Ag-HA
<i>Escherichia coli</i> / (cfu·mL ⁻¹)	3.0×10^6	2.1×10^6	7.2×10^3	2.9×10^2	25
Bactericidal rate / %	0	70.0	99.8	>99.9	>99.9

价键,从而使酶失活。细菌机体结构被破坏,导致迅速死亡。 Ag-HA 抗菌粉体中 Ag^+ 含量越高,抗菌性能就越高。当 Ag^+ 掺入量为 1.50% 时(1.50% Ag-HA),陶瓷对大肠杆菌的杀菌率就达到 99.8%, 相对于空白瓷片已经表现出了很高的抗菌率,但仍有部分大肠杆菌($7.2 \times 10^3 \text{ cfu}/100 \mu\text{L}$)没有被杀死,即绝对杀菌率还不够。当 Ag^+ 掺入量为 4.50% 时(4.50% Ag-HA),剩余大肠杆菌的浓度仅为 $2.9 \times 10^2 \text{ cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$,陶瓷的绝对杀菌率较高,所以选择 4.50% Ag-HA 作为抗菌陶瓷的抗菌粉体。(cfu, Colony-Forming Units, 菌落形

成单位)

2.4 4.50% Ag-HA 抗菌粉体用量对陶瓷抗菌性的影响

在抗菌陶瓷制备试验中,选择 4.50% Ag-HA 作为抗菌粉体,改变该抗菌粉体的掺入量,考察抗菌粉体的掺入量对陶瓷抗菌性能的影响。实验过程中选择大肠杆菌作为目标菌种,采用中华人民共和国建材行业标准 JC/T 897-2002(抗菌陶瓷制品抗菌性能),测定抗菌陶瓷对大肠杆菌的杀菌率,结果见表 2。

表 2 4.50% Ag-HA 抗菌粉掺入量对陶瓷抗菌性能的影响

Table 2 Influence of dosage of 4.50% Ag-HA antibacterial agent on antibacterial performance of ceramic

Amount of antimicrobials	0%	3%	6%	9%	12%	15%
<i>Escherichia coli</i> / (cfu $\cdot \text{mL}^{-1}$)	3.0×10^6	7.0×10^5	7.2×10^4	68	25	8
Bactericidal rate / %	0%	76.7%	97.6%	>99.9%	>99.9%	>99.9%

由表 2 可见,陶瓷的抗菌性能随抗菌粉体掺入量的增加而增大。因为釉料中 4.50% Ag-HA 抗菌粉体掺入量越大, Ag^+ 含量就越高,从而抗菌性能就越高。当抗菌粉体的掺入量为 9wt% 时,陶瓷的抗菌率就达到 99.9%。此时釉料中 Ag_3PO_4 含量为 0.56%, 低于目前研究中釉料中 Ag_3PO_4 添加量 (2wt% ~ 4wt%), 在一定程度上解决了抗菌陶瓷产品成本较高的问题。虽有部分细菌未被杀死($6.8 \times 10 \text{ cfu}/100 \mu\text{L}$ (*Escherichia coli*)), 但杀菌率远远高于 JC/T 897-2002(抗菌陶瓷制品抗菌性能)对抗菌陶瓷抗菌性能的要求(杀菌率>90%)。继续增大抗菌粉体加入量,

虽然抗菌效果非常好, 但会改变釉面性质, 所以无论从外观还是从成本考虑都不可取。

2.5 使用时间对陶瓷抗菌性的影响

为了考察抗菌陶瓷的长效抗菌性,在釉料中掺入 9wt% 的 4.50% Ag-HA 抗菌粉体,分别测定 0 时间和 1 年后陶瓷的抗菌性能。抗菌陶瓷对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和黑曲霉的杀菌率如表 3 所示。由表 3 可见,抗菌陶瓷在自然条件下放置 1 年后抗菌率仍大于 99.9%, 长效抗菌实验结果进一步证明水热法合成的载银羟基磷灰石抗菌粉体(Ag-HA)中, Ag^+ 与载体结合强, Ag^+ 不易快速游离。

表 3 使用时间对陶瓷抗菌性能的影响

Table 3 Influence of usage time on antibacterial performance of ceramic

Microorganism	<i>Escherichia coli</i>	<i>Golden staphylococcus</i>	<i>Aspergillus niger</i>
0 y	68	2.7×10^2	8.2×10^2
	>99.9%	>99.9%	>99.9%
1 y	1.2×10^2	5.7×10^2	6.8×10^2
	>99.9%	>99.9%	>99.9%

3 结 论

采用水热法以硝酸钙($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)、硝酸银(AgNO_3)和磷酸氢二铵($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$)为主要原料,制备载银羟基磷灰石抗菌粉体(Ag-HA),并将其应用于抗菌陶瓷的制备。实验结果表明:

(1) 硝酸银加入量在 0~1.45g, 粉体的实际载银量(y)与 AgNO_3 加入量(x)存在较好的线性关系,线性方程为 $y=5.093 \ 64x+0.129 \ 06(R=0.999 \ 9)$, 粉体实际

载银量稍低于 AgNO_3 加入量,说明有少量 Ag^+ 残留于母液中。

(2) XRD 和 TEM 分析结果显示 Ag-HA 与 HA 具有相同的晶体结构, 水热条件下 Ag^+ 取代 Ca^{2+} 在 HA 晶体中的位置,生成 $\text{Ag}_x\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 。 Ag-HA 长度随着 Ag^+ 掺入量的增加而增大, 当 Ag^+ 掺入量增加至 1.50% 时, Ag-HA 由棒状生长为晶须状。

(3) 陶瓷抗菌试验结果表明, 当 Ag-HA 掺入量一定时,陶瓷的抗菌性能随 Ag-HA 中 Ag^+ 掺入量的

增加而增大。选择 4.50%Ag-HA 作为抗菌粉体,抗菌粉体的掺入量为 9wt%时,陶瓷的抗菌率>99.9%,满足 JC/T 897-2002(抗菌陶瓷制品抗菌性能)对抗菌陶瓷抗菌性能的要求。

(4) 目前釉料中普遍存在银添加量大 (2wt%~4wt%),产品成本较高的问题。本研究通过水热法合成抗菌粉体,釉料中银的添加量<1wt%,而杀菌率缺>99.9%,大大降低了抗菌陶瓷的生产成本。

(5) 长效抗菌实验表明,抗菌陶瓷在自然条件下放置 1 年后抗菌率仍大于 99.9%,说明水热法一步合成产物 Ag-HA 中 Ag^+ 与载体结合强, Ag^+ 不易快速游离。

参考文献:

- [1] Steens W, Schneeberger A G, Skripitz R, et al. *Arch Orthop. Trauma Surg.*, **2010**,**130**:921-926
- [2] Iwai T, Harada Y, Imura K, et al. *J. Bone Miner Metab.*, **2007**,**25**:392-399
- [3] Nath S, Kalmodia S, Basu B. *J. Mater. Sci: Mater. Med.*, **2010**,**21**:1273-1287
- [4] Zhang Y, Yin Q S, Zhang Y, et al. *J. Materi. Sci.: Mater. Med.*, **2010**,**21**(8):2453-2462
- [5] WANG Hong(王虹), WANG Peng(王鹏). *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2009**,**25**(11):1928-1934
- [6] LIAO Ma-Hua(廖马花), YAN Wen-Yan(颜文艳), CAI Xiang(蔡祥), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2011**,**27**(5):977-983
- [7] Silver S, Phung L T, Silver G. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **2006**,**33**:627-634
- [8] Kim T N, Feng Q L, Kim J O, et al. *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, **1998**,**9**:129-134
- [9] Ülküseven B, Tavman A, Ötük G, et al. *Folia. Microbiol.*, **2002**,**47**(5):481-487
- [10] Matsumoto N, Sato K, Yoshida K, et al. *Acta Biomater.*, **2009**,**5**(8):3157-3164
- [11] Hwang K S, Hwangbo S, Kim J T. *J. Nanopart. Res.*, **2008**,**10**:1337-1341
- [12] Tuan W H, Chen W R. *J. Mater. Sci. Lett.*, **1994**,**13**:658-659
- [13] XIAO Xiu-Feng(肖秀峰), LIU Rong-Fang(刘榕芳), ZHENG Yang-Zeng(郑炆曾). *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2005**,**21**(7):965-970
- [14] ZHOU Song(周松), LI Yu-Bao(李玉宝), WANG Yan-Ying(王妍娉), et al. *Acta Materiae Compositae Sinica(Fuhe Cailiao Xuebao)*, **2011**,**28**(6):86-91
- [15] GUO Jin-Wu(郭进武), ZHANG Jun(张军), PENG Wei-Tao(彭伟涛), et al. *Acta Materiae Compositae Sinica*, **2011**,**28**(2):170-173
- [16] XIAO Yong(肖勇), GAO Chuang(高闯), SHI Ya-Yun(施亚运), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2012**,**28**(6):1222-1228
- [17] HUANG Zai-Yin(黄在银), QU Song-Sheng(屈松生), ZHAO Qun-Jin(赵群金), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **1998**,**14**(4):490-492
- [18] CHEN Yu(陈于), XU Can(徐灿), SU Jia-Can(苏佳灿), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.(Wuji Huaxue Xuebao)*, **2011**,**27**(4):625-630
- [19] LU Guo-Yu(吕国玉), LI Yu-Bao(李玉宝), WEI Jie(魏杰), et al. *J. Funct. Mater.(Gongneng Cailiao Xuebao)*, **2005**,**36**:888-891
- [20] CHEN Hua-Jun(陈华军), XU Fu-Qiu(徐伏秋), XUE Dong(薛冬), et al. *Acta Chim. Sin.(Huaxue Xuebao)*, **2012**,**70**(12):1362-1366