

叶状 ZIF-L@Ag 复合材料的合成、表征和抗菌性能

徐建铭, 戴乐, 朱家骅, 韩晓乐*

(中南民族大学 化学与材料科学学院, 武汉 430074)

摘要 ZIF 系列是类沸石的咪唑酸盐框架材料. ZIF-L 是 Zn^{2+} 与 2-甲基咪唑的 N 原子配位后自组装形成的材料, 具有良好的加载和吸附能力. 通过水溶液合成方法, 合成了叶状 ZIF-L, 并与 Ag 纳米颗粒 (NPs) 吸附结合, 形成叶片状 ZIF-L@Ag 复合材料. 通过最小抑制浓度 (MIC)、CFU 计数法分析, 发现 ZIF-L@Ag 复合材料对耐碳青霉烯铜绿假单胞菌表现出了优异的抗菌性能. 细胞膜通透性测定结果表明, ZIF-L@Ag NPs 复合材料能够改变细菌细胞膜的通透性.

关键词 ZIF-L 咪唑酸盐框架材料; ZIF-L@Ag 复合材料; 抗菌材料

中图分类号 O64 文献标志码 A 文章编号 1672-4321(2025)03-0301-06

doi:10.20056/j.cnki.ZNMDZK.20240734

Synthesis, characterization, and antibacterial properties of leaf-shaped ZIF-L@Ag composites

XU Jianming, DAI Le, ZHU Jiahua, HAN Xiaole*

(College of Chemistry and Materials Science, South-Central Minzu University, Wuhan 430074, China)

Abstract The ZIF series represents a class of zeolite-like imidazolate frame material, with ZIF-L being characterized by self-assembly following the coordination of nitrogen atoms from 2-methylimidazole with Zn^{2+} , thereby exhibiting notable loading and adsorption capabilities. The synthesis of leaf-shaped ZIF-L was presented via an aqueous solution approach, subsequently integrating it with silver nanoparticles (NPs) to form the foliated ZIF-L@Ag composite. Assessment through minimum inhibitory concentration (MIC) and colony-forming unit (CFU) counting analyses revealed the exceptional antibacterial efficacy of the ZIF-L@Ag composite against carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. The results of cell membrane permeability measurement indicated that ZIF-L@AgNPs composites could modulate the permeability of bacterial cell membranes.

Keywords ZIF-L imidazole salt framework material; ZIF-L@Ag composite material; antibacterial material

金属有机框架 (MOFs) 材料是一种具有三维晶体结构的多孔材料^[1-2]. 因其具有高度可调的结构、组成、大小和化学性质, 被广泛应用于气体储存、多相催化、药物输送、储能和生物应用等研究领域^[3-6]. 类沸石咪唑酸盐框架 (ZIFs) 是 MOF 材料的子类, 具有较高的热稳定性和化学稳定性^[7]. 其中, 新型的二维 ZIF 材料 (ZIF-L), 因其具有独特的表面结构表现出优异的吸附性能^[8]. 同时, 它独特的叶状锋利结构使其可以通过物理相互作用达到杀菌的效果^[9].

随着抗菌药物的广泛使用以及滥用, 细菌耐药危机日趋严重, 已经成为全球范围的重大公共安全问題. 特别是 2019 年冠状病毒病 (COVID-19) 大流行, 所有抗生素的临床使用增加, 导致细菌耐药性的持续增强, 抗生素成为医疗需求的关键. 然而, 新药研发的能力和克服耐药的机制远远赶不上细菌耐药产生的速度. 因此, 遏制细菌耐药性问题已成为人类共同面临的巨大挑战. 利用多孔材料的结构特点, 将其与具有抗菌效果的纳米颗粒复合是开发

收稿日期 2024-02-29

* 通信作者 韩晓乐 (1983-), 女, 副教授, 博士, 研究方向: 纳米材料生物效应, E-mail: HXL1220@hotmail.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (32271538); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目 (GZY23005)

新型抗菌材料的一种策略.本文基于ZIF-L的良好性能,以提高材料抑菌效果为目的,通过水溶液合成方法,控制反应时间和反应物浓度,制备叶状ZIF材料(ZIF-L).利用ZIF-L良好的吸附效果,将其与Ag纳米颗粒(NPs)结合,合成了ZIF-L@Ag复合材料.通过二者的协同作用,ZIF-L@Ag复合材料对耐碳青霉烯铜绿假单胞菌(carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*)表现出优异的抗菌性能.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

场发射电镜[SU8010,日立科学仪器(北京)有限公司];傅里叶红外光谱仪[Nicolet is50,赛默飞世尔科技(中国)有限公司];电位分析仪(马尔文ZS90C Zeta,上海思百吉仪器系统有限公司);多功能酶标仪[SpectraMax iD5,美谷分子仪器(上海)有限公司].

硝酸银、二水合柠檬酸三钠、六水合硝酸锌、葡萄糖(分析纯AR,国药集团化学试剂有限公司);2-甲基咪唑(纯度98%,上海阿拉丁有限公司).实验用水为超纯水.

1.2 样品的制备

1.2.1 ZIF-L的制备

称取0.5747 g 2-甲基咪唑充分溶解于20 mL超纯水中,称取0.2974 g六水合硝酸锌充分溶解于2 mL超纯水中,将二者混合,并在室温下搅拌3 h,离心收集产物,用水和乙醇各洗涤2次.最后在真空干燥箱内干燥过夜,温度设置为50 °C,得到ZIF-L.

1.2.2 Ag NPs的制备

称取0.0169 g硝酸银、0.147 g二水合柠檬酸三钠、0.3603 g葡萄糖于10 mL超纯水中^[10],在室温下搅拌2 h,离心收集产物,用水和乙醇各洗涤两次,在真空干燥箱中干燥过夜,温度设置为50 °C,得到Ag NPs.

1.2.3 ZIF-L@Ag的制备

称取适量上述方法合成的ZIF-L与Ag NPs于超纯水中,在室温下搅拌30 min,离心收集产物,用水和乙醇各洗涤两次,在真空干燥箱中干燥过夜,温度设置为50 °C,得到ZIF-L@Ag复合材料.

1.3 样品的表征

1.3.1 X射线衍射(XRD)表征

称取适量ZIF-L,用研钵进行研磨,将ZIF-L磨

得尽可能细,进行压片,压片完成后,装进样品室进行XRD分析测试.

1.3.2 红外光谱(FT-IR)表征

称取0.08 mg ZIF-L与ZIF-L@Ag和8 mg溴化钾,在研钵中充分研磨混合,烘干后压片,利用傅里叶红外光谱仪(NEXUS-470)分析特征峰.

1.3.3 X射线光电子能谱(XPS)表征

利用锡箔纸和双面胶,将粉末样品固定于锡箔纸上,并剪成尽可能的小块,进行XPS分析.

1.3.4 形貌表征

以乙醇为溶剂,将ZIF-L与ZIF-L@Ag配制成悬浊液,利用导电胶将硅片粘在样品台上,采用少量多次的方法将液体样品滴在硅片上,等待溶剂挥发干燥后,进行扫描电子显微镜(SEM)测试.

1.3.5 Zeta电位表征

将ZIF-L与ZIF-L@Ag用超纯水配制成0.1 mg·mL⁻¹的水溶液,利用超声波粉碎仪超声分散,粉碎30 min,使用Zeta电位分析仪(ZS90C)测量样品的电势.

1.4 样品抗菌性能测试

1.4.1 最小抑菌浓度(MIC)测定

称取适量样品,用超纯水配制成1 mg·mL⁻¹的悬浊液备用;分别取100 μL培养后的菌液和100 μL样品悬浊液在96孔板中混合均匀,并逐步半倍稀释10次.稀释完成后将孔板用锡纸包裹,置于37 °C恒温培养箱中培养8 h,观察细菌生长情况.

1.4.2 菌落形成单位(CFU)测定

将培养后的菌液与样品悬浊液充分混合,接种至琼脂培养基,用涂布器使菌液均匀分布在培养基上,用封口膜封闭培养皿,将培养皿放置于37 °C恒温培养箱中,培养8 h,观察菌落生长情况.

1.4.3 细胞膜通透性测定

将耐碳青霉烯铜绿假单胞菌液放入37 °C恒温培养摇床内,培养4 h,结束后将菌液以3000 r·min⁻¹离心2 min,去除上清液,加入适量细胞缓冲液,重复离心一次,加入细胞缓冲液,放置备用.向菌液中滴加适量碘化丙啶(PI)进行细胞染色,静置15 min使染料与内容物结合染色.将ZIF-L和ZIF-L@Ag用超纯水配制成1.5 mg·mL⁻¹的悬浊液,取0.15 mL菌液,再取0.1 mL悬浊液与菌液充分混合,利用多功能酶标仪测定其荧光强度,测定时间2 h,每5 min测量一次.

1.4.4 细菌形貌分析

将耐碳青霉烯铜绿假单胞菌液放入37 °C恒温培养摇床内,培养4 h,将材料加入摇菌管中,继续培养3 h;培养结束后,将菌液以3000 r·min⁻¹离心15 min,

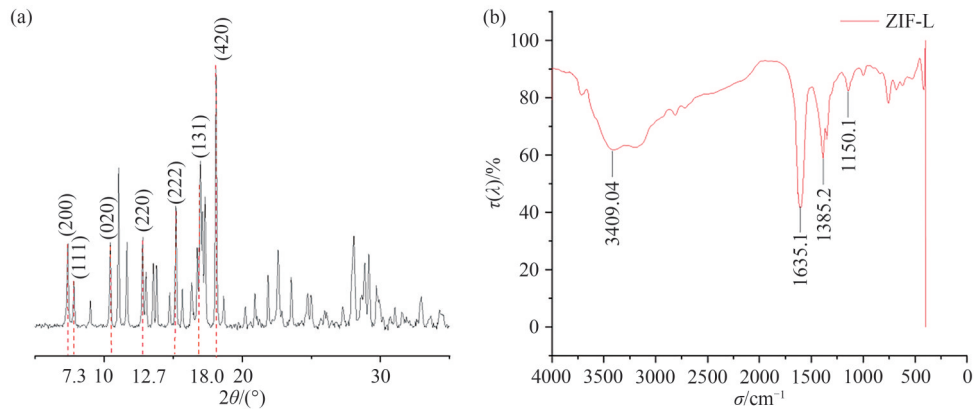
去除上清液,使用PBS洗涤2次,最后加入电镜固定液固定24 h,固定结束后用50%、60%、70%、80%、90%以及无水乙醇进行梯度脱水处理,最后分散至无水乙醇中进行电镜制样,拍摄电镜图谱。

2 结果与讨论

2.1 ZIF-L与ZIF-L@Ag材料的合成与表征

通过水热法,控制反应时间和反应物浓度,制

备了ZIF-L和Ag NPs和ZIF-L@Ag^[11]。XRD测试结果[图1(a)]表明:ZIF-L的 2θ 在7.3、7.7、10.4、10.9、12.7、15.6、16.7和18.0处的特征峰与ZIF-L标准卡片所示的(200)、(111)、(020)、(112)、(220)、(222)、(131)和(420)晶面一一对应。在ZIF-L的FT-IR谱图[图1(b)]中,3409.04 cm^{-1} 处的峰对应N—H键的伸缩振动,1635.1 cm^{-1} 处的峰对应C=O的伸缩振动,1385.2 cm^{-1} 处的峰对应N—H键和NO₂基团,1150.1 cm^{-1} 处的峰对应C—N键。



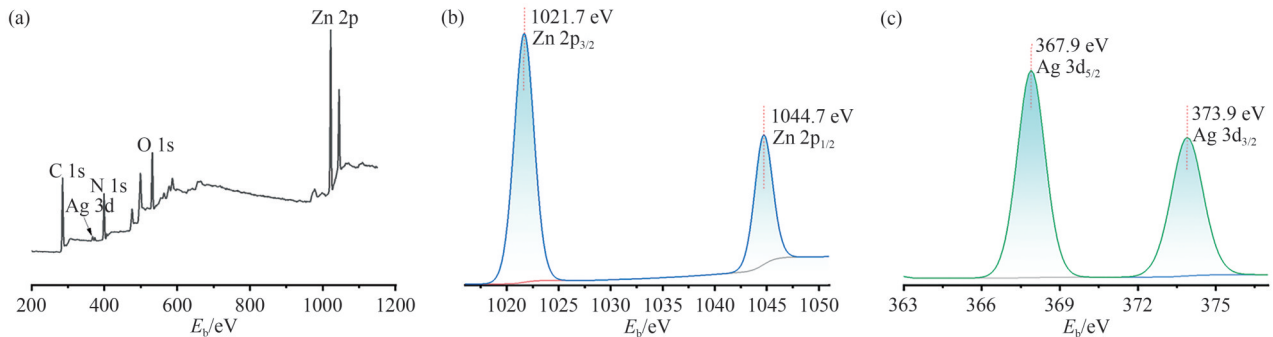
(a) XRD谱图;(b) FT-IR谱图

图1 ZIF-L的XRD和FT-IR谱图

Fig. 1 XRD and FT-IR spectra of ZIF-L

ZIF-L@Ag的XPS谱图如图2所示,显示了ZIF-L@Ag中C、N、O、Zn和Ag元素的存在,在398.8 eV处的N 1s峰对应ZIF-L中的N元素;Zn 2p存在两个峰,1021.7 eV和1044.7 eV的特征峰

分别对应于Zn 2p_{3/2}和Zn 2p_{1/2};Ag 3d_{5/2}和Ag 3d_{3/2}自旋轨道光电子的结合能分别为367.9 eV和373.9 eV。这与XPS谱图得到的数据分析结果保持一致。



(a) ZIF-L@Ag的XPS扫描总谱;(b) Zn 2p谱图;(c) Ag 3d谱图

图2 复合材料ZIF-L@Ag的XPS谱图

Fig. 2 XPS spectra of the composite ZIF-L@Ag

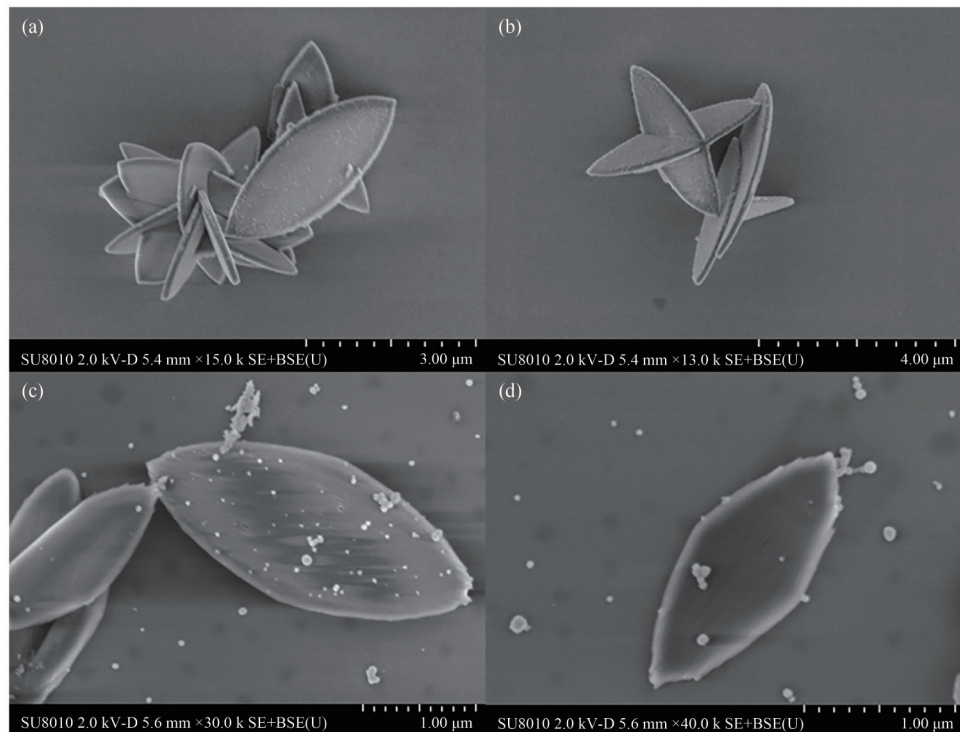
利用SEM对制备的ZIF-L与ZIF-L@Ag形貌进行表征。如图3(a)、3(b)所示,ZIF-L呈叶状,叶片两端较为尖锐,具有狭长扁平的完整结构,这为Ag NPs附着提供大的表面积。从图3(c)、3(d)中可以观察到叶状ZIF-L吸附银纳米颗粒。

如表1所示,ZIF-L的Zeta电势为27.5 mV,Ag NPs的Zeta电势为-24.5 mV。通过以不同比例进行复合,

复合材料ZIF-L@Ag的电势变化介于ZIF-L和Ag NPs的Zeta电势之间。通过调配比例,可以得到带有正电势的复合材料。带有正电势的ZIF-L@Ag与表面带有负电势的细菌具有更多的作用机会^[12]。

2.2 ZIF-L@Ag复合材料抗菌性能测试

MIC分析法是一种检测药物抑菌效果的分析方法,通过在孔板中进行半倍稀释接种法测定,在细菌



(a)、(b)ZIF-L; (c)、(d)ZIF-L@Ag

图3 ZIF-L和ZIF-L@Ag的SEM图

Fig. 3 SEM images of ZIF-L and ZIF-L@Ag

表1 ZIF-L、ZIF-L@Ag和Ag NPs的Zeta电势

Tab. 1 Zeta potential of ZIF-L, ZIF-L@Ag and Ag NPs

样品	电势/mV
ZIF-L	27.5
ZIF-L@Ag(4:1)	5.69
ZIF-L@Ag(2:1)	3.29
ZIF-L@Ag(1:1)	-15.23
ZIF-L@Ag(1:2)	-17.6
Ag NPs	-24.5

合适的生长条件下,观察抑菌剂对细菌生长情况抑制的最小有效浓度^[13].通过在96孔板上逐步稀释的方法进行MIC测定,培养完成后测定各孔板的吸光度,将其吸光度与阴性对照进行对比,吸光度小于阴性对照即可认为此浓度为该材料对细菌的MIC.耐碳青霉烯铜绿假单胞菌是一种普遍存在的革兰氏阴性细菌,属于假单胞菌科,它是一种机会性病原体,很少影响健康个体,但对于免疫功能低下的患者表现出高发病率和死亡率^[14].通过MIC分析法,测得ZIF-L、ZIF-L@Ag和Ag NPs对耐碳青霉烯铜绿假单胞菌的MIC值,如表2所示.ZIF-L的MIC为125 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,Ag NPs的MIC为0.95 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,表明Ag NPs对耐碳青霉烯铜绿假单胞菌表现出良好的抑菌效果.通过改变ZIF-L与Ag NPs的质量比,形成不同比例的ZIF-L@Ag复合材料,其中ZIF-L@Ag(1:2)时,MIC

值仅为0.48 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.数据表明,ZIF-L@Ag复合材料

表2 ZIF-L、ZIF-L@Ag和Ag NPs的MIC

Tab. 2 MIC of ZIF-L, ZIF-L@Ag and Ag NPs

样品	MIC/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$
ZIF-L	125
ZIF-L@Ag(4:1)	3.80
ZIF-L@Ag(2:1)	1.90
ZIF-L@Ag(1:1)	0.95
ZIF-L@Ag(1:2)	0.48
Ag NPs	0.95

抑菌效果得到明显提升.

菌落形成单位(CFU)是指在琼脂平板上在合适温度下经过一定时间培养后形成的细菌菌落数,它通过展现平板上菌落形成情况来反映抑菌剂的抑菌性能^[15].ZIF-L@Ag、Ag NPs、ZIF-L以及空白对照组的CFU计数如图4(a)所示,其中ZIF-L、Ag NPs和ZIF-L@Ag所用浓度均为1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,在同等浓度条件下,超纯水、ZIF-L、Ag NPs和ZIF-L@Ag(1:1)分别与菌液培养作用后产生的菌落数分别为830、312、228 $\text{cfu}\cdot\text{mL}^{-1}$,结果表明ZIF-L@Ag复合材料具有较好的杀菌性能.

纳米材料作为一种新兴的抗菌剂,由于纳米材料具有非常小的尺寸,可以穿透细菌的细胞壁进入细胞内部,破坏细胞内部的结构和功能,纳

米颗粒也可以通过结合细胞膜上的离子破坏细胞膜结构,造成细胞内容物泄露,致使细菌凋亡^[16].利用PI染色技术可以与死细胞结合从而呈现荧光,测定 ZIF-L@Ag、Ag、ZIF-L 对耐碳青霉烯铜绿假单胞菌细胞膜通透性的影响情况,如图 4 (b)所示.结果表明:在加入 ZIF-L 后,铜绿假单胞菌细胞膜通透性变化最大.ZIF-L 为叶状,两端较

为尖锐,可以对细菌细胞膜的造成损伤;加入 Ag NPs 后,耐碳青霉烯铜绿假单胞菌的细胞膜通透性没有发生明显变化;而 ZIF-L@Ag 对耐碳青霉烯铜绿假单胞菌细胞膜通透性有明显影响,表明 ZIF-L@Ag 复合材料的抑菌性能主要是由于 ZIF-L 叶状结构的物理破坏,以及 Ag NPs 的抑菌能力的双贡献.

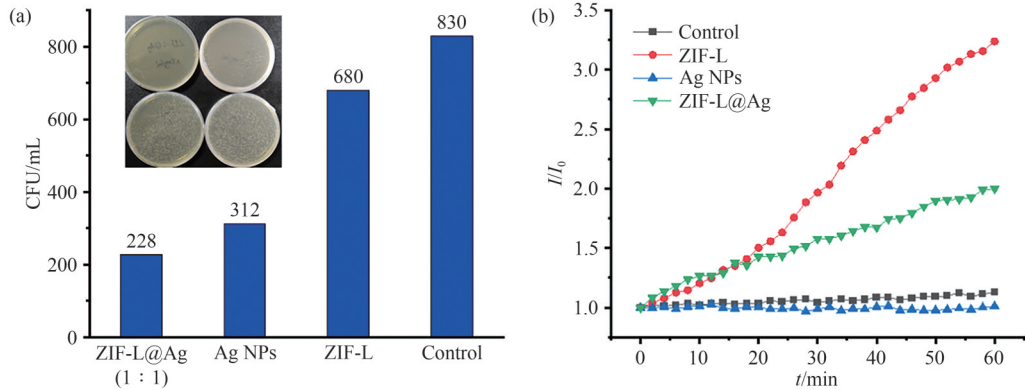
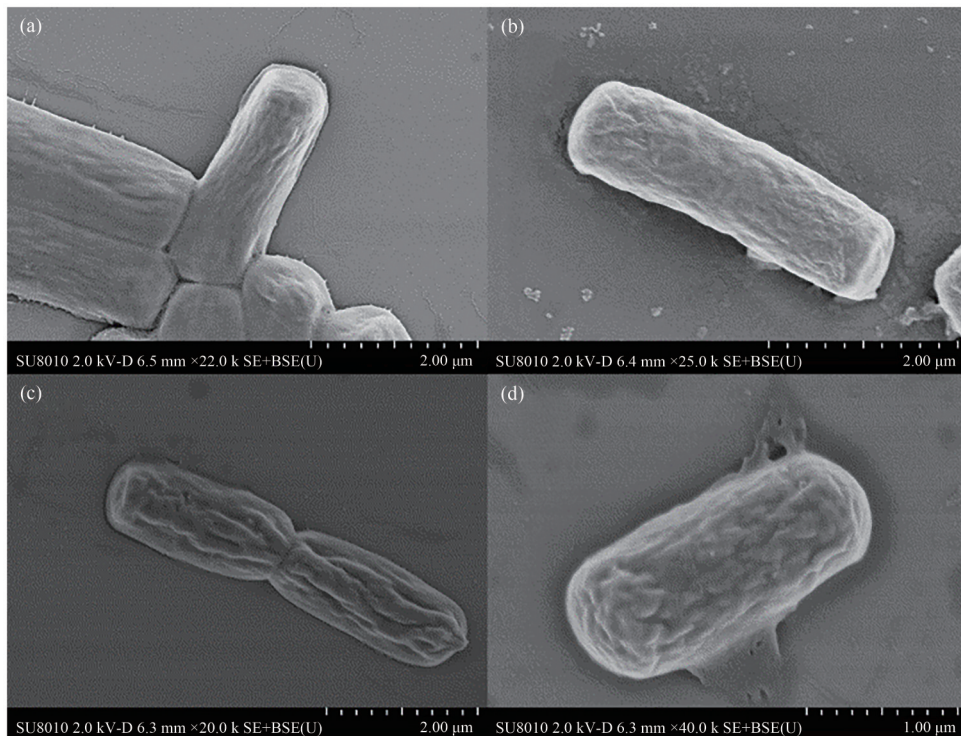


图4 ZIF-L、Ag NPs、ZIF-L@Ag材料CFU计数(a)和耐碳青霉烯铜绿假单胞菌膜通透性测试(b)

Fig. 4 CFU counts of ZIF-L, Ag NPs, ZIF-L@Ag (a) and membrane permeability test of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* (b)

同时将 ZIF-L@Ag 与耐碳青霉烯铜绿假单胞菌培养后进行形貌分析如图 5 所示,其中图 5(a)、5(b)为材料与细菌作用前的电镜图,图 5(c)、5(d)为作

用后的电镜图.由图可以观察到:在材料与细菌作用前,耐碳青霉烯铜绿假单胞菌较为光滑,形貌完整,而在处理后,细菌表面出现大量褶皱,在图 5(d)



(a)、(b)为处理前图像;(c)、(d)为处理后图像

图5 耐碳青霉烯铜绿假单胞菌在 ZIF-L@Ag 处理前后的扫描电镜图

Fig. 5 Scanning electron micrographs of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* before and after ZIF-L@Ag treatment

中细菌有一定破裂情况.ZIF-L和Ag NPs的协同作用,ZIF-L@Ag复合材料实现了Ag NPs在低剂量下就达到较高的抑菌水平,避免Ag NPs对正常组织的毒副作用^[17-18].

3 结论

(1)采用水热法制备了叶片状ZIF-L和Ag NPs,并将二者进行了复合,形成ZIF-L@Ag NPs复合材料.

(2)通过微量二倍稀释法测定了不同比例的ZIF-L@Ag NPs的MIC数值,在特定的比例下,有着优于Ag NPs的杀菌效果.

(3)通过平板菌落计数法得到CFU数值,在ZIF-L@Ag NPs为1:1比例合成时,CFU计数为228,相对于Ag NPs的312有着更好的杀菌性能.

(4)通过细胞通透性测定,发现ZIF-L@Ag NPs通过物理、化学协同作用后,能够更好地破坏细菌细胞膜,改变细胞膜的通透性,这可能是由于ZIF-L破坏细胞膜后,Ag NPs进入细胞内部,破坏细胞结构,促进细胞凋亡.

参 考 文 献

- [1] BU X H, ZUO J L. Preface: Special topic on Metal-organic frameworks (MOFs)[J]. *Science China Chemistry*, 2016, 59(8): 927-928.
- [2] VODYASHKIN A A, SERGORODCEVA A V, KEZIMANA P, et al. Metal-organic framework (MOF)-a universal material for biomedicine [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(9): 7819.
- [3] BAVYKINA A, KOLOBOV N, KHAN I S, et al. Metal-organic frameworks in heterogeneous catalysis: Recent progress, new trends, and future perspectives[J]. *Chemical Reviews*, 2020, 120(16): 8468-8535.
- [4] LI W, GUO X, GENG P, et al. Rational design and general synthesis of multimetallic metal-organic framework nano-octahedra for enhanced Li-S battery [J]. *Advanced Materials*, 2021, 33(45): e2105163.
- [5] LIANG C C, SHI Z L, HE C T, et al. Engineering of pore geometry for ultrahigh capacity methane storage in mesoporous metal-organic frameworks [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2017, 139(38): 13300-13303.
- [6] WANG S, CHEN Y, WANG S, et al. DNA-functionalized metal-organic framework nanoparticles for intracellular delivery of proteins[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2019, 141(6): 2215-2219.
- [7] GUO X, XING T, LOU Y, et al. Controlling ZIF-67 crystals formation through various cobalt sources in aqueous solution [J]. *Journal of Solid State Chemistry*, 2016, 235: 107-112.
- [8] CHEN R, YAO J, GU Q, et al. A two-dimensional zeolitic imidazolate framework with a cushion-shaped cavity for CO₂ adsorption [J]. *Chemical Communications*, 2013, 49(82): 9500-9502.
- [9] HAO L, JIANG R, GAO J, et al. Metal-organic framework (MOF)-based slippery liquid-infused porous surface (SLIPS) for purely physical antibacterial applications [J]. *Applied Materials Today*, 2022, 27: 101430.
- [10] 张爱清, 胡庆, 陈小随, 等. 含银水凝胶的制备及其用于创伤敷料的研究[J]. *中南民族大学学报(自然科学版)*, 2016, 35(2): 6-9.
- [11] LIN S, LIU X, TAN L, et al. Porous iron-carboxylate metal-organic framework: A novel bioplatform with sustained antibacterial efficacy and nontoxicity [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(22): 19248-19257.
- [12] MEI L, LU Z, ZHANG X, et al. Polymer-Ag nanocomposites with enhanced antimicrobial activity against bacterial infection [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2014, 6(18): 15813-15821.
- [13] 刘小会, 宁永忠. 通过最低抑菌浓度等参数计算抗菌药物给药剂量 [J]. *中国合理用药探索*, 2022(8): 60-66.
- [14] PANG Z, RAUDONIS R, GLICK B R, et al. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and alternative therapeutic strategies [J]. *Biotechnology Advances*, 2019, 37(1): 177-192.
- [15] 郭大城, 马彦民, 许玉玲, 等. 支原体菌落形成单位与颜色改变单位定量关系研究 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2020, 30(4): 405-407.
- [16] ROY S, HASAN I, GUO B. Recent advances in nanoparticle-mediated antibacterial applications [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2023, 482: 215075.
- [17] UMAIR M, JAVED I, REHMAN M, et al. Nanotoxicity of inert materials: The case of gold, silver and iron [J]. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 2016, 19(2): 161-180.
- [18] PIAO M J, KANG K A, LEE I K, et al. Silver nanoparticles induce oxidative cell damage in human liver cells through inhibition of reduced glutathione and induction of mitochondria-involved apoptosis [J]. *Toxicology Letters*, 2011, 201(1): 92-100.

(责编&校对 刘钊)