

文章编号:1673-2812(2013)06-0807-06

抗菌型止血用纳米银/高岭石复合材料的制备与形成

周 璟², 郑 婉², 杜丕一², 马 宁¹

(1. 浙江大学医院, 浙江 杭州 310027; 2. 浙江大学硅材料国家重点实验室, 材料科学与工程学系, 浙江 杭州 310027)

【摘 要】 高岭石是一种具有止血性能的粘土材料,其止血能力同 QuickClot 相当,但止血机理不同,与血液接触不会大量产热。纳米银由于表面可以释放银离子,具有抗菌性能,但纳米银容易团聚,与高岭石复合后可以防止团聚。本文用水合肼与高岭石反应,热处理后获得表面具有还原性的水合高岭石,这种水合高岭石可以直接与硝酸银溶液反应,银离子在高岭石表面被还原成纳米银,生成了纳米银/高岭石复合物,纳米银颗粒的尺寸分布在 2~25 nm 之间,与高岭石的表面结合力较强。纳米银/高岭石复合物可能兼具止血和抗菌性能,在治疗开放性创伤方面具有潜在的应用价值。

【关键词】 纳米银; 高岭石; 直接还原; 止血; 抗菌

中图分类号:TB383

文献标识码:A

Preparation of Hemostasia Nano-silver/kaolinite Composite and Formation of Its Antibacterial Behavior

ZHOU Jing², ZHENG Wan², DU Pi-yi², MA Ning¹

(1. Zhejiang University Hospital, Hangzhou 310027, China; 2. State Key Laboratory of Silicon Materials, Department of Materials Science and Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

【Abstract】 As known, kaolinite is matchable to QuickClot in its hemostatic capacity. However, the hemostatic mechanism is different so that the kaolinite does not release heat upon contacting blood. Nano-silver has antibacterial property because of Ag^+ release out of the nanoparticles surface. In practice kaolinite needs to be introduced as stabilizer to possibly prevent silver nanoparticles from strong agglomeration. The compound of kaolinite and nano-silver would perform both hemostatic and antibacterial properties. In this study, the kaolinite was treated with hydrazine and heat treated to form the hydrated kaolinite which has reducibility. The hydrated kaolinite was used as the supporter for the nano-silver, thus the Ag^+ could be directly reduced on the surface of kaolinite. The size distribution of nano-silver particles in nano-silver/kaolinite composite is 2—25 nm, and the bonding force between nano-silver and the surface of kaolinite is strong. The nano-silver/kaolinite can perform both hemostatic capacity and antibacterial property.

【Key words】 nano-silver; kaolinite; direct reduction; antibacterial; hemostatic

1 前 言

失血过量是受开放性创伤人员死亡的重要原因^[1]。传统的加压止血的方式会造成远端组织缺血和

代谢异常导致严重的并发症。而使用止血剂,如纤维蛋白封闭剂、多聚 IV-乙酰胺葡萄糖敷料等^[2],考虑其成本较高且性质不够稳定因而受到一定限制。美国国家海军医疗中心(US Naval Medical Research Institute)研制出了具有快速止血效果的一种高岭石

收稿日期:2013-02-25;修订日期:2013-10-14

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51272230),浙江省自然科学基金资助项目(Z4110040)

作者简介:周 璟(1988—),硕士研究生,主要从事高岭石复合物方面的研究。 通讯作者:马 宁,E-mail:mse-dupy。

衍生物^[3],其主要成分为沸石,商品名为 QuikClot (QC)。沸石由于具有较大的比表面积和内部强电场,对水分等极性分子有很强的物理吸附作用,可以使血液成分浓缩,提高出血局部凝血因子的相对浓度,从而达到止血的效果^[4]。但是沸石在吸水的过程中放出大量的热,容易导致伤口的二次烧伤,Sarah E 等^[5]发现,一些层状粘土矿物,尤其是高岭石^[6],有着与 QC 相近的止血效果,但止血机理不同,研究认为:(1)高岭石在血液 pH 值下表面带负电,与血液接触会激活血液的凝固过程;(2)含水量对高岭石止血性能的影响很小,含水的高岭石的凝血性能几乎没有变化;(3)表面积以及颗粒尺寸对高岭石止血性能的影响不大;(4)高岭石与水接触几乎不放出热量。这些性能,尤其是与水接触不放出热量的优点使得高岭石可能成为一种优秀的止血剂。

近年来的研究发现^[7],银离子是杀菌抑菌活性最强的金属离子之一,而纳米银能通过其表面缓慢释放银离子,因而具有优良的抗菌特性,成为最具发展潜力的抗菌材料^[8]。已有研究将纳米银植入绷带中,作为抗菌材料使用^[9]。纳米银的抗菌性能受纳米颗粒形貌的影响很大,提高表面积有利于抗菌性能的提高,但由于纳米银的稳定性不高,容易团聚^[10],影响了其应用。为了防止纳米银颗粒团聚,研究发现^[11],将纳米银负载在粘土矿物表面或插入层状硅酸盐矿物层间,可以防止其团聚。Patakfalvi 等^[12]利用 DMSO/高岭石为前驱体,经甲醇漂洗 5d 后,加入到 AgNO₃ 溶液中,经硼氢化钠还原或者紫外光照射还原硝酸银溶液后,得到了平均粒径为 10 nm 的纳米银颗粒;Cabal 等^[11]分别通过在氢气气氛中加热还原和硼氢化钠化学还原硝酸银溶液的方法,在高岭石表面负载了纳米银颗粒。显然,如果能够将纳米银和高岭石复合,则可以得到既具有抗菌性又具有止血性能的多功能纳米复合材料。然而,用还原法制备纳米银的方法,如使用化学还原剂,用紫外光照射反应物,用热还原法,等等^[12-14],都相对比较复杂,对反应条件的要求较高,如果能够简化还原纳米银的步骤,则将提高纳米银/高岭石复合物的应用价值。此外,除了还原法,目前有利用高岭石插层前驱体与硝酸银反应,将银离子引入到高岭石层间的方法,即银离子与预先制成的插层前驱体中的离子进行置换最后形成复合银的高岭石插层复合物,但在这种方法中,所用到的有机物通常如二甲基亚砷(DMSO)等有一定的毒性,可见这种直接置换容易将毒性离子遗留在复合物中,不利于纳米银/高岭石复合物的使用。

本文利用一种表面具有还原性的水合高岭

石^[15-16],通过这种含有插层水的高岭石原料和硝酸银溶液反应,在高岭石表面直接还原银离子,制备得到了纳米银/高岭石复合物,银离子在高岭石表面被还原成纳米银,粒径分布为 2~25 nm。

2 实验

本实验采用苏州高岭石(粒径 $<2\mu\text{m}$),其化学成分(%) SiO₂, 46.29; Al₂O₃, 38.79; Fe₂O₃, 0.27; SO₃, 0.75; K₂O, 0.20; Na₂O, 0.04; H₂O, 1.07。水合肼、无水乙醇、硝酸银为分析纯试剂。首先称取高岭石 1g,量取 20ml 水合肼,一起放入密闭的容器中,在室温下磁力搅拌 24h。然后经离心、分离去除溶液,再用无水乙醇洗涤两次得到的沉淀物放入烘箱中,在 60℃ 下处理 8h,得到水合高岭石原料。称取 0.1g 这种水合高岭石原料,0.034g 硝酸银晶体,溶于 20ml 去离子水中,在密闭容器中混合,避光搅拌 24h,可以得到纳米银/高岭石插层复合物粉末。

粉末样品采用 X'Pert PRO 型 X 射线衍射仪进行晶相测定,测试条件为 Cu 靶 K α 射线(0.15418nm),管压 40kV,管流 40mA,扫描范围为 $2\theta = 5^\circ \sim 50^\circ$,其中入射光发散狭缝为 $1/2^\circ$,衍射光路防反射狭缝为 1° ,未使用平行光单色器,接收狭缝为 5mm,采用超能探测器。用 TU-1901 型紫外可见分光光度计进行光谱测定,波长范围:190nm~900nm。采用 FEI 公司生产的 SIRION 型场发射扫描电镜观察形貌。电镜分辨率指标:1.5nm at 20kV(WD5mm),2.5nm at 1kV,3.5nm at 0.5kV。用美国 FEI 公司生产的 F20 型高分辨透射电镜,其加速电压为 200KV。

3 结果分析与讨论

图 1(b)是制备得到的高岭石原料以及水合高岭石与 0.01mol/L 硝酸银溶液混合反应后,避光搅拌 24h 后的照片,图 1(a)则是制备得到的高岭石原料的照片。从图 1 中可以看到,0.01mol/L 的硝酸银溶液和 0.1g 高岭石原料反应后,样品的颜色发生了变化,高岭石原料从反应前的(图 1(a))乳白色,转变成反应后的灰黑色(图 1(b))。

图 2 是高岭石原料(图 2b)和经与硝酸银溶液避光反应 24h 后的高岭石(图 2a)的 XRD 图谱。从图中可以看出,与原始高岭石相比(图 2c),经水合肼在 60℃ 下处理 8 h 制备得到的高岭石为一种层间距为 $d_{(001)} = 0.84\text{nm}$ 的水合高岭石^[15]。这种水合高岭石与硝酸银溶液反应后得到的产物,在 XRD 图中 $2\theta =$

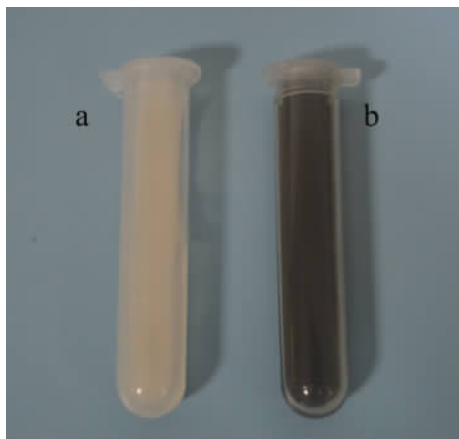


图 1 (a)水合高岭石,(b) 0.01mol/L 硝酸银溶液和 0.1g 水合高岭石反应 24h 后的样品照片

Fig 1 Photos of (a) hydrated kaolinite, (b) 0.01 mol/L silver nitrate solution mixed with 0.1g hydrated kaolinite for 24h

38.1°, 2θ=44.3°, 2θ=64.4° 和 2θ=77.4° 处出现了新的衍射峰, 这些新的衍射峰实际是面心立方相银的衍射峰。其中, 2θ=38.1° 对应于面心立方银的(111)晶面, 2θ=44.3° 对应面心立方银的(200)晶面, 2θ=64.4° 对应于面心立方银的(220)晶面, 2θ=77.4° 对应面心立方银的(311)晶面。可见, 这种水合高岭石与硝酸银溶液反应 24h 后, 形成了含有面心立方银的银/高岭石复合物。类似的银衍射峰也在已有报道的硝酸银溶液和 DMSO/高岭石插层复合物反应, 并用硼氢化钠还原或者反应后再在紫外灯的照射后得到的含银反应物中出现^[12, 14]。可见, 经水合高岭石与硝酸银溶液反应后, 很可能在水合高岭石中形成了银。

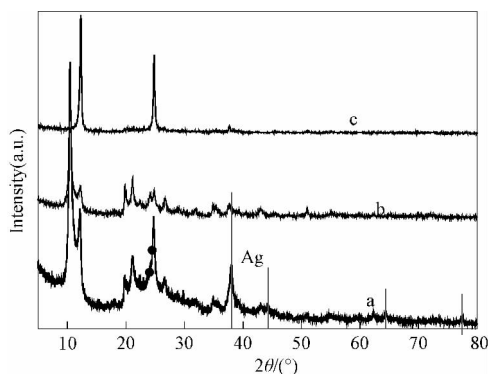


图 2 (a)0.01mol/L 硝酸银溶液和 0.1g 水合高岭石反应 24h 的产物, (b)水合高岭石,(c)原始高岭石的 XRD 图谱。

Fig 2 XRD of (a) 0.01mol/L silver nitrate solution mixed with 0.1g hydrated kaolinite for 24h, (b) hydrated kaolinite, and (c) kaolinite

然而, 根据文献报道^[14], 硝酸银溶液和 DMSO/高岭石插层复合物反应, 银离子可以进入到高岭石层间, 用还原剂还原后, 层间距 $d_{(001)}$ 扩大到 4~5 nm 左右, 即在 $2\theta=2\sim3^\circ$ 左右会出现新的衍射峰。但图 3 所示的硝酸银溶液和水合高岭石反应后产物的 XRD 图谱

中, 没有观察到类似的衍射峰, 即这里的银离子并没有插层到水合高岭石层间。这可能是因为水合高岭石的层间距为 $d_{(001)}=0.84\text{nm}$ ^[15], 而 DMSO/高岭石的层间距为 1.12 nm^[14], 银离子能进入到层间距较大的 DMSO/高岭石层间, 但无法进入到水合高岭石层间。

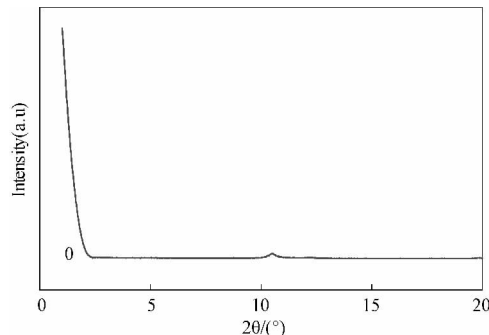


图 3 0.01mol/L 硝酸银溶液和 0.1g 水合高岭石反应 24h 的产物的小角度衍射

Fig 3 Small angle scattering of X-ray of (a) 0.01mol/L silver nitrate solution mixed with 0.1g hydrated kaolinite for 24h, (b) hydrated kaolinite

图 4 分别是银/水合高岭石复合物以及水合高岭石的 SEM 图。高岭石是典型的层状结构硅酸盐矿物, 其 SEM 形貌主要为不规则六边形的板状物, 而水合高岭石中, 水分子插层在高岭石层间, 并不破坏高岭石的层状结构, 形貌与高岭石相同, 如图 4(b) 所示。当水合高岭石与硝酸银溶液反应后, 从图 4(a) 中可以看出, 形成的银/水合高岭石复合物表面出现了很多颗粒, 其反射率明显比水合高岭石要高。图 5 是图 4 中样品对应的能谱图, 从图 5(a) 中可以看出, 水合高岭石与硝酸银溶液避光反应后, 产物中出现了银元素, 而图 5(b) 中与水合高岭石样品对应的能谱图中则并没有银元素。说明水合高岭石与硝酸盐反应后, 在表面的生成物颗粒应该与银相关。

图 6 是银/水合高岭石的 TEM 图, 从图中同样可以看出, 片层状的水合高岭石表面负载了小的颗粒, 图 7 是这种表面颗粒的高分辨 TEM 图, 可见颗粒的点阵结构比较完整, 结晶状况良好。结合晶面间距和晶面夹角分析, 图 7 中, 直线所标记的两个晶面的晶面间距分别为 0.236nm 和 0.206nm, 晶面夹角为 55°, 分别与面心立方相银的(111)面及(200)相对应, 也即水合高岭石表面生成的纳米颗粒是面心立方银, 银颗粒的尺寸主要分布于 2~25nm。图 8 是由图 6 得出的这种纳米银的粒度分布统计数据, 从图中可知, 纳米银颗粒的尺寸主要分布于 2~25nm 之间, 其中尺寸为 7~9nm 的纳米银数量较多, 约占 40% 左右。由此可知, 水合高岭石和硝酸银溶液在避光条件下反应后, 在水合高岭石表面得到的是纳米银颗粒, 形成了纳米银/水

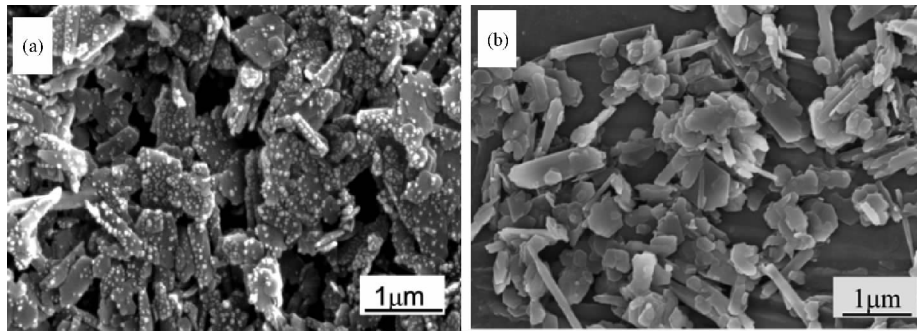


图 4 (a) 0.01mol/L 硝酸银溶液和 0.1g 水合高岭石反应 24h 的产物及(b)水合高岭石的 SEM 图
 Fig 4 SEM images of (a) hydrated kaolinite mixed with 0.01mol/L of silver nitrate, (b) hydrated kaolinite

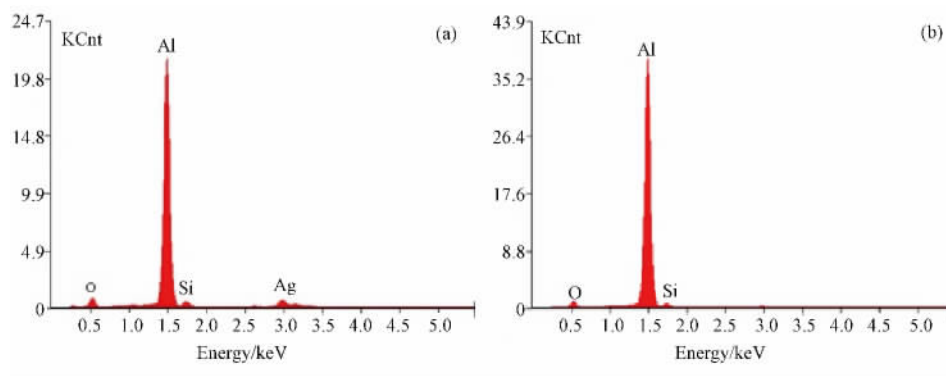


图 5 (a) 0.01mol/L 硝酸银溶液和 0.1g 水合高岭石反应 24h 后的产物及(b)水合高岭石的能谱图
 Fig 5 Energy dispersion spectrum of X-ray of hydrated kaolinites mixed (a) with 0.01mol/L of silver nitrate and (b) without silver nitrate

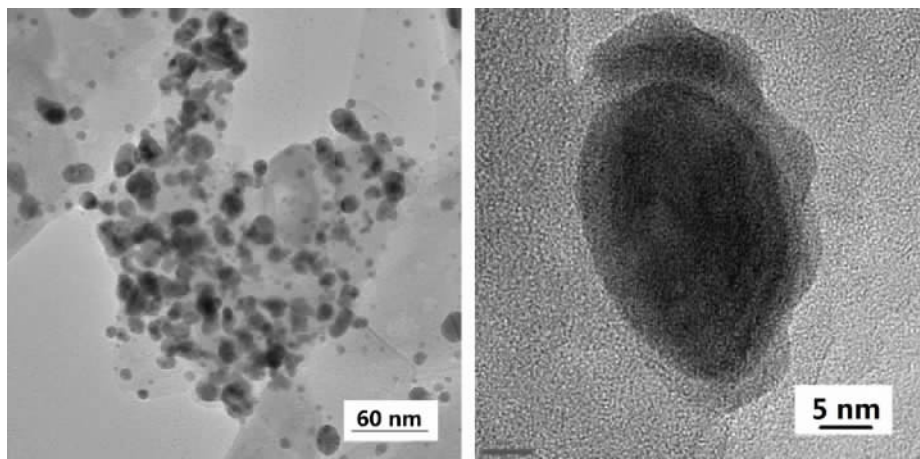


图 6 0.01mol/L 硝酸银溶液和 0.1g 水合高岭石反应 24h 产物的 TEM 图
 Fig 6 TEM images of hydrated kaolinite mixed with 0.01mol/L of silver nitrate solution

合高岭石复合物,且这里的纳米银颗粒没有明显的团聚,比表面积较高,这有利于作为具有较高抗菌性能的高性能抗菌材料使用。

这种纳米银在高岭石表面具有较好的吸附能力,图 10 是纳米银/高岭石复合物未经超声波震荡和经超声波震荡 30mins 的产物的 TEM 图,从图 10(a)中可以看出,不规则六边形板状高岭石聚集在一起,表面负载了纳米银颗粒,而图 10(b)中的高岭石较为分散。尽管经过 30mins 超声清洗后其负载银的密度有所下

降,但表面仍均匀负载了纳米银颗粒,显然纳米银和高岭石表面的结合是比较牢固的,有利于这种复合纳米银高岭石的实际应用。

纳米银在水合高岭石表面的形成机理实际上与形成的水合高岭石表面存在的还原性相关。由于本实验中高岭石原料首先与水合肼在一定条件下进行热处理形成水合高岭石,而水合肼的还原性较强,因此,作为电子的施主,在反应过程中为高岭石表面的 Al-OH 的质子氢提供了电子,形成 Al-OH⁻。硝酸银溶液中的

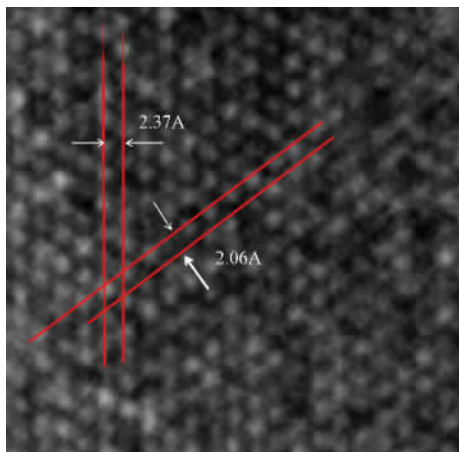


图 7 纳米银的选区高分辨图

Fig. 7 HRTEM image of a nano-silver particle

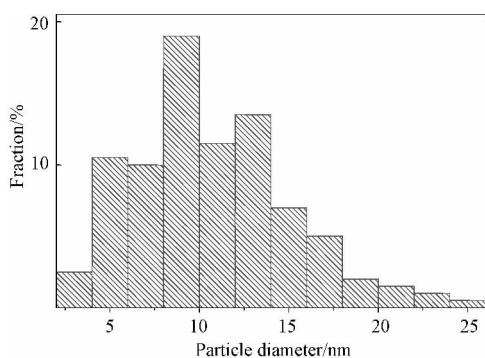


图 8 纳米银的粒度分布统计

Fig. 8 Size distribution of nano-silver particles

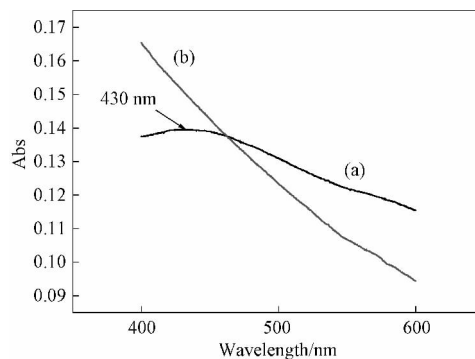


图 9 0.01mol/L 硝酸银溶液与(a) 未经特别处理, 及(b) 经 H₂O₂ 预处理的 0.1g 水合高岭石反应 24h 后产物的 UV/Vis 图谱

Fig. 9 UV/vis absorption spectrum of 0.01mol/L silver nitrate solution mixed with (a)hydrated kaolinite, (b) hydrated kaolinite pre-treated by H₂O₂

银离子 Ag⁺ 具有强氧化性, 可以同高岭石表面的 Al-OH⁻ 反应, 所以 Ag⁺ 在这种水合高岭石的表面被还原成 Ag, 这可以通过如图 9 所示实验进一步得到证实。图 9 分别是硝酸银与直接制备得到的水合高岭石以及将其再用 H₂O₂ 处理后的高岭石进行反应后得到产物的 UV/Vis 图谱, 其中在图 9(a) 所示直接制备得到的水合高岭石与硝酸银反应后, 测得的银/水合高岭石复合物在 430nm 左右出现了一个吸收峰, 这个峰可能是纳米银的表面等离子体共振引起的吸收峰^[17, 18]; 而图 9(b) 所示, 将水合高岭石用 H₂O₂ 处理再与硝酸银反应后, 在产物中则观察不到任何吸收峰, 显然在水合高

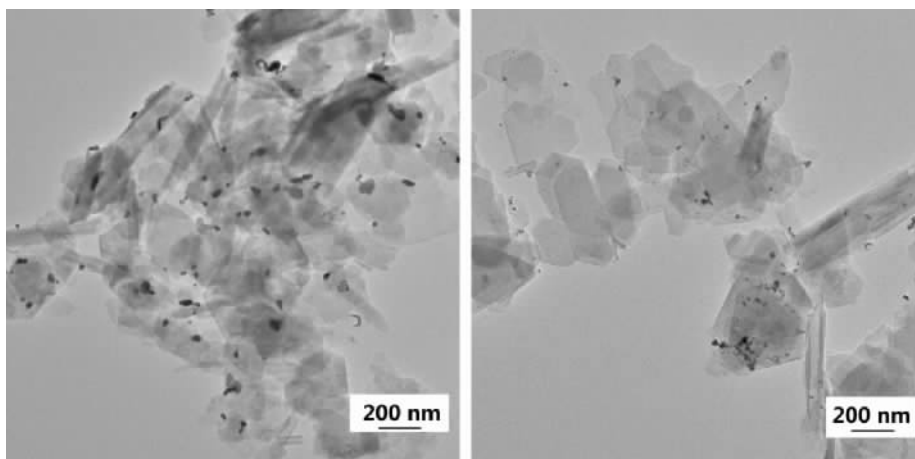


图 10 (a) 未经超声波震荡处理的纳米银/高岭石及(b) 经超声波震荡处理 30mins 的纳米银/高岭石的 TEM 照片

Fig. 10 TEM images of (a) nano-silver/kaolinite without ultrasonic treatment, (b) nano-silver/kaolinite with 30mins ultrasonic treatment

岭石中没有银存在, 同样如图 11 对该样品的 XRD 图谱分析可知, 也未见明显的位于 $2\theta = 38.1^\circ$, $2\theta = 44.3^\circ$, $2\theta = 64.4^\circ$ 和 $2\theta = 77.4^\circ$ 的银特征衍射峰, 这说明水合高岭石经过 H₂O₂ 氧化处理后, 可能是因为水合高岭石表面的 Al-OH⁻ 被 H₂O₂ 氧化, 使水合高岭

石表面失去了还原性, 无法再将银离子还原成银。可见, 也正是这种带负电 Al-OH⁻ 离子存在, 由于其与 Ag⁺ 之间可能产生较强的吸引作用, 从而使纳米银与高岭石之间受可能存在的 Al-OH⁻ 和 Ag⁺ 之间的静电作用而产生很好的吸附。

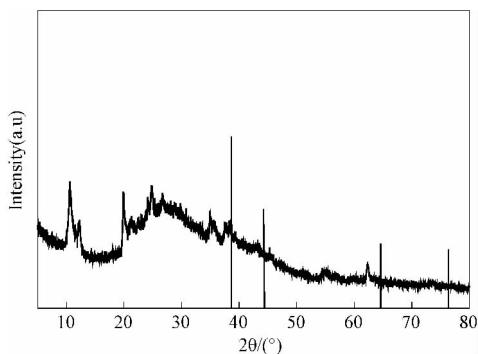


图 11 用 H₂O₂ 处理过的 0.1g 水合高岭石和 0.01mol/L 硝酸银溶液反应 24 h 的产物的 XRD 图谱

Fig. 11 XRD of 0.01mol/L silver nitrate solution mixed with hydrated kaolinite treated by H₂O₂

4 结 论

高岭石与水合肼反应后,经过 60℃ 热处理后可以获得表面具有还原性的水合高岭石,水合高岭石与硝酸银避光反应后,可以在表面获得纳米银颗粒。本文主要通过 XRD, SEM, UV/Vis, 高分辨 TEM 等表征手段研究了水合高岭石与硝酸银溶液反应后的产物,可以得到以下结论:高岭石与水合肼反应后,经过热处理得到的水合高岭石,能在其表面生成 Al-OH⁻, 该基团具有还原性,和硝酸银溶液中的银离子反应,银离子在水合高岭石表面被直接还原成纳米银。纳米银的颗粒尺寸主要分布在 2~25nm 之间,其中 7~9nm 的纳米银颗粒约占 40% 左右。由水合高岭石直接反应得到的纳米银/高岭石复合物,受其本身较小的层间距控制,银离子不进入水合高岭石层间,而均匀分布于高岭石颗粒表面,且纳米银颗粒和高岭石的结合力较强,有利于这种复合纳米银高岭石的实际应用,特别是有望在兼具止血与抗菌性能的复合材料方面得到应用。

参 考 文 献

[1] R. F. Bellamy. The causes of death in conventional land warfare: implications for combat casualty care research [J]. *Military Medicine*, 1984, 149: 55~62.

[2] J. L. Sondeen, A. E. Pusateri, V. G. Coppes, C. C. E. Gaddy, J. B. Holcomb. Comparison of 10 different hemostatic dressings in an aortic injury [J]. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 2003, 54 (2): 280~285.

[3] H. B. Alam, Z. Chen, A. Jaskille, et al. Application of a zeolite hemostatic agent achieves 100% survival in a lethal model of complex groin injury in swine [J]. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 2004, 56 (5): 974~983.

[4] F. L. Wright, H. T. Hua, G. Velmahos, D. Thoman, D.

Demitriades, P. M. Rhee. Intracorporeal use of the hemostatic agent QuickClot in a coagulopathic patient with combined thoracoabdominal penetrating trauma [J]. *The Journal of Trauma and Acute Care Surgery*, 2004, 56 (1): 205~208.

[5] S. E. Baker, A. M. Sawvel, N. Zheng, G. D. Stucky. Controlling bioprocesses with inorganic surfaces: layered clay hemostatic agents [J]. *Chemistry of Materials*, 2007, 19 (18): 4390~4392.

[6] 赵顺平, 夏华, 张生辉. 高岭石/有机插层复合材料的研究进展 [J]. *材料科学与工程学报*, 2003, 21(2): 621.

[7] H. Jiang, S. Manolache, A. C. L. Wong, F. S. Denes. Plasma-enhanced deposition of silver nanoparticles onto polymer and metal surfaces for the generation of antimicrobial characteristics [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2004, 93 (3): 1411~1422.

[8] 王洪水, 乔学亮, 王小健, 等. 载银沸石抗菌剂的制备及其抗菌性能 [J]. *材料科学与工程学报*, 2006, 24(1): 40~43.

[9] T. Maneerung, S. Tokura, R. Rujiravanit. Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 72 (1): 43~51.

[10] L. Balan, J.-P. Malval, R. Schneider, D. Burget. Silver nanoparticles: new synthesis, characterization and photophysical properties [J]. *Materials chemistry and physics*, 2007, 104 (2): 417~421.

[11] B. Cabal, R. Torrecillas, F. Malpartida, J. Moya. Heterogeneous precipitation of silver nanoparticles on kaolinite plates [J]. *Nanotechnology*, 2010, 21 (47): 475705.

[12] R. Patakfalvi, A. Oszko, I. DeKany. Synthesis and characterization of silver nanoparticle/kaolinite composites [J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2003, 220 (1): 45~54.

[13] Park, J., Shin, H. The preparation of Ag/mesoporous silica by direct silver reduction and Ag/functionalized mesoporous silica by in situ formation of adsorbed silver [J]. *Materials Letters*, 2007, 61 (1): 156~159.

[14] R. Patakfalvi, I. Dékány. Synthesis and intercalation of silver nanoparticles in kaolinite/DMSO complexes [J]. *Applied clay science*, 2004, 25 (3): 149~159.

[15] J. Zhou, W. Zheng, J. F. Xu, L. Chen, Y. Li, N. Ma, P. Du. Formation of 0.84nm hydrated kaolinite as an environment-friendly precursor of kaolinite intercalation [J]. *Clays and Clay Minerals*, in press.

[16] 徐剑锋, 梁怡瑛, 马宁, 等. 直接置换插层法 0.85 nm 水合高岭石的制备 [J]. *无机化学学报*, 2011, 27(6): 1121~1127.

[17] Z. Wang, T. Hu, L. Tang, N. Ma, C. Song, G. Han, W. Weng, P. Du. Ag nanoparticle dispersed PbTiO₃ percolative composite thin film with high permittivity [J]. *Applied Physics Letters*, 2008, 93: 222901.

[18] R. Jin, Y. Cao, C. A. Mirkin, K. Kelly, G. C. Schatz, J. Zheng. Photoinduced conversion of silver nanospheres to nanoprisms [J]. *Science*, 2001, 294 (5548): 1901~1903.