

纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯抗菌性能评价*

徐帅, 李师思, 史福军, 邹兆伟, 黄宗海

摘要:目的 比较 7 种纳米 Ag-SiO₂ 含量不同的聚氨酯材料的抗菌性能。方法 制备含纳米 Ag-SiO₂ 质量分数为 0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、5.0% 的 7 种聚氨酯材料; 选用金黄色葡萄球菌与大肠埃希菌为受试菌种, 使用贴膜法测定各样品中的活菌数, 并计算出各样品的抗菌率, 对各样品的抗菌性能进行评级。使用含纳米 Ag-SiO₂ 质量分数为 1.0%、2.5% 的聚氨酯材料进行抑菌圈实验, 分别测定 1、3、7 d 的抑菌圈直径, 测定材料的抗菌持久性。结果 含纳米 Ag-SiO₂ 质量分数为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、5.0% 的聚氨酯材料对金黄色葡萄球菌与大肠埃希菌的抗菌率均 >90%, 并且随着纳米 Ag-SiO₂ 含量的增高, 抗菌率逐渐增高; 1、3、7 d 材料抑菌圈直径差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 纳米 Ag-SiO₂ 含量增高, 抗菌作用增强, 且具有较持久的抗菌性, 可以作为理想的抗菌材料应用于生活与医疗。

关键词: 纳米 Ag-SiO₂; 聚氨酯; 抗菌性能; 贴膜法; 抑菌圈

中图分类号: R 318.14

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)04-0498-02

Antibacterial property of nanoAg-SiO₂ polyurethane XU Shuai, LI Shi-si, SHI Fu-jun, et al. *General Surgery, Zhujiang Affiliated Hospital, Southern Medical University (Guangzhou 510282, China)*

Abstract: Objective To compare antibacterial property of seven kinds of polyurethane materials with different content of nanoAg-SiO₂. **Methods** Materials with nanoAg-SiO₂ at dose of 0%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5%, and 5.0% were prepared. *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were adopted as test strains. Sticking film method was used to determine living bacterium number and to calculate antibacterial rate. The antibacterial property of the materials was ranked. Bacteriostatic ring experiment with nanoAg-SiO₂ content of 1.0% and 2.5% was conducted simultaneously. The diameter of bacteriostatic ring was determined on 1, 3 and 7 day of the test to determine antibacterial persistence of the materials. **Results** Antibacterial rates of polyurethane materials with nanoAg-SiO₂ content of 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5% and 5.0% for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* were all more than 90%. Antibacterial rate of the materials increased with the increment of nanoAg-SiO₂ concentration. Bacteriostatic ring diameters on 1, 3, and 7 day of the test showed no obvious difference ($P > 0.05$). **Conclusion** All polyurethane materials with nanoAg-SiO₂ content of 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0%, 2.5% and 5.0% have antibacterial property and lasting resistance to bacterial and could be used as antibacterial material in daily life and medical practice.

Key words: nanoAg-SiO₂; polyurethane; antibacterial property; sticking film method; bacteriostatic ring

聚氨酯是分子结构中含有重复的氨基甲酸酯基的聚合物的总称, 其分子链由柔性链段和刚性链段嵌段而成, 具有优良弹性、韧性、耐磨性和耐生物老化性, 近年来被广泛应用于家电、家具、玩具等领域; 同时有大量资料证明, 聚氨酯具有良好的生物力学性能与生物相容性, 因此被广泛应用于医疗器械与医用材料^[1-2]。银离子具有广谱、持久的抗菌作用, 本课题组自主研发了纳米 Ag-SiO₂^[3-5] 聚氨酯, 使聚氨酯具有良好的抗菌性能, 拓宽了聚氨酯材料的应用范围。为抗菌聚氨酯材料广泛应用于生活与医疗领域提供了理论基础。

1 材料与仪器

1.1 材料与仪器 材料 纳米 Ag-SiO₂ (产品型号为 RHA-T2, 上海润河纳米材料科技股份有限公司), 含纳米 Ag-SiO₂ 质量分数为 0%、0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、5.0% 的聚氨酯材料 (5.0 cm × 5.0 cm × 0.3 cm) 由课题组与佛山市南海百合医疗科技有限公司熔融共混制备, Ag-SiO₂ 含量为 1.0% 与 2.5% 圆形薄片状纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯 (直径 0.5 cm), 聚乙烯薄膜 (40 mm × 40 mm), 革兰阳性 (G⁺) 的金黄色葡萄球菌 (ATCC 6538), 革兰阴性 (G⁻) 的大肠埃希菌 (ATCC

25922), 哥伦比亚血琼脂平板, 营养琼脂平板, 90 mm 灭菌皿, 灭菌试管, 灭菌移液管, 75% 乙醇溶液, 培养液 (营养肉汤/生理盐水溶液), 洗脱液 (0.8% 氯化钠生理盐水)。仪器: 37 °C 恒温培养箱, 超净工作台, 微量可调移液器, 接种环, 酒精灯, 游标卡尺。

1.2 方法

1.2.1 样品消毒 将纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯材料样品于 75% 酒精液中浸泡 24 h, 无菌蒸馏水洗涤后自然风干, 紫外线消毒 1 h 待用。

1.2.2 菌液制备 菌种保藏、菌种活化后采用连续转接 2 次后的新鲜细菌培养物 (24h 内转接的), 接种环刮 1 环新鲜细菌, 加入培养液中, 并依次做 10 倍递增稀释液, 选取菌液浓度 5.0×10^5 cfu/mL 与 1.0×10^8 cfu/mL 的菌液待用。

1.2.3 抗菌率实验 取浓度为 5.0×10^5 cfu/mL 的菌液 0.2 mL 分别滴加在灭菌皿的平板 (阴性对照)、0% 纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯 (空白对照) 与 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、5.0% 纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯材料上, 依照文献^[6] 方法操作, 最后取 0.2 mL 冲洗液接种于血琼脂平板, 在 37 °C 培养箱中培养 24 h 后计算活菌数。

1.2.4 抑菌圈实验 使用浓度 1.0×10^8 cfu/mL 的菌液均匀涂抹于营养琼脂平板上, 将直径 0.5 cm、纳米 Ag-SiO₂ 含量 1.0% 与 2.5% 的片状纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯材料置于琼脂平板中, 置于 37 °C 培养箱中。使用游标卡尺分别于 1、3、7 d 测量

* 基金项目: 广东省科技计划项目 (2009A030200014)

作者单位: 南方医科大学附属珠江医院普通外科, 广东 广州 510282

作者简介: 徐帅 (1985 -), 男, 辽宁沈阳人, 博士在读, 研究方向: 普通外科基础与临床。

通讯作者: 黄宗海, E-mail: drhuangzh@yahoo.com.cn

各样品抑菌圈直径大小。以上实验共重复 3 次,每次实验每个样品做 5 个平行。

1.3 评价标准

1.3.1 抗菌率 按照公式⁽⁶⁾:实验材料抗菌率=(空白对照材料回收细菌数-实验材料回收细菌数)/空白对照材料回收细菌数×100% 计算。

1.3.2 抗菌性能评级 抗菌率≥99% 为 I 级,为有强抗菌作用;抗菌率≥90% 为 II 级,为有抗菌作用⁽⁶⁾。

1.3.3 抗菌持久性评价 于 1、3、7 d 测量各样品抑菌圈大小,若同样品在相同测试菌种下测得抑菌圈数值差异无统计学意义($P > 0.05$) 则初步断定该材料具有较持久的抗菌性。

1.4 统计分析 采用 SPSS 13.0 软件包进行统计学处理,实验结果用 $\bar{x} \pm s$ 结果比较使用 One-Way ANOVA 检验与 t 检验 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 菌落生长状况 各实验组 0.2 mL 冲洗液接种于血琼脂平板,在 37 °C 培养箱中培养 24 h 后观察金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌菌落生长状况:阴性对照组与空白对照组菌落高密度生长于血琼脂平板上;6 种含有纳米 Ag-SiO₂ 的聚氨酯材料组血琼脂平板上可见菌落零星分布,并且随着纳米 Ag-SiO₂ 含量的增加,菌落数逐渐减少。

表 2 1.0% 与 2.5% 纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯材料抑菌圈实验结果($\bar{x} \pm s$)

纳米 Ag-SiO ₂ 聚氨酯	金黄色葡萄球菌抑菌圈直径(mm)			大肠埃希菌抑菌圈直径(mm)		
	1 d	3 d	7 d	1 d	3 d	7 d
1.0%	10.8 ± 0.1	10.8 ± 0.2	10.8 ± 0.2	10.5 ± 0.2	10.5 ± 0.1	10.4 ± 0.1
2.5%	12.2 ± 0.1	12.3 ± 0.1	12.3 ± 0.3	12.0 ± 0.1	12.0 ± 0.2	11.9 ± 0.3

3 讨论

实验表明,含纳米 Ag-SiO₂ 质量分数为 0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、5.0% 的聚氨酯材料对革兰阳性(G⁺)的金黄色葡萄球菌与革兰阴性(G⁻)的大肠埃希菌均有抗菌作用,随着纳米 Ag-SiO₂ 含量增加,材料的抗菌性能逐渐增强;抑菌圈实验表明纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯具有较持久的抗菌性能。

在所有金属中,银是有效抑菌浓度最低的品种之一,且毒性很小,抗菌性能强大,在人体中难以积累,是最常用的金属抗菌剂。纳米 Ag-SiO₂ 是一种新型无机抗菌剂,由具有广谱抗菌活性的银离子包覆在纳米级载体二氧化硅上构成。SiO₂ 载体可缓慢、持久地释放银离子,释放的纳米级银离子粒径微小,有独特的小尺寸效应和表面效应,能够破坏微生物屏障结构、原生质酶活性及 DNA 分子⁽⁷⁻⁹⁾。当菌体失去活性后,纳米银离子会从菌体中游离出来,重复进行杀菌活动,利用这种机制来抗菌、杀菌,基本上不会出现细菌耐药性。因此纳米 Ag-SiO₂ 可作为长效抗菌剂,能有效地预防细菌、真菌感染。

本研究结果证明,纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯对 G⁺ 与 G⁻ 的代表性细菌均具有抗菌作用,并且纳米 Ag-SiO₂ 含量为 5.0% 的纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯具有强抗菌作用,抗菌率接近 100%。据此推测,随着纳米 Ag-SiO₂ 含量的增高,纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯材料的抗菌性能逐渐增强。但随着纳米 Ag-SiO₂ 含量的不断增高,聚氨酯的力学性能难免会受到影响;并且更多的纳米 Ag-SiO₂ 在空气中氧化,性质变得不稳定,从而纳米银离子容易迁移,导致机体损害、环境污染与抗菌性能下降等问题。因此,完善材料的皮肤黏膜刺激实验、过敏反应实验、急性毒性

2.2 抗菌率与抗菌性能评级(表 1) 各材料细菌计数后,计算不同含量纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯材料的抗菌率并进行抗菌性能评级。结果表明,阴性对照材料与空白对照材料实际回收的细菌数比较,经 t 检验差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 含量不同的纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯材料抗菌率与抗菌性能评级($\bar{x} \pm s$)

纳米 Ag-SiO ₂ 聚氨酯	金黄色葡萄球菌		大肠埃希菌	
	抗菌率(%)	评级	抗菌率(%)	评级
0.5%	90.77 ± 0.72	II 级	93.42 ± 0.93	II 级
1.0%	92.25 ± 0.58	II 级	95.28 ± 0.63	II 级
1.5%	94.53 ± 0.24	II 级	96.04 ± 1.01	II 级
2.0%	96.13 ± 0.64	II 级	97.14 ± 0.35	II 级
2.5%	99.21 ± 0.15	I 级	98.76 ± 0.18	II 级
5.0%	99.40 ± 0.03	I 级	99.00 ± 0.22	I 级

2.3 抑菌圈直径(表 2) 纳米 Ag-SiO₂ 含量 1.0% 与 2.5% 的纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯材料抑菌圈实验结果表明,在同样品、相同实验用菌种条件下,各实验组 1、3 与 7 d 的抑菌圈直径比较均采用 One-Way ANOVA 检验,结果示各实验组于 1、3 与 7 d 后的抑菌圈直径差异无统计学意义($P > 0.05$)。

实验与蓄积毒性等相关实验,制备过程中正确选择兼顾材料各项性能指标的纳米 Ag-SiO₂ 含量,便可将具有持久、广谱抗菌作用的纳米 Ag-SiO₂ 聚氨酯早日应用于生活用品和医疗卫生领域。

参考文献

- (1) 连丽明,冷冰,付延鲍,等.增强医用聚氨酯抗凝血性研究进展[J].生物医学工程学杂志 2011 28(3):632-635.
- (2) 赵宏生,蔡海波,潘肇琦,等.生物载体用聚醚型聚氨酯多孔材料的研究[J].功能高分子学报 2005 18(3):361-367.
- (3) 景红霞,黄桂娟,鲁双云,等.纳米银/猪皮基质医用敷料抑菌效果评价[J].中国公共卫生 2010 26(11):1355-1356.
- (4) 张帆,董玉梅,靳桂明,等.纳米银体外抑菌效果的试验观察[J].中华医院感染学杂志 2011 21(20):4276-4277.
- (5) 臧宏,尚福泰,郭世光.纳米银/聚乳酸复合材料对 ICU 导管术感染耐药菌的杀灭效果[J].江苏医药 2011 37(20):2374-2376.
- (6) 全国塑料制品标准化技术委员会. QB/T 2591-2003. 抗菌塑料—抗菌性能试验方法和抗菌效果[S]. 北京:中国轻工业出版社 2004.
- (7) Holt KB, Bard AJ. Interaction of silver(I) ions with the respiratory chain of *Escherichia coli*: an electrochemical and scanning electrochemical microscopy study of the antimicrobial mechanism of micromolar Ag⁺ [J]. Biochemistry 2005 44(39):13214-13223.
- (8) Lok CN, Ho CM, Chen R et al. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles [J]. J Proteome Res, 2006 5(4):916-924.
- (9) Thomas V, Yallapu MM, Sreedhar B et al. A versatile strategy to fabricate hydrogel-silver nanocomposites and investigation of their antimicrobial activity [J]. J Colloid Interf Sci 2007 315(1):389-395.