

二维纳米材料 Ti_3C_2 -Ag 配合物的抗菌机理研究

Xiaobo Zhu, Shaolong Chen, Yongqiang Jiang*

State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing

【摘要】2016 年, Rasool 等人首次指出 Ti_3C_2 材料具有超强的抗菌性能, 使得二维纳米材料作为最有前景的抗菌纳米材料之一成为人们关注的焦点。Gogotsi 的研究表明, MXene 材料具有超薄层状结构, 其抗菌活性明显优于氧化石墨烯材料。本试验以二维纳米 Ti_3C_2 材料为原料, 通过银氨溶液添加的方法制备了 Ti_3C_2 -Ag 配合物, 测试了该配合物对大肠杆菌 (*E. coli*) 和金黄色葡萄球菌 (*S. aureus*) 的抗菌活性, 分析了该配合物的抗菌机理。研究发现, 该配合物对大肠杆菌的抗菌活性可达 98.38%。对大肠杆菌的抑菌率为 99.08%, 对金黄色葡萄球菌的抑菌率为 99.08%, 抑菌率与银含量、作用时间呈正相关。其抗菌机制主要包括: (1) 纳米片对细胞膜的物理切割; (2) 银纳米粒子刺激氧化应激反应等。以上结果表明 Ti_3C_2 -Ag 是一种很有前景的抗菌材料。

【关键词】 Ti_3C_2 -Ag 配合物的制备; 抗菌作用; 机理

【收稿日期】 2025 年 6 月 23 日

【出刊日期】 2025 年 7 月 22 日

【DOI】 10.12208/j.nn.20250002

Study on antibacterial mechanism of two-dimensional nanomaterial Ti_3C_2 -Ag complexes

Xiaobo Zhu, Shaolong Chen, Yongqiang Jiang*

State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing

【Abstract】 In 2016, Rasool et al. first demonstrated the exceptional antibacterial properties of Ti_3C_2 , making two-dimensional nanomaterials a focal point of attention as one of the most promising antibacterial nanomaterials. Gogotsi et al. have shown that MXene materials, with their ultrathin layered structure, exhibit significantly superior antibacterial activity compared to graphene oxide. In this study, a Ti_3C_2 -Ag complex was prepared using two-dimensional nano- Ti_3C_2 as a raw material by adding a silver ammonia solution. The antibacterial activity of the complex against *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) was tested, and the antibacterial mechanism of the complex was analyzed. The complex exhibited an antibacterial activity of 98.38% against *E. coli* and 99.08% against *S. aureus*, respectively. The inhibition rates were positively correlated with the silver content and exposure time. Its antibacterial mechanism mainly includes: (1) physical cutting of cell membrane by nanosheets; (2) stimulation of oxidative stress response by silver nanoparticles, etc. The above results indicate that Ti_3C_2 -Ag is a promising antibacterial material.

【Keywords】 Ti_3C_2 -Ag complexes preparation; Antibacterial; Mechanism

1 介绍

新型 Ti_3C_2 材料及其合成方法最早由 Yury Gogotsi 教授于 2011 年提出^[1], 同一研究小组于 2016 年报道了 Ti_3C_2 的超强抗菌性能^[2], 其抗菌性能远超石墨烯。 Ti_3C_2 的抗菌性能吸引了众多微生物学家的关注, 而且由于其表面丰富基团的强修饰能力, Ti_3C_2

的表面改性成为新的科研热潮^[3]。2020 年, Kaiyuan Zheng 等人通过将超小金纳米簇 (AuNC) 结合到纳米片上, 开发出一种协同抗菌剂。Ravi P. Pandey 报道了一种银纳米粒子修饰的 Ti_3C_2 (Ag-MXene) 薄膜, 对大肠杆菌 (*E. coli*) 的微生物抑制率超过 99%^[4]。王伟等人合成了一种新型氧化铜锚定的 Ti_3C_2 纳米

*通讯作者: Yongqiang Jiang

注: 本文于 2022 年发表在 Advance in Biological Research 期刊 3 卷 1 期, 为其授权翻译版本。

片,对金黄色葡萄球菌(*S.aureus*)的抗菌能力为97.4%,对铜绿假单胞菌的抗菌能力为95.59%^[5]。

Ti_3C_2 配合物为代表的二维纳米材料正在引发全球抗菌技术的革命,并持续快速发展。本文制备了 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 配合物,并通过研究其长期抗菌速率和抗菌机理来探究其抗菌能力。

2 材料和方法

2.1 试剂

单层 Ti_3C_2 购自山东西岩新材料科技有限公司;硝酸银(AgNO_3)溶液购自国药集团化学试剂有限公司;实验水为纯水(ddH_2O)。

2.2 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 材料的制备与纯化

Ti_3C_2 稀释并搅拌 30min,配制成浓度为 1mg/mL 的 Ti_3C_2 溶液;将 AgNO_3 溶液稀释至 0.01mg/mL,超声处理 10min,根据 AgNO_3 与 Ti_3C_2 的质量比,设定银含量分别为 12.5%、25%、37.5%、50%,以 0.8mL/min 的速度将 AgNO_3 溶液滴加到 Ti_3C_2 溶液中,搅拌 30min,10000r/min 离心 5min,洗涤 3 次,分别得到 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}12.5\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}25\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}37.5\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}50\%$ 四种复合材料。

2.3 细菌信息和培养

革兰氏阴性菌:标准大肠杆菌 ATCC25922;革兰氏阳性菌:标准金黄色葡萄球菌 USA300。以上菌株均为本实验室保存。

2.4 抗菌机理研究

不同浓度 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 长效抑菌试验(大肠杆菌和金黄色葡萄球菌),取 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}12.5\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}25\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}37.5\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}50\%$ 四种材料及空白菌液对照,材料浓度分别为 100ug/mL 和 200ug/mL,与 10^6CFU/毫升 大肠杆菌或 10^6CFU/mL *S.aureus*,放置 2.5h 后稀释,将稀释液转移至恒温培养箱中 37°C 培养过夜,计算材料的抑菌率。

抑菌率计算:抑菌率(100%)=(对照组菌落数-实验组菌落数)/对照组菌落数*100%共聚焦显微镜下细菌荧光表征:将大肠杆菌在培养箱中孵育 6 小时,然后吸取 1mL,10,000r/min 离心 5 分钟。之后,吸出上清液进行蛋白渗漏实验(n=3)。将细菌重悬于离心管底部加入 0.5mLPBS,分别用 2 μL Syto-9 和 PI 染色 15 分钟,然后采用共聚焦激光扫描(LeicaTCSSP8SR,德国)摄影设备:佳能相机(EOS90D,日本)进行拍摄。

细菌蛋白漏出量测定:取 200ug/mL $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}50\%$ 材料与大肠杆菌共培养 2.5h,高速离心取上清液,提取其中的蛋白质,用荧光分光光度计(上海棱光科技有限公司, F96-pro)进行检测。

细菌活性氧(ROS)水平测定:取 200ug/mL $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}50\%$ 材料与大肠杆菌作用 2.5h,用酶标仪(美国 BIO-RAD 公司,型号: iMark)在荧光模式下(激发波长: 488nm,发射波长: 525nm)测定细菌的 ROS 水平(以探针的相对荧光强度表示细菌的 ROS 水平)。

3 结果与讨论

3.1 抑菌效果分析

结果表明:在长效抗菌试验中, $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}12.5\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}25\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}37.5\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}50\%$ 具有良好的抗菌效果,在 100ug/mL 浓度下,4 种材料对大肠杆菌的杀菌率分别为 93.56%、94.45%、95.67%、97.45%,对金黄色葡萄球菌的杀菌率分别为 94.23%、94.56%、95.45%、96.32%。在 200 ug/mL 浓度下, $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}12.5\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}25\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}37.5\%$ 、 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}50\%$ 对大肠杆菌的杀菌率分别为 97.67%、97.45%、96.45%、98.08%;对金黄色葡萄球菌的杀菌率分别为 98.32%、98.62%、98.54%、99.08%。

3.2 形貌结果表征

图 2a 扫描电镜观察可见对照组细菌(*E.coli*)形态完整,表面光滑,结构清晰; $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 组细菌被大量 MXene 片层包裹,细胞膜和细胞壁几乎破坏,形态明显皱缩,细胞失去完整性。

图 2b 透射电镜观察可见对照组细菌形态正常,细胞表面光滑,结构完整,胞质饱满,鞭毛和胞体清晰可见(*E.coli*); $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 组细菌被大量 MXene 片层包裹,表现出良好的吸附能力,部分片层插入后细胞壁遭到破坏,胞质破裂后失去完整性,明显外露。

3.3 荧光共聚焦图谱、蛋白质泄漏检测、细胞内 ROS 检测

图 3a 中的激光共聚焦测试展示了材料的整体抗菌效果。 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 配合物与细菌发生反应后,细菌的完整性被破坏,大部分细菌死亡。以上证实了 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 配合物具有较强的抗菌能力,且复合纳米材料能够破坏细胞的完整性,这与电子显微镜的结果相似。

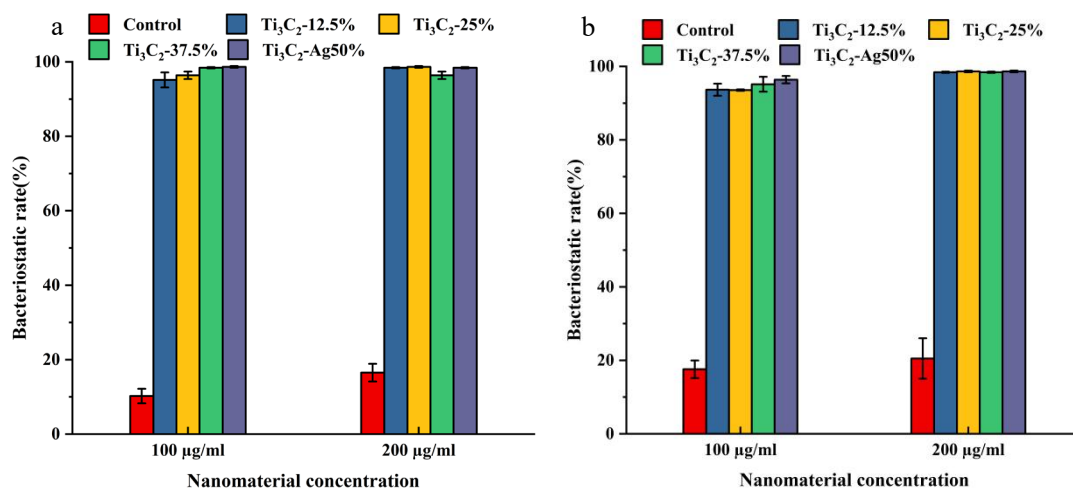


图 1 (a) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 复合物对大肠杆菌的抗菌率；(b) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 复合物对金黄色葡萄球菌的抗菌率

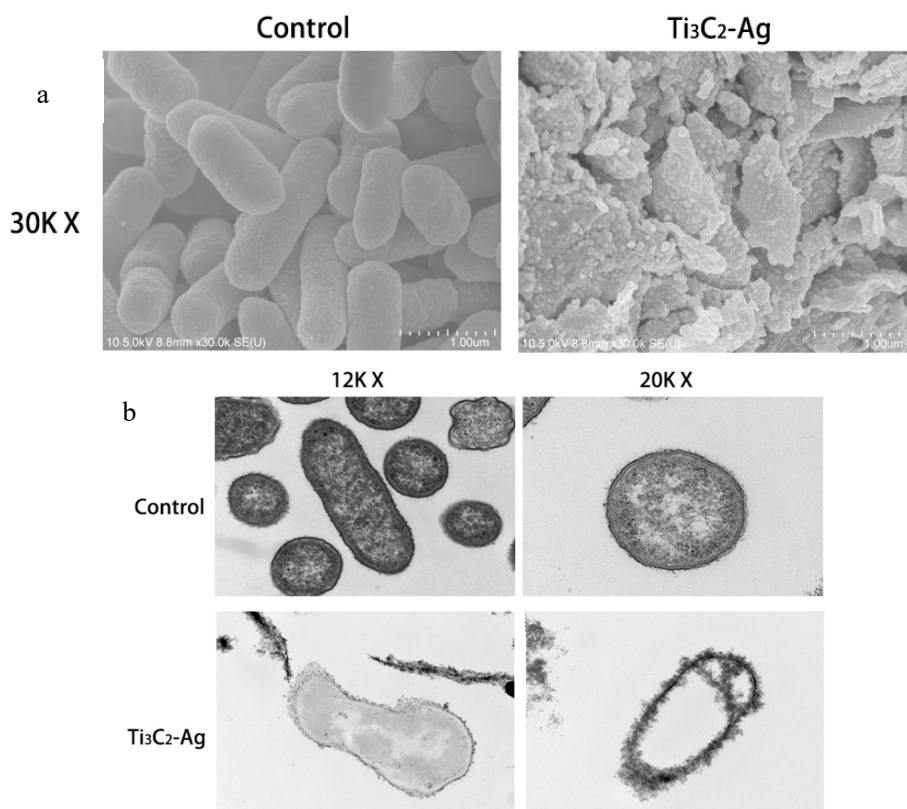


图 2 (a) 细菌与 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 复合物相互作用后的 SEM 图；(b) TEM 图

图 3b 中以蛋白质为代表指标的胞质成分渗漏试验显示, 对照组蛋白质含量仅为 0.011mg/mL , 而 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 组蛋白质含量高达 0.308mg/mL , 显著高于对照组, 接近前者的 30 倍, 说明 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 对细菌具有一定的杀伤作用, 且有助于蛋白质的溶解。

图 3c 中细菌 ROS 水平显示, $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 对细菌

结构造成严重破坏, 升高细菌 ROS 水平。细菌暴露于纳米材料 2h 后, 测试组 (用浓度为 200ug/mL 的纳米材料处理大肠杆菌) 细菌 ROS 水平较对照组升高了近 10 倍。这表明纳米材料与细菌接触后, 不仅可以通过物理作用破坏细胞膜完整性, 还能促进氧化应激的发生, 从而加速细菌死亡, 发挥抗菌功效。

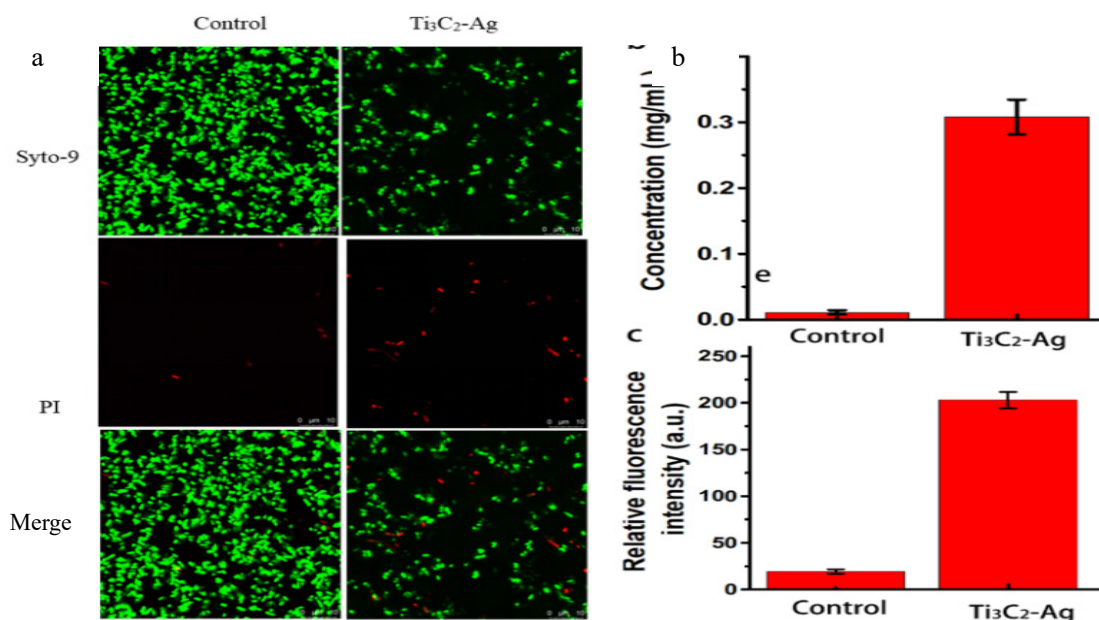


图3 (a) 荧光共聚焦图; (b) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 复合物与细菌相互作用后的蛋白质泄漏; (c) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 复合物与细菌相互作用后的细胞内 ROS 水平

4 讨论

$\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 配合物的抗菌测试, 我们得到: (1) 在 100~200 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内, 随着浓度的增加, 抗菌率逐渐增大, 但是增幅不是很大; (2) 在同一浓度的情况下, 随着 AgNPs 含量的增加, 抗菌率逐渐增大, 但是增幅不是很大; (3) $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 材料对金黄色葡萄球菌的杀菌效果强于对大肠杆菌的杀菌效果。

$\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 的抗菌机理为: (1) 复合材料 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 由于表面带负电荷, 具有较大的比表面积, 能够更快、更广泛地覆盖细菌表面; (2) 复合材料 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 作为二维纳米材料, 具有较为锋利的纳米边缘, 可以物理破坏细胞壁, 诱导细菌死亡; (3) 复合材料 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 可以包裹细菌生物膜, 增加跨膜通透性, 导致细菌内蛋白质等物质的漏出; (4) 复合材料 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 可以诱导细菌细胞产生氧化应激, 尤其是银纳米粒子可以促进细菌细胞氧化应激的加剧, 从而加速细菌死亡。

综上所述, 二维纳米复合材料 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 具有良好且较为明显的抗菌性能, 可作为一种新型抗菌材料, 在抗菌新材料、抗菌药物、抗菌布等生物学领域具有广阔的应用前景。但与此同时, 该材料仍存在许多亟待解决的问题。 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 在生物学领域的应用, 例如 $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{-Ag}$ 的生物安全性, 也是未来二

维纳米材料研究者面临的难题。

致谢

我要向博士表达最深切的谢意。陈少龙和蒋永强博士的建议、意见和建议。我也感谢朋友们提供的信息、指导、评论和建议。

参考文献

- [1] Naguib, Michael, Kurtoglu, Murat, Presser, Volker, Lu, Jun, Niu, Junjie, Heon, Min, et al. (2011). Two-dimensional nanocrystals produced by exfoliation of Ti_3AlC_2 . *Advanced materials*, 23(37), 4248-4253.
- [2] Ghidui, Michael, Lukatskaya, Maria R, Zhao, Meng-Qiang, Gogotsi, Yury, and Barsoum, Michel W. (2014). Conductive two-dimensional titanium carbide 'clay' with high volumetric capacitance. *Nature*, 516(7529), 78-81.
- [3] Zhu, Jing, Ha, Enna, Zhao, Guoliang, Zhou, Yang, Huang, Deshun, Yue, Guozong, et al. (2017). Recent advance in MXenes: a promising 2D material for catalysis, sensor and chemical adsorption. *Coordination Chemistry Reviews*, 352, 306-327.
- [4] Shahzad, Faisal, Alhabeab, Mohamed, Hatter, Christine B, Anasori, Babak, Man Hong, Soon, Koo, Chong Min, et al. (2016). Electromagnetic interference shielding with 2D

- transition metal carbides (MXenes). *Science*, 353(6304), 1137-1140.
- [5] Ding, Li, Wei, Yanying, Li, Libo, Zhang, Tao, Wang, Haihui, Xue, Jian, et al. (2018). MXene molecular sieving membranes for highly efficient gas separation. *Nature communications*, 9(1), 1-7.
- [6] Kim, Seon Joon, Koh, Hyeong-Jun, Ren, Chang E, Kwon, Ohmin, Maleski, Kathleen, Cho, Soo-Yeon, et al. (2018). Metallic $\text{Ti}_3\text{C}_2\text{T}_x$ MXene gas sensors with ultrahigh signal-to-noise ratio. *ACS nano*, 12(2), 986-993.
- 版权声明:** ©2025 作者与开放获取期刊研究中心(OAJRC)所有。本文章按照知识共享署名许可条款发表。
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

**OPEN ACCESS**