

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20191204001

王孟珍, 孙昊宇, 龙茜, 等. 纳米银复合材料与抗生素的联合抗菌性能及相关机制研究[J]. 生态毒理学报, 2020, 15(2): 39-49

Wang M Z, Sun H Y, Long X, et al. Combined antibacterial property and mechanism of nanosilver composites and antibiotics against bacteria [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(2): 39-49 (in Chinese)

纳米银复合材料与抗生素的联合抗菌性能及相关机制研究

王孟珍, 孙昊宇, 龙茜, 林志芬*

污染控制与资源化研究国家重点实验室, 同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092

收稿日期: 2019-12-04 录用日期: 2020-01-06

摘要: 抗生素的滥用导致细菌耐药问题日益严重, 人类迫切需要开发出新的抗菌药物以减少细菌耐药问题。基于纳米银制备而成的纳米银复合材料在兼顾纳米银抗菌性能的同时不仅能够克服单一纳米银释放速度快、不稳定等缺点, 还能缓解细菌耐药的问题, 因此被认为是一类具有广泛应用前景的新型抗菌剂。已有研究表明, 单一纳米银与某些抗生素的联合使用可以达到协同抗菌效果, 但目前尚缺乏对纳米银复合材料与抗生素的联合抗菌性能及机制的研究。本文首先制备出3种不同结构的纳米银复合材料, 包括二氧化硅-聚多巴胺-纳米银复合材料(SiO_2 -PD-AgNPs)、纳米银@二氧化硅复合材料($\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$)和纳米银@二氧化硅-聚多巴胺-纳米银复合材料($\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs)。随后测定了纳米银复合材料对大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, *B. subtilis*)的单一毒性效应。结果显示, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs 复合材料对2种菌的单一毒性均大于其余2种纳米银复合材料。因此, 笔者以 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs 作为代表, 测定了纳米银复合材料与硫酸卡那霉素(kanamycin sulfate, KS)/盐酸土霉素(oxytetracycline hydrochloride, OH)的二元联合抗菌性能, 发现 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs 与KS联合可以对 *E. coli* 产生协同效应。协同效应产生的主要原因可能是: $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs 释放出的纳米银会和KS发生键合反应生成KS-纳米银复合物, 导致纳米银释放出大量的 Ag^+ 增加了细胞膜的通透性, 从而使得进入细菌内的 Ag^+ 和KS比单独作用时进入胞内的抗菌剂增多, 产生更强的抗菌性能, 从而表现出协同抗菌效应。本研究基于新型纳米银复合材料与抗生素的联合抗菌性能实验探究了纳米银复合材料与特定抗生素联合用药的最佳组合和相关机制, 为今后开发新型抗菌材料提供了新思路并为相关联合用药提供参考。

关键词: 纳米银复合材料; 抗生素; 大肠杆菌; 枯草芽孢杆菌; 联合抗菌性能

文章编号: 1673-5897(2020)2-039-11 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Combined Antibacterial Property and Mechanism of Nanosilver Composites and Antibiotics against Bacteria

Wang Mengzhen, Sun Haoyu, Long Xi, Lin Zhifen*

State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China

Received 4 December 2019 accepted 6 January 2020

基金项目: 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室自主研究(重点)项目(PCRRK16007); 水体污染控制与治理科技重大专项(2018ZX07109-1); 上海市科学技术委员会科研计划课题资助项目(17DZ1200103, 14DZ2261100); 环境化学与生态毒理学国家重点实验室开放基金课题资助项目(KF2016-11); 111工程资助项目; 上海“超级博士后”激励计划项目(2019194); 博士后创新人才支持计划资助项目(BX20190247); 中国博士后科学基金资助项目(2019M661624)

作者简介: 王孟珍(1995—), 女, 硕士研究生, 研究方向为微生物毒理学, E-mail: 1525230568@qq.com

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: lzhen@tongji.edu.cn

Abstract: The abuse of antibiotics has caused increasingly serious problem of bacterial resistance, thus it is urgent to develop new antibacterial drugs to alleviate this problem. The nanosilver composites that was synthesized from single nanosilver can not only overcome the shortcomings of nanosilver, such as the rapid release rate of Ag^+ and unstable physicochemical property, but also reduce the bacterial resistance, which are regarded as a new kind of antibacterial agents with broad application prospects. Previous studies have showed that the combination of single nanosilver and some antibiotics could exhibit the synergistic antibacterial effect. However, little information is available on the performance and mechanism of nanosilver composites combined with antibiotics. In this paper, three kinds of nanosilver composites with different structures were synthesized: silica-polydopamine-nanosilver (SiO_2 -PD-AgNPs), nanosilver@silica ($\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$) and nanosilver@silica-polydopamine-nanosilver ($\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs). Subsequently, the single toxicity of nanosilver composites to *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) was determined. The results showed that the toxicity of $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs to the two kinds of bacteria were greater than that of the other two nanosilver composites. Therefore, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs was selected as the representative to determine its combined antibacterial property with KS (kanamycin sulfate)/OH (oxytetracycline hydrochloride), and it was found that the combination of $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs and KS could display synergistic effect on *E. coli*. The nanosilver released by $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ -PD-AgNPs could react with KS to form the KS-nanosilver complex, resulting in a large amount of Ag^+ released from nanosilver. The increase of Ag^+ enhanced the permeability of cell membrane, so the amount of Ag^+ and KS entering the bacteria were more than that of the antibacterial agents when acting alone, which resulted in greater antibacterial property and a synergistic effect. This study explores the optimal combination and related mechanism of new nanosilver composite and specific antibiotics based on the combined toxicity experiments, which will provide new insight into the development of new antibacterial materials and give a reference for the related combination application of drugs.

Keywords: nanosilver composite; antibiotic; *Escherichia coli*; *Bacillus subtilis*; combined antibacterial property

抗生素被广泛应用于医疗卫生、农业和畜牧业等领域,对感染性疾病的防治起到关键作用。然而,近年来抗生素的滥用使得细菌耐药问题不断加剧,导致抗菌剂在治疗细菌感染时药效降低甚至完全失效,这较抗菌剂自身的毒性而言对生态安全和人类健康威胁更大^[1]。在此情况下,人类迫切需要开发出新的抗菌药物以减少细菌耐药问题。纳米银作为一种新型的抗菌药物,其能穿透微生物的细胞壁进入细菌体内,与巯基结合后破坏细菌的呼吸链并产生活性氧簇抑制细菌生长^[2]。相较于传统的银离子,纳米银具有较高的价态和巨大的比表面积,不易被氧化和沉淀,因此纳米银的使用越来越广泛^[3]。但是,单一纳米银有释放速度快、易团聚和不稳定等缺点。为了克服这些缺点,有研究人员将纳米银与其他材料制备成纳米银复合材料,不仅能够对纳米银起到稳定和保护作用,还能降低纳米银的释放速度从而获得较好的持效抑菌性能^[4-5]。例如,Badu等^[6]将纳米银/聚吡咯复合材料覆于棉织物上,通过琼脂扩散板测试实验发现,复合材料在6 h后杀灭大肠杆菌率达100%,而在12 h后杀灭金黄色葡萄

球菌率达100%。Tang等^[7]在氧化石墨烯的悬浮液中通过柠檬酸钠还原硝酸银制备得到氧化石墨烯-银纳米复合材料并进行毒性实验,发现其对革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌都具有较好的杀菌效果。因此,制备纳米银复合材料并开展其抗菌性能研究对生态安全和人类健康具有重要意义。

在纳米银复合材料的制备过程中,研究比较广泛的纳米银载体材料有沸石^[8]、碳纳米管^[9]、氧化石墨烯^[10]以及纳米二氧化硅^[11]等。其中,纳米二氧化硅与其他几种载体材料相比,具有高载药量、良好的生物相容性、低细胞毒性和高比表面积等优势。此外,纳米银与二氧化硅载体结合的时候,既可以被包裹在二氧化硅微球的内部,也可以黏附在其外层,或者两者同时兼具^[12-14]。因此,以纳米二氧化硅作为载体制备纳米银复合材料具有广阔的应用前景。

此前关于纳米银抗菌性能的研究表明,纳米银和抗生素联合使用可以产生协同抗菌效果^[15-16]。例如,郭春兰等^[17]通过观察伤口病原菌和耐药菌阳性率的变化,发现纳米银敷料结合青霉素等抗生素治疗慢性感染伤口具有协同抗菌作用,有助于伤口愈

合。Li 等^[15]认为纳米银更容易与细菌细胞膜的磷脂和糖蛋白反应,可作为载体有利于阿莫西林向细胞表面运输,从而抗菌效果更明显。由此看出单一纳米银与某些抗生素的联合使用可以达到协同杀菌效果,但是有关纳米银复合材料与抗生素联合使用的抗菌性能研究却十分有限。那么,纳米银复合材料与传统抗生素联合暴露是否比单一纳米银复合材料的抗菌效果好?其联合抗菌机制又是如何?这是本文所关注的问题。

本文首先通过溶胶-凝胶法制备出二氧化硅微球作为载体材料,并参考宋笑等^[18]报道的方法制备出3种不同结构的纳米银复合材料并简单表征,最后分别测定3种纳米银复合材料对大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*, *B. subtilis*)的单一毒性及 AgNPs@SiO₂-PD-AgNPs 与硫酸卡那霉素(kanamycin sulfate, KS)/盐酸土霉素(oxytetracycline hydrochloride, OH)对受试菌的二元联合毒性。本文旨在得到具有良好抗菌性能的纳米银复合材料,并探索可以产生协同抗菌作用的纳米银复合材料与抗生素的组合,为开发新型抗菌材料提供思路并为其进一步推广使用提供参考。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 实验材料

正硅酸四乙酯、氨水(25%~28%)、无水乙醇、甲醇、甲醛和盐酸(36%~38%)均购自国药集团化学试剂有限公司(上海,中国),纯度均为分析纯。多巴胺盐酸盐、三羟甲基氨基甲烷、十六烷基三甲基溴化铵和硝酸银购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司(上海,中国),纯度均为分析纯。盐酸土霉素和硫酸卡那霉素购自 Sigma-Aldrich 化学制品有限公司(上海,中国),纯度为分析纯以上。

本实验中使用的模式生物 *E. coli* (K-12 MG1655)和 *B. subtilis* (168)购自 BioVector 科技有限公司(北京,中国)。

1.2 纳米银复合材料的制备

1.2.1 纳米二氧化硅(SiO₂)的制备

将9 mL的氨水与24.75 mL的去离子水及16.25 mL的无水乙醇混匀得到溶液A;将4.5 mL的正硅酸四乙酯与45.5 mL的无水乙醇混合,用85-1型磁力搅拌器(武汉科尔仪器有限公司,武汉,中国)以1 100 r·min⁻¹转速搅拌20 min,得到溶液B。室温下将B溶液快速加入A溶液中,60 s后将搅拌速度降

低至350~400 r·min⁻¹。反应2 h后将溶液进行离心,去掉上清液,沉淀物用乙醇反复洗涤3次后,用DZF-6050型真空干燥箱(上海精宏仪器有限公司,上海,中国)干燥,得到纳米SiO₂粒子。

1.2.2 纳米银@二氧化硅(AgNPs@SiO₂)的制备

将0.2 g的十六烷基三甲基溴化铵、96 mL的去离子水和2.8 mL的氨水加入到三口烧瓶中,不断搅拌,加热至80℃后反应30 min。此时向烧瓶中加入1 mL的硝酸银溶液(0.1 mol·L⁻¹)和0.6 mL的甲醛溶液(1.0 mol·L⁻¹),搅拌5 min后,向混合体系逐滴滴加1 mL的正硅酸四乙酯。反应2 h后将溶液进行离心,去掉上清液,沉淀物用去离子水洗涤后加入80 mL的0.1 mol·L⁻¹的盐酸/乙醇溶液,在80℃条件下加热回流4 h后,将溶液进行离心,去掉上清液,将沉淀物真空干燥后得到AgNPs@SiO₂粒子。

1.2.3 二氧化硅-聚多巴胺-纳米银(SiO₂-PD-AgNPs)的制备

将50 mL 0.1 mol·L⁻¹的三羟甲基氨基甲烷溶液与14.7 mL 0.1 mol·L⁻¹的盐酸混合,加水定容至100 mL,得到pH=8.5的三羟甲基氨基甲烷缓冲溶液。将0.06 g的多巴胺盐酸盐和0.05 g的SiO₂颗粒加入30 mL三羟甲基氨基甲烷缓冲溶液中,室温下避光搅拌过夜。将反应产物过滤洗涤后,加到20 mL的硝酸银(1.5 mg·mL⁻¹)溶液中,氮气保护下80℃反应30 min。将溶液进行离心,去掉上清液,沉淀物用乙醇反复洗涤3次后真空干燥,得到SiO₂-PD-AgNPs粒子。

1.2.4 纳米银@二氧化硅-聚多巴胺-纳米银(AgNPs@SiO₂-PD-AgNPs)的制备

将SiO₂-PD-AgNPs制备过程中的SiO₂替换为AgNPs@SiO₂,按照同样的方法反应合成AgNPs@SiO₂-PD-AgNPs粒子。

1.3 毒性测定及表征方法

1.3.1 受试菌的培养

液体培养基配方为10.0 g·L⁻¹氯化钠、25.0 g·L⁻¹蛋白胨和12.5 g·L⁻¹酵母膏,pH调节至约为7.0。取*E. coli*或*B. subtilis*菌种接种到5 mL液体培养基中,在37℃恒温条件下震荡培养(*E. coli*为6 h,*B. subtilis*为10 h)至对数生长期,将菌液用1%氯化钠溶液稀释10⁵倍,用于毒性测定。

1.3.2 毒性实验

称取待测样用1%氯化钠溶液配制成母液,将母液用1%氯化钠溶液稀释成等对数梯度的浓度加

入96孔板中。每孔溶液总体积为200 μL ,其中包括80 μL 培养基、40 μL 工作菌液以及80 μL 待测物质溶液,每个浓度梯度设置3个平行,37 $^{\circ}\text{C}$ 下180 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 震荡培养(*E. coli* 培养12 h, *B. subtilis* 培养19 h),使用GO1510型多功能酶标仪(Thermo Fisher公司,沃尔瑟姆,美国)测定600 nm处的光密度值(OD_{600})。根据式(1)计算测试样对细菌的抑制率。

$$\text{Inhibition}(\%) = \frac{\text{OD}_{600,0} - \text{OD}_{600,i}}{\text{OD}_{600,0}} \times 100\% \quad (1)$$

式中: $\text{OD}_{600,0}$ 为受试菌在无染毒作用下的空白 OD_{600} 读数的平均值; $\text{OD}_{600,i}$ 为受试菌在浓度为 i 的化合物作用下 OD_{600} 读数的平均值。以测试样浓度的负对数为横坐标,抑制率为纵坐标,绘制剂量-效应曲线,50%抑制率时对应的测试样浓度即为半最大效应浓度(concentration for 50% of maximal effect, EC_{50})。

EC_{50} 是一个经典参数,已在毒理学研究中长期使用。作为衡量物质生物毒性大小的指标, EC_{50} 值越小表示物质的毒性越大^[19]。根据单独毒性实验研究中每种抗菌剂对受试菌的 EC_{50} 浓度值来确定配制测试样 A(纳米银复合材料,本研究中选用 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 进行联合毒性实验)与测试样 B(KS/OH)的混合溶液浓度,按照 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与 KS/OH 的 EC_{50} 配制系列二元混合溶液,其毒性比分别为1:1、1:5和5:1。然后按照单一毒性测定方法测定系列混合溶液的联合毒性,并绘制剂量-效应曲线,计算出 $\text{EC}_{50\text{mix}}$ 和毒性单位(toxic unit, TU)都是用来表征混合毒性效应的重要参数,TU法参数的物理意义比较明确,计算简捷,评价结果便于理解,用此模型来判断混合物的联合作用结果较为可靠,可以直观地判断出混合毒性的联合效应类型,因此得到广泛的应用^[20]。联合毒性的研究是依据单一测试样的 EC_{50} 来设计的,将单一

测试样对受试菌的抑制率为50%时对应的浓度定义为一个毒性单位^[21],实验所得联合毒性效应使用的TU的计算如式(2)。

$$\text{TU} = \frac{C_A}{\text{EC}_{50A}} + \frac{C_B}{\text{EC}_{50B}} \quad (2)$$

式中: C_A 、 C_B 是混合体系产生50%抑制时测试样A、B各自的浓度, EC_{50A} 和 EC_{50B} 是测试样A、B分别作用于细菌时产生50%抑制时的浓度。当 $\text{TU} < 0.8$ 时,判定联合毒性效应为协同;当 $0.8 \leq \text{TU} \leq 1.2$ 时,判定联合毒性效应为相加;当 $\text{TU} > 1.2$ 时,判定联合毒性效应为拮抗^[22]。

2 结果与讨论 (Results and discussion)

2.1 纳米银复合粒子的表征

使用ZEN3690型粒度分析仪(Malvern公司,马尔文,英国)对复合材料的粒径以及分散系数进行分析,结果如表1所示。 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ 的粒径是553.7 nm,分散系数为0.725; $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 的粒径是743.6 nm,分散系数为0.547; $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 的粒径是974.6 nm,分散系数为0.392。可见,3种纳米银复合材料的粒径大小排序为: $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs} > \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs} > \text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$,其中 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 的分散系数最小,其分散度最好。

此外,用Evolution 350型紫外可见分光光度计(Thermo Scientific公司,沃尔瑟姆,美国)检测3种纳米银复合材料的紫外吸收光谱。结果如图1(a)所示, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ 无紫外吸收, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 和 $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 在475 nm左右产生了最大紫外吸收峰。已有研究表明,纳米银的最大紫外吸收峰在420 nm左右^[23-24],所以笔者推测475 nm左右处的最大紫外吸收峰很可能与复合材料中的纳

表1 纳米银复合材料的粒径和分散系数

Table 1 Particle size and polymer dispersity index of nanosilver composites

	SiO_2	$\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$	$\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$	$\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$
粒径/nm				
Particle size/nm	553.8	553.7	743.6	974.6
分散系数(PDI)				
Polymer dispersity index (PDI)	0.118	0.725	0.547	0.392

注: $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ 为纳米银@二氧化硅复合材料, $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 为二氧化硅-聚多巴胺-纳米银复合材料, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 为纳米银@二氧化硅-聚多巴胺-纳米银复合材料。

Note: $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ stands for nanosilver@silica; $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ stands for silica-polydopamine-nanosilver; $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ stands for nanosilver@silica-polydopamine-nanosilver.

米银有关。对于 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$, 在其制备过程中, 甲醛作为还原剂还原硝酸银为纳米银, 纳米银被包覆于 SiO_2 微球的孔洞中, 因此没有明显的紫外吸收峰, 推测其结构如图 1(b)所示。而在 $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 的制备过程中, 多巴胺会聚合成为聚多巴胺并在 SiO_2 表面形成一层薄膜, 随后聚多巴胺还原硝酸银为纳米银后被包覆在聚多巴胺薄膜外面, 因此可以检测到紫外吸收峰, 其推测结构如图 1(b)所示。 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 结合了前面 2 种复合材料的特点, SiO_2 内层和表面都存在纳米银粒子, 具有明显的夹心层结构, 所以也会出现紫外吸收峰, 推测结构如图 1(b)所示。此外, 纳米银最大吸收峰的位置和形状在很大程度上取决于其粒径、表面吸附的物质以及周围的电介质^[25-26]。在 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 和 $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 这 2 种复合材料中, 由于 SiO_2 的折射率略高于水, 纳米银与 SiO_2 的结合导致纳米银周围基质的介电常数与折射率都有所增加, 因此, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 和 $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 的最

大紫外吸收峰(475 nm 左右)相对于纳米银的最大紫外吸收峰(420 nm 左右)发生了红移。

2.2 单一毒性

3 种纳米银复合材料对 *E. coli* 和 *B. subtilis* 的单一毒性数据如表 2 所示。由实验结果可知, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ 、 $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 和 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 对 *E. coli* 的 EC_{50} 分别为 65.7、90.7 和 48.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 对 *B. subtilis* 的 EC_{50} 分别为 466.4、560.0 和 161.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。可见 3 种纳米银复合材料对 2 种菌的毒性大小顺序一致, 均为 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}>\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2>\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 。

此前, 已有研究阐明纳米银复合材料主要依靠纳米银和 Ag^+ 进入细胞内阻断 DNA 复制和产生活性氧诱导细胞凋亡来杀死细菌^[27]。根据纳米银复合材料抗菌机理的相关研究^[28], 以 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ 为例, 推测其抗菌机理如图 2(a)所示。 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ 吸附在细菌表面, 在与细胞接触的过程中, 纳米银粒子通过硅壳孔道释放出来(如图 2(b)), 纳米银可能会

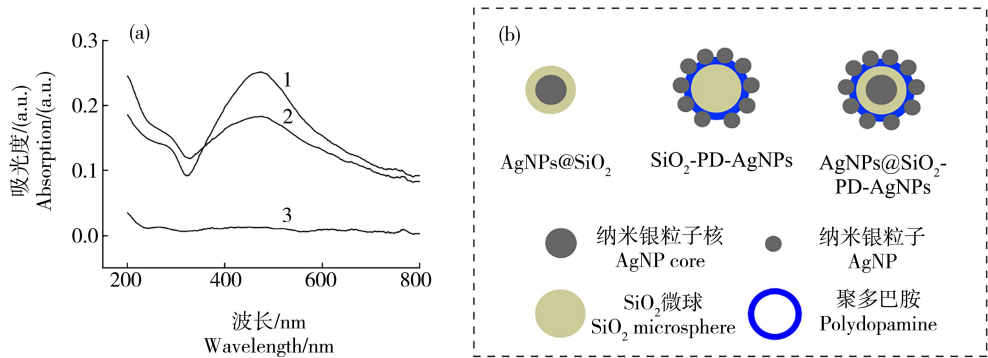


图 1 3 种纳米银复合材料的紫外可见吸收光谱 (a) 与结构 (b)

注: 1. $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$; 2. $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$; 3. $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$ 。

Fig. 1 UV-vis spectra (a) and the structure (b) of three kinds of nanosilver composites

Note: 1. $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$; 2. $\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$; 3. $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$.

表 2 3 种纳米银复合材料的半最大效应浓度 (EC_{50})

Table 2 The concentration for 50% of maximal effect (EC_{50}) of three kinds of nanosilver composites

($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

纳米银复合材料 Nanosilver composites	受试生物 Test organism	
	大肠杆菌 <i>E. coli</i>	枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>
$\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2$	65.7	466.4
$\text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$	90.7	560.0
$\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$	48.2	161.5

影响细胞壁上的某些蛋白质和磷脂,诱导膜破裂,影响细胞膜的完整性^[29-30],从而使细胞膜通透性增加,进而导致细胞内容物释放。在此过程中,纳米银会释放出 Ag^+ ^[29,31]。纳米银和 Ag^+ 进入到胞内,一方面导致活性氧簇(ROS)的产生, Ag^+ 被氧化为 Ag_2O ,从而灭活呼吸链脱氢酶,抑制细胞呼吸;另一方面 Ag^+ 通过与细菌蛋白酶上的巯基($-\text{SH}$)迅速结合,破坏蛋白质的三维结构,抑制细菌生命活动必需的酶和蛋白质的活性^[32],并通过浓缩 DNA 使其失去复制能力而引起 DNA 的降解来抑制细菌的生长繁殖^[33],最后达到抑菌效果。 SiO_2 -PD-AgNPs 和 AgNPs@ SiO_2 -PD-AgNPs 的纳米银和 Ag^+ 的释放过程如图 2(c)和图 2(d)所示。对于 SiO_2 -PD-AgNPs,因为纳米银粒子覆盖在最外层,所以在与细菌接触的过程中直接释放。由于 AgNPs@ SiO_2 -PD-AgNPs 具备前面 2 种材料的特点,因此其最外层的纳米银先流失,然后聚多巴胺膜被水解破坏,最后 SiO_2 内部的纳米银被释放出来。在纳米银释放之后, SiO_2 -PD-AgNPs 和 AgNPs@ SiO_2 -PD-AgNPs 的抗菌机制

与 AgNPs@ SiO_2 类似。

本研究中纳米银复合材料的抗菌性能主要由纳米银的负载率决定。对于 AgNPs@ SiO_2 来说,该材料是将纳米银的还原反应和正硅酸乙酯的水解反应同时进行,使纳米银能够更多地被包裹于 SiO_2 微孔中,其对纳米银的吸附率较高。而 SiO_2 表面的聚多巴胺虽具有一定的黏附性,但其负载的纳米银粒子可能相对较少,导致 SiO_2 -PD-AgNPs 毒性较 AgNPs@ SiO_2 小。AgNPs@ SiO_2 -PD-AgNPs 是在 AgNPs@ SiO_2 的基础上,对材料表面进行进一步修饰,从而进一步提高了纳米银的负载率,因此 AgNPs@ SiO_2 -PD-AgNPs 的毒性最大。从受试菌来看,3 种材料对 *E. coli* 的毒性均大于对 *B. subtilis* 的毒性,即 *E. coli* 对纳米银复合材料的敏感度要远远高于 *B. subtilis*。笔者推测这可能与 2 种菌的细胞壁结构有关:*E. coli* 是革兰氏阴性菌,细胞壁结构较为单薄,含极少肽聚糖,纳米银和 Ag^+ 容易渗透到细胞质中;对于 *B. subtilis* 来说,细胞壁坚固致密的肽聚糖层会阻碍纳米银和 Ag^+ 的渗透,抑菌效应减弱^[34]。

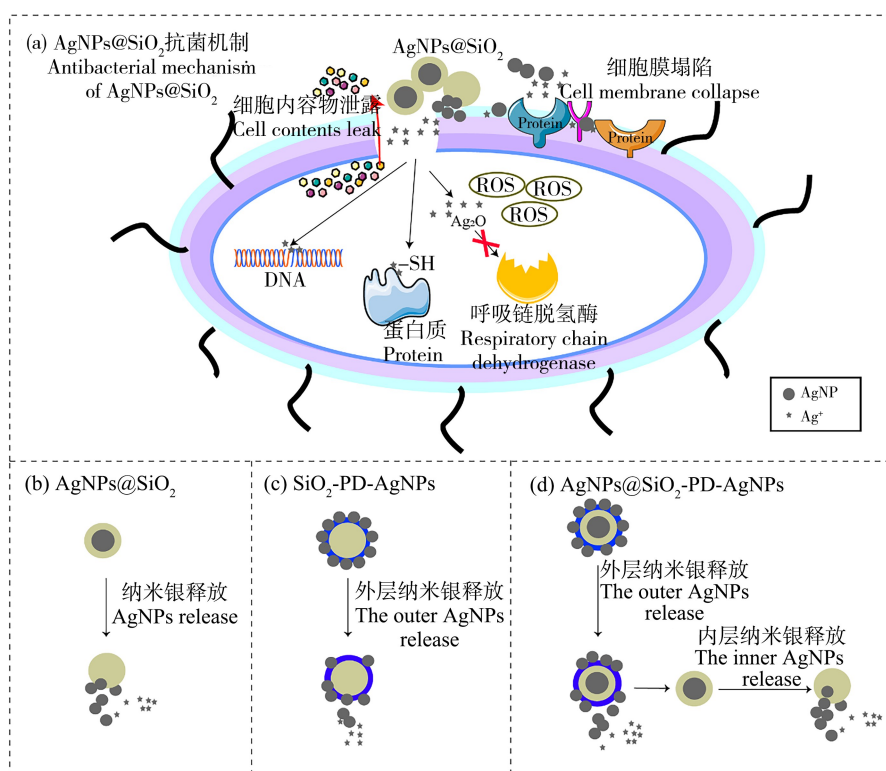


图2 3种纳米银复合材料的抑菌机理

注:ROS表示活性氧簇; $-\text{SH}$ 表示巯基。

Fig. 2 Bacteriostatic mechanism of three nanosilver composites

Note: ROS stands for reactive oxygen species; $-\text{SH}$ stands for hydrosulfuryl.

2.3 联合毒性

为了探究纳米银复合材料与抗生素的联合抗菌性能,本研究选用单一毒性最大的 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与广泛应用的抗菌药物 KS/OH 进行二元联合^[35-37],测定二元混合物对 *E. coli* 和 *B. subtilis* 的联合毒性,结果如表3所示。可见, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与 KS 在毒性比为 1:1、1:5 和 5:1 时对 *E. coli* 的联合毒性效应为协同,对 *B. subtilis* 的联合毒性效应为相加,而 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与 OH 在毒性比为 1:1、1:5 和 5:1 时对 2 种菌的联合毒性效应均为相加。

以往的研究指出纳米银与抗生素产生协同抗菌效应的可能原因是由于抗生素分子包含许多活性基团,例如羟基和酰胺基(图3(a)),它们容易与纳米银通过键合反应成为抗生素-纳米银复合物^[24,38]。本研究中, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 和 KS 在 3 种不同浓度配比下对 *E. coli* 都可以产生协同效应,表明二者的协同效应不会受浓度配比的影响。笔者推测纳米银复合材料和 KS 对 *E. coli* 的协同作用机理如图3(b)所示。 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 首先释放出纳米银粒子(图2(d)), KS 和纳米银通过键合反应成为 KS -纳米银复合物,纳米银与 KS 的结合会使纳米银的有效表面积发生变化,影响 Ag^+ 的释放动力学^[39],所以 KS -纳米银复合物比相同条件下单独纳米银作用释放了更多的 Ag^+ 。 Ag^+ 从复合物中的释放一方面增加了细胞膜的通透性,另一方面也导致 KS 从

复合物中解离下来^[40-41]。因此,纳米银复合材料与 KS 联合作用使得进入细菌体内的 Ag^+ 和 KS 含量均大于单独作用时可进入胞内的抗菌剂含量。进入胞内的 Ag^+ 导致 ROS 的产生从而使 Ag^+ 被氧化为 Ag_2O ,灭活呼吸链脱氢酶,抑制细胞呼吸,并且 Ag^+ 通过与细菌细胞内的蛋白质和 DNA 分子结合而引起细菌毒性^[29];而 KS 通过结合于细菌的 30S 核糖体影响细菌蛋白质的正常合成,进而破坏细菌功能导致 *E. coli* 死亡^[42]。因此, $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 和 KS 对 *E. coli* 表现出协同抗菌效应。而 *B. subtilis* 是革兰氏阳性菌,其细胞壁较厚(平均 20 ~ 80 nm),从内向外有 15 ~ 50 层含量丰富的肽聚糖,结构致密,所以相较于 *E. coli*,其细胞膜通透性不易被改变,笔者推测这可能是 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与 KS 二元联合对 *B. subtilis* 表现出相加效应的原因。

对于 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 和 OH 的联合毒性效应,有研究指出,纳米银与四环素在水溶液中共存时会发生交互反应,改变纳米银与四环素的理化性质,导致 Ag^+ 的浓度升高,四环素的浓度降低^[43]。Wan 等^[44]在评价纳米银与抗生素联合抑制大肠杆菌实验中也发现,纳米银与四环素联用不具有协同抑菌效果。因此,笔者推测纳米银复合材料和 OH 的联合作用机制如图3(d)所示。 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 首先释放出纳米银(图2(d)),之后 OH 通过羟基和酰胺基(图3(c))与纳米银结合成为 OH -纳米银

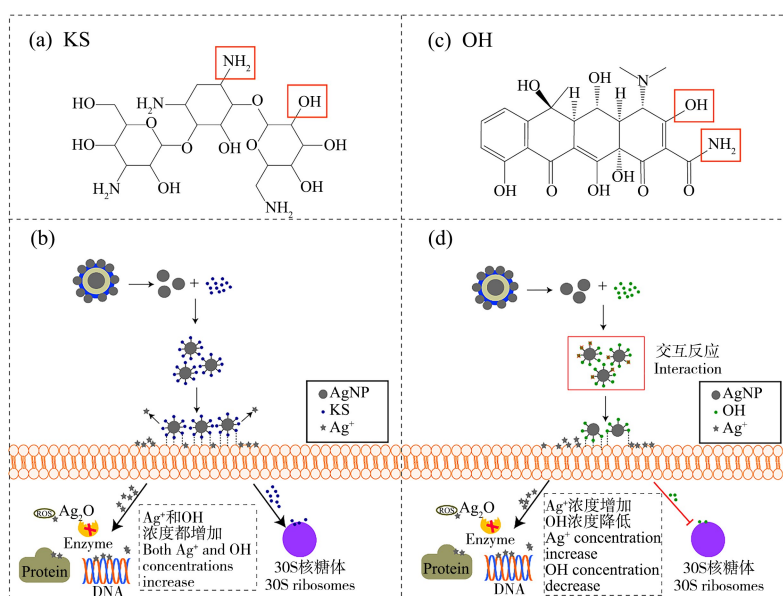


图3 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与 2 种抗生素的联合抗菌机理

Fig. 3 Combined antibacterial mechanism of $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ and two antibiotics

表 3 抗菌混合物的联合毒性作用

Table 3 The joint toxic action of antimicrobial mixture

大肠杆菌 <i>E. coli</i>				枯草芽孢杆菌 <i>B. subtilis</i>							
序号 No.	A	B	毒性比 Toxicity ratio	质量浓度占比/%		毒性单位(TU) Toxic unit (TU)	联合效应 Joint effect	质量浓度占比/%		毒性单位(TU) Toxic unit (TU)	联合效应 Joint effect
				Proportion of mass concentration/%	Proportion of mass concentration/%			Proportion of mass concentration/%	Proportion of mass concentration/%		
1	AgNPs@SiO ₂ - PD-AgNPs	硫酸卡那霉素(KS) Kanamycin sulfate (KS)	1:1	96.5	3.5	0.62	协同 Synergy	94.8	5.2	0.88	相加 Additive
2			1:5	84.9	15.1	0.75	协同 Synergy	78.7	21.3	1.13	相加 Additive
3			5:1	99.2	0.8	0.66	协同 Synergy	98.9	1.1	0.98	相加 Additive
4	AgNPs@SiO ₂ - PD-AgNPs	盐酸土霉素(OH) Oxytetracycline hydrochloride (OH)	1:1	95	5	0.92	相加 Additive	93.9	6.1	0.83	相加 Additive
5			1:5	79.4	20.6	0.87	相加 Additive	75.6	24.4	1.04	相加 Additive
6			5:1	98.9	1.1	1.04	相加 Additive	98.7	1.3	1.03	相加 Additive

复合物。但是 OH 与纳米银会发生交互反应,改变了 OH 与纳米银的理化性质,导致 Ag^+ 浓度增加,OH 浓度降低。一方面,OH-纳米银复合物会释放更多的 Ag^+ ,与单独的纳米银相比会对细菌产生更大的毒性作用;另一方面,OH 浓度的降低减少了其与细菌核糖体的结合,降低了对蛋白质合成过程的影响,和相同条件下单独的 OH 作用相比对细菌的毒性效应减弱了,总体表现出对细菌的联合抗菌效应为相加。

综上,本文制备出 3 种纳米银复合材料并对其抗菌性能进行探究,研究结果总结如下。(1)3 种纳米银复合材料对细菌的单一毒性大小顺序一致,均为 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs} > \text{AgNPs}@ \text{SiO}_2 > \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 。此外,*E. coli* 对纳米银复合材料的敏感度要高于 *B. subtilis*。(2) $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与 KS 在毒性比为 1:1、1:5 和 5:1 时对 *E. coli* 的联合毒性效应为协同,对 *B. subtilis* 的联合毒性效应为相加,而 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与 OH 对 2 种菌的联合毒性效应均为相加。(3) $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 与 KS 协同效应产生的主要原因可能是因为二者结合而成的 KS-纳米银复合物导致进入细菌体内的 Ag^+ 和 KS 相较于单独的抗菌剂作用时均有增加,对细菌产生更大的毒性作用,表现出协同抗菌效应。因此,可以推测 $\text{AgNPs}@ \text{SiO}_2\text{-PD-AgNPs}$ 和 KS 联用会对革兰氏阴性菌发挥优异的协同抗菌性能。所以,建议在今后的实际运用中,可以将夹层层结构的纳米银复合材料和包含有羟基和酰胺基等活性基团并且不会与纳米银发生交互反应的抗生素联合作用于革兰氏阴性菌;此外,在此基础上有必要进一步探究对革兰氏阳性菌也能产生良好协同抗菌效应的纳米银复合材料与抗生素的组合,为开发新型抗菌材料提供新思路并为联合用药提供参考。

通讯作者简介:林志芬(1972—2020),女,博士,教授,主要研究方向为混合污染物生物效应及人体健康评价。

参考文献 (References):

- [1] Goldman E. Antibiotic abuse in animal agriculture: Exacerbating drug resistance in human pathogens [J]. Human and Ecological Risk Assessment, 2004, 10(1): 121-134
- [2] Morones J R, Elechiguerra J L, Camacho A, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles [J]. Nanotechnology, 2005, 16(10): 2346-2353
- [3] Kim J S, Kuk E, Yu K N, et al. Antimicrobial effects of silver nanoparticles [J]. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2007, 3(1): 95-101
- [4] 姚雪, 张亚会, 吕菊波, 等. 纳米银/聚合物复合材料的合成及其抑菌性研究进展[J]. 化学通报, 2016, 79(6): 496-502
Yao X, Zhang Y H, Lv J B, et al. Syntheses and antibacterial properties of Ag/polymer composites [J]. Chemistry, 2016, 79(6): 496-502 (in Chinese)
- [5] Cai X, Lin M, Mai W, et al. The use of polyethyleneimine-modified reduced graphene oxide as a substrate for silver nanoparticles to produce a material with lower cytotoxicity and long-term antibacterial activity [J]. Carbon, 2012, 50(10): 3407-3415
- [6] Babu K F, Dhandapani P, Maruthamuthu S, et al. One pot synthesis of polypyrrole silver nanocomposite on cotton fabrics for multifunctional property [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(4): 1557-1563
- [7] Tang J, Chen Q, Xu L, et al. Grapheneoxide-silver nanocomposite as a highly effective antibacterial agent with species-specific mechanisms [J]. Applied Materials & Interfaces, 2013, 5(9): 3867-3874
- [8] Zhou Y, Deng Y, He P, et al. Antibacterial zeolite with a high silver-loading content and excellent antibacterial performance [J]. RSC Advances, 2014, 4(10): 5283-5288
- [9] 杨标, 章家立, 郭赞如, 等. 碳纳米管增强纳米银复合材料应用进展[J]. 工程塑料应用, 2016, 44(9): 121-125
Yang B, Zhang J L, Guo Z R, et al. Application progress of silver composite enhanced by carbon nanotubes [J]. Engineering Plastics Application, 2016, 44(9): 121-125 (in Chinese)
- [10] 王林变, 赵英虎, 高莉, 等. 氧化石墨烯-纳米银复合材料的应用研究进展[J]. 化工新型材料, 2019, 47(3): 1-5
Wang L B, Zhao Y H, Gao L, et al. Research progress on application of graphene oxide-silver nanoparticle [J]. New Chemical Materials, 2019, 47(3): 1-5 (in Chinese)
- [11] Yang H, Liu Y, Shen Q, et al. Mesoporous silica microcapsule-supported Ag nanoparticles fabricated via nano-assembly and its antibacterial properties [J]. Journal of Materials Chemistry, 2012, 22(45): 24132-24138
- [12] 袁丽, 王蓓娣, 唐倩倩, 等. 介孔二氧化硅纳米粒子应用于可控药物传输系统的若干新进展[J]. 有机化学, 2010, 30(5): 640-647
Yuan L, Wang B D, Tang Q Q, et al. New progress in the applications of mesoporous silica nanoparticles to controlled drug delivery system [J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2010, 30(5): 640-647 (in Chinese)
- [13] 任小宁, 罗志强, 李昱, 等. 多孔二氧化硅微球在药物

- 控释载体中的应用(连载二)[J]. 医药导报, 2018, 37(7): 785-793
- Ren X N, Luo Z Q, Li Y, et al. Application of porous silica spheres carriers for controlled drug delivery system [J]. Herald of Medicine, 2018, 37(7): 785-793 (in Chinese)
- [14] Gill I, Ballesteros A. Encapsulation of biologicals within silicate, siloxane, and hybrid sol-gel polymers: An efficient and generic approach [J]. Journal of the American Chemical Society, 1998, 120(34): 8587-8598
- [15] Li P, Li J, Wu Q, et al. Synergistic antibacterial effects of beta-lactam antibiotic combined with silver nanoparticles [J]. Nanotechnology, 2005, 16(9): 1912-1917
- [16] Naqvi S Z H, Kiran U, Ali M I, et al. Combined efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria [J]. International Journal of Nanomedicine, 2013, 8(1): 3187-3195
- [17] 郭春兰, 席祖洋, 戴德兰. 纳米银敷料结合抗生素用于慢性伤口感染干预效果的研究[J]. 中国医药导报, 2017, 14(28): 60-64
- Guo C L, Xi Z Y, Dai D L. Research on intervention effect of nano silver dressing in combination with antibiotics for chronic wound infection [J]. China Medical Herald, 2017, 14(28): 60-64 (in Chinese)
- [18] 宋笑, 刘涛, 董丽华, 等. 夹心层结构的纳米银复合粒子的缓释抑菌性[J]. 纳米技术, 2014, 4: 17-22
- Song X, Liu T, Dong L H, et al. Prolonged antimicrobial activity of unique sandwich-structured silver nanocomposites [J]. Hans Journal of Nanotechnology, 2014, 4: 17-22 (in Chinese)
- [19] 苏冰梅, 王婷, 方淑霞, 等. 喹诺酮类与磺胺类药物对枯草芽孢杆菌与大肠杆菌的联合毒性及其机制初探[J]. 环境化学, 2015, 34(11): 1975-1980
- Su B M, Wang T, Fang S X, et al. The combined toxicity of quinolones and sulfonamides on *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli* [J]. Environmental Chemistry, 2015, 34(11): 1975-1980 (in Chinese)
- [20] 孟庆俊, 肖昕. 不同方法对联合毒性作用的评价[J]. 污染防治技术, 2004, 17(1): 33-35
- Meng Q J, Xiao X. Assessment of combined toxicity using different methods [J]. Pollution Control Technology, 2004, 17(1): 33-35 (in Chinese)
- [21] 高继军, 张力平, 马梅. 应用淡水发光菌研究二元重金属混合物的联合毒性[J]. 上海环境科学, 2003, 22(11): 772-775
- Gao J J, Zhang L P, Ma M. Study on combined toxicity of binary mixture of heavy metals by applying freshwater luminescent bacteria *Vibrio qinghaiensis* [J]. Shanghai Environmental Sciences, 2003, 22(11): 772-775 (in Chinese)
- [22] Broderius S J, Kahl M D, Hoglund M D. Use of joint toxic response to define the primary mode of toxic action for diverse industrial organic chemicals [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 1995, 14(9): 1591-1605
- [23] Yue L, Wang Q Q, Zhang X M, et al. Synthesis of Ag/TiO₂ core/shell nanoparticles with antibacterial properties [J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2011, 32(8): 2607-2610
- [24] Fayaz A M, Balaji K, Girilal M, et al. Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: A study against Gram-positive and Gram-negative bacteria [J]. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2010, 6(1): 103-109
- [25] Tom R T, Nair A S, Singh N, et al. Freely dispersible Au@TiO₂, Au@ZrO₂, Ag@TiO₂, and Ag@ZrO₂ core-shell nanoparticles: One-step synthesis, characterization, spectroscopy, and optical limiting properties [J]. Langmuir, 2003, 19(8): 3439-3445
- [26] Kim Y H, Lee D K, Kang Y S. Synthesis and characterization of Ag and Ag-SiO₂ nanoparticles [J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2005, 257: 273-276
- [27] Zhou Y, Yang J, He T, et al. Highly stable and dispersive silver nanoparticle-graphene composites by a simple and low-energy-consuming approach and their antimicrobial activity [J]. Small, 2013, 9(20): 3445-3454
- [28] 刘鑫, 任艳, 周子军, 等. 纳米银抗菌机理及应用研究进展[J]. 安徽农业大学学报, 2017, 44(4): 702-708
- Liu X, Ren Y, Zhou Z J, et al. Antimicrobial mechanism and application of nano-silver material [J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2017, 44(4): 702-708 (in Chinese)
- [29] Hsueh Y H, Lin K S, Ke W J, et al. The antimicrobial properties of silver nanoparticles in *Bacillus subtilis* are mediated by released Ag⁺ ions [J]. Plos One, 2015, 10(12): e0144306
- [30] Li W R, Xie X B, Shi Q S, et al. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 85(4): 1115-1122
- [31] Sotiriou G A, Pratsinis S E. Antibacterial activity of nanosilver ions and particles [J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(14): 5649-5654
- [32] 王洁, 孟翔峰. 纳米银的抗菌机制研究[J]. 现代口腔医学杂志, 2013, 27(5): 304-308

- [33] Ovington L G. Nanocrystalline silver: Where the old and familiar meets a new frontier [J]. Wounds: A Compendium of Clinical Research and Practice, 2001, 13(2): 5-10
- [34] Yun H, Kim J D, Choi H C, et al. Antibacterial activity of CNT-Ag and GO-Ag nanocomposites against Gram-negative and Gram-positive bacteria [J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2013, 34(11): 3261-3264
- [35] 郑卫. 氨基糖苷类抗生素研究的新进展[J]. 四川生理科学杂志, 2003, 25(4): 178-179
- [36] 戴俊, 凌静, 郭文. 氨基糖苷类抗生素的发展现状与机遇[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(11): 1307-1311
Dai J, Ling J, Guo W. Development status and opportunities of aminoglycoside antibiotics [J]. Chinese Journal of Antibiotics, 2019, 44(11): 1307-1311 (in Chinese)
- [37] 贺德春, 许振成, 吴根义, 等. 四环素类抗生素的环境行为研究进展[J]. 动物医学进展, 2011, 32(4): 98-102
He D C, Xu Z C, Wu G Y, et al. Progress on residues and environmental behavior of tetracycline antibiotics [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2011, 32(4): 98-102 (in Chinese)
- [38] Deng H, McShan D, Zhang Y, et al. Mechanistic study of the synergistic antibacterial activity of combined silver nanoparticles and common antibiotics [J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(16): 8840-8848
- [39] Zhang W, Yao Y, Sullivan N, et al. Modeling the primary size effects of citrate-coated silver nanoparticles on their ion release kinetics [J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(10): 4422-4428
- [40] Duran N, Duran M, Jesus M, et al. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity [J]. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2016, 12(3): 789-799
- [41] Xiong M H, Li Y J, Bao X Z, et al. Bacteria-responsive multifunctional nanogel for targeted antibiotic delivery [J]. Advanced Materials, 2012, 24(46): 6175-6180
- [42] 范铭琦, 赵敏, 范瑾. 30S 核糖体的结构及其与氨基糖苷类抗生素相互作用的新进展[J]. 中国新药杂志, 2006, 15(9): 676-682
Fan M Q, Zhao M, Fan J. Recent advances on the structure of 30S ribosomal subunit and interaction of 30S ribosome with aminoglycosides [J]. Chinese Journal of New Drugs, 2006, 15(9): 676-682 (in Chinese)
- [43] 孟迪, 薛罡, 陈红. 典型 PPCPs 与纳米银颗粒在水溶液中理化性质的交互影响研究[J]. 广东化工, 2016, 43(7): 5-7
Meng D, Xue G, Chen H. Interaction effects of typical PPCPs and silver nanoparticles on physical-chemical properties in aqueous solution [J]. Guangdong Chemical Industry, 2016, 43(7): 5-7 (in Chinese)
- [44] Wan G, Ruan L, Yang T, et al. Effects of silver nanoparticles in combination with antibiotics on the resistant bacteria *Acinetobacter baumannii* [J]. International Journal of Nanomedicine, 2016, 11: 3789-3800
- ◆