

# 二氧化钛纳米棒的制备及抗菌性能研究

张嘉明 张洪光\* 吴瑞 吕宏达 夏豹豹 梁益铭

(齐齐哈尔医学院 药学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘要** 通过一种简单的水热法制备了 TiO<sub>2</sub> 纳米棒。采用微量稀释法研究 TiO<sub>2</sub> 纳米棒对绿脓杆菌的抗菌性能, 细菌菌落计数基于光密度测试在 96 孔细胞培养板上生长的细菌给出。抗菌结果表明, TiO<sub>2</sub> 纳米棒对革兰氏阴性菌(绿脓杆菌)表现出明显的抗菌效率。TiO<sub>2</sub> 纳米棒对绿脓杆菌的抗菌效率达到 95.2%。TiO<sub>2</sub> 纳米棒具有优异的抗菌性能。

**关键词** TiO<sub>2</sub> 纳米棒; 水热法; 抗菌性能

**中图分类号:** O65 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-1035(2018)06-0068-03

## Preparation of TiO<sub>2</sub> Nanorods and Research of Its Antibacterial Property

ZHANG Jiaming, ZHANG Hongguang\*, WU Rui, LV Hongda, XIA Baobao, LIANG Yiming  
(College of Pharmacy, Qiqihar Medical University, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China)

**Abstract** TiO<sub>2</sub> nanorods were synthesized by a simple hydrothermal method. The antibacterial properties of TiO<sub>2</sub> nanorods against *Pseudomonas aeruginosa* (*P. Aeruginosa*) were tested through microdilution method. The bacterial growth curve was given based on optical densities (OD) and colonies growth on 96-well cell culture plate. The results show TiO<sub>2</sub> nanorods have a higher antibacterial efficiency toward Gram-negative *P. Aeruginosa*. The inhibition of *P. Aeruginosa* by TiO<sub>2</sub> was 95.2%. TiO<sub>2</sub> nanorods have excellent antibacterial properties.

**Keywords** TiO<sub>2</sub> nanorods; hydrothermal; antibacterial property

### 前言

近年来, 世界各地严重的水体污染为致病菌的滋生和大量繁殖提供了天然的温床<sup>[1]</sup>。泛滥的细菌严重威胁了人类的生命。因此, 抑制致病菌的生长繁殖和传播, 最终杀灭致病菌和病毒已经成为当前一个亟待解决的难题。现有的杀灭细菌的方法主要

是通过喷洒药物的方式, 优点是灭菌效果明显且见效快。但缺点是这种方法很容易对环境产生二次污染, 且长期喷洒药物会使细菌产生耐药性, 从而导致细菌更难被杀灭<sup>[2]</sup>。因此, 如何有效地杀灭细菌成为急需解决的一道难题。

当前, 半导体材料为我们提供了一条有效的灭菌途径<sup>[3-4]</sup>。当用光照射半导体时, 电子(e<sup>-</sup>)会被

收稿日期: 2018-07-24 修回日期: 2018-09-02

基金项目: 黑龙江省大学生创新训练项目(201711230056)

作者简介: 张嘉明, 女, 在读学生。

\* 通信作者: 张洪光, 男, 讲师, 从事纳米功能材料方面研究, E-mail: zhanghg@qmu.edu.cn

本文引用格式: 张嘉明, 张洪光, 吴瑞, 等. 二氧化钛纳米棒的制备及抗菌性能研究[J]. 中国无机分析化学, 2018, 8(6): 68-70.

ZHANG Jiaming, ZHANG Hongguang, WU Rui, et al. Preparation of TiO<sub>2</sub> Nanorods and Research of Its Antibacterial Property[J]. Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry, 2018, 8(6): 68-70.

激发到半导体的导带上,从而在价带上产生空穴( $h^+$ ),激发的电子和产生的空穴分别具有还原性和氧化性,它们能与氧气及水分子反应,生成活性氧物质(ROS),从而起到杀灭细菌的作用。这种灭菌方式简单、方便且不会污染环境。在众多的半导体材料中,纳米  $TiO_2$  半导体材料,由于具有成本低、稳定性好和抗菌活性高等优势而备受研究者的关注<sup>[5]</sup>。

通过一种简单的水热法得到了  $TiO_2$  半导体纳米棒材料<sup>[6]</sup>,所制备样品为锐钛矿晶相,这有利于发挥其光催化活性。在紫外光的照射下,样品对革兰氏阴性菌(绿脓杆菌)具有良好的杀灭效果。

## 1 实验部分

### 1.1 材料及仪器

$Ti(SO_4)_2$ 、乙二胺、无水乙醇、柠檬酸均为分析纯试剂。LB 培养基和 MH 培养基,磷酸盐(PBS)缓冲液,绿脓杆菌标准株。

S-4800 型日立扫描电子显微镜(日立仪器有限公司),XRD-6000 型 X 射线粉末衍射仪(日本岛津公司),立式压力蒸气灭菌器(上海博迅实业有限公司),1700 紫外分光光度计(日本岛津公司),GL-150 恒温培养器(上海银泽仪器设备有限公司),DHG-9040A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海三发科学仪器有限公司)。

### 1.2 二氧化钛纳米棒的制备

0.24 g  $Ti(SO_4)_2$  和 0.63 g 柠檬酸溶解到 14 mL 去离子水中。在搅拌下,依次加入 8 mL 乙二胺和 10 mL 乙醇。搅拌 30 min 后转移到 50 mL 反应釜中,在 180 °C 反应 8 h。所得沉淀用无水乙醇和去离子水洗涤几次。将所得产物在 60 °C 干燥箱中干燥 12 h,最终得到  $TiO_2$  纳米棒样品。

### 1.3 抗菌性能测试

采用微量稀释法测定样品的最低抑菌浓度(MIC)。

1)将冷冻保存的绿脓杆菌标准株涂于 LB 培养基上,37 °C 培养 24 h。挑取单克隆菌落接种于 MH 液体培养基,37 °C 振荡过夜培养。用 MH 培养基稀释过夜菌液至  $5 \times 10^5$  cfu/mL,按 90  $\mu$ L/孔加入到 96 孔板中;

2)称取一定量的  $TiO_2$  粉末于磷酸盐缓冲液(PBS)中,配制成预定浓度悬浮液,然后在高压锅内用 120 °C 的饱和蒸汽灭菌 20 min。然后在无菌操作台上用 365 nm 紫外光下照射悬浮液 2 h,按 10  $\mu$ L/孔加入到菌液中,得到 0、0.1、0.15、0.2、0.25、0.5 mg/mL 的  $TiO_2$  纳米棒浓度混合液;然后在 37 °C、180 r/min 条件下培养 24 h;根据光密度测试数值计算最低抑菌浓度。

### 1.4 样品表征

使用 XRD-6000 型 X 射线粉末衍射仪(XRD)测试样品在  $2\theta$  为  $10^\circ \sim 70^\circ$  之间的衍射峰;用 Hitachi S-4800 型扫描电子显微镜(SEM)观察样品的形貌特征;用 1700 紫外分光光度计在波长为 600 nm 处测定绿脓杆菌的浓度。

## 2 结果与讨论

### 2.1 晶相及形貌分析

众所周知, $TiO_2$  样品的晶相及形貌影响其性能。而晶相及形貌又决定于反应的温度和时间。多次实验结果证明,调节水热反应的温度为 180 °C,反应时间为 6 h,能够制备得到合适晶相与完整形貌的  $TiO_2$  纳米棒。如果反应温度过低,得到的样品非锐钛矿晶相,不利于样品的抗菌性能。而反应时间过短,不能得到完整的纳米棒形貌,也会影响样品的抗菌性能。图 1a 所示为最佳反应条件下得到的  $TiO_2$  纳米棒的 XRD 图。纳米棒样品的衍射峰与标准锐钛矿相  $TiO_2$  (PDF # 73-1746) 的衍射峰一致,说明所得样品为锐钛矿相。由于锐钛矿相相比金红

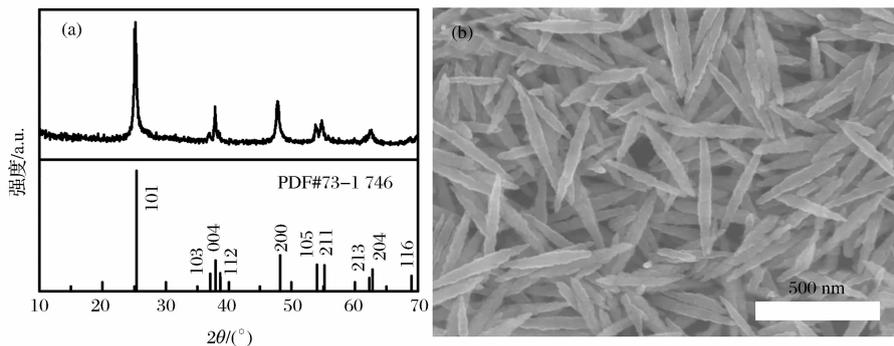


图 1  $TiO_2$  纳米棒的 XRD 图 (a) 和 SEM 图 (b)

Figure 1 The XRD pattern (a) and SEM image (b) of the  $TiO_2$  nanorods.

石和板钛矿相 TiO<sub>2</sub> 的光催化效果更好,因此有利于样品发挥光催化抑菌作用。图 1b 为所得样品的 SEM 图,可以看出,所得样品为均一的纳米棒,且样品无团聚,分散性良好,长度 450 nm 左右。

## 2.2 样品抑菌性能分析

选择绿脓杆菌为目标菌种,在紫外光照射不同浓度 TiO<sub>2</sub> 纳米棒溶液 2 h 后,测试样品对绿脓杆菌的抑菌性能。所得数据见图 2。从图 2 可以明显地看出,以对照样细菌的存活率 100% 为参比,随着 TiO<sub>2</sub> 纳米棒浓度的增大,绿脓杆菌的存活率逐渐下降,说明经过紫外光照射的 TiO<sub>2</sub> 纳米棒样品确实具有良好杀灭细菌的作用。尤其是当 TiO<sub>2</sub> 纳米棒样品的浓度达到 0.2 mg/mL 时,绿脓杆菌的存活率为 28.8%,说明在很小剂量 TiO<sub>2</sub> 纳米棒样品存在的条件下,就具有很好的灭菌效果。而当样品的浓度增大到 0.5 mg/mL 时,绿脓杆菌的存活率仅为 4.8%,细菌基本上已经被杀灭。

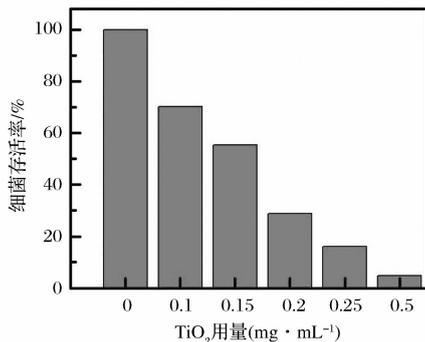


图 2 绿脓杆菌在不同浓度 TiO<sub>2</sub> 纳米棒 (0~0.5 mg/mL) 条件下的存活能力

Figure 2 The bacterial viability of *P. Aeruginosa* exposed to different concentrations (0~0.5 mg/mL) of TiO<sub>2</sub> nanorods.

## 2.3 样品抑菌性能机理

为了更好地了解样品的抗菌性能,图 3 详细地描述了 TiO<sub>2</sub> 纳米棒的光催化灭菌机理。在 365 nm 紫外光照射下,光生电子从 TiO<sub>2</sub> 纳米棒的价带激发到其导带,这些电子会被 TiO<sub>2</sub> 纳米棒表面吸附的 O<sub>2</sub> 捕获形成超氧自由基 (·O<sub>2</sub><sup>-</sup>) 和羟基自由基 (·OH)。与此同时,留在 TiO<sub>2</sub> 纳米棒的价带光生空穴会和溶液中的 H<sub>2</sub>O 和 OH<sup>-</sup> 反应生成羟基自由基 (·OH)。这些活性氧物质 (ROS) 会攻击细菌并最终破坏细菌的细胞壁,并且能够分解组成细胞的物质,从而使细菌死亡,起到杀灭细菌的作用。

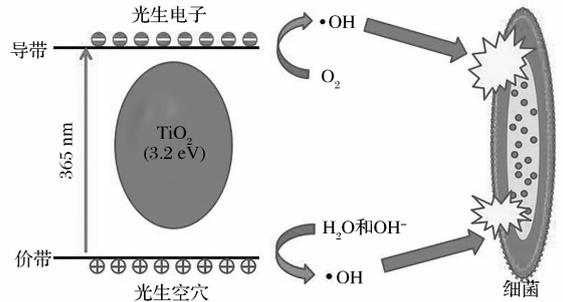
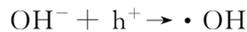
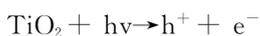


图 3 TiO<sub>2</sub> 纳米棒的光催化灭菌机理图

Figure 3 Mechanism of photocatalytic bacterial killing of TiO<sub>2</sub> nanorods.

## 3 结论

通过一种简单的水热法制备了形貌均一、单分散的 TiO<sub>2</sub> 纳米棒样品。所得样品不需经过煅烧处理就为锐钛矿相。在 365 nm 紫外光照射后,纳米棒样品对绿脓杆菌具有良好的杀灭效果,且随着所用样品浓度的增大,灭菌效果也逐渐增加。当样品的浓度为 0.5 mg/mL 时, TiO<sub>2</sub> 纳米棒对绿脓杆菌的抑菌率达到 95.2%, 这为制备具有良好抗菌性能的纳米材料提供了一条可行的途径。

## 参考文献

- [1] 王华然,杨忠委,刘美霞,等. 地区典型地表水细菌污染状况与水质指标相关性研究[J]. 环境与健康杂志 (*Journal of Environment and Health*), 2015, 32(5): 408-411.
- [2] 朱俊庆. 茶园中禁止氰戊菊酯(杀灭菌酯)农药的使用[J]. 茶叶 (*Journal of Tea*), 2000, 26(1): 54-55.
- [3] PARHAM S, WICAKSONO D H B, BAGHERBAIGI S, et al. Antimicrobial Treatment of Different Metal Oxide Nanoparticles: A Critical Review[J]. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2016, 63: 385-393.
- [4] 宋宏,汪恂. 掺铈纳米 TiO<sub>2</sub> 薄膜的光催化灭菌性能研究[J]. 工业用水与废水 (*Industrial Water & Wastewater*), 2010, 41(5): 66-69.
- [5] YADAV S, JAISWAR G. Review on Undoped/Doped TiO<sub>2</sub> Nanomaterial: Synthesis and Photocatalytic and Antimicrobial Activity [J]. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 2017, 64: 103-116.
- [6] 张慧,尹媛媛,王云鹏,等. 热分解法制备 Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 修饰的 TiO<sub>2</sub> 纳米管阵列及其光电性能研究[J]. 中国无机分析化学 (*Chinese Journal of Inorganic Analytical Chemistry*), 2017, 7(2): 83-86.