

2008-08-28

An HAp/nanosilver Coating Prepared by Electrochemical Deposition and its Antibacterial Characterization

Zhi-wang GENG

Hui WANG

Chang-jian LIN

Recommended Citation

Zhi-wang GENG, Hui WANG, Chang-jian LIN. An HAp/nanosilver Coating Prepared by Electrochemical Deposition and its Antibacterial Characterization[J]. *Journal of Electrochemistry*, 2008, 14(3): 243-247.

DOI: 10.61558/2993-074X.1899

Available at: <https://jelectrochem.xmu.edu.cn/journal/vol14/iss3/3>

This Article is brought to you for free and open access by Journal of Electrochemistry. It has been accepted for inclusion in Journal of Electrochemistry by an authorized editor of Journal of Electrochemistry.

电化学沉积含纳米银羟基磷灰石涂层及抗菌性能研究

耿志旺, 王 卉, 林昌健*

(厦门大学 固体表面物理化学国家重点实验室, 化学化工学院化学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 应用柠檬酸钠还原法制得纳米银胶体溶液, 并在钛基表面电泳沉积纳米银颗粒, 再由电化学沉积法沉积羟基磷灰石涂层. X 射线电子能谱 (XPS)、X 射线衍射 (XRD) 和高分辨透射电子显微镜 (HRTEM/SEM) 证实该涂层含羟基磷灰石 (HAp) 和 Ag, 其纳米银颗粒尺度为 5~20 nm. 抗菌试验表明, 涂层中含银量随电泳沉积液纳米银粒子浓度升高而增加, 抗菌性也相应增强. 但如沉积液中银粒子超过一定浓度时, 则其在钛表面会发生明显团聚, 导致抗菌性能的降低. 据此, 初步优化了抗菌效果最佳的复合涂层制备技术.

关键词: 纳米银; 抗菌; 羟基磷灰石; 钛

中图分类号: O646

文献标识码: A

羟基磷灰石是骨的主要成分, 具有骨传导性和诱导性, 可促进生物材料与人体组织的融合和骨的生长^[1]. 金属钛密度和骨相似的, 机械强度高, 生物相容性良好^[2]. 因此, 纯钛或其合金表面涂覆羟基磷灰石确是一种理想的生物材料, 并已在临床上广泛应用^[3]. 然而, 生物活性材料在环境中也容易诱导细菌的生长繁殖. 研究表明, 有 90% 的生物材料经高温消毒后仍然带有细菌^[4]. 而细菌感染则往往是手术失败的一个主要原因. 目前的研究证明, 纳米银比金属银和银盐具有更高的抗菌性和低细胞毒性^[5]. 含银羟基磷灰石涂层既有较高的生物活性又具有良好抗菌性, 倍受基础研究和临床应用的关注^[6-7].

本文应用柠檬酸钠还原硝酸银制得纳米银胶体溶液, 经乙醇稀释配成系列浓度的电泳沉积液, 在钛表面电泳沉积纳米银, 然后再用电化学沉积羟基磷灰石涂层. 通过优化电泳沉积参数, 提出最佳抗菌生物材料的制备条件, 并初步讨论该生物材料的抗菌机理.

1 实验部分

1.1 试剂和样品

硝酸银 (AgNO₃), 柠檬酸钠 (C₆H₅Na₃O₇ ·

2H₂O)、氯化钙 (CaCl₂), 磷酸二氢钠 (NaH₂PO₄ · 2H₂O) 均为分析纯. 胰蛋白胨、酵母浸膏、琼脂粉均为生物试剂. 钛板为 10 mm × 10 mm × 1 mm.

1.2 纳米银胶体

18 mg AgNO₃ 溶于 100 mL 水中, 加热至沸腾. 滴加 2 mL 2% 柠檬酸钠溶液, 保持沸腾 1 h, 即得到黄绿色 Ag 胶体溶液.

1.3 电泳沉积纳米银

分别取纳米银胶体母液 1、3、5、10、15、20、25 mL 用乙醇稀释至 50 mL 以钛板为阳极, 5 cm × 5 cm 钛板片为阴极, 施加 25 V 电压电泳沉积 15 min.

1.4 电化学沉积羟基磷灰石

以上述沉积有纳米银的钛板作阴极, 1 cm × 1 cm Pt 片为对电极, 电解液为 4.2 × 10⁻⁴ mol/L CaCl₂、1.5 × 10⁻⁴ mol/L NaH₂PO₄、0.1 mol/L NaCl 控制电流密度 1.0 mA/cm², 在 120 °C 下电沉积 20 min.

1.5 Ag 胶体表征

用 UV-2100 光谱 (日本岛津) 测量不同稀释浓度的电泳沉积液及胶体母液在 200~800 nm 的紫

外可见吸收. 用 TECNAI F30 高分辨透射电子显微镜 (HRTEM) 观察母液在铜网上干燥后纳米银颗粒大小及形态.

1.6 材料表征

用 Panalytical X'pert (Philips) 作材料 XRD 表征. $\text{Cu K}\alpha$ 靶, λ 0.15406 nm, 工作电流 30 mA, 工作电压 40 kV. XPS 分析使用 Physical Electronics Quantum 2000 Scanning Escalator Microprobe (VG) 光电子能谱仪. LEO-1530 场发射高倍电子扫描电镜 (SEM) (德国里奥公司) 观察样品和材料形貌.

1.7 抗菌性测试

选用大肠杆菌在 5 mL Luria-Bertani (LB) 培养液中于 37°C 振荡培养 24 h 取 100 μL 菌液均匀涂覆在琼脂板上, 再放入上述制备的材料, 培养 24 h 观察抑菌圈, 比较其抗菌性能.

2 结果与讨论

2.1 纳米银胶体

图 1 是不同浓度的电泳沉积液的紫外可见吸收光谱. 如图, 未稀释的 Ag 胶体母液的最大吸收波长为 430 nm, 加乙醇稀释成电泳沉积液后吸收波长红移至 475 nm, 这是因为胶体被稀释后部分水分子被乙醇取代, 银颗粒周围介质的介电常数变小^[8]. 对不同浓度的电泳沉积液, 其吸光度随浓度增大而上升, 但吸收波长不变, 峰宽也无变化, 表明对不同浓度的沉积液中, 电泳沉积的银颗粒大小是一致的, 没有发生团聚. 图 2 是银纳米颗粒的 HRTEM 照片, 显示它的颗粒半径为 5~20 nm.

以上说明, 用柠檬酸钠还原得到的纳米 Ag 颗粒可吸附过量的柠檬酸根而带负电荷. 电泳沉积时在电场作用下向阳极移动, 并沉积在钛的表面. 本实验使用乙醇稀释母液是为了减少析氢反应.

2.2 材料表征

图 3 为不同材料的 XRD 图谱, 各谱峰大致相同, 均显示有羟基磷灰石特征峰, 而不出现银的特征峰, 因为银在涂层中的沉积量很少, 且以纳米亚晶状存在. 但在相关的 XPS 图谱 (图 4) 中, 仍有 $\text{Ag}3d$ 谱峰出现, 说明涂层中确有银的存在. 图 5 给出以 3、5 和 10 mL Ag 胶体母液经乙醇稀释至 50 mL 的电泳沉积液在钛基底沉积纳米银的形貌. 可见, 用 5 mL 母液的 (图 1b) 比用 3 mL 母液的 (图 a) 沉积的银颗粒更为密集, 而用 10 mL 母液沉积的

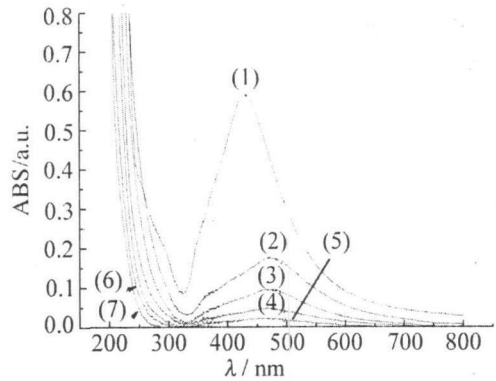


图 1 银胶体母液及电泳沉积液的紫外可见吸收光谱
1) 银胶体母液; 2)、3)、4)、5)、6) 分别为 1 mL、5 mL、10 mL、15 mL、20 mL 银胶体母液稀释至 50 mL 的沉积液; 7) 乙醇

Fig 1 Uv-vis spectra of the Ag sol and its electrophoretic solution 1) Ag sol 2), 3), 4), 5), 6) are deposit solutions diluted from 1 mL, 5 mL, 10 mL, 15 mL, 20 mL Ag sol to 50 mL by ethanol respectively 7) ethanol

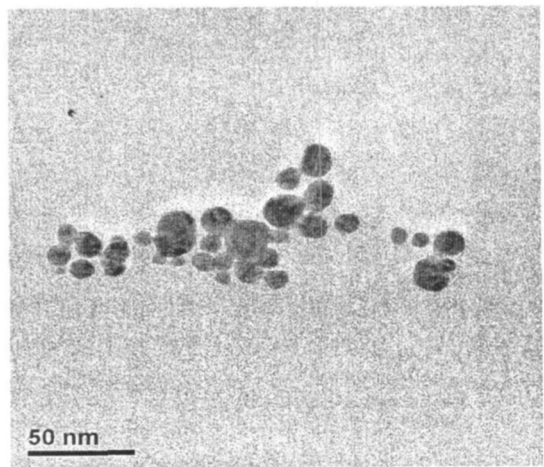


图 2 由柠檬酸钠还原 AgNO_3 制得的纳米银颗粒 HRTEM 照片

Fig 2 HRTEM photograph of the nanosilver particles by sodium citrate reduction of AgNO_3

银颗粒 (图 c) 虽更加密集, 但颗粒团聚比较明显. 以沉积有纳米银颗粒的钛板做基底, 再经过电泳沉积羟基磷灰石后的涂层, 其 SEM 形貌如图 6 所示. 实验同时表明, 在不同银含量的钛板表面沉积的羟基磷灰石形貌基本相同 (图略), 显然 HAp 沉积层具有多孔纳微米结构. 纳微米结构的 HAp 沉积层有利于细胞贴壁和骨诱导生长, 具有优异的生物活性^[9].

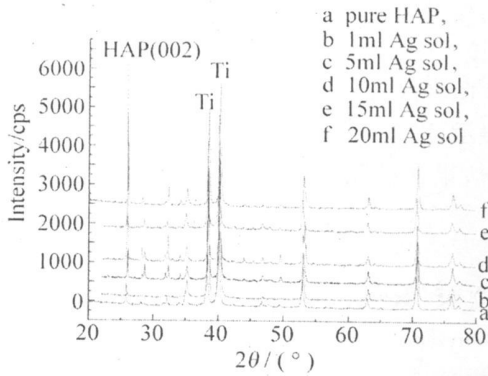


图 3 钛基底的纯羟基磷灰石涂层以及不同含银量的抗菌涂层的 XRD 谱图

Fig. 3 XRD spectra of the pure HAp and Ag/HAp coatings with different Ag concentrations on titanium

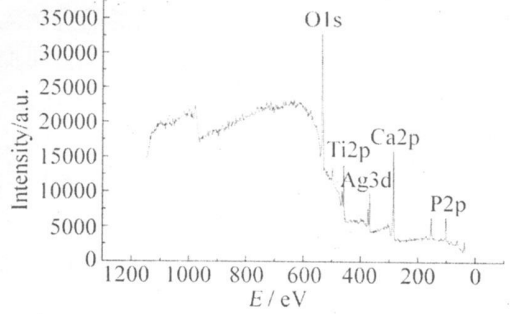


图 4 含纳米银抗菌 HAp 涂层的 XPS 分析

Fig. 4 XPS analysis of the antibacterial nanosilver-containing HAp coating on titanium

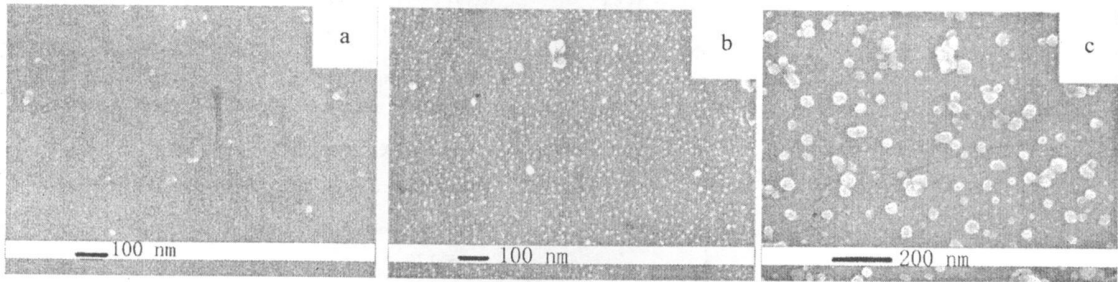


图 5 钛表面电沉积的由 3mL(a)、5mL(b)、10mL(c) 银胶体母液稀释至 50mL 电沉积液纳米银颗粒 SEM 照片

Fig. 5 SEM photographs of nanosilver particles electrophoretic deposited on titanium in solutions with different concentrations the concentrations; a) 3mL Ag sol; b) 5mL Ag sol; c) 10mL Ag sol diluted to 50mL deposit solution

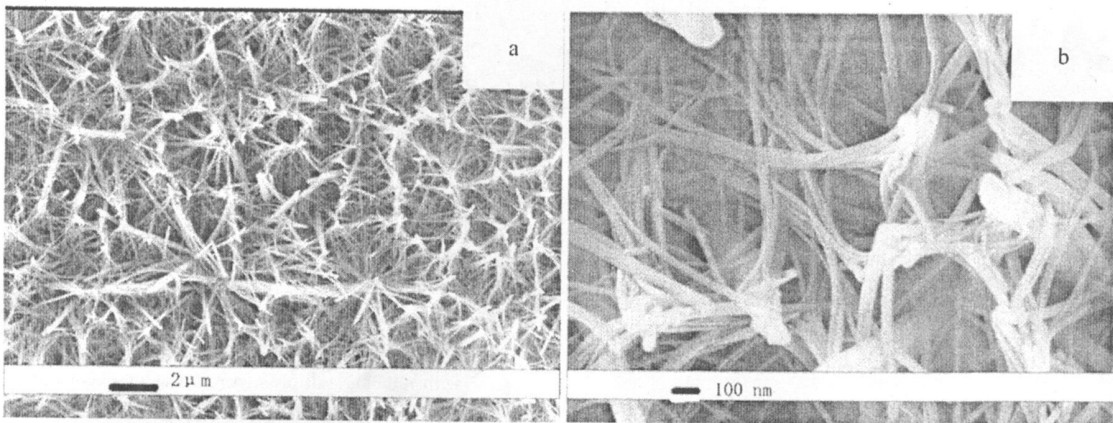


图 6 在负载纳米银的钛表面沉积羟基磷灰石的 SEM 照片

Fig. 6 SEM photographs of HAp electrolytic deposited on titanium on which the nanosilver particles were electrophoretic deposited in advance

2.3 抗菌测试

图 7 示出不同含银量的 HAp 涂层的抗菌测试结果. 可观测到在材料周围有明显的白圈, 即抑菌圈, 抑菌圈越大, 材料的抑菌作用越强. 对比之下, 以 5 mL 银胶体母液稀释的电泳沉积液, 其沉积的材料具有最强的抗菌作用. 通常认为, 银的抗菌作用是通过释放出可溶性的 Ag^+ 和 Ag^0 (表示含 8 个以下银原子的团簇), 它们可破坏细菌的呼吸链和电子传递途径, 与 DNA 结合并阻碍 DNA 复制^[10]. 参照图 5 SEM 照片, 当沉积液含 5 mL 以下的 Ag 胶体母液时, 沉积的银颗粒不发生团聚, 且密集度随 Ag 胶体母液浓度的升高而增加. 但如沉积液加入的 Ag 胶体母液超过 10 mL 以上时, 虽表面银颗粒同时增多, 但却发生明显团聚. 因为尺度为 5~20 nm 的银颗粒通常是几个至 100 Ag 原子的集合体, 可高效释放 Ag^0 以及少量的 Ag^+ , 这就是纳米银抗菌性优越所在. 一旦纳米颗粒发生团聚, 释放 Ag^0 的效率便随之降低, 其抗菌性能也因此而下降. 初步实验表明, 以 5 mL 母液稀释的电泳沉积液, 在钛表面电泳沉积的纳米银, 不仅银含量较高, 且呈良好分散, 抗菌效果最佳.

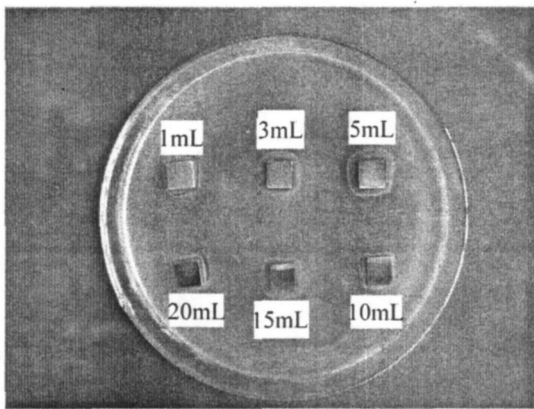


图 7 不同银含量的材料的抗菌测试

Fig 7 Antibacterial test of the materials with different Ag concentrations

3 结 论

应用电化学沉积法在钛基表面获得纳微米结构的 Ag/HAp 复合涂覆层. 既有良好的生物活性又

具抗菌性. 复合涂层中, 如其纳米银颗粒呈高度分散, 则该生物材料抗菌性能提高, 但若 Ag 纳米颗粒发生团聚, 材料抗菌性能便相应下降. 初步实验结果显示, 以 5 mL Ag 胶体母液稀释的电泳沉积液沉积时, 银含量较高, 且呈良好分散, 抗菌效果最佳.

参考文献 (References):

- [1] Munagan R, Ramakrishna S. Development of nanocomposites for bone grafting [J]. *Compos Sci Technol* 2005, 65: 2385-2046.
- [2] Zaffe D. Some consideration on biomaterials and bone [J]. *Micron* 2005, 36: 583-592.
- [3] Itoh S, Kikuchi M, Koyama Y, et al. Development of an artificial vertebral body using a novel biomaterial hydroxyapatite/collagen composite [J]. *Biomaterials* 2002, 23: 3919-3916.
- [4] An Y H, Friedman R J. Prevention of sepsis in total joint arthroplasty [J]. *J Hosp Infect* 1996, 33(2): 93-108.
- [5] Yu H J, Xu X Y, Chen X S, et al. Preparation and antibacterial effects of PVA-PVP hydrogels containing silver nanoparticles [J]. *J Appl Polym Sci* 2007, 103: 125-133.
- [6] Bellantone M, Coleman N J, Hench L L. Bacteriostatic action of a novel four-component bioactive glass [J]. *J Biomed Mater Res* 2000, 51: 484-490.
- [7] Di Nunzio S, Vitale Brovarone C, Spriano S, et al. Silver containing bioactive glasses prepared by molten salt ion-exchange [J]. *J Eur Ceram Soc* 2004, 24: 2935-2942.
- [8] Mbhele Z H, Salemane M G, Van S. Fabrication and characterization of silver-polyvinyl alcohol nanocomposites [J]. *Chem Mater* 2003, 15(26): 5019-5024.
- [9] Hu R, Lin C J, Shi H Y. A novel ordered nano hydroxyapatite coating electrochemically deposited on titanium substrate [J]. *J Biomed Mater Res* 2007, 80(3): 687-692.
- [10] Dunn K, Edwards-Jones V. The role of Acticoat™ with nanocrystalline silver in the management of bums [J]. *Bums* 2004, 30: S1-S9.

An HAp/nanosilver Coating Prepared by Electrochemical Deposition and its Antibacterial Characterization

GENG Zhiwang WANG Hui LIN Chang-jian*

(State Key Laboratory of Physical Chemistry of Solid Surface Department of Chemistry,
College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract: The silver nanoparticles were prepared by sodium citrate reduction of AgNO_3 . The nanoparticles were electrophoretic deposited on titanium, followed by the electrolytic deposition of hydroxyapatite (HAp). It is revealed by the high-resolution transmission electron microscopy (HRTEM), that the diameters of nanosilver particles ranged from 5 nm to 20 nm. The XPS and XRD indicated the coating consisting of silver and HAp. According to the SEM images and antibacterial test, it is demonstrated that when the concentrations of the electrophoretic solution became higher more silver particles were deposited, and the antibacterial property improved. However, the particles aggregated on titanium greatly when the concentration exceeded a point, and the antibacterial activity declined. The optimum concentration for the antibacterial property of the material was determined.

Key words: nanosilvers, hydroxyapatite, antibacterial, titanium