



## ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@聚多巴胺@Ag纳米复合材料的制备及其抑菌性

史娟 梁犇 宋凤敏 郝梦超 韩媛媛 吴迎花 邱莹 杨骏鹏 郭少波

### Preparation and antibacterial properties of ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@polydopamine@Ag nanocomposites

SHI Juan, LIANG Ben, SONG Fengmin, HAO Mengchao, HAN Yuanyuan, WU Yinghua, QIU Ying, YANG Junpeng, GUO Shaobo

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20230317.001>

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 纳米核壳型Ag@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>复合材料的制备、催化及抑菌性能

Preparation, catalytic property and antibacterial property of Ag@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> core-shell composite nanomaterials

复合材料学报. 2021, 38(3): 816–823 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20200623.001>

#### Ag–Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>–g–C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>纳米复合材料的制备及可见光催化性能

Preparation and photocatalytic properties of Ag–Ag<sub>2</sub>O/TiO<sub>2</sub>–g–C<sub>3</sub>N<sub>4</sub> nanocomposites

复合材料学报. 2020, 37(6): 1401–1410 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20191217.001>

#### 可磁分离ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>–TiO<sub>2</sub>/还原氧化石墨烯复合材料的制备及光催化性能

Preparation and photocatalytic properties of magnetically separatable ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>–TiO<sub>2</sub>/reduced graphene oxide composites

复合材料学报. 2020, 37(4): 758–766 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20190731.002>

#### CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Pt核壳型磁性复合材料的制备及催化性能

Preparation and catalytic properties of CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Pt magnetic composite with core shell structure

复合材料学报. 2021, 38(5): 1551–1557 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20200925.001>

#### 纳米银/聚乙烯醇复合物的生物合成及其对6种水产病原菌的抑菌活性

Biosynthesis of silver nanoparticles/polyvinyl alcohol composite and its antibacterial activity against six aquatic pathogens

复合材料学报. 2021, 38(11): 3808–3817 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20210210.006>

#### 还原氧化石墨烯@Ag<sub>2</sub>O改性TiO<sub>2</sub>基复合材料的制备及其可见光催化性能

Preparation of reduced graphene oxide@Ag<sub>2</sub>O modified TiO<sub>2</sub>–based composites and their visible light photocatalytic properties

复合材料学报. 2018, 35(2): 384–390 <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20170519.001>



扫码关注微信公众号，获得更多资讯信息

DOI: 10.13801/j.cnki.fhclxb.20230317.001

# ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@聚多巴胺@Ag 纳米复合材料的制备及其抑菌性



分享本文

史娟\*, 梁犇, 宋凤敏, 郝梦超, 韩媛媛, 吴迎花, 邱莹, 杨骏鹏, 郭少波\*

(陕西理工大学 化学与环境科学学院, 陕西省催化基础与应用重点实验室, 汉中 723001)

**摘要:** 随着生活质量的提高, 抗生素已成为人类不可或缺的药物, 但近年来抗生素的滥用导致大量耐药菌出现对社会健康造成了严重的威胁。因此, 迫切需要开发新型、有效持久的抗菌剂, 以应对日益增长的公共卫生需求。本文先以 FeCl<sub>3</sub>、NaAc 和 ZnCl<sub>2</sub> 为原料用“热溶剂法”制备磁性铁酸锌 (ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>), 再以 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 为核进行聚多巴胺 (PDA) 包覆形成 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA 纳米微球, 最后将由化学还原法制备的粒径在 2~16 nm 的银纳米颗粒 (Ag NPs) 负载于 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA 表面, 形成 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 纳米复合材料。通过 TEM、XRD、XPS、UV-Vis、FTIR、Zeta 电位等表征材料形貌特征。以革兰氏阴性菌铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*)、革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 和耐药菌沙门氏菌 (*T-Salmonella*) 为模式菌, 研究 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 材料的抑菌活性及抑菌机制。实验结果表明, 相比于同比例浓度的 Ag NPs (负载量 0.39%), 材料对 *P. aeruginosa* 的抑菌率提升了 57.1%、对 *S. aureus* 和 *T-Salmonella* 提升值分别为 61.7% 和 39.2%。材料浓度为 200 μg/mL, 作用时间 60 min 条件下, ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@Ag 对测试菌抑制率均可达到 99.9%。抑菌机制结果证实, ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 可与细胞壁表面蛋白作用破坏细胞壁, 进入细菌内部与胞内蛋白和相关酶作用阻碍细胞呼吸, 且破坏 DNA 结构并抑制其复制过程, 从而影响细菌呼吸和细胞分裂等生理生化过程, 最终导致细菌死亡。该材料以磁性 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 为内核, 具有可重复利用、高性价比、无二次污染等优点; PDA 层包覆使材料具有良好的生物相容性。同时, Ag NPs 在 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA 纳米微球表面的负载, 解决了 Ag NPs 易团聚问题, 且因小颗粒 Ag NPs 可直接通过离子通道进入细菌内部, 使 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 具备了优异的抗菌活性。本工作可为新型、智能化抗生素材料的研发提供理论依据。

**关键词:** ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@聚多巴胺 (PDA)@Ag; 纳米材料; 抑菌机制; 抑菌材料; Ag 纳米颗粒 (NPs)

**中图分类号:** TB333; O614      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1000-3851(2023)12-6774-15

## Preparation and antibacterial properties of ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@polydopamine@Ag nanocomposites

SHI Juan\*, LIANG Ben, SONG Fengmin, HAO Mengchao, HAN Yuanyuan, WU Yinghua,  
QIU Ying, YANG Junpeng, GUO Shaobo\*

(Shaanxi Key Laboratory of Catalysis, School of Chemistry and Environmental Sciences, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China)

**Abstract:** With the improvement of life quality, antibiotics have become indispensable drugs for human beings. However, the prevalence of multiple super pathogenic bacteria in environments are induced by the extensive use of antibiotics, which poses a serious threat to social health. It has become extremely urgent to develop new, effective

收稿日期: 2023-01-16; 修回日期: 2023-02-20; 录用日期: 2023-03-03; 网络首发时间: 2023-03-20 11:26:41

网络首发地址: <https://doi.org/10.13801/j.cnki.fhclxb.20230317.001>

基金项目: 陕西省科技厅项目 (2020ZDLGY11-02; 2021SF-382; 2021JQ-752); 陕西理工大学秦巴生物资源与生态环境省部共建国家重点实验室项目 (SXJ-2106); 陕西理工大学科研一般项目 (SLGKYXM2208); 陕西省科技厅项目 (2023-JC-QN-0162)

Project of Science and Technology Department of Shaanxi Province (2020ZDLGY11-02; 2021SF-382; 2021JQ-752); State Key Laboratory Project of Qinba Biological Resources and Ecological Environment, Shaanxi University of Technology (SXJ-2106); General Scientific Research Project of Shaanxi University of Technology (SLGKYXM2208); Project of Science and Technology Department of Shaanxi Province (2023-JC-QN-0162)

通信作者: 史娟, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向为有机功能材料的合成和天然产物提取 E-mail: 446269824@qq.com;  
郭少波, 硕士, 讲师, 研究方向为生物材料 E-mail: 1403699360@qq.com

引用格式: 史娟, 梁犇, 宋凤敏, 等. ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@聚多巴胺@Ag 纳米复合材料的制备及其抑菌性 [J]. 复合材料学报, 2023, 40(12): 6774-6788.

SHI Juan, LIANG Ben, SONG Fengmin, et al. Preparation and antibacterial properties of ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@polydopamine@Ag nanocomposites[J]. Acta Materiae Compositae Sinica, 2023, 40(12): 6774-6788(in Chinese).

and durable antibacterial agents in response to a rising public health demand. In this paper, magnetic zinc ferrite ( $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ) was prepared by one-pot method using  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{NaAc}$  and  $\text{ZnCl}_2$  as raw materials. Secondly,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA nanospheres were formed by coating polydopamine (PDA) on the surface of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ . Finally, silver nanoparticles (Ag NPs) with particle size of 2~16 nm prepared by chemical reduction method were adsorbed on the surface of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA nanospheres to form  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag nanocomposites. The prepared nanocomposite was characterized by TEM, XRD, XPS, UV-Vis, FTIR and Zeta potential. The antimicrobial activity and mechanism of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag were studied with gram-negative bacteria *P. aeruginosa*, gram-positive bacteria *S. aureus* and drug-resistant bacteria *T-Salmonella*. Compared with the same concentration of Ag NPs (loading 0.39%), the antibacterial rate of the material against *P. aeruginosa* was increased by 57.1%, and that against *S. aureus* and *T-Salmonella* was increased by 61.7% and 39.2%, respectively. When tested bacterial were treated for 60 min in 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$   $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag, the inhibition rates of the material to the three test bacteria reached 99.9%. The results of bacteriostasis mechanism showed that  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag could interact with cell wall surface proteins to destroy cell wall, enter the interior of bacterial and interact with intracellular proteins and related enzymes to hinder cell respiration, damage DNA structure, and inhibit its replication process, thus affecting physiological and biochemical processes such as bacterial respiration and cell division, and eventually lead to bacterial death. With magnetic  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  as the core, the nanocomposite is of repeatable utilization, high ratio performance and price, no second pollution. And the coating of PDA layer makes the nanocomposite has good biocompatibility. Importantly, the  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag not only solves the problem of Ag NPs being easy to agglomerate, but also has high antibacterial activity because small particles of Ag NPs can directly enter bacteria through ion channels. This study provides a theoretical basis for research and development of new and intelligent antibiotic materials.

**Keywords:**  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @polydopamine (PDA)@Ag; nanomaterials; bacteriostatic mechanism; antibacterial material; Ag nanoparticles (NPs)

当今已有的抗菌剂大致可分为有机抗菌剂和无机抗菌剂两大类。有机抗菌剂因其性能优异,作用速度快,生物相容性高等优点被广泛应用于污水处理和医疗环保等领域<sup>[1]</sup>,但作用时间短,毒性高,对人类健康产生不利影响等缺点限制了其发展<sup>[2]</sup>。相比之下,无机抗菌剂具有良好的化学和物理性能,且其具备安全、持久、高效等众多优点。纳米银作为应用最广的无机抗菌剂其具有抑菌性能高、不易产生耐药、杀菌持久、价格低廉等优点被应用于医疗和化学工程等领域<sup>[3]</sup>。研究表明,纳米银粒径越小,表面能越大抑菌性能越强,但粒径小,其易团聚,且低的可回收性和可重复使用性也严重限制了其发展<sup>[4]</sup>。

近年来,有研究者将银纳米颗粒(Ag NPs)负载在比表面积较大的亚微球上以此来解决纳米银易团聚的问题,用特异载体的还原性合成银系核壳型纳米复合材料。Wang 等<sup>[5]</sup>研究制备了 Ag/CeO<sub>2</sub>杂化结构,抑菌结果表明:Ag/CeO<sub>2</sub>对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有良好的抑菌活性,且Ag/CeO<sub>2</sub>的抗菌活性明显优于单独的 AgNPs;郭少波等<sup>[6]</sup>制备了 Ag@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>纳米核壳型纳米复合材料,抑菌结果显示:Ag@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>纳米复合材料对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的抑菌性能强于单质

AgNPs的抑菌活性。因纳米银易脱落,在上述制备过程中常借助还原剂负载纳米银于亚微球表面,但多数还原剂存在一定毒性。这与银抗菌纳米复合材料广泛用于人体接触区<sup>[7]</sup>,须具有较高环境友好性、较大生物相容性的要求相悖。贻贝激发的聚多巴胺(PDA)化学被广泛应用于表面修饰。作为一种贻贝的仿生材料,PDA具有良好的生物相容性、光热转化率、独特的黏附能力和抗菌性能,且对人体无毒,自身多羟基具有一定的还原性等众多优点<sup>[8]</sup>。解修超等<sup>[9]</sup>合成制备了核壳型纳米PDA@Ag纳米复合材料,抑菌结果表明PDA@Ag对金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和大肠杆菌(*E. coli*)的抑菌性优于纳米银,且对人体的毒性非常小。然而,此类研究制备得到的纳米银均为大粒径颗粒,无法穿透3 nm的Cu<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>等离子通道<sup>[10]</sup>,致使抑菌性能大大降低。且目前相关研究大多集中于纳米复合材料的基础抑菌活性,对于初步的抑菌机制探究较少。

基于此,本文设计由热溶剂法制备单分散的磁性ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>纳米微球;利用PDA活性基团与磁性纳米球金属的强分子间力,将PDA牢固地黏附在ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>纳米微球表面,以此来增强ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>的稳定性;借助化学还原法制备得到2~16 nm的

银纳米颗粒，并将该纳米颗粒以银溶胶形式吸附到ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA纳米微球表面，最终得到纳米复合材料ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag。PDA中的氨基基团可与纳米银进行配位结合，从而控制Ag NPs的释放，使其抑菌性能更加持久。此外，以革兰氏阴性菌铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)、*S. aureus*和耐药菌沙门氏菌(*T-Salmonella*)为模型菌研究协同抑菌活性，并讨论其抑菌机制。该纳米复合材料在具备优异、持久、高效抑菌性能的同时，还因ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>磁性特点使其易于回收，大大降低了材料污染性和成本。本文旨在得到性能更加优异的抑菌材料，为由耐药菌引起的疾病治疗提供理论依据。

## 1 实验材料及方法

### 1.1 原材料

六水合·三氯化铁(FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O, AR, 天津市大茂化学试剂厂有限公司)；氯化锌、乙二醇(AR)、柠檬酸钠、无水乙醇(AR, 天津市天力化学试剂有限公司)；无水乙酸钠(AR, 天津博迪化工股份有限公司)；盐酸多巴胺、三羟甲基氨基甲烷(AR, 成都艾科达化学试剂有限公司)；硝酸银(AR, 广州市鑫铂化工有限公司)；硼氢化钠(AR, 天津市科密欧化学试剂有限公司)；浓硫酸(AR, 四川西陇化工股份有限公司)；*P. aeruginosa*(型号：KM1-GB8538B)和*S. aureus*(型号：BNCC186335)以*T-Salmonella*(型号：CCTCC CB 20082358)(陕西省食用菌研究所)。

### 1.2 材料制备

#### 1.2.1 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>的制备

将60mL FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O(0.12 mol/L)溶于60mL乙二醇中超声均匀，加入60mL 0.06 mol/L ZnCl<sub>2</sub>超声3 min，取0.6 g 柠檬酸钠和3.6 g 无水乙酸钠加入反应体系超声2 h至溶液澄清透明，将反应液移至反应釜中200℃反应10 h<sup>[11]</sup>，获得的沉淀用蒸馏水洗涤2次、乙醇洗涤1次，最后磁分离得到产品烘干备用。

#### 1.2.2 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA的制备

准确称取100 mg ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>溶于60 mL三羟甲基氨基甲烷(10 mmol/L)中超声均匀，将100 mg盐酸多巴胺加入反应体系超声10 min，随后机械搅拌24 h后磁分离得到产物，产物用蒸馏水洗涤4次、无水乙醇洗涤1次，烘干备用。

#### 1.2.3 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag的制备

Ag溶胶制备：准确称取0.0732 g 柠檬酸钠和

0.0378 g 的硝酸银配制成1 000 mL混合溶液待用。配制50 mL 10 mmol/L的硼氢化钠溶液备用。取100 mL 柠檬酸钠和硝酸银的混合液放入锥形瓶，逐滴加入3 mL 硼氢化钠溶液超声10 min制备得到Ag溶胶。称取200 mg ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA溶于25 mL蒸馏水中超声均匀，加入5~6滴稀硫酸至反应体系。最终取20 mL Ag溶胶逐滴加入反应体系并超声10 min，重复吸附5次，磁分离烘干制得ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag。

### 1.3 表征

采用TEM(TecnaiG2F20型，荷兰FEI公司)分析ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag的微观形貌，设置加速电压为200 kV，最大放大倍数为80 000X；采用XRD(D8ADVANCE，德国BRUKER公司)测试Ag NPs、ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>、ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA及ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag的XRD图谱，选用Cu靶的K<sub>a</sub>射线，工作电压40 kV，工作电流40 mA，扫描角度2θ为10°~90°，步长0.017°/s<sup>[12]</sup>；利用XPS(Kratos，日本AXIS Supra公司)分析ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag样品表面存在的元素和价态并分析纳米银的吸附量；利用紫外分光光度计(UV-6100S型，上海元析仪器有限公司)测试AgNPs、ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>、ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA及ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag的紫外特征吸收峰；利用傅里叶变换红外光谱仪(VERTEX70，德国布鲁克公司)检测其特征官能团。

### 1.4 抑菌活性测试

#### 1.4.1 菌种活化

取2.5 g 酵母浸粉、4 g 胰蛋白胨、5 g 氯化钠、18 g 琼脂溶于500 mL去离子水中制得Luria-Bertani(LB)固体培养基，121℃高压下灭菌30 min(LDZF-75L，上海申安医疗器械厂)。无菌环境下，将培养基倒入灭菌过的培养皿中备用。用接种环蘸取细菌母液涂布在LB培养基上，放置培养箱中37℃下培养12 h。待培养结束后，从培养好的细菌中挑出单个菌落，装入5 mL培养液的试管中，37℃恒温振荡培养12 h<sup>[13]</sup>得到测试菌种，冰箱保存备用。

#### 1.4.2 滤纸片扩散实验

以*P. aeruginosa*、*S. aureus*和*T-Salmonella*为测试菌，采用滤纸片扩散法<sup>[14]</sup>定性研究ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag的抑菌性能。将所需材料在121℃高压下灭菌20 min，用无菌去离子水将ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag、ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA配制成400、200、100、50 μg/mL的溶液待用，同时配制1.56、0.78、0.39、0.195 μg/mL Ag NPs。并以ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA、Ag NPs、

无菌去离子水为参比研究 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 的抑菌性。取 500 μL 菌液(浓度: 6×10<sup>7</sup> CFU/mL (CFU 表示菌落形成单位, Colony-forming units) 均匀涂布在固体 LB 培养基上, 在其表面贴放直径为 6 mm 的滤纸片, 将 6 μL 实验材料滴到相应滤纸片上, 37℃ 光照培养箱(MGC-P, 上海一恒科学仪器有限公司)下培养 12 h, 平行 5 组观察结果。

### 1.4.3 菌落计数实验

以 *P. aeruginosa*、*S. aureus* 和 *T-Salmonella* 为测试菌, 采用菌落计数法定量研究 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 的抑菌性能。将所需材料在 121℃ 高压下灭菌 20 min。取一定量的 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 溶入 1.5×10<sup>7</sup> CFU/mL 的 3 种测试菌液中, 最终确定材料浓度为 200 μg/mL。利用磁铁分离混合液, 吸取上清液 10 μL 滴在 LB 培养基表面, 用接种环涂布均匀。以 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 与测试菌液接触时间 0、5、10、20、40、60 min 为变量, 记录不同时间段的菌落数。恒温培养箱 37℃ 下培养 18 h 观察结果。运用下式计算抑菌率:

$$A = \frac{B - C}{B} \times 100\% \quad (1)$$

其中: A 表示抑菌效率; B 为对照组中菌落个数; C 是不同时间抑菌材料的抑菌结果菌落数。

## 1.5 抑菌机制研究

### 1.5.1 离子泄露检测实验

利用电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)进一步探究 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 纳米复合材料的抑菌机制, 探究细菌细胞离子泄露情况。电感耦合等离子体质谱法<sup>[15]</sup>作为一种新兴的痕量分析技术, 具有高效快速、灵敏准确等特点, 被广泛地应用于食品等领域中无机元素的检测。近年来也有研究者将这一方法用于细胞中金属离子的检测<sup>[16]</sup>。本论文运用 ICP-MS 检测对照组纯菌及 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 作用 12 h 后细菌中 K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 离子浓度的不同来探究其抑菌机制。操作步骤为: 无菌环境下, *P. aeruginosa*、*S. aureus* 和 *T-Salmonella* 分别稀释至 9×10<sup>8</sup> CFU/mL。实验组取 3 mL 菌液放入 5 mL 离心管中, 加入纳米复合材料使其浓度为 200 μg/mL, 并以同样浓度的纯菌作为对照组。将实验组材料在室温下振荡 12 h, 15 000 r/min 离心 6 min, 底部菌落用 10 mL 王水溶解在微波消解仪(MARS2, 美国)上进行消解, 消解完成后进行赶酸处理, 自然冷却后利用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS, NexION 2000B, PE, 美国)进行测

试, 对照组处理方式与上述一致。平行测试 3 组, 并记录数据。

### 1.5.2 Zeta 电位分析

通过 Zeta 电位分析研究 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 与不同测试菌在不同作用时间时的电位值变化情况, 以此来探究材料的抑菌机制。无菌操作台上, 用无菌去离子水将测试菌(*P. aeruginosa*、*S. aureus* 和 *T-Salmonella*)稀释至 9×10<sup>8</sup> CFU/mL 摆匀备用。取一定量 20 mg/mL 的 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 加入到测试菌中(材料浓度为 200 μg/mL), 待作用一定时间后进行磁分离, 吸取上清液利用纳米粒度及 Zeta 电位分析仪(90Plus PALS, 美国布鲁可海文仪器公司)测定细菌表面电荷, 摆匀待测试液反应 1 h 后再次测量其电位值。同时测定 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 及纯菌的表面电位值作为对照, 每个样品平行测定 3 次并记录数据。

### 1.5.3 生物相容性

采用毒理性实验研究 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 的生物相容性。二苯基四氮唑溴盐(MTT)法<sup>[17]</sup>根据活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶(SDH)使外源性 MTT 还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲瓒(Formazan)并沉积在细胞中, 而死细胞中的 SDH 无活性, 因此不能被 MTT 还原。二甲基亚砜(DMSO)能溶解细胞中的甲瓒, 在一定细胞数范围内, MTT 结晶形成的量与活细胞数成正比。用酶标仪(JC-1086A, 甘肃聪辉医药有限公司)在 600 或 630 nm 波长处测定其光吸收值。具体方法为: 用人乳腺上皮细胞(MCF-7)研究 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 的细胞毒性, 将 MCF-7 培养在含 10% 的标准胎牛血清、1% 青链霉素的培养基中, 在 37℃、饱和湿度、5%CO<sub>2</sub> 及 95% 空气孵箱(FYL-YZ-280L, 北京福意电器有限公司)内进行细胞培养。培养完成后在 96 孔板中加入 MCF-7, 每孔约 2000 个细胞, 同时在每个孔加入 20 μL 不同浓度的 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag, 放入 37℃、5%CO<sub>2</sub> 培养箱中孵育 24 h, 随后再加入 20 μL MTT 溶液(10 mg/mL 磷酸盐缓冲液(PBS))培养 2 h。移除上清液加入 100 μL DMSO 溶解 MTT, 培养 12 h, 用分光光度计(L5, 上海仪电控股集团)监测其吸收峰评估材料对细胞的毒理性<sup>[18]</sup>。

### 1.5.4 碘化丙啶(PI)染色法

荧光染料 PI 可穿过受损细胞的细胞膜对 DNA 双链进行染色<sup>[19]</sup>, 本实验采用 PI 对 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 抑菌机制进一步研究。无菌操作台上,

将测试菌用无菌去离子水稀释至  $1.5 \times 10^7$  CFU/mL, 取 7  $\mu\text{L}$  的  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  (20 mg/mL)、测试菌 400  $\mu\text{L}$  混合均匀作为实验组, 测试菌悬液作为对照组。将所需材料在 25℃ 下恒温振荡培养 12 h, 磁分离后吸取上清液 300  $\mu\text{L}$  加入 15  $\mu\text{L}$  PI 进行染色, 黑暗环境下静止 10 min 后进行磁分离。随后用 PBS 缓冲液洗涤 3 次, 最终采用 IX73 荧光显微镜(奥林巴斯株式会社)观察实验结果。

### 1.5.5 细菌生长曲线检测法

采用微量热法研究  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  对 3 种测试菌生长曲线的影响<sup>[20]</sup>。无菌环境下, 将 3 种测试菌稀释至  $6 \times 10^7$  CFU/mL 摆匀备用, 取 20  $\mu\text{L}$  测试菌悬液、18.75  $\mu\text{L}$  (20 mg/mL) 的  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  和 2.5 mL 的 LB 液体培养液加入不锈钢反应池中混合均匀作为实验组。同时取 20  $\mu\text{L}$  菌悬液、18.75  $\mu\text{L}$  无菌去离子水和 2.5 mL LB 液体培养液加入另一不锈钢反应池作为对照组。塞好瓶塞置于 C80 微量热计(法国塞塔拉姆公司)中, 恒温 37℃ 下用数据采集软件跟踪记录细菌生长过程的热功率-时间曲线( $P-t$ ), 待曲线恢复到平稳, 结束实验。

### 1.5.6 细胞质物质泄露测定

采用细胞质物质泄露测定法检测细菌内溶物质外泄情况。细菌细胞膜一旦被破坏, 细菌内部的内溶物就会被释放。利用紫外可见分光光度计在 260 nm 处可检测到其内溶物的特征吸收峰<sup>[21]</sup>, 以此来进一步探究  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  的抑菌机制。首先, 将隔夜活化好的 3 种测试菌 (*P. aeruginosa*、*S. aureus* 和 *T-Salmonella*) 稀释至  $1.5 \times 10^8$  CFU/mL 备用。取 3 mL 菌液装入离心管作为实验组, 加入  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  至纳米复合材料浓度为 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 将制备好的混合液在 25℃ 下常温振荡 24 h。15 000 r/min 离心 10 min, 用 0.22  $\mu\text{m}$  的水式过滤器过滤上清液去除残留的完整细菌。同时取 3 mL 菌液作为对照组, 对照组除不加纳米复合材料其他同实验组作同样处理。最后用紫外可见分光光度计在 260 nm 下测定滤液的紫外光谱吸收值, 平行 3 组记录数据并分析细菌细胞质物质泄露情况。

## 2 结果与讨论

### 2.1 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$ 纳米复合材料的表征

#### 2.1.1 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$ 形貌表征

图 1 分别为  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  的制备流程图、

TEM 图像及粒径分布图。从图 1(b)、图 1(e) 可看出  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  NPs 为均匀的球形结构, 其粒径在 50~120 nm 之间, 平均粒径约 86.7 nm。 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  NPs 表面包覆 PDA 层后其 TEM 测试结果如图 1(c) 所示, 多巴胺均匀覆盖在  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  表面,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  粒径分布(图 1(f))在 95~140 nm 之间, 平均粒径约为 119.2 nm, 较  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  NPs 平均粒径略有增大, 表明多巴胺壳层的成功形成。由于  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  具有较高的亲和力和活性<sup>[22]</sup>, Ag NPs 可以很容易地固定在  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  上, 图 1(d) 为  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  的 TEM 图像。可知实验所制备纳米球为核壳结构, 最外层不连续黑色的小颗粒为纳米银晶体, 中间灰色半透明层为包覆的 PDA 层, 内部的黑色核心为  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ 。由图 1(g) 可知, 所制备材料纳米银的粒径分布在 2~16 nm 之间, 平均粒径约为 7.1 nm。此方法制备的纳米银其粒径最小可在 3 nm 以下, 小粒径的 Ag NPs 可穿过离子通道进入细菌内部, 从而极大提升抑菌性能。通过 TEM 可充分证明  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  纳米复合材料的制备成功。

#### 2.1.2 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$ 表面存在的元素与价态

图 2(a) 为  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  纳米复合材料的 XPS 全扫描光谱。可看出 C、N、O、Fe、Zn 和 Ag 特征峰的存在, O1s、Zn2p、Fe2p 的特征峰归属于  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  纳米微球所含元素的特征峰, 图 2(b) 为锌元素的结合能, 1 021.5 eV 和 1 044.4 eV 归因于  $\text{Zn}2\text{p}_{3/2}$  和  $\text{Zn}2\text{p}_{1/2}$  的结合能, 这说明 Zn 在氧化物中是以  $\text{Zn}^{2+}$  的状态存在<sup>[23]</sup>。图 2(c) 显示了 Fe2p 的特征峰, 由于多巴胺的包覆, 导致其峰信号较弱, 711.4 eV 和 724.0 eV 处的结合能归属于  $\text{Fe}2\text{p}_{3/2}$  和  $\text{Fe}2\text{p}_{1/2}$ <sup>[24]</sup>, 在 718.6 eV 与 709.9 eV 处有两个振动的卫星峰, 这证明了在  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  中 Fe 元素是以  $\text{Fe}^{3+}$  和  $\text{Fe}^{2+}$  形式存在。N1s 特征峰(图 2(d))的出现表明了 PDA 层的成功包覆, 其中 401.3 eV 的特征峰为 R—NH<sub>2</sub> 的特征吸收峰<sup>[25]</sup>, 这可能是由于少量物理上自组装的多巴胺(DA)与 PDA 共存的结果。399.8 和 398.6 eV 处的峰归属于 PDA 的取代胺基和亚胺基。C1s(图 2(e))在 286.0 eV 处的峰归属于 C—N, 在 284.6 eV 的峰为入侵碳的特征峰。Ag3d 峰(图 2(f))的出现证明纳米银的成功吸附, 在 367.0 eV 和 373.1 eV 处有两个明显的峰, 可分别对应 AgNPs 的  $\text{Ag}3\text{d}_{5/2}$  和  $\text{Ag}3\text{d}_{3/2}$  的结合能<sup>[26]</sup>, 并且它们之间的差值为 6 eV, 由此可证明制备的

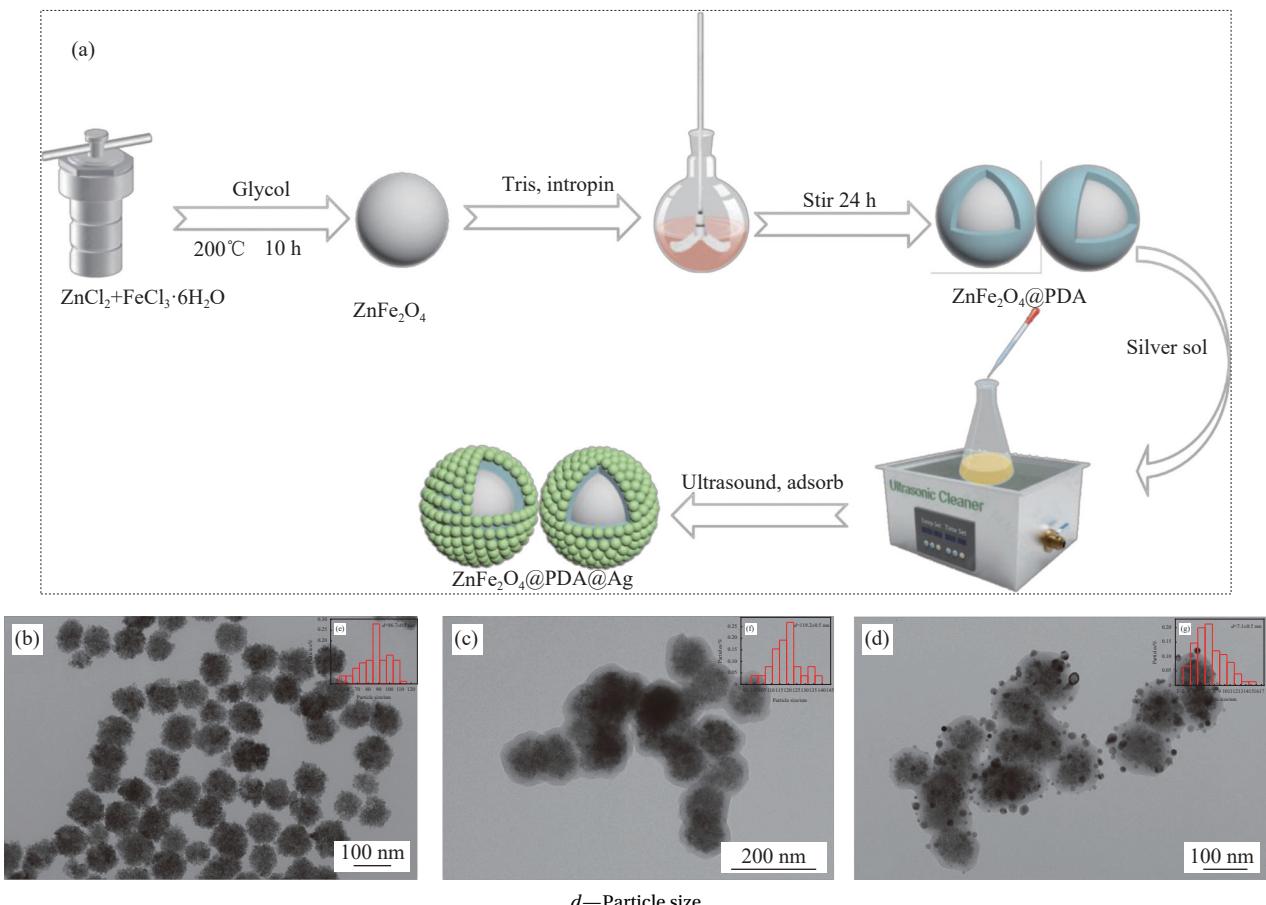


图 1 (a) 磁性铁酸锌 ( $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ )@聚多巴胺 (PDA)@Ag 纳米复合材料的制备流程图;  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  (b)、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  (c)、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  (d) 的 TEM 图像;  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  (e)、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  (f)、 $\text{Ag}$  纳米颗粒 (NPs) (g) 的粒径分布图

Fig. 1 (a) Magnetic zinc ferrite ( $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ )@polydopamine (PDA)@Ag nanocomposite preparation flowchart; TEM images of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  (b),  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  (c),  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  (d); Particle size distribution of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  (e),  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  (f), Ag nanoparticles (NPs) (g)

$\text{Ag}$  NPs 为单质。从 XPS 谱图分析可进一步证明  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料的成功制备。

### 2.1.3 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$ 的微观结构

图 2(g) 为  $\text{Ag}$  NPs、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  的 XRD 图谱。可看出  $\text{Ag}$  NPs 在  $2\theta=37.8^\circ$ 、 $44.1^\circ$ 、 $64.2^\circ$ 、 $77.3^\circ$  处有明显的衍射峰, 其刚好对应面心立方结构  $\text{Ag}$  的 (111)、(200)、(220)、(311) 位面且与卡片 JCPDS 4-0783<sup>[27]</sup> 相一致。对  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  的图谱分析可得其在  $2\theta=29.9^\circ$ 、 $35.3^\circ$ 、 $43.1^\circ$ 、 $53.2^\circ$ 、 $56.9^\circ$ 、 $62.3^\circ$  处有明显衍射峰, 这与  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  的 (220)、(311)、(400)、(422)、(511) 和 (440) 晶面一一对应且与标准比对卡 (PDF#22-1012)<sup>[28]</sup> 一致, 说明  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  纳米颗粒的成功制备。进一步对比  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  与  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  的图谱可知, 两者图谱无明显差异, 这是由于 PDA 是一种非晶聚合物<sup>[29]</sup>, 受远程无序性所限, 其在 XRD 测试中无法得到特征峰。最后观察  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  的图

谱, 可以看出该纳米粒子的特征峰刚好包含了  $\text{Ag}$  NPs 与  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  的所有特征峰且无杂峰, 由此可证明  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料的成功制备。

### 2.1.4 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$ 性质表征

图 2(h) 为  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料的 UV-Vis 图谱。可以看出  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  和  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  纳米微球没有出现明显的衍射峰。 $\text{Ag}$  NPs 在  $407.8\text{ nm}$  附近有一明显的衍射峰, 这是由于溶胶体系中纳米粒子表面存在等离子体共振吸收, 球形  $\text{Ag}$  NPs 颗粒会在  $390\sim440\text{ nm}$  之间产生一个明显的吸收峰<sup>[30]</sup>, 由此可表明该溶胶为  $\text{Ag}$  NPs 溶胶。观察  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  图谱可知, 其在  $410\text{ cm}^{-1}$  附近有一明显的宽峰, 这是由于纳米银吸附所引起的变化, 由此可进一步证明  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料的成功制备。图 2(i) 为  $\text{Ag}$  NPs、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  的 FTIR 图谱。可以看出  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  在  $446.7$ 、 $577.3\text{ cm}^{-1}$

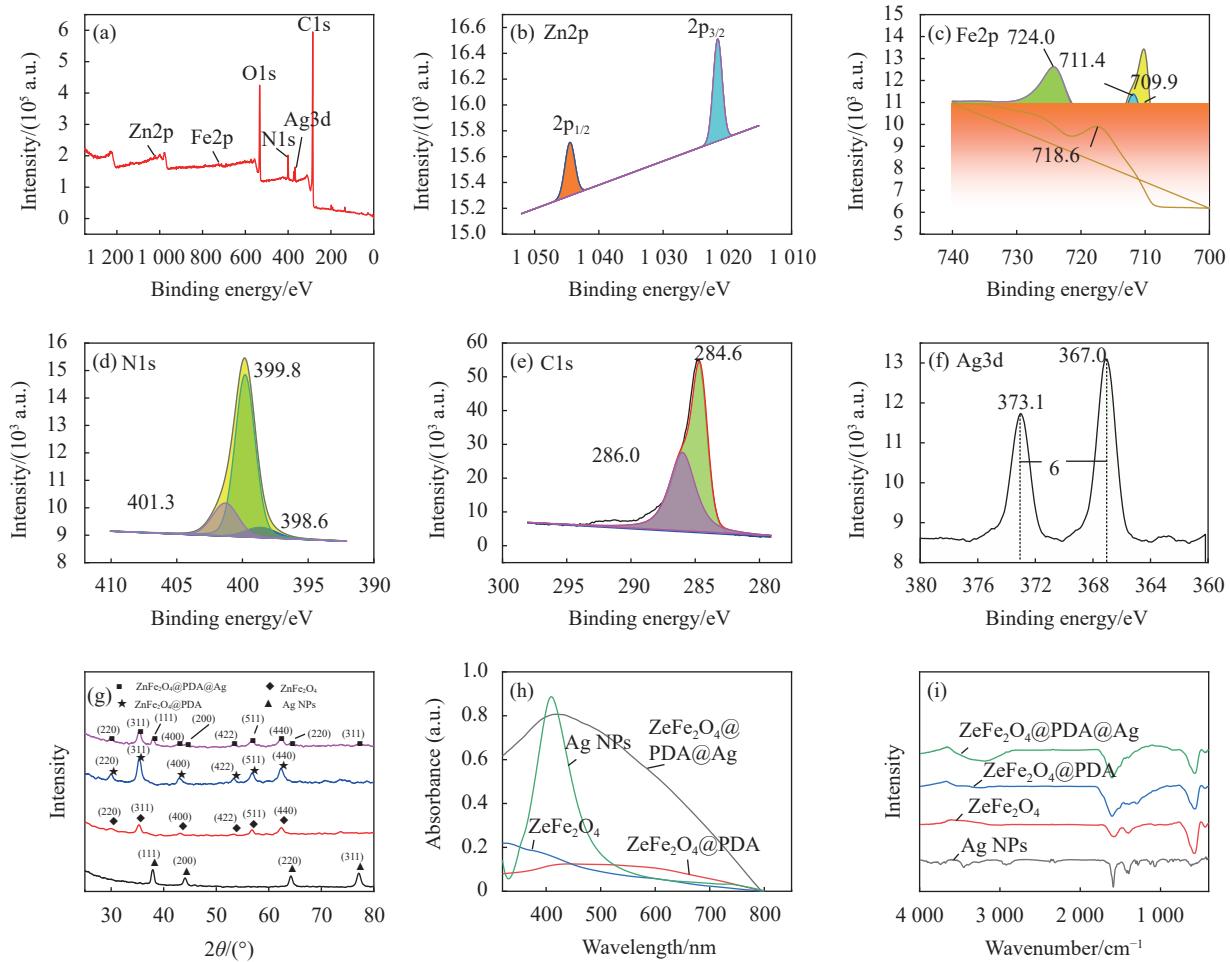


图 2  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{Ag}$  纳米复合材料表征: ((a)-(f))  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  的 XPS 图谱; (g)  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$ 、Ag NPs 的 XRD 图谱; (h)  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$ 、Ag NPs 的紫外吸收光谱图; (i) Ag NPs、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ 、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  的 FTIR 图谱

Fig. 2 Characterization of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  nanocomposite: ((a)-(f)) XPS spectra of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$ ; (g) XRD patterns of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  and Ag NPs; (h) UV-Vis absorption spectra of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  and Ag NPs; (i) FTIR spectra of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$ ,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  and Ag NPs

处有明显的红外振动吸收峰，该处的吸收峰是  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  结构中，金属与氧形成金属氧键的特有吸收峰<sup>[31]</sup>， $446.7 \text{ cm}^{-1}$  处为  $\text{Zn}^{2+}-\text{O}^2-$  在  $\text{O}^2-$  离子形成的八面体位置的伸缩振动峰； $577.3 \text{ cm}^{-1}$  为  $\text{Fe}^{3+}-\text{O}^2-$  在  $\text{O}^2-$  离子形成的四面体位置的伸缩振动峰，可说明样品中存在铁氧键， $1580.2 \text{ cm}^{-1}$  处的吸收峰归属于水中—OH 伸缩振动峰和弯曲振动峰，所述分析可证明  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  纳米微球的成功制备，相对于  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ， $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  在  $1295.5 \text{ cm}^{-1}$  处出现了一个新的衍射峰这对应着 PDA 中苯环的衍射峰<sup>[32]</sup>，且其在  $577.3 \text{ cm}^{-1}$  处的  $\text{Fe}^{3+}-\text{O}^2-$  的伸缩振动峰信号值明显减弱，由此可表明 PDA 的成功包覆。当 PDA 表面吸附银纳米颗粒后，其相应 PDA 上的官能团峰值都有所降低，由此可进一步

证明  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  纳米复合材料的成功制备。

## 2.2 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$ 纳米复合材料的抑菌性能

### 2.2.1 滤纸片扩散结果分析

通过滤纸片扩散法定性分别测试了对照组去离子水 (A)、Ag NPs (B)、 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  (C) 及  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  纳米复合材料 (D) 分别在  $50\sim400 \mu\text{g}/\text{mL}$  测量范围内对 *P. aeruginosa*、*S. aureus* 及 *T. Salmonella* 的抑菌性能，实验结果如图 3 所示。可知，对照组去离子水 (A) 及  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  (C) 均未表现出抑菌活性，对于  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  而言，这与多巴胺的包覆使  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  无法释放有关。 $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@Ag$  纳米材料的抑菌性能较明显，其抑菌圈直径随着材料浓度的升高，逐渐增大，表明材料抑菌活性与其浓度成正

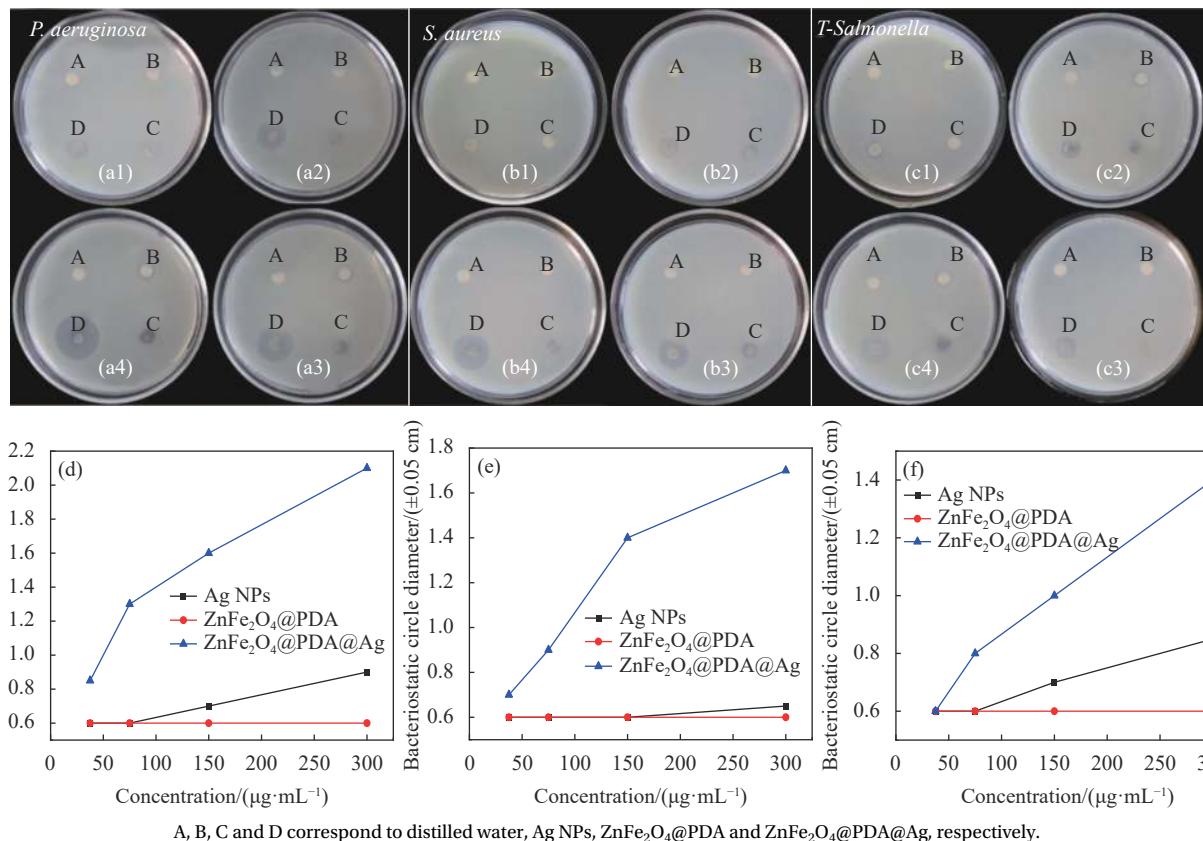
A, B, C and D correspond to distilled water, Ag NPs,  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA and  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag, respectively.

图3 不同材料对铜绿假单胞菌(*P. aeruginosa*)、金黄色葡萄球菌(*S. aureus*)和耐药菌沙门氏菌(*T-Salmonella*)的滤纸片扩散照片: ((a1)~(a4))浓度为50、100、200、400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的不同抑菌材料(Ag NPs 负载量0.39%)对*P. aeruginosa*的抑菌结果照片; ((b1)~(b4),(c1)~(c4)) *S. aureus*及*T-Salmonella*的抑菌结果照片; ((d)~(f))不同材料对*P. aeruginosa*、*S. aureus*、*T-Salmonella*的抑菌圈直径随浓度变化曲线

Fig. 3 Different materials for *pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), *staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and drug-resistant salmonella (*T-Salmonella*) filter paper spread photos: (a1)~(a4)) Bacteriostatic results photos of *P. aeruginosa* of different bacteriostatic materials (Loading of Ag NPs was 0.39%) with concentrations of 50, 100, 200 and 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; ((b1)~(b4), (c1)~(c4)) Antibacterial results photos against *S. aureus* and *T-Salmonella*; ((d)~(f)) Change curves of bacillus inhibition circle diameter with concentration on *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *T-Salmonella* of different materials

比。且由图3(a4)、图3(b4)、图3(c4)可看出，在相同浓度(400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )下  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag 纳米复合材料对 *P. aeruginosa* 的抑菌效果要大于 *S. aureus*，且对耐药菌 *T-Salmonella* 也有一定的抑菌效果。通过滤纸片扩散实验可得， $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag 纳米复合材料的抑菌活性显著提升，在400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时相比于同比例浓度的Ag NPs(负载量0.39%)其对 *P. aeruginosa* 的抑菌率提升了57.1%±1%，对 *S. aureus* 和 *T-Salmonella* 分别提升了61.7%和39.2%。具体抑菌圈直径如表1所示。

## 2.2.2 菌落计数实验结果分析

为进一步探究  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag 纳米复合材料的抑菌性能，采用菌落计数法定量研究  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag 在 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 下的抑菌性能，实验结果如图4所示。观察图4(a)~4(c)可知，随着时间的推移，纳米复合材料对3种测试菌(*P. aeruginosa*、*S. aureus*、*T-Salmonella*)的抑制效果

明显增强，培养基上的菌落数逐渐减少直至为0。在与 *P. aeruginosa* 作用 5 min 时其抑菌率(图4(e))可达到  $85.9\% \pm 0.1\%$ ，作用 10 min 时其抑菌率可达到 93.5%，当作用 40 min 以内时，其抑菌率可达到 99.9%。与 *S. aureus*、*T-Salmonella* 作用 5、10、20、40、60 min 时其抑菌率分别为 60.7%、77.6%、94.2%、97.6%、99.9%，40.4%、58.5%、70.4%、97.2%、99.9%。同时对比3种测试菌相同时间下的抑菌率可以看出，纳米复合材料对 *P. aeruginosa* 的抑菌性能优于 *S. aureus*、*T-Salmonella*，这与滤纸片扩散结果一致。

## 2.3 纳米复合材料抑菌机制研究

### 2.3.1 离子泄露实验结果分析

利用电感耦合等离子体质谱法对细菌内部离子泄露情况加以检测，从而进一步探究  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag 的抑菌机制。实验结果如图5(a)~5(c)所示，可以看出，3种对照组纯菌(*P.*

表 1 溶剂、Ag NPs、ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA、ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 对 *P. aeruginosa*、*S. aureus* 和 *T-Salmonella* 的抑菌圈尺寸Table 1 Size of bacteriostasis circles for *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *T-Salmonella* of solvent, Ag NPs, ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA and ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag

Bacterial	Concentration/(μg·mL <sup>-1</sup> )	Inhibition zones/(±0.05 cm)			
		H <sub>2</sub> O	Ag	ZnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> @PDA	ZnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> @PDA@Ag
<i>P. aeruginosa</i>	50	0.6	0.6	0.6	0.85
	100	0.6	0.6	0.6	1.3
	200	0.6	0.7	0.6	1.6
	400	0.6	0.9	0.6	2.1
<i>S. aureus</i>	50	0.6	0.6	0.6	0.7
	100	0.6	0.6	0.6	0.9
	200	0.6	0.6	0.6	1.4
	400	0.6	0.65	0.6	1.7
<i>T-Salmonella</i>	50	0.6	0.6	0.6	0.6
	100	0.6	0.6	0.6	0.8
	200	0.6	0.7	0.6	1.0
	400	0.6	0.85	0.6	1.4

*aeruginosa*、*S. aureus*、*T-Salmonella*) 菌体内的 Mg<sup>2+</sup>浓度分别为 0.76、1.03、0.72 mg/L，在与 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 纳米复合材料作用一定时间后，其 Mg<sup>2+</sup>浓度变为 0.35、0.51、0.38 mg/L；同时 K<sup>+</sup>浓度从原来的 1.57、2.41、1.65 mg/L 降低为 0.28、0.93、0.4 mg/L；Ca<sup>2+</sup>浓度从没作用前的 1.5、1.27、1.11 mg/L 变为 0.6、0.66、0.52 mg/L。由以上分析可得，细菌内部离子与纳米复合材料作用后其浓度都相应减小，这是由于纳米复合材料与菌体表面的离子通道蛋白作用破坏了细菌的离子通道，使胞内的大量离子外泄，从而影响细菌的正常生理过程，达到抑制细菌的效果。

### 2.3.2 Zeta 电位结果分析

Zeta 电位是对颗粒之间相互排斥或吸引力强度的度量，也可反映出细菌表面净电荷分布情况<sup>[33]</sup>，实验结果如图 5(d) 所示，可以看出 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 纳米复合材料的表面电位值为 (-45.72±0.05) mV，*P. aeruginosa*、*S. aureus*、*T-Salmonella* 的表面电位值分别为 (-13.07±0.05) mV、-12.37 mV、-13.75 mV。细菌表面带电主要由于细胞壁主要成分脂多糖、脂蛋白和表面蛋白等含有 -OH、-NH<sub>2</sub>、-CONH<sub>2</sub>、-COOH 等阴离子活性基团<sup>[34]</sup>。当纳米复合材料作用于细菌 4 min 时，测得细菌表面电荷为 -10.38 mV (*P. aeruginosa*)、-10.43 mV (*S. aureus*)、-11.19 mV (*T-Salmonella*)；当作用延长至 60 min，电位值发生了显著变化，测试得到 3 种细菌电位值分别为 -4.12、-5.84、-7.17 mV。此现象可归因于纳米复合材料作用细菌后，其所释放纳米银颗粒和 Ag<sup>+</sup>与细菌表面的

活性基团作用，破坏了细胞壁，从而使其表面电位发生了变化。

### 2.3.3 生物相容性结果分析

通过对比 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 和 GDC-0941 抗癌药物对人乳腺上皮细胞 (MCF-7) 的毒理性实验来评价纳米复合材料的生物相容性，将 MCF-7 在不同药物下培养 24 h，实验结果如图 5(e) 所示，ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 与阴性对照组 GDC-0941 的半抑制浓度 (IC<sub>50</sub>) 值分别为 (289.3±0.05) μg/mL、348.48 μg/mL，对比其值可以发现两者无明显统计学差异。可见 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 纳米复合材料的生物相容性与市售抗癌药物 GDC-0941 相近，由此可证明纳米复合材料的生物相容性良好。

### 2.3.4 PI 染色实验结果分析

采用 PI 染色法对 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 抑菌机制进一步探究，PI 是一种可以对细菌 DNA 进行染色的染色剂，可使受损细胞的细胞核在荧光显微镜下呈现红色荧光<sup>[35]</sup>。实验结果如图 6 所示。图 6(a)~6(c) 分别为 *P. aeruginosa*、*S. aureus*、*T-Salmonella* 纯菌的 PI 染色照片。可以看出，在对照组纯菌的照片中只有少量的红色斑点，说明其死菌数量较少。当用 200 μg/mL 的纳米复合材料作用测试菌 12 h 后，图 6(d)~6(f) 的实验结果明显看出有大量的红色斑点，由此可表明纳米复合材料破坏了细菌的细胞壁和细胞膜，从而达到抑菌效果。同时，通过对比纳米复合材料作用 *P. aeruginosa* (图 6(d)) 和 *S. aureus* (图 6(e)) 的效果图可以看出，图 6(d) 的红色斑点数多于图 6(e)，可进一步说明纳米复合材料对 *P. aeruginosa* 的抑菌

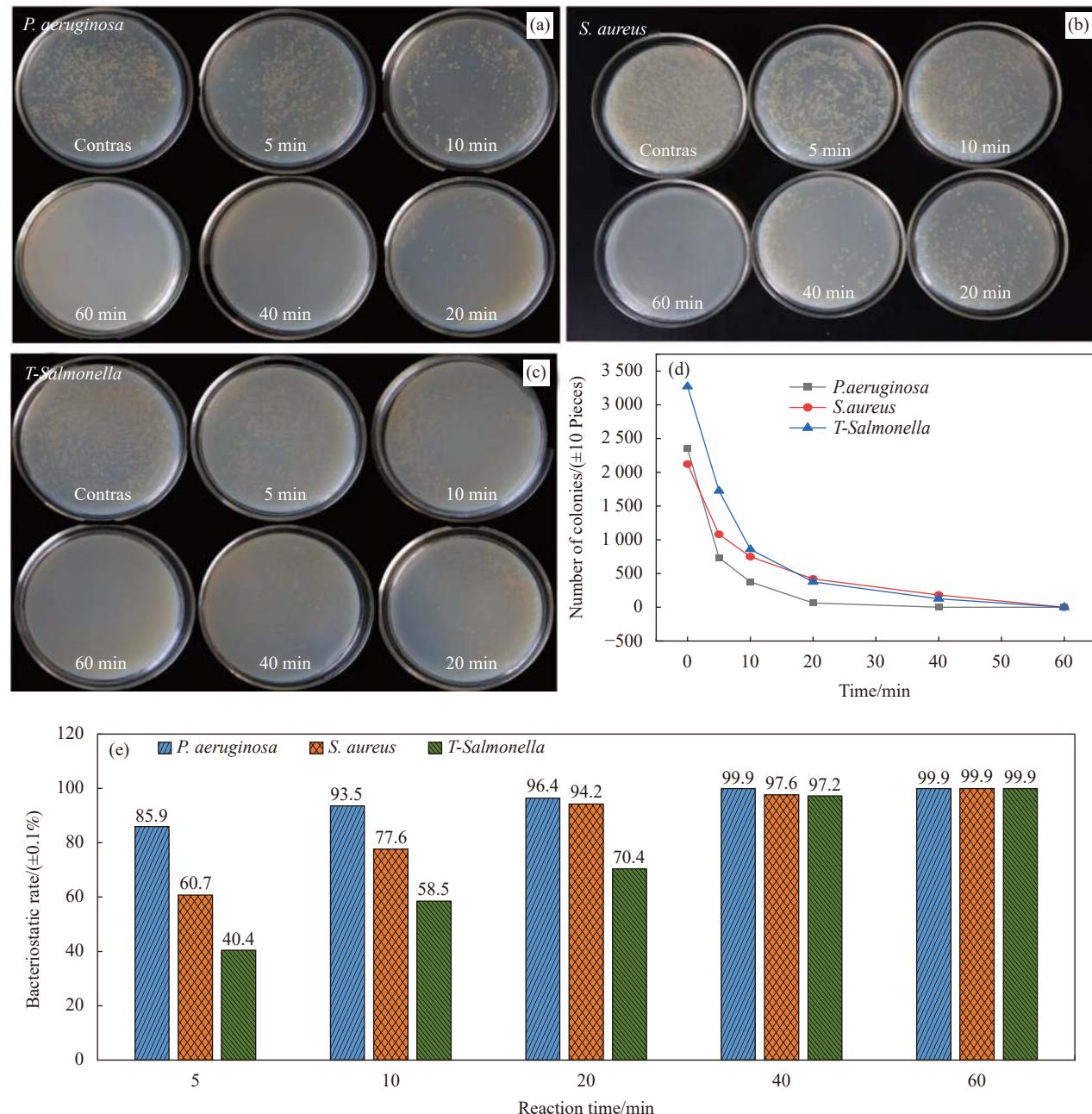


图 4  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag 纳米复合材料菌落计数照片: 纳米复合材料抑制 *P. aeruginosa* (a)、*S. aureus* (b) 及 *T-Salmonella* (c) 的菌落计数分布图; (d) 纳米复合材料的时间-杀菌曲线; (e) 纳米复合材料对 3 种测试菌在不同时间的抑菌率比较图

Fig. 4 Photos of colony count of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag nanocomposite: Distribution of colony count of nanocomposite materials inhibiting *P. aeruginosa* (a), *S. aureus* (b) and *T-Salmonella* (c); (d) Time-germicidal curves of the nanocomposite; (e) Comparison of the antibacterial rate of the nano-composite against the 3 tested bacteria at different time

性强于 *S. aureus*, 这与滤纸片扩散和菌落计数实验结果一致。

### 2.3.5 细菌生长曲线检测结果分析

微量热法是一种成熟的用于测量生物系统中所有生物、物理和生化反应中所产生总能量的一种方法<sup>[36]</sup>。通过这种技术可定量检测细菌在新陈代谢中所产生的能量值。采用最大热流值 ( $P_m$ )

和延长峰值滞后时间 ( $T_m$ ) 来评价  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ @PDA@Ag 纳米复合材料的抑菌活性探究其抑菌机制。实验结果如图 7(a)-7(c) 所示, 从其中纯菌 *P. aeruginosa*、*S. aureus*、*T-Salmonella* 的生长热谱曲线可以看出, 对照组 3 种测试菌的停滞期的时间分别为 10、4、3 min, 其最大热流值分别为 4.2、3.9、3.8 mV。在加入 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的纳米复合材料后, 检测到其

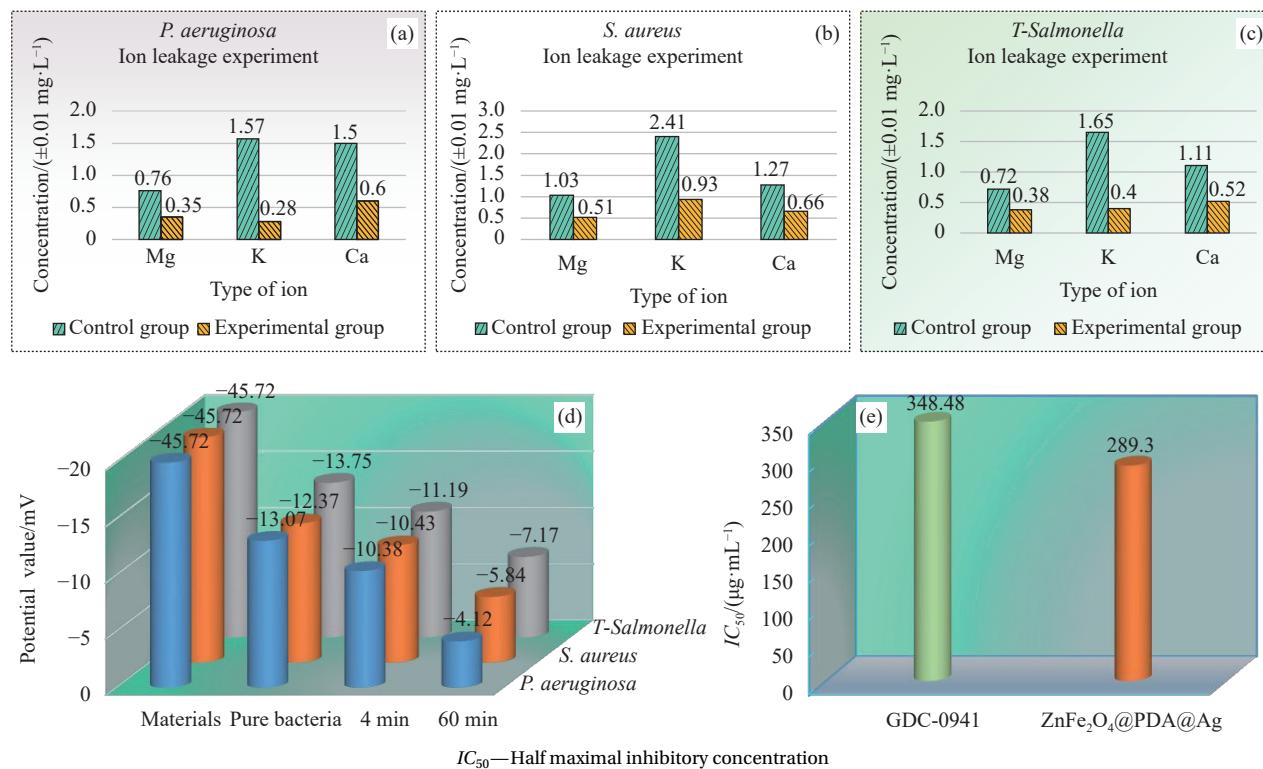


图 5  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料抑菌机制实验结果图: ((a)-(c)) 纳米复合材料作用 *P. aeruginosa* (a)、*S. aureus* (b) 及 *T-Salmonella* (c) 的离子泄露实验结果; (d) 纳米复合材料与 3 种测试菌作用不同时间的 Zeta 电位值图; (e) 纳米复合材料的毒理性实验结果分析

Fig. 5 Experimental result of bacteriostatic mechanism of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  nanocomposite material: ((a)-(c)) Results of ion leakage of nanocomposite materials acting on *P. aeruginosa* (a), *S. aureus* (b) and *T-Salmonella* (c); (d) Zeta potential values of nanocomposite materials interacting with the three tested bacteria at different time; (e) Analysis of experimental results of toxicity of nanocomposite materials

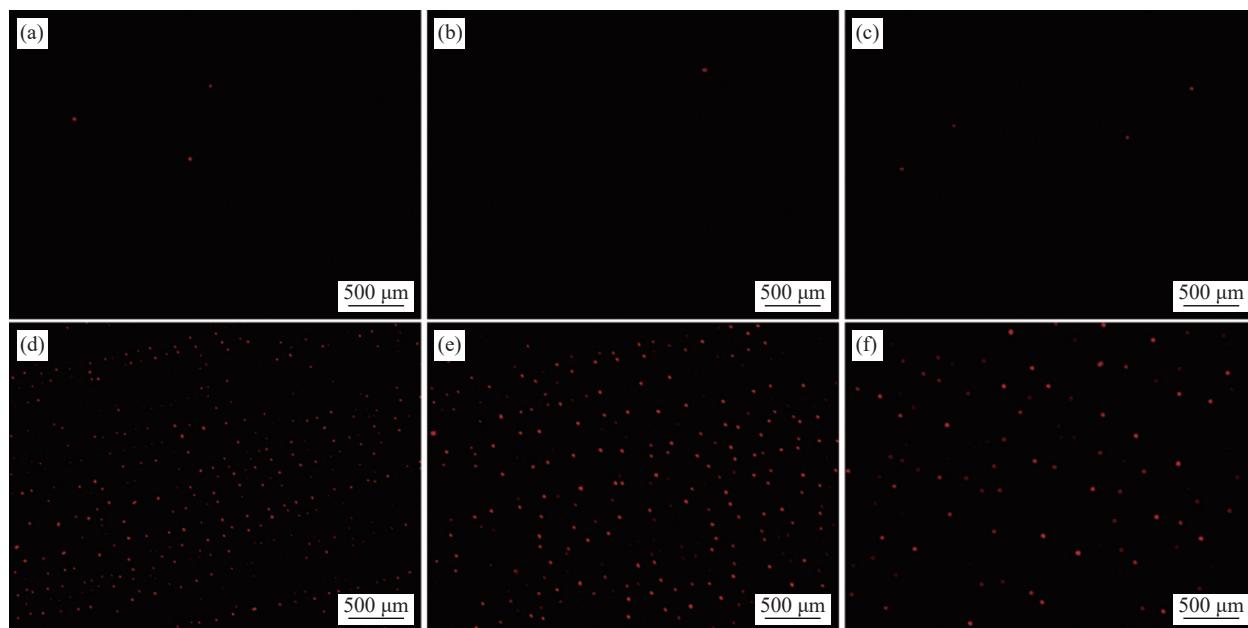


图 6 *P. aeruginosa* (a)、*S. aureus* (b)、*T-Salmonella* (c) 纯菌及  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料对 *P. aeruginosa* (d)、*S. aureus* (e) 及 *T-Salmonella* (f) 的碘化丙啶 (PI) 染色照片

Fig. 6 Propyl iodide (PI) staining photos of *P. aeruginosa* (a), *S. aureus* (b), *T-Salmonella* (c) and  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  nanocomposite of *P. aeruginosa* (d), *S. aureus* (e) and *T-Salmonella* (f)

的生长热谱曲线可看出, 经纳米复合材料作用后其停滞期的时间明显延长, 分别增加到 79、31、70 min, 其最大热流值也显著降低分别降低为 0.57、0.69、0.36 mV。这是由于纳米复合材料释放的  $Ag^+$  和 Ag NPs 进入细菌内部, 作用于细胞呼吸所需的蛋白和酶使其失活, 从而影响其呼吸作用, 使其释放的热量减少, 达到抑制细菌的效果。通过对比对照组和实验组可推测,  $ZnFe_2O_4$ @PDA@Ag 的加入影响了细菌的呼吸系统, 进而抑制细菌生长。且对比其热流值可以看出, 纳米复合材料对 *P. aeruginosa* 的抑菌性强于 *S. aureus*、*T-Salmonella*。进一步验证了滤纸片扩散和菌落计数实验结果。

### 2.3.6 细胞质物质泄露结果分析

通过对细菌细胞质泄露情况进行检测, 以此来进一步探究  $ZnFe_2O_4$ @PDA@Ag 的抑菌机制。当细菌细胞膜受到损伤时, 细胞中的内含物 DAN、RNA、质粒等就会被释放出来, 用紫外可见分光光度计在 260 nm 处可检测到内溶物释放量。实验结果如图 7(d)~(f) 所示, 从图 7(d) 中可以看出, 在没加入纳米复合材料时, *P. aeruginosa* 在 260 nm 处的吸光强度为  $(0.13 \pm 0.01)$ , 表明其释放

的细胞内溶物较少, 当加入纳米复合材料并作用一段时间后, 测得其吸光度为 0.58, 由此可见纳米复合材料破坏了细菌的细胞壁, 使细菌内部大量的内溶物外泄, 从而使细菌死亡。其次 *S. aureus* (图 7(e))、*T-Salmonella* (图 7(f)) 纯菌在 260 nm 处的吸光度分别为 0.11 和 0.13, 在与纳米复合材料作用后, 其吸光度分别上升为 0.54 和 0.48, 由此可见, 纳米复合材料对 3 种测试菌都具有良好的抑菌效果。对比 3 种测试菌吸光度的增值大小可以发现, 纳米复合材料对 *P. aeruginosa* (0.45) 的破坏程度大于 *S. aureus* (0.43)、*T-Salmonella* (0.35)。这与前述实验结果一致。

### 2.3.7 纳米复合材料抑菌机制

本研究以革兰氏阴性菌 *P. aeruginosa*、革兰氏阳性菌 *S. aureus* 和耐药菌 *T-Salmonella* 为模式菌运用 Zeta 电位分析法、PI 染色法、微量量热法、电感耦合等离子体质谱法及细胞质物质泄露测试探究  $ZnFe_2O_4$ @PDA@Ag 纳米复合材料的抑菌机制。其大致抑菌机制如图 8 所示, 已有相关文献<sup>[37]</sup> 研究表明, 纳米银粒径越小其抑菌活性越强, 但纳米银粒径越小其越容易团聚。为解决此问题, 本研究在制备得到粒径在 2~16 nm 范围内的 Ag NPs

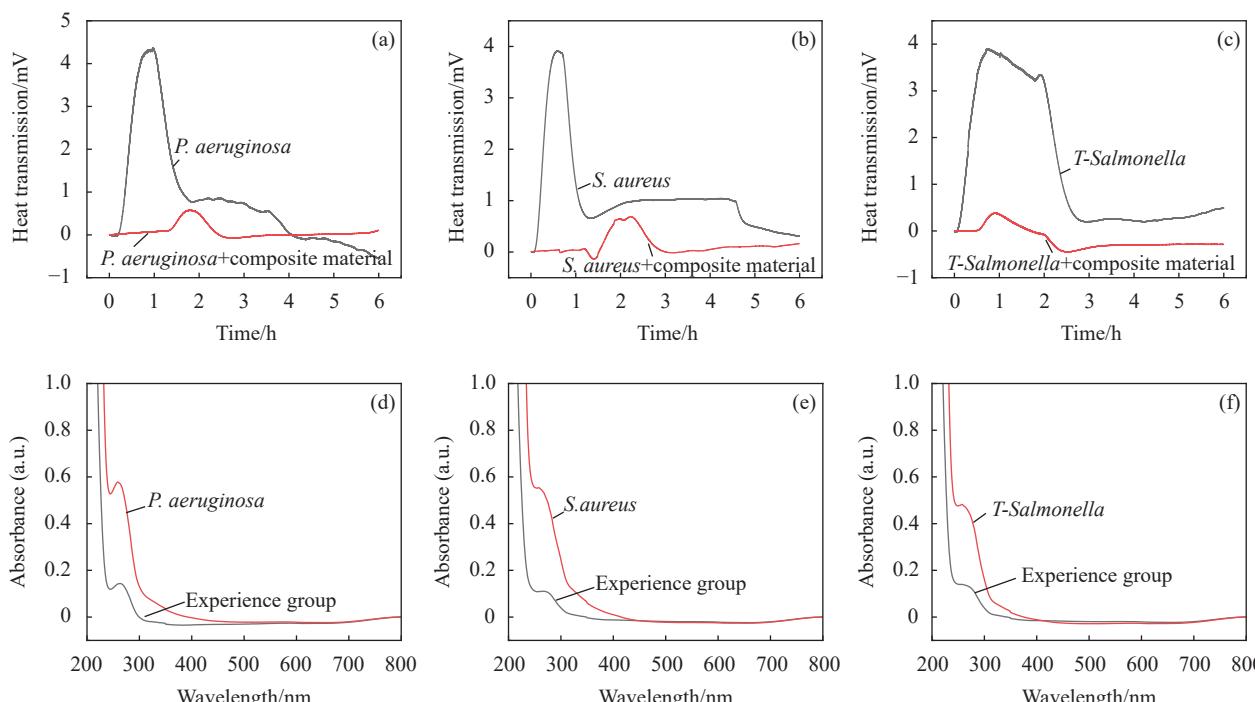
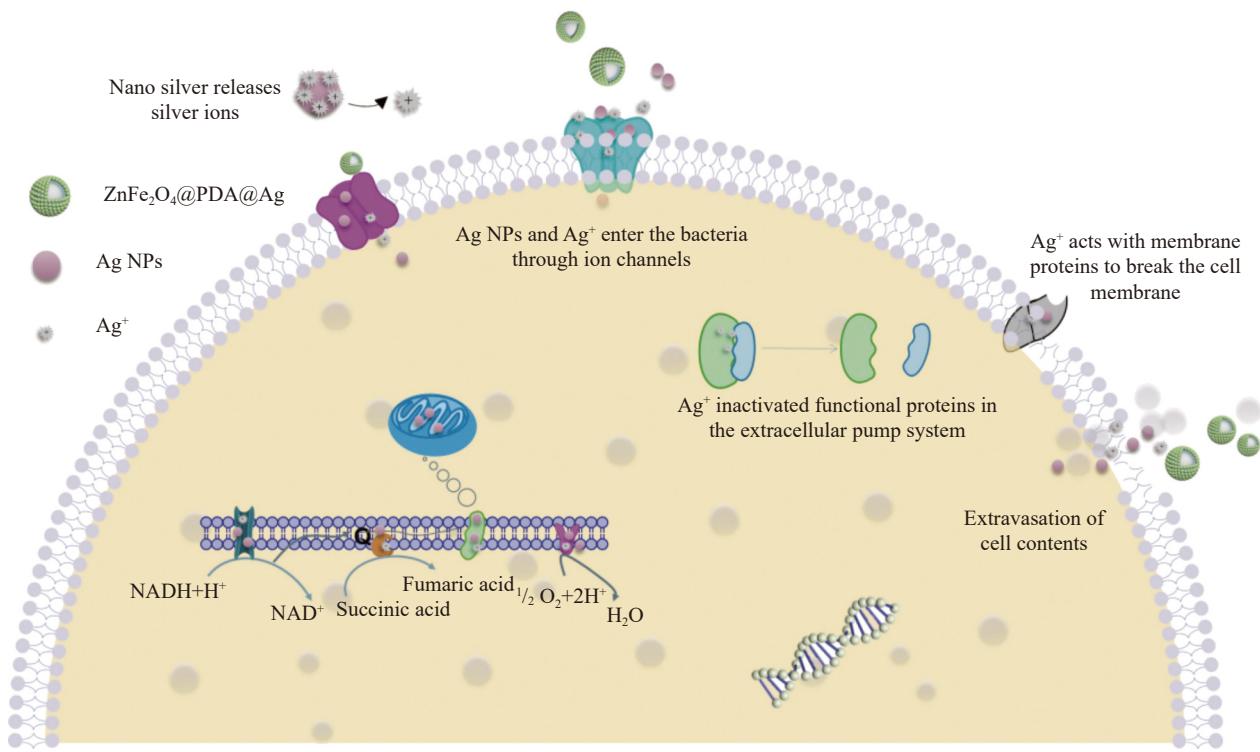


图 7  $ZnFe_2O_4$ @PDA@Ag 纳米复合材料作用 3 种测试菌的微量热及细胞质泄露实验结果分析: 纳米复合材料作用 *P. aeruginosa* (a)、*S. aureus* (b) 和 *T-Salmonella* (c) 的微量热实验结果图; 纳米复合材料作用 *P. aeruginosa* (d)、*S. aureus* (e) 和 *T-Salmonella* (f) 的细胞质泄露实验结果

Fig. 7 Microthermal analysis of  $ZnFe_2O_4$ @PDA@Ag nanocomposite for three kinds of test bacteria and analysis of cytoplasmic leakage experiment results: Microcaloric experimental results of nanocomposite materials acting on *P. aeruginosa* (a), *S. aureus* (b) and *T-Salmonella* (c); Cytoplasmic leakage test results of nanocomposite materials under the action of *P. aeruginosa* (d), *S. aureus* (e) and *T-Salmonella* (f)

NADH—Nicotinamide adenine dinucleotide; NAD<sup>+</sup>—Oxidation status of NADH图 8  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料抑菌机制图Fig. 8 Diagram of antibacterial mechanism of  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  nanocomposite

基础上,以磁性核壳型材料  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  为基底,将银纳米颗粒吸附在其表面,得到  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料。该材料作为抑菌剂分散在介质中后,可将 Ag NPs 解离出去,因 Ag NPs 对细菌外膜中含硫蛋白具有很强的亲和力<sup>[38]</sup>,因此会吸附在细菌膜表面破坏细胞壁和细胞膜;同时 Ag NPs 在介质中会释放  $\text{Ag}^+$ ,与带负电荷的细菌细胞膜发生静电吸引,作为一种路易斯酸,  $\text{Ag}^+$ 与易斯碱具有很好的化学亲和力,而细菌细胞膜中含有蛋白质、酶、磷脂等含氮、磷、硫基团都可以成为  $\text{Ag}^+$ 亲电攻击的中心。 $\text{Ag}^+$ 以不可逆方式结合含硫醇的半胱氨酸和谷胱甘肽残基和黄素基团<sup>[39]</sup>,导致细胞膜电位发生变化,致使细胞膜的二级结构发生破坏,大量细胞内溶物外泄,从而杀死细菌。由于革兰氏阳性菌有较厚的细胞壁,其肽聚糖层可达到 40~50 层,且磷壁酸较少。而革兰氏阴性菌肽聚糖一般只有 1~2 层,但其有较多的脂多糖。磷壁酸和脂多糖均为蛋白质。因此该材料显示出对革兰氏阴性菌 *P. aeruginosa* 更强的抑菌效果。以上分析与 Zeta 电位、PI 染色抑菌细胞质内溶物质外泄测试结果一致。此外,当细胞壁和细胞膜被损伤后,细胞膜表面的  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 通道都会不同程度的受损导致其通透性增加,

致使 Ag NPs 和  $\text{Ag}^+$ 会通过这些离子通道进入细菌内部。同时,据研究表明 4~10 nm<sup>[40]</sup> 的 Ag NPs 可通过离子通道穿透正常细菌的细胞膜进入细菌内部。因此进入细菌内部的 Ag NPs 和  $\text{Ag}^+$ 比大粒径纳米银显著增大,进入细菌内部的 Ag NPs 会释放出更多的  $\text{Ag}^+$ ,一方面  $\text{Ag}^+$ 与细胞外排泵体系中的功能蛋白结合,使细菌耐药性减弱。另一方面 Ag NPs 和  $\text{Ag}^+$ 与细菌 DNA 碱基结合并形成交叉链接,置换嘌呤和嘧啶中相邻氮之间的氢键,使 DNA 发生皱缩,破坏 DNA 结构并抑制其复制过程,从而影响细菌呼吸和细胞分裂等生理生化过程。同时,  $\text{Ag}^+$ 会引起细胞质空间发生 Fenton 反应,与呼吸链酶中丰富的 Fe—S 簇不可逆的结合并释放  $\text{Fe}^{2+}$ ,从而导致呼吸链酶失活,抑制细胞呼吸。这与微量热实验及 ICP-MS 结果一致。

### 3 结论

(1) 通过溶剂热法制备得到磁性材料  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$ ,并在其表面包覆了一层聚多巴胺 (PDA),最终将粒径为 2~16 nm 的银纳米颗粒 (Ag NPs) 颗粒吸附在  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}$  表面制备得到  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4@\text{PDA}@\text{Ag}$  纳米复合材料。通过磁性  $\text{ZnFe}_2\text{O}_4$  的引入,使纳米复合材料便于回收重复利用, PDA 的包覆提升

了纳米复合材料的生物相容性，小粒径 Ag NPs 的制备，使纳米复合材料具有更好的抑菌性能，且解决了 Ag NPs 的团聚问题。并通过 TEM、XPS、XRD 等证明 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 纳米复合材料的成功制备。

(2) 通过对 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 抑菌性能的研究表明，纳米复合材料的制备极大地提升了 Ag NPs 的抑菌性能。对革兰氏阴性菌铜绿假单胞菌 (*P. aeruginosa*)、革兰氏阳性菌金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 和耐药菌 沙门氏菌 (*T-Salmonella*) 均具有良好的抑菌性能，在 400 μg/mL 时相较于同比例浓度的 Ag NPs (负载量 0.39%) 其对 *P. aeruginosa* 的抑菌率提升了 57.1%，对 *S. aureus* 和 *T-Salmonella* 分别提升了 61.7% 和 39.2%。在浓度为 200 μg/mL 时，与 *P. aeruginosa* 作用 40 min 内抑菌率可达到 99.9%，与 *S. aureus* 和 *T-Salmonella* 作用 60 min 其抑菌率可达 99.9%。通过 Zeta 电位、碘化丙啶 (PI) 染色、微量热、细胞质物质泄露测定、ICP-MS 元素测定可推测出其抑菌机制大致为 ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 释放的纳米银和 Ag<sup>+</sup>与细菌细胞壁表面的蛋白作用，破坏其细胞壁使细胞内溶物质外泄，或通过离子通道直接进入细胞。进入细胞后 Ag NPs 和 Ag<sup>+</sup>会与一些胞内蛋白作用，阻碍细胞呼吸，破坏 DNA 结构并抑制其复制过程，从而影响细菌呼吸和细胞分裂等生理生化过程，最终导致细菌死亡。ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>@PDA@Ag 纳米复合材料很好地解决了小颗粒纳米银易团聚的问题，进而较大程度地提升了纳米银的抑菌性能。此外，ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 的磁性使纳米复合材料能够被重复利用，有效地降低了材料成本。最终该材料有望于在医疗器械及污水处理等领域有很大的应用前景。

## 参考文献:

- [1] ZENG H P, LI J X, ZHAO W H, et al. The current status and prevention of antibiotic pollution in groundwater in China[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2022, 19(18): 11256.
- [2] HESS J. Rational approaches towards inorganic and organometallic antibacterials[J]. *Biological Chemistry*, 2021, 403(4): 363-375.
- [3] MO F, ZHOU Q X, HE Y Q. Nano-Ag: Environmental applications and perspectives[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 829: 154644.
- [4] ZHANG J, WANG F, YALAMARTY S S K, et al. Nano silver-induced toxicity and associated mechanisms[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2022, 2022(17): 1851-1864.
- [5] WANG L J, LYU H, LI B J, et al. Synthesis and antibacterial activity of Ag/CeO<sub>2</sub> hybrid architectures[J]. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 2018, 88(3): 654-659.
- [6] 郭少波, 梁艳莉, 季晓晖, 等. 纳米核壳型Ag@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>复合材料的制备、催化及抑菌性能[J]. 复合材料学报, 2021, 38(3): 816-823.
- [7] GUO Shaobo, LIANG Yanli, JI Xiaohui, et al. Preparation, catalytic property and antibacterial property of Ag@Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> core-shell composite nanomaterials[J]. *Acta Materiae Compositae Sinica*, 2021, 38(3): 816-823(in Chinese).
- [8] FANG Q L, XU K Z, ZHANG J F, et al. Hybrid polydopamine/Ag shell-encapsulated magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanosphere with high antibacterial activity[J]. *Materials*, 2020, 13(17): 3872.
- [9] LI X Z, LI B Y, LIU Y H, et al. Development of pH-responsive nanocomposites with remarkably synergistic anti-biofilm activities based on ultrasmall silver nanoparticles in combination with aminoglycoside antibiotics[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2021, 208: 112112.
- [10] XIE Xiuchao, LAN Afeng, LIU Ernu, et al. Study on preparation and antibacterial property of PDA@Ag composite nanomaterials[J]. *Precious Metals*, 2021, 42(1): 34-40(in Chinese).
- [11] KHINA A G, KRUTYAKOV Y A. Similarities and differences in the mechanism of antibacterial action of silver ions and nanoparticles[J]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2021, 57(6): 683-693.
- [12] HAGHNIAZ R, RABBANI A, VAJHADIN F, et al. Anti-bacterial and wound healing promoting effects of zinc ferrite nanoparticles[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2021, 19(38): 00776.
- [13] WANG H Q, LIU M H, LUO X, et al. Preparation of ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/AC composite and its adsorption behaviour for SO<sub>2</sub>[J]. *Environmental Technology*, 2020, 41(18): 2412-2423.
- [14] PU J, ZHANG Z H, ZHANG H J, et al. Efficacy of bactericides against potato common scab caused by *Streptomyces* in Yunnan, China[J]. *American Journal of Potato Research*, 2022, 99(4): 326-335.
- [15] ZHANG N, PENG S S, LIU Z Y, et al. Ag NPs decorated on the magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PDA as efficient catalyst for organic pollutants removal and as effective antimicrobial agent for microbial inhibition[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2022, 928(20): 167257.
- [16] THEINER S, LOEHR K, KOELLENSPERGER G, et al. Single-cell analysis by use of ICP-MS[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2020, 35(9): 1784-1813.
- [17] RASMUSSEN L, SHI H L, LIU W Y, et al. Quantification of silver nanoparticle interactions with yeast *Saccharomyces cerevisiae* studied using single-cell ICP-MS[J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2022, 414(9): 3077-3086.

- [17] ANITHA R, RAMESH K V, SUDHEER K K H, et al. Cytotoxicity, antibacterial and antifungal activities of ZnO nanoparticles prepared by the *Artocarpus gomezianus* fruit mediated facile green combustion method[J]. *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, 2018, 3(4): 440-451.
- [18] WANG X J, MEI L, JIN M C, et al. Composite coating of graphene oxide/TiO<sub>2</sub> nanotubes/HHC-36 antibacterial peptide construction and an exploration of its bacteriostat and osteogenesis effects[J]. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2021, 17(4): 662-676.
- [19] HNIN Y L, YUKARI A N, AOI M, et al. Soybean peptide inhibits the biofilm of periodontopathic bacteria via bactericidal activity[J]. *Archives of Oral Biology*, 2022, 142: 105497.
- [20] CIRNSHI K, COETZEE J, HERRMANN J, et al. Metabolic profiling to determine bactericidal or bacteriostatic effects of new natural products using isothermal microcalorimetry[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2020, 164: e61703.
- [21] YANG H Y, CHANG C M, CHEN Y W, et al. Inhibitory effect of propolis extract on the growth of *Listeria monocytogenes* and the mutagenicity of 4-nitroquinoline-N-oxide[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2006, 86(6): 937-943.
- [22] LUO M B, ZHANG Y J, ZHAO S. Non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@polydopamine-Ag nanocomposite modified magnetic glassy carbon electrode[J]. *Journal of the Electrochemical Society*, 2021, 168(6): 067511.
- [23] TOMAR D, JEEVANANDAM P. Synthesis of ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles with different morphologies via thermal decomposition approach and studies on their magnetic properties[J]. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 2022, 564(1): 170033.
- [24] CAI C, ZHANG Z Y, LIU J, et al. Visible light-assisted heterogeneous Fenton with ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> for the degradation of orange II in water[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2016, 182: 456-468.
- [25] CUI K X, YAN B, XIE Y J, et al. Regenerable urchin-like Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PDA-Ag hollow microspheres as catalyst and adsorbent for enhanced removal of organic dyes[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 350: 66-75.
- [26] ZHAO Z Y, LI P J, CAO X Y, et al. Novel strategies for the preparation of nano-silver pectin sponge composite and its antibacterial properties[J]. *Cellulose*, 2023, 30: 9425 - 9437.
- [27] FANG Y, HONG C Q, CHEN F R, et al. Green synthesis of nano silver by tea extract with high antimicrobial activity[J]. *Inorganic Chemistry Communications*, 2021, 132: 108808.
- [28] MELIKE S Y, MUSTAFA C, TANSEI S, et al. Silica coated Zn-Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as cathode catalysts for rechargeable lithium-air batteries[J]. *Batteries & Supercaps*, 2019, 2(4): 380-386.
- [29] ZOU Y K, YAN R, WANG H B, et al. NIR-responsive polyurethane nanocomposites based on PDA@FA nanoparticles with synergistic antibacterial effect[J]. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2022, 223(19): 2200141.
- [30] MA Z F, JIANG X Y, JIN Y H, et al. Preparation of nano-silver nanoparticles for conductive ink and the correlations with its conductivity[J]. *Applied Nanoscience*, 2022, 12(5): 1657-1665.
- [31] KANAGESAN S, HASHIM M, AZIZS A, et al. Evaluation of antioxidant and cytotoxicity activities of copper ferrite (CuFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) and zinc ferrite (ZnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) nanoparticles synthesized by sol-gel self-combustion method[J]. *Applied Sciences*, 2016, 6(9): 184.
- [32] YARI A, DERKI S, et al. New MWCNT-Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>@PDA-Ag nanocomposite as a novel sensing element of an electrochemical sensor for determination of guanine and adenine contents of DNA[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 227: 456466.
- [33] FERREYRA MAILLARD A P V, ESPECHE J C, MATURANA P, et al. Zeta potential beyond materials science: Applications to bacterial systems and to the development of novel antimicrobials[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 2021, 1863(6): 183597.
- [34] WANG X L, LI Y, HUANG J, et al. Efficiency and mechanism of adsorption of low concentration uranium in water by extracellular polymeric substances[J]. *Journal of Environmental Radioactivity*, 2019, 197: 81-89.
- [35] YADAV A K, SIROHI P, SARASWAT S, et al. Inhibitory mechanism on combination of phytic acid with methanolic seed extract of *Syzygium cumini* and sodium chloride over *Bacillus subtilis*[J]. *Current Microbiology*, 2018, 75(7): 849-856.
- [36] WANG Y, ZHU H L, FENG J G, et al. Recent advances of microcalorimetry for studying cellular metabolic heat[J]. *Trends in Analytical Chemistry*, 2021, 143: 116353-116362.
- [37] DONG Y H, ZHU H L, SHEN Y Y, et al. Antibacterial activity of silver nanoparticles of different particle size against *Vibrio Natriegens*[J]. *Plos One*, 2019, 14(9): e0222322.
- [38] HOVHANNISYAN Z, TIMOTINA M, MANOYAN J, et al. *Ribes nigrum* L. extract-mediated green synthesis and antibacterial action mechanisms of silver nanoparticles[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(10): 1415.
- [39] FRANCO D, CALABRESE G, CONOCI S, et al. Metal-based nanoparticles: Antibacterial mechanisms and biomedical application[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(9): 1778.
- [40] YANG R, LIANG B, HAN D, et al. Synthesis and antibacterial activity of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-loaded silver nanocomposites[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2023, 973: 172849.