

M^{2+} ($M=\text{Cu}, \text{Cd}, \text{Ag}, \text{Fe}$)掺杂氧化锌纳米粉晶的抗菌性能

丁 艳 马 歌 李良超* 王玉环 陈瑶瑶 吴 雪
(浙江师范大学化学系先进催化材料教育部重点实验室, 金华 321004)

摘要: 采用柠檬酸溶胶-凝胶法制备了 ZnO 及 M^{2+} 掺杂 ZnO 纳米粉晶($M=\text{Cu}, \text{Cd}, \text{Ag}, \text{Fe}$), 用现代测试技术表征了样品的组成、结构和形貌, 以大肠杆菌(*Escherichia coli*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)和白色念珠菌(*Candida albicans*)为测试菌株, 用抑菌圈、最小抑菌浓度和最小杀菌浓度等方法研究了样品在日光照射下的抗菌活性。结果表明, 与母体 ZnO 相比, $\text{Cu}, \text{Ag}, \text{Cd}$ 掺杂样品的抗菌性能明显地增强, 这可能是由于掺杂金属离子置换 Zn^{2+} 生成了晶格缺陷和电荷缺陷, 阻止了光生电子和光生空穴对的复合从而增强了光催化活性和抗菌活性。

关键词: 溶胶-凝胶法; 纳米氧化锌; 掺杂; 抗菌活性

中图分类号: O614.24; TQ132.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2014)02-0293-10

DOI: 10.11862/CJIC.2014.033

Antibacterial Activities of Doped ZnO Nano-Powder with M^{2+} ($M=\text{Cu}, \text{Cd}, \text{Ag}$ and Fe)

DING Yan MA Ge LI Liang-Chao* WANG Yu-Huan CHEN Yao-Yao WU Xue
(Key Laboratory of the Ministry of Education for Advanced Catalysis Materials, Department of Chemistry,
Zhejiang Normal University, Jinhua, Zhejiang 321004, China)

Abstract: ZnO and doped ZnO nano-powder with M^{2+} ($M=\text{Cu}, \text{Cd}, \text{Ag}$ and Fe) were synthesized by citrate sol-gel method. The composition, structures and morphology of the samples were characterized by means of modern testing techniques. The antibacterial activities of the samples against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* were carried out using inhibition zone, minimum inhibitory concentration and minimal bactericidal concentrations methods in the sunlight. Results showed that the antibacterial activity of samples doped with Cu, Cd and Ag enhanced obviously compared to ZnO , which may be because that the lattice and charge defects produced by M^{2+} ions replaced Zn^{2+} prevented the photogenerated holes and electrons from recombining and enhanced the photocatalytic activity and antibacterial activity.

Key words: sol-gel method; ZnO nanopowder; doping; antibacterial activity

0 引 言

随着社会的发展以及物质生活水平的提高, 人们对生存环境的要求也越来越高。控制和消灭有害细菌的生长和繁殖, 这一与人类健康息息相关的研究课题抗菌剂正日益受到社会各界的关注。

抗菌剂主要有无机、有机和天然三大类。传统的

抗菌剂主要是有机抗菌剂, 大多数是氮、硫、氯等元素的复杂化合物, 如: 季铵盐类、双胍类、醇类、酚类、醛类和有机金属类等。该类抗菌剂虽然短期杀菌效果好, 但大都存在热稳定性欠佳、寿命短和污染环境等缺点。为此, 研究者逐渐将目光投向无机抗菌剂。无机抗菌剂除了有较好的抗菌效果外, 还具有低毒、易分散及较好的热稳定性等特点, 其微量活性无机

收稿日期: 2013-05-06。收修改稿日期: 2013-09-27。

国家自然科学基金(No.21071125)资助项目。

*通讯联系人。E-mail: sky52@zjnu.cn.; 会员登记号: S060016574M。

成份的释放,不会对环境造成任何影响。

纳米 ZnO, 一种具有较宽禁带的新型无机半导体功能材料,是研发和制备各种抗菌、导电、紫外屏蔽和太阳能电池电极等新型功能材料的重要原料^[1-3],由于纳米 ZnO 具有表面效应、小尺寸效应、量子尺寸效应和宏观量子隧道效应,从而获得一系列优异的物理、化学、表面和界面性质,在光学、电学、磁学、催化和抗菌等领域得到广泛的应用。

纳米 ZnO 是当前研究较为活跃的绿色抗菌剂之一。与普通 ZnO 相比,由于小尺寸效应,纳米 ZnO 展现出无毒和非迁移性,对人体基本无害;由于量子尺寸效应和表面效应,纳米 ZnO 在抗菌处理时,具有用量少、抗菌效率高等优点,对于开发绿色环保生活用品具有重要的意义。纳米 ZnO 还具有广谱的抗杀菌效能、耐热性高、安全性和持续性好和价格低廉等优点。纳米 ZnO 在有水和空气的条件下,经太阳光尤其是紫外光照射,能产生光生自由电子(带负电荷)和光生自由电子空穴(带正电荷),并能生成诸如 $\cdot\text{OH}$ 、 O_2^- 和 H_2O_2 等活性氧微粒,这些高活性和强氧化性的活性氧微粒能与多种有机物发生氧化反应,干扰细菌蛋白质的合成,从而有效地抑制细菌的生长繁殖,甚至在短时间内杀死细菌^[4-6]。

然而,细菌的生长和繁衍一般在黑暗条件下进行,ZnO 纳米粒子在弱紫外光照射条件下及黑暗环境中抗菌活性较弱。纳米 ZnO 的功能优化可以通过金属或非金属的掺杂来实现。为此,许多研究小组用

Ag,Ce,N 等元素掺杂^[7-9]来弥补纳米 ZnO 在弱紫外光照射下及黑暗环境中抗菌活性不足的缺陷^[10-11]。另外,有关过渡金属掺杂 ZnO 纳米复合粉体在普通日光照射下抗菌活性的研究也有报道^[12-13]。

然而,本实验所制备的 ZnO 及其掺杂样品具有颗粒小、比表面积大等特点,表现出较强的纳米抗菌效应。由于 M^{2+} 的掺入使样品中存在晶格缺陷,在禁带中产生了附加能级,不仅扩展了掺杂样品的光谱响应范围,而且有助于光生电子空穴(e^--h^+)对的分离,延长了 e^--h^+ 对的寿命,从而提高样品的光催化抗菌活性。

本文采用柠檬酸溶胶-凝胶法制备了 ZnO 及 Cu、Ag、Cd、Fe 掺杂 ZnO 纳米复合粉体,并通过改变烧结温度、掺杂金属种类及其浓度等因素,研究了样品在普通日光照射下对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的抗菌活性,并对其抗菌机制做了初步的探讨,为纳米 ZnO 及其掺杂样品在日光下的抗菌应用提供实验依据。

1 实验部分

1.1 试剂和材料

硝酸锌、硝酸铜、硝酸银、硝酸镉、硝酸铁、柠檬酸、葡萄糖、氯化钠、无水乙醇、氨水等均为分析纯试剂,购于国药集团化学试剂公司,使用时没有进一步提纯;牛肉膏、蛋白胨和琼脂为生化级试剂,购于杭州微生物试剂有限公司;大肠杆菌(ATCC25922)、金

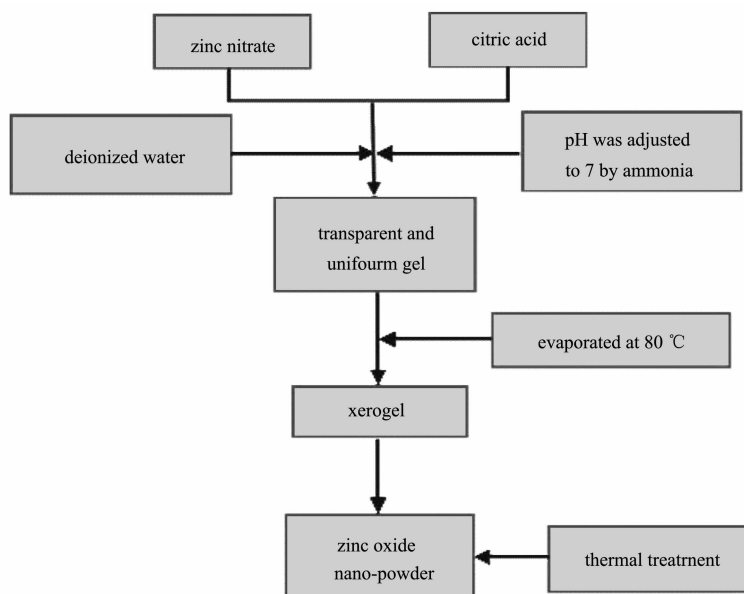


图 1 柠檬酸溶胶-凝胶法制备 ZnO

Fig.1 Schematic diagram of ZnO prepared by citrate sol-gel method

黄色葡萄球菌 (ATCC25923) 和白色念珠菌 (ATCC10231) 由温州康泰生物科技有限公司提供。

1.2 样品的制备

采用柠檬酸溶胶-凝胶法制备纳米 ZnO 。按物质的量比 $n_{\text{硝酸锌}}:n_{\text{柠檬酸}}=1:1$ 称取一定量的硝酸锌、柠檬酸, 加入适量的去离子水溶解, 磁力搅拌下滴加氨水 (25wt%~28wt%) 调 $\text{pH} \approx 7$, 得到均匀透明的溶胶。80 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴蒸发形成湿凝胶, 进一步干燥得到干凝胶。将干凝胶于 500~900 $^{\circ}\text{C}$ (升温速率 10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$) 气氛中热处理 2 h, 自然冷却至室温得到不同温度制备的 ZnO 纳米粉晶, 研磨后备用。按照上述步骤制备了 500 $^{\circ}\text{C}$ M^{2+} 掺杂 ZnO 纳米粉晶 ($M=\text{Cu}, \text{Cd}, \text{Ag}, \text{Fe}$), 其制备流程如图 2-1 所示:

1.3 样品的表征

用 Philips-Pw3040/60 型 X 射线衍射仪, 工作电压为 40 kV, 工作电流为 40 mA, 扫描范围 $2\theta=20^{\circ} \sim 80^{\circ}$, $\text{Cu } K\alpha$ 辐射 ($\lambda=0.154\ 05\ \text{nm}$), 扫描速率 $4^{\circ} \cdot \text{min}^{-1}$ 分析样品的物相和结构。用扫描电子显微镜 (Hitachi S-4800, 日本日立公司) 和透射电子显微镜 (JEOL-2010, 日本日立公司) 观测样品的粒径分布和微观形貌; 用傅立叶红外光谱仪 (FTIR, KBr 压片, 扫描范围 400~4 000 cm^{-1}) 记录样品的红外光谱; 用紫外可见分光光度计 (Evolution, 美国热电) 测定固体样品的紫外-可见漫反射光谱 (200~800 nm); 用 EDTA 容量法测定样品中 Cu^{2+} (络黑 T 为指示剂)、 Zn^{2+} (二甲酚橙为指示剂)、 Fe^{3+} (磺基水杨酸为指示剂) 和 Ag^{+} (置换滴定, $\text{pH}=10$, 紫脲酸铵作指示剂) 的含量, 用硫化物沉淀法测定 Cd^{2+} 的含量; 用紫外-可见光谱仪 (XIN MAO UV-7504, 扫描范围 300~800 nm, OD 600 nm) 监测样品对菌株的抑制。

1.4 抗菌性能测试

1.4.1 培养基和菌悬液的制备

按文献^[14]制备牛肉膏蛋白胨培养基和沙堡氏培养基, 分别用于细菌和真菌的培养。供试菌种为大肠

杆菌 (*E. coli*)、金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 和真菌白色念珠菌 (*C. albicans*)。

取菌种划平板分离得单菌落, 用接种环挑取培养的菌株接种到无菌液体培养基中, 置于振荡箱内, 在恒温 37 $^{\circ}\text{C}$, 转速 100 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下振荡 24 h, 用无菌生理盐水稀释成浓度为 $1 \times 10^5 \sim 9 \times 10^5\ \text{cfu} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的菌悬液, 摇匀后备用。

1.4.2 抑菌圈实验

按文献方法^[15]进行抑菌圈实验, 并以无菌滤纸片做阴性对照。用游标卡尺测量抑菌圈直径, 每个样品平行测试 3 次, 取平均值。

1.4.3 最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 实验

称取一定量的抗菌样品溶解于无菌水中, 超声分散后配制成 8 000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的抗菌剂悬浮液, 用无菌移液管移取 500 μL 的抗菌剂悬浮液, 用无菌液体培养基稀释至 5 mL, 配制成 800 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的抗菌剂悬浮液。采用二倍稀释法将抗菌剂悬浮液依次稀释得到 400、200、100、50、25、12.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 不同浓度梯度的抗菌剂测试液。取测试液各 5 mL, 移取 100 μL 菌悬液加入到以上测试液中作为抗菌处理液, 恒温 37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡 24 h。以含抗菌剂的无菌液体培养液作为参比液体。用紫外可见分光光度计 (OD=600 nm) 测试样品的吸光度值, 以处理液和参比液的吸光度相同的最小抗菌剂浓度为该抗菌剂的最小抑菌浓度 (MIC), 使活菌生长减少 99% 以上的最小抗菌剂浓度为该抗菌剂的最小杀菌浓度 (MBC)。

2 结果与讨论

2.1 样品的组成和 X-射线衍射

通过化学方法获得样品的组成如表 1 所示。从表中可以看出, 所有样品的金属粒子含量的测定值和理论值非常吻合, 表明制备样品的组成与理论值基本一致。

为研究不同制备温度对 ZnO 微粒尺寸、形貌及

表 1 制备样品的化学组成^a

Table 1 Chemical of as-prepared samples

Samples	Contents / %		Composition
	Mn^{2+}	Zn^{2+}	
ZnO	—	79.86 (80.34)	$\text{Zn}_{0.994}\text{O}$
$\text{Cu}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$	$x=0.02$	1.62 (1.56)	$\text{Cu}_{0.021}\text{Zn}_{0.974}\text{O}$
	$x=0.05$	3.98 (3.91)	$\text{Cu}_{0.051}\text{Zn}_{0.949}\text{O}$
	$x=0.08$	6.34 (6.26)	$\text{Cu}_{0.081}\text{Zn}_{0.919}\text{O}$
	$x=0.10$	7.96 (7.83)	$\text{Cu}_{0.101}\text{Zn}_{0.899}\text{O}$

续表 1

Cd _x Zn _{1-x} O	x=0.02	2.83(2.73)	77.26(77.84)	Cd _{0.02} Zn _{0.979} O
	x=0.05	6.84(6.71)	73.86(74.18)	Cd _{0.05} Zn _{0.949} O
	x=0.08	10.67(10.56)	70.34(70.65)	Cd _{0.08} Zn _{0.919} O
	x=0.10	13.14(13.01)	68.02(68.36)	Cd _{0.10} Zn _{0.899} O
Ag _x Zn _{1-x} O _{1+α/2}	x=0.02	2.75(2.63)	77.67(78.07)	Ag _{0.02} Zn _{0.989} O
	x=0.05	6.73(6.47)	74.36(74.52)	Ag _{0.05} Zn _{0.973} O
	x=0.08	10.46(10.20)	70.77(71.08)	Ag _{0.08} Zn _{0.957} O
	x=0.10	12.87(12.62)	67.78(68.85)	Ag _{0.10} Zn _{0.945} O
Fe _x Zn _{1-x} O _{1+α/2}	x=0.02	1.41(1.37)	78.28(78.76)	Fe _{0.02} Zn _{0.968} O
	x=0.05	3.58(3.44)	76.31(76.63)	Fe _{0.05} Zn _{0.924} O
	x=0.08	5.67(5.53)	74.14(74.46)	Fe _{0.075} Zn _{0.881} O
	x=0.10	7.07 (6.93)	72.78(73.02)	Fe _{0.097} Zn _{0.854} O

^aData in parentheses are the theoretical values

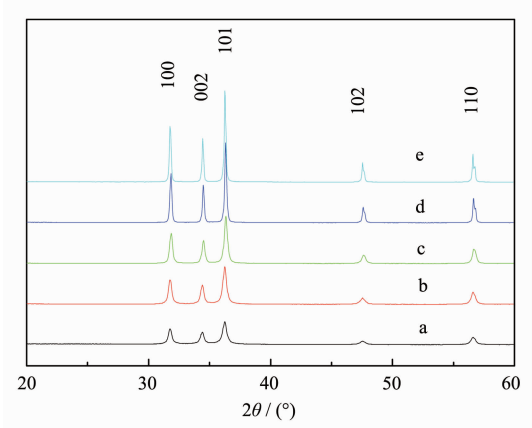
抗菌性能的影响，分别在 500、600、700、800 和 900 ℃下烧结制备 ZnO 微粒。

从图 2 中可以看出,不同温度制备的 ZnO 粒子都具有六方纤锌矿结构($a=0.324\ 9\ \text{nm}$, $c=0.5206\ \text{nm}$,空间群: $P6_3mc\ (186)$), $2\theta=31.75^\circ$ 、 34.38° 、 36.22° 、 47.55° 、 56.55° 处出现的衍射峰与六方纤锌矿结构的 ZnO 标准谱图(JCPDS 89-510)完全一致,分别对应(100)、(002)、(101)、(102)、(110)晶面。从图中未观察到其他杂峰,说明制备的 ZnO 晶型单一,纯度很高。根据 Scherrer 方程^[16]可计算出 ZnO 晶粒的平均尺寸:

$$D_{hkl} = \frac{k\lambda}{\beta_{hkl}\cos\theta_{hkl}}$$

其中 D_{hkl} 为垂直于(hkl)晶面方向的平均晶粒尺寸(nm), k 是常数取 0.89, λ 为 X 射线入射波长($\lambda=0.154\ 2\ \text{nm}$), β_{hkl} 为半高峰宽(弧度), θ_{hkl} 为布拉格角($^\circ$),不同温度的氧化锌平均晶粒大小如表 2 所示:

图 2 和表 2 表明,随着烧结温度的升高,样品衍射峰更强,晶型更好,平均晶粒尺寸明显增大。因此,从粒子尺寸和抗菌活性角度考虑,选用 500 ℃烧结制备 M^{2+} 掺杂 ZnO 样品。



a~e: 500~900 ℃

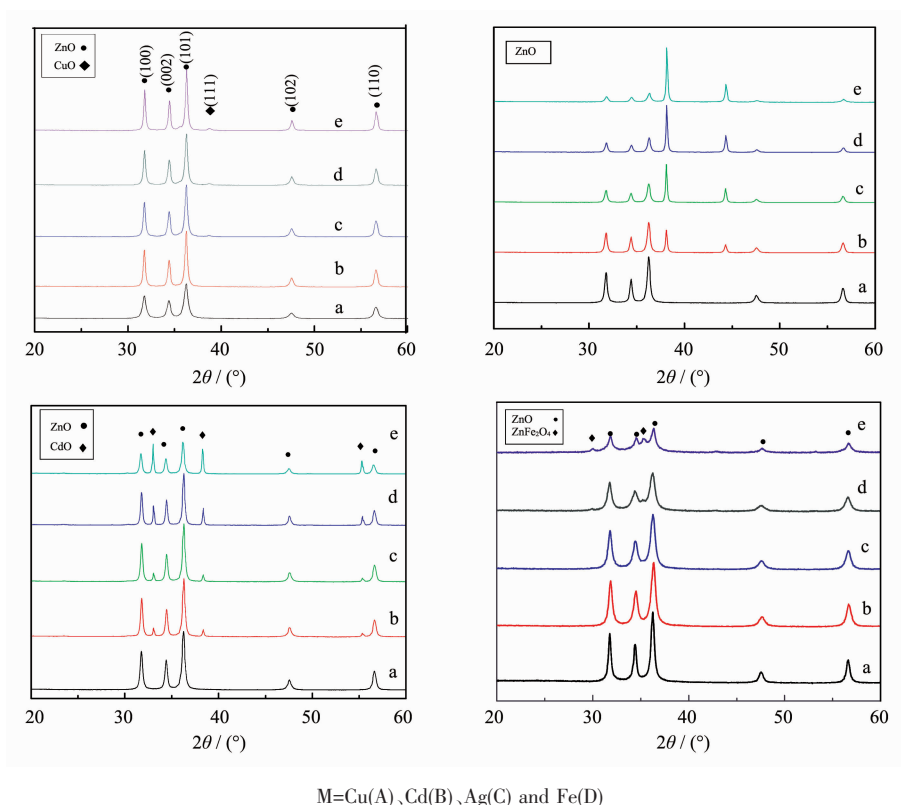
图 2 不同烧结温度制备 ZnO 的 XRD 衍射图
Fig.2 XRD patterns of ZnO particles by sintering at different temperature

图 3(A~D)是 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ag^+ 和 Fe^{3+} 掺杂 ZnO 样品(500 ℃, 2 h)的 XRD 图。从图中发现 $2\theta=31.75^\circ$ 、 34.38° 、 36.22° 、 47.55° 、 56.55° 处的衍射峰属于六方纤锌矿结构 ZnO 的特征峰,分别对应(100)、(002)、(101)、(102)、(110)晶面衍射峰。从图 3(A)中发现, Cu^{2+}

表 2 不同温度的氧化锌平均晶粒尺寸

Table 2 Average size of ZnO particles prepared at different temperatures

Calcination temperature / $^\circ\text{C}$	Average grain diameter / nm
500	21.6
600	31.2
700	48.6
800	130
900	201



$M=\text{Cu}(\text{A}), \text{Cd}(\text{B}), \text{Ag}(\text{C})$ and $\text{Fe}(\text{D})$

图 3 M^{2+} 掺杂 ZnO 样品的 XRD 图

Fig.3 XRD patterns of ZnO samples with doping of M^{2+}

掺杂量 $x < 0.05$ 时, XRD 谱图上只有 ZnO 的晶面衍射峰, 说明 Cu^{2+} 已掺入 ZnO 晶格中, ZnO 的晶体结构完整; 当 Cu^{2+} 含量 $x \geq 0.05$ 时, 复合物中出现了 CuO 的特征峰(111 晶面), 与单斜黑铜矿结构的 CuO 标准谱图(JCPDS 45-937)相一致, 说明 Cu 在 ZnO 中的固溶度不超过 5at%。

从图 3(B~C)中观察到 Cd^{2+} 和 Ag^{+} 的适宜掺杂量(x)不超过 0.02, 这是由于 Cd^{2+} 半径(97 pm)和 Ag^{+} 半径(126 pm)比 Zn^{2+} (74 pm)的大得多, 因而 Cd 和 Ag

在 ZnO 晶格中的固溶度相对较低, 只有少量的 Cd 和 Ag 进入 ZnO 的主晶格中, 过量的部分以 CdO 和 Ag 单质的形式存在于 ZnO 的表面。

由图 3(D)获悉, Fe 的适宜掺杂量 $x \leq 0.08$ 。当 $x = 0.10$ 时, 出现了立方结构的 ZnFe_2O_4 的衍射峰, 即 Fe^{3+} 与 ZnO 作用生成了立方结构的 ZnFe_2O_4 。

2.2 形貌分析

图 4 是 500 °C 下烧结的 ZnO 样品的 SEM (a) 和 TEM (b) 照片。图中显示 ZnO 微粒为不规则的六方

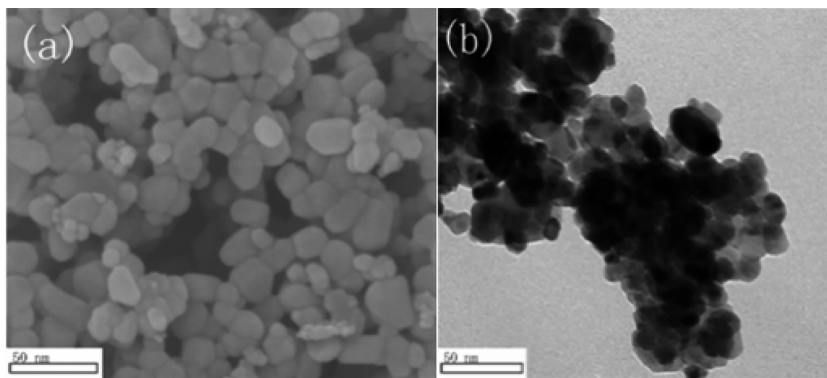


图 4 ZnO 粒子(500 °C)的 SEM(a)和 TEM 图(b)

Fig.4 SEM(a) and TEM(b) images of ZnO particles prepared at 500 °C

型,粒子尺寸约 20~30 nm,分布比较均匀,且存在一定程度的团聚现象。

图 5 是掺杂 ZnO 样品的 SEM 图,从图中可以看出铜掺杂的氧化锌样品为不规整的六角球形粒子,尺寸约为 20~30 nm,分布也比较均匀;Ag、Cd、Fe 掺杂的氧化锌颗粒明显不均一,而且形貌也不规

整。这是因为 Cu^{2+} 离子半径小于 Zn^{2+} 的半径,容易掺入 ZnO 中形成固溶体,而 Ag^+ 、 Cd^{2+} 、 Fe^{3+} 的半径和电荷均与 Zn^{2+} 有较大的差别,两种因素限制了掺杂剂在 ZnO 中的固溶度,故掺杂样品的形貌和尺寸与 ZnO 存在一定的差异。

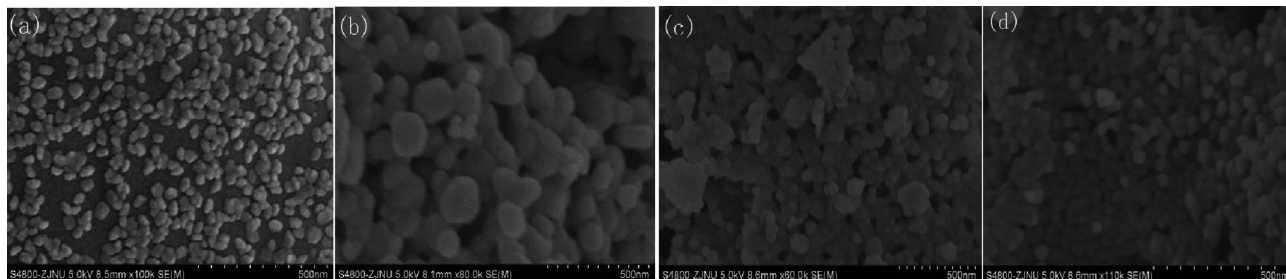


图 5 $\text{Cu}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}$ (a), $\text{Ag}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}_{0.99}$ (b), $\text{Cd}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}$ (c) 和 $\text{Fe}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}_{1.01}$ (d) 的 SEM 图

Fig.5 SEM image of $\text{Cu}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}$ (a), $\text{Ag}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}_{0.99}$ (b), $\text{Cd}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}$ (c), $\text{Fe}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}_{1.01}$

2.3 紫外-可见漫反射吸收光谱

图 6 是 ZnO 及其 M^{n+} 掺杂样品的紫外可见漫反射(UV Vis DRS)吸收光谱。从图可以看出,所有样品在 360~371 nm 之间都有一个强吸收峰,且按 Cd (364 nm)、Ag(366 nm)、Cu(371 nm)次序掺杂样品的吸光度增加,吸收峰的红移幅度增大。除 ZnO 样品外,其它掺杂样品在 450~550 nm 范围都出现宽的弥散峰。这是由于 ZnO 禁带宽度为 3.2 eV,只能吸收波长小于 390 nm 的紫外光,激发价带的电子跃迁至导带;而 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Ag^+ 掺杂后在 ZnO 半导体的价带与导带之间引入了一个杂质能级,该能级位于导带和价带之间,降低了禁带宽度,波长大于 390 nm 的可见光可以使其价带的电子经过二次跃迁至导

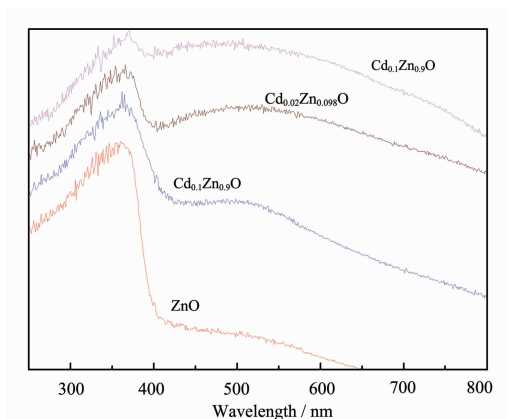


图 6 ZnO 及其 M^{n+} 掺杂样品的紫外可见漫反射吸收光谱

Fig.6 UV-Vis DRS spectra of ZnO and M^{n+} doping samples

带,从而增加催化剂的光响应范围和光催化效率。

2.4 抗菌性能

图 7 给出了 ZnO 粒子尺寸对其抗菌活性的影响。由图发现,ZnO 抗菌活性随其粒子尺寸的减小而明显增大。因为随着粒子尺寸的减小,比表面积剧增,具有更高的表面能,更容易与细菌等微生物发生作用;由于比表面积的增大,表面缺陷的增多,光生电子空穴对更不易复合,因而具有更高的量子效率^[17]。

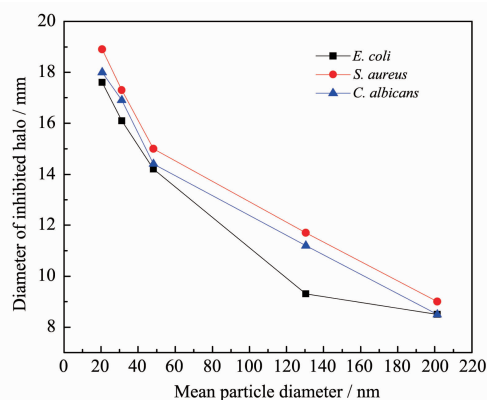
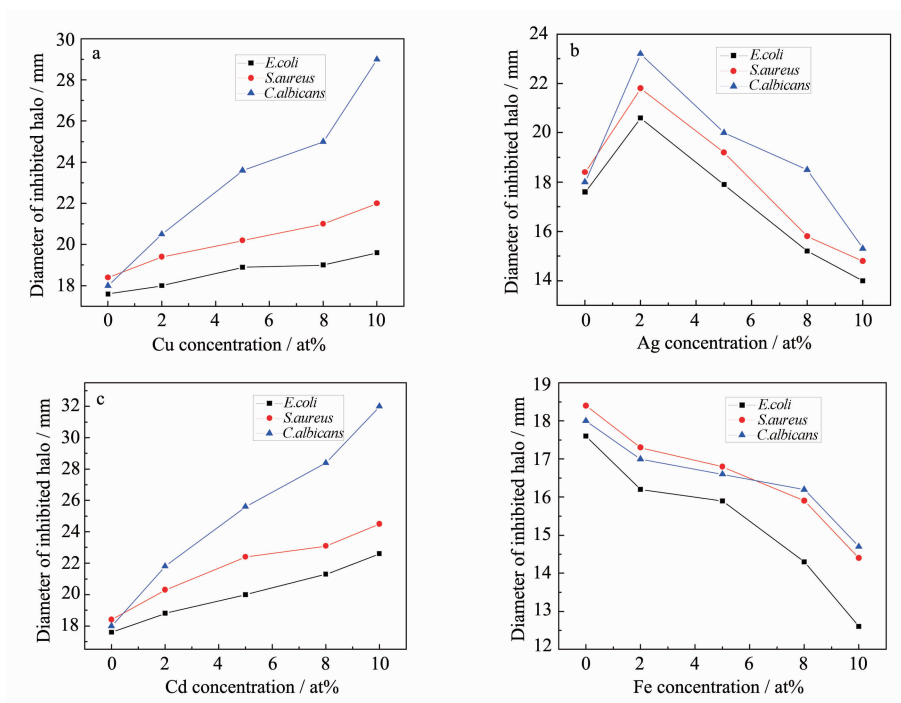


图 7 ZnO 粒子的尺寸对其抗菌活性的影响

Fig.7 Effect of ZnO particles size on its antibacterial activity

在自然光条件下,考察不同金属离子及不同浓度掺杂的 ZnO 样品对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的抑菌性能,所得结果如图 8 所示。由图可知,随着 Cu^{2+} 的掺杂浓度的提高,样品的抑菌能力逐渐增强。当 Cu^{2+} 掺杂浓度达到 10at% 时,样品对大

图 8 $\text{Cu}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$ (a), $\text{Ag}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}_{1-x/2}$ (b), $\text{Cd}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$ (c) 和 $\text{Fe}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}_{1+x/2}$ (d) 的抑菌活性Fig.8 Antibacterial activity of $\text{Cu}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$ (a), $\text{Ag}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}_{1-x/2}$ (b), $\text{Cd}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$ (c) and $\text{Fe}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}_{1+x/2}$ (d)

肠杆菌、金黄色葡萄球菌和白色念珠菌的抑菌圈直径分别达到 19.6、22.0 和 29.0 mm, 且其对白色念珠菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果要好于大肠杆菌,

这是由于革兰氏阴性菌(大肠杆菌)细胞壁中存在特殊的脂质双层结构, 对抗菌药物具有一定的阻断和抵抗作用^[18]。

表 3 掺杂氧化锌样品最小抑菌浓度和杀菌浓度

Table 3 MICs and MBCs of doped ZnO samples

Sample	MICs / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)			MBCs / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
ZnO	200	200	200	400	200	400
$\text{Cu}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$	$x=0.02$	200	100	500	500	250
	$x=0.05$	100	50	200	200	100
	$x=0.08$	100	50	200	200	100
	$x=0.10$	50	25	100	100	50
	$x=0.12$	25	10	50	50	25
$\text{Cd}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}$	$x=0.02$	200	200	400	400	400
	$x=0.05$	200	100	400	400	250
	$x=0.08$	50	25	100	100	50
	$x=0.10$	25	10	50	50	30
	$x=0.12$	10	5	25	25	15
$\text{Ag}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}_{1-x/2}$	$x=0.02$	100	50	200	200	100
	$x=0.05$	100	100	200	200	200
	$x=0.08$	200	200	400	400	400
	$x=0.10$	400	200	700	400	400
	$x=0.12$	800	400	1500	800	800
$\text{Fe}_x\text{Zn}_{1-x}\text{O}_{1+x/2}$	$x=0.02$	200	200	400	400	400
	$x=0.05$	400	200	800	400	400
	$x=0.08$	600	600	1000	1000	700
	$x=0.10$	800	800	1500	1500	1500
	$x=0.12$	1000	1000	2000	2000	2000

与 Cu 一样, Cd 的掺杂也使得 ZnO 抗菌性能大大增强。一方面, 掺杂 $\text{Cu}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ 置换 Zn^{2+} 生成了晶格缺陷, 能阻止光生电子和光生空穴对的复合, 从而能提高氧化锌抗菌活性; 另一方面, 由 XRD 图可知 Cu/Cd 掺杂的氧化锌中存在少量的 CuO 和 CdO, 它们本身也具较高的抗菌活性。

两种因素导致 Cu、Cd 的掺杂使得 ZnO 抗菌性能显著增强。同理, Ag 掺杂量 $x=0.02$ 的样品具有最好的抗菌活性也是这两种因素综合作用的结果。此外, 随着 Fe 掺杂量的增加, 由于生成了部分稳定的 ZnFe_2O_4 , 致使其掺杂样品的抗菌性能减弱。从掺杂样品对人体的毒性和环境的安全性角度出发, Cu 掺杂 ZnO 具有更好的使用价值, 而且原料丰富, 价格低廉。

不同金属离子掺杂 ZnO 样品的最小抑菌浓度 (MIC) 和最小杀菌浓度 (MBC) 列于表 3。结果表明, 具有较大抑菌圈的样品一般具有较低的 MIC, 这与抑菌圈实验得出的抗菌活性结果相一致。根据 HG/T3794-2005 标准^[19], 无机抗菌剂的最小抑菌浓度 $\text{MIC} < 800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 为抗菌性能合格。

2.5 抗菌机理

ZnO 和掺杂 ZnO 样品可能的抗菌机理包括光催化抗菌机理^[20-21]、金属离子抗菌机理^[22-23]和纳米抗菌机理^[24-25]。

本征的 ZnO 是 n 型半导体, 当大于或等于 ZnO 吸收阈值的光照射 ZnO 晶体后, 产生光生电子 (e^-)-空穴 (h^+) 对, 并很快迁移到粒子表面; 同时, e^- - h^+ 对可能复合, 适当的清除剂或表面缺陷可以防止其复合。在电场 (氧化锌浸没在溶液中形成界面双电层) 的作用下, e^- - h^+ 对发生分离, 分别向氧化锌表面迁移, 利用它们较强的氧化还原能力 (h^+ 是强氧化剂, e^- 是强还原剂) 可以氧化或还原许多物质。ZnO 光催化原理如图 9 所示。

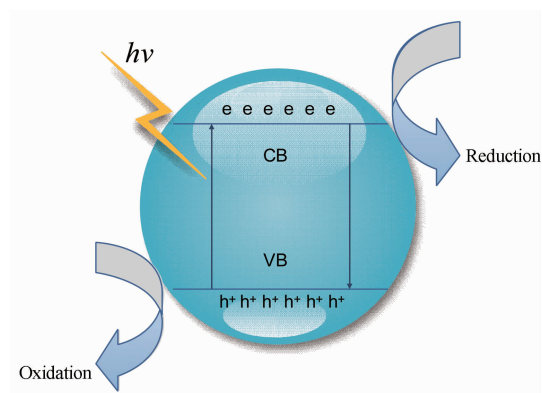


图 9 ZnO 光催化反应示意图

Fig.9 Schematic diagram of ZnO photocatalytic reaction

研究发现^[22], ZnO 在光催化过程中释放的活性氧 ($\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 $\text{HO}_2\cdot$ 和 H_2O_2) 都具有很高的氧化还原电位, 可以无选择性地把有机物 (包括细菌等微生物细胞膜上的有机物) 氧化分解为成 CO_2 、 H_2O 或无机离子。

掺杂金属离子对 ZnO 的抗菌活性具有重要的影响。其一, Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 掺杂的 ZnO 因为具有较高的缺陷浓度, 使 e^- - h^+ 对复合的机率大幅下降, 导致光催化量子效率提高, 且掺 Cu^{2+} 的氧化锌的结合能 (3.4 eV) 比纯 ZnO 的结合能 (3.9 eV) 小^[26], CuO (1.70 eV) 和 CdO (2.20 eV) 的禁带宽度明显低于 ZnO (3.37 eV), 此类掺杂可明显降低 ZnO 半导体的禁带宽度^[27], 有利于提高掺杂样品在可见光区的响应范围, 提高其光催化反应活性 (见表 3)。

其二, Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} 等金属粒子容易进入细菌细胞体内与活性蛋白酶上的巯基 (-SH) 等官能团发生作用, 改变其结构和性能, 导致细菌无法完成正常的生理活动而死亡。Ag⁺ 掺杂 ZnO 在掺杂浓度 $x=0.02$ 时具有较好的抗菌活性, 这是由于掺入的 Ag⁺ 可成为光生电子的浅势捕获能阱, 有助于 e^- - h^+ 对的分离, 延长了 e^- - h^+ 对的寿命, 从而提高样品的光催

表 4 日光下和黑暗中样品的最小杀菌浓度

Table 4 MBCs of samples in the sunlight and the dark

Samples	MBCs / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)					
	In the sunlight			In the dark		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
ZnO	200	200	200	2000	2000	2000
$\text{Cu}_{0.1}\text{Zn}_{0.9}\text{O}$	50	50	25	1200	1200	1000
$\text{Cd}_{0.1}\text{Zn}_{0.9}\text{O}$	25	25	10	1200	1200	800
$\text{Ag}_{0.02}\text{Zn}_{0.98}\text{O}_{0.99}$	100	100	50	1400	1400	1000

化抗菌活性;然而,随着 Ag^+ 掺杂浓度的进一步增大,一方面 Ag 以单质形式在晶体表面析出妨碍了 ZnO 对光能的吸收,另一方面 Ag 单质的析出会成为 e^-h^+ 对的复合中心,从而导致光催化抗菌活性下降。 Fe^{3+} 掺杂容易生成 ZnFe_2O_4 , 使得 ZnO 六方纤锌矿型晶体结构被破坏,导致其光催化效率降低,并且生成的 ZnFe_2O_4 具有较高的稳定性,在水中不易解离出具有抗菌作用的金属离子,因此随着 Fe^{3+} 掺杂浓度的增加样品的抗菌活性明显减弱。其三, ZnO 及其掺杂样品在含水介质中缓慢释放 M^{2+} , 由于细菌表面大部分带负电荷,通过库伦作用力被吸附到抗菌剂的表面,引起细菌表面电荷失衡,造成细菌发生严重的形变,导致细菌发生破裂,出现“溶菌”现象而死亡。在杀灭细菌后, M^{2+} 可以从细菌中游离出来,重复上述过程。有人用 10 倍浓度的 Zn^{2+} 离子盐进行同样的检测,未获得理想的抗菌效果^[28]。因此, M^{2+} 应当不是 ZnO 及掺杂 ZnO 抗菌的主要机理。

此外,纳米级 ZnO 及其掺杂样品具有很高的比表面积和比表面能,可以吸附或沉积到细菌的细胞表面,干扰细胞膜的正常功能,使得细菌无法与外界进行正常的物质和能量交换而死亡。

为了进一步证实 ZnO 及其掺杂样品的抗菌机理,我们做了黑暗中和日光下样品的最小杀菌浓度的对照试验,结果(见表 4)表明 ZnO 及其掺杂样品主要表现为光催化抗菌机理。

3 结 论

采用柠檬酸溶胶-凝胶法,在 $500\text{ }^\circ\text{C}$ 下烧结 2 h 制备了 ZnO 及 Cu 、 Ag 、 Cd 和 Fe 掺杂的 ZnO 纳米粉晶,样品具有较小的晶粒尺寸($20\sim 30\text{ nm}$),且分布均匀。抗菌活性测试表明, ZnO 粒子尺寸越小,其抗菌活性越大,因为随着粒子尺寸的减小,比表面积和表面能剧增,更容易与细菌等微生物发生作用,且比面积的增大,表面缺陷的增多,减小了光生电子空穴对复合的几率,具有更高的量子效率。另外, Cu 、 Ag 、 Cd 的掺杂使得 ZnO 抗菌性能大大增强,可能的原因是,一方面由于掺杂金属离子置换 Zn^{2+} 生成了晶格缺陷,阻止了光生电子和光生空穴对的复合,提高了光催化抗菌的效率;另一方面来自于 Cu 、 Ag 、 Cd 的氧化物本身具有的抗菌作用。至于 Fe 掺杂样品的抗菌性能反而减弱,可能与生成稳定的 ZnFe_2O_4 有关。实验结果还证实, ZnO 及其掺杂样品主要表现为光催化抗菌机理。

参考文献:

- [1] HAO Yan-Zhong(郝彦忠), LU Jun-Ai(卢俊爱). *J. Funct. Mater.*(功能材料), **2005**,**36**(5):726723
- [2] Tsukazaki A, Ohtomo A, Onuma T, et al. *Nat. Mater.*, **2005**,**4**: 4246
- [3] Sawai J, Igarashi H, Hashimoto A, et al. *J. Chem. Eng. Jpn.*, **1995**,**28**:28829
- [4] Yang H, Wang K, Ding X G. *J. Chin. Ceram. Soc.*, **2002**,**30**: 585-588,596
- [5] LIAO Li-Ling(廖莉玲), LIU Ji-Ping(刘吉平). *Modern Chem. Ind.*(现代化工), **2001**,**21**(7):62-64
- [6] CHU Long-Sheng(楚珑晟), ZHOU Zuo-Wan(周祚万), DUAN Xiao-Fei(段晓飞). *Mater. Rev.*(材料导报), **2003**,**17**(6):84-85
- [7] LI Zhen-Jiang(李镇江), CEN Wei(岑伟), GUO Feng(郭峰), et al. *J. Funct. Mater.*(功能材料), **2007**,**38**(9):3437-3432
- [8] XUE Tao(薛涛), ZENG Shu(曾舒), MAO Jian(毛键), et al. *J. Chin. Soc. Rare Earths*(中国稀土学报), **2006**,**24S**:45-48
- [9] Yamamoto O, Jun S W, Tadashi S. *Int. J. Inorg. Mater.*, **2000**,**2**:451-454
- [10] MA Ge(马歌), FAN Jian-Qing(范俭青), LI Liang-Chao(李良超), et al. *Chinese J. Inorg. Chem.*(无机化学学报), **2013**,**29**(4):715-722
- [11] ZHANG Shao-Yan(张绍岩), DING Shi-Wen(丁士文), LIU Shu-Juan(刘淑娟), et al. *Acta Chim. Sinica*(化学学报), **2002**,**7**:1225-1229
- [12] GUO Bin-Yan(郭炳炎), LI Ai-Dong(李爱东), KONG Ji-Zhou(孔继周), et al. *China Patent*, 102417220 A.2012-04-18
- [13] Bai H W, Liu Z Y, Sun D D. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2011**,**13**:6205-6210
- [14] Rao K S V K, Reddy P R, Lee Y I, et al. *Carbohydr. Polym.*, **2012**,**87**:920-925
- [15] Liang X X, Sun M X, Li L C, et al. *Dalton Trans.*, **2012**,**41**: 2804-2811
- [16] GUO Jin-Ling(郭金玲), SHENG Yue-Nian(沈岳年). *Neimenggu Normal Univ.*(内蒙古师范大学学报), **2009**,**38**(3):357-358
- [17] Yamamoto O. *Int. J. Inorg. Mater.*, **2001**,**3**:643-646
- [18] Li J H, Hong R Y, Li M Y, et al. *Prog. Org. Coat.*, **2009**, **64**:504-509
- [19] HG/T3794-2005 industry standard of the People's Republic of China(HG/T3794-2005 中华人民共和国化工行业标准). Beijing:Chem. Ind. Press, **2005**.
- [20] Adams L K, Lyon D Y, Alvarez P J. *J. Water Res.*, **2006**,**40**: 3527-3532
- [21] Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, et al. *Chemosphere*, **2008**,

- 71:1308-1316
- [22]George S, Pokhrel S, Xia T, et al. *ACS Nano*, **2010**,**4**:15-29
- [23]Li J H, Hong R Y, Li M Y, et al. *Prog. Org. Coat.*, **2009**, **64**: 504-509
- [24]JIAO Zhao-You(焦兆友), ZHAO Jiao-Ping(赵建平), PANG Qiu-Yun(庞秋云). *J. Qufu Normal Univ.*(曲阜师范大学学报), **2008**,**34**(1):76-79
- [25]TANG Er-Jun(唐二军). *Thesis for the Doctorate of Tianjin University*(天津大学博士论文), **2005**.
- [26]Yan X L, Itoh T, Dai S Y, et al. *J. Phys. Chem. Solids* **2013**,**74**:1127-1130
- [27]TANG Xin (唐鑫), LU Hai-Fei (吕海峰), MA Chun-Yu (马春雨), et al. *Acta Phys. Sin.* (物理学报), **2008**,**57**(2): 1066-1072
- [28]MA Zheng-Xian(马正先), HAN Yue-Xin(韩跃新), MA Yun-Dong(马云东), et al. *Mini. Metallur.*(矿业), **2004**,**13**(4):57-59