

梭形复合纳米 TiO₂ 的制备及其对植物病原菌的抗菌性能评价

马超^{1,2}, 张越锋^{1,2}, 吴瑛^{1,2*}

(1.新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护与利用重点实验室,新疆阿拉尔 843300;

2.塔里木大学生命科学学院,新疆阿拉尔 843300)

摘要:利用溶胶-凝胶法制备掺杂铜、锌和铁离子的复合纳米 TiO₂,采用冷冻干燥和高温干燥 2 种方法处理纳米溶胶获得纳米抗菌微粉。模拟自然状态下,采用菌丝抑制率法进行抑菌特性实验,统计病原菌存活数、相对抑菌率,鉴定 TiO₂ 的抗菌活性。对制备的溶胶材料进行 XRD 和 TEM 等物性表征,结果表明,材料的晶型均为锐钛型,外形如梭子般,颗粒的粒径分布范围在 20~90 nm 之间。获得的微粉由于掺入的金属离子不同而呈现不同的颜色,掺锌为乳白色,掺铜为淡蓝色,掺铁为浅绿色。抑菌能力与掺杂量有关,掺杂样品抑菌能力均高于无掺杂样品,3 种金属离子掺杂质量分数为 0.4% 时表现出较好的抑菌效果,不同植物病原菌抑菌实验表现都如此。经过冷冻干燥处理的样品的抑菌活性稍强于高温焙烧处理,对于病原菌均有抑制作用,效果差异不显著。6 种病原菌对实验的无机抗菌剂较为敏感的是黄瓜枯萎菌,抑制率达到 65% 左右,较低的是红枣链格孢菌,抑制率为 41%;制备的纳米抗菌剂具有广谱性。

关键词:复合纳米 TiO₂; 抑菌; 溶胶-凝胶法

中图分类号: TB383; S432

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2018)03-0151-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2018.03.033

Preparation of fusiform nanocomposite TiO₂ and evaluation on its antibacterial performance against plant pathogenic bacteria

MA Chao^{1,2}, ZHANG Yue-feng^{1,2}, WU Ying^{1,2*}

(1.Key Laboratory of Biological Resource Protection and Utilization of Tarim Basin, Xinjiang Production & Construction Group, Alar 843300, China; 2.College of Life Sciences, Tarim University, Alar 843300, China)

Abstract: Nanocomposite TiO₂ doped with copper, zinc and iron ions respectively is prepared by sol-gel method and is then handled by freeze drying method and high temperature drying method respectively to obtain two kinds of nanoscale antibacterial micro-powders. Under the simulated natural conditions, the inhibition rate of mycelium is used to test the antibacterial characteristics. The antibacterial activity of TiO₂ is determined by counting the survival rate of pathogenic bacteria and relative antibacterial rate. The sol material prepared are characterized via XRD and TEM, and the results exhibit that the crystalline types of materials are all anatase and of fusiform, with particle size distribution in the range of 20-90 nm. The obtained micro powder exhibit different colors according to different metal ions doped. The powder doped by zinc is milky white, that doped by copper is light blue, and that by iron is light green. The antibacterial ability has relation to the dosage amount. The doped samples have higher antibacterial ability than non-doped samples. Good antibacterial effects can be achieved when the doping amounts of 3 kinds of metal ion are 0.4% each, and the same results can be gained even if tests are performed upon different plant pathogenic bacteria. The antibacterial activity of samples that is handled by frozen drying method is slight stronger than that of the samples handled by high temperature drying method. Both kinds can inhibit the pathogenic bacteria without significant difference in effect. Among six pathogenic bacteria, the pathogenic bacterium of cucumber fusarium wilt is the most sensitive to the experimental inorganic antibacterial agent samples, with an inhibition rate of about 65%, and *Alternaria* sp. is the lowest, 41%. It is verified that the nano antibacterial agent prepared by this method has broad spectrum.

Key words: nanocomposite TiO₂; antibacterial; sol-gel method

植物病原菌对杀菌剂产生抗药性是指病原菌长期在单一药剂选择作用下,通过遗传、变异获得的适应性。特别是随着高效、内吸、选择性强的杀菌剂被开发和广泛应用,杀菌剂抗药性越来越严重和普遍^[1-4]。与有机、天然类抗菌剂相比,无机抗菌剂具有长效、不产生耐药性、缓释性、耐热性和无毒副作

用等优点,因而在各类材料中得到广泛应用^[5-6]。TiO₂ 光催化剂具有高效的抑菌活性^[7-8],可通过分解和破坏微生物细胞的结构物质,对环境中的细菌、病毒等微生物进行消灭或削弱,并将微生物及其释放的毒素分解。具有低毒、来源广泛、造价低,具有环境友好型的特点。但是 TiO₂ 主要吸收波长为

收稿日期:2017-08-10

基金项目:新疆维吾尔自治区研究生创新项目(XJGR12014138);新疆建设兵团人才培养项目(BDZ201347)

作者简介:马超(1989-),男,硕士研究生,研究方向为抗菌材料制备及其性能研究,10639059@qq.com;吴瑛(1968-),女,硕士,教授,主要从事无机材料化学研究工作,通讯联系人,wuyingjuyuan@163.com。

385 nm(紫外波长)以下的光进行降解反应,这种波长的光在太阳光中占 3%~5%。常通过金属、非金属掺杂和表面的敏化等方法引入杂质或缺陷,改善 TiO₂ 的光吸收性能,提高稳态光降解量子效率及光催化性能^[9-14]。将金属粒子掺杂纳米 TiO₂ 应用于农业生产不仅能起到抑制植物病原菌的效果,同时也能达到环保无污染、低毒绿色健康的理念。同时纳米 TiO₂ 还可以改善植物光合作用效果,达到增产的效果^[15]。李敏等^[16]用叶绿素进行敏化后作用于白菜的软腐病菌可达到 100%。陶希芹^[17]采用壳聚糖/纳米 TiO₂ 复合膜对稻瘟菌、玉米大斑、灰霉菌和小麦赤霉菌进行了实验。蒲丽^[18]用 TiO₂ 悬浮液在高压汞灯下对烟草青枯菌抑菌率达 90%以上。李玲玲等^[19]制备了陶瓷 TiO₂ 膜对黄瓜细菌性角斑病菌等抑菌率达到了 100%。

笔者以本地农作物常见的红枣链格孢、玉米弯孢、黄瓜枯萎病、辣椒疫霉病、棉花枯萎病和棉花黄萎等植物病原菌为研究对象,通过统计 6 种植物病原菌的相对抗菌率,探讨复合 TiO₂ 悬浮剂对植物病原微生物的抑制作用。

1 实验材料和方法

1.1 材料与试剂

供试菌:红枣链格孢、辣椒疫霉、棉花枯萎病、棉花黄萎病、玉米弯孢、黄瓜枯萎。

复合材料:制备好的经过冷冻干燥和高温煅烧处理的纳米 TiO₂,考虑温度、酸度等对纳米材料的制备影响。

钛酸四丁酯、三乙醇胺、无水硫酸铜、硫酸锌、三氯化铁、氢氧化钠,均为分析纯试剂,天津市致远化学试剂有限公司生产。

1.2 仪器

JEM-2010F 透射电镜,日本电子株式会社生产;D8 Advance X 射线衍射仪,德国布鲁克生产;LGJ-10C 真空冷冻干燥机,北京四环科学仪器厂有限公司生产;SXL-1008 马弗炉,上海精宏实验设备有限公司生产;Multifuge X1 高速离心,赛默飞世尔科技生产;UWP-UP-III-20 超纯水仪,成都天萃宁科技有限公司生产;岛津 2450 紫外分光光度计。

1.3 实验方法

1.3.1 复合型纳米 TiO₂ 的制备及物性表征

将钛酸四丁酯与三乙醇胺混合,在碱性条件下反应获得前驱体,搅拌并加入不同量(质量分数)的硝酸铁、硝酸锌、硝酸铜作金属离子源,于 100℃ 陈化

24 h,形成的高黏性胶体分装至聚四氟乙烯衬里的高压釜,于 140℃ 陈化 72 h。陈化后的反应液置于 11 000 r/min 离心机中,进行多次离心洗涤。真空冷冻机内进行干燥或于马弗炉中 500℃ 煅烧 2 h,得到的材料均呈淡黄色粉末,玛瑙研钵中研磨。用 JEM-2010F 透射电镜观察形貌,D8 Advance X 射线衍射仪观察晶型。

1.3.2 复合纳米 TiO₂ 抗植物病原菌性能研究

将纳米 TiO₂ 样品用无菌水配制成不同实验浓度,与冷却至 50℃ 的 PDA 培养基混匀,倒平板(直径 9.0 cm)。以加入等量无菌水的 PDA 培养基为空白对照。用打孔器打取供试菌菌落边缘的菌丝块(直径为 9 mm),菌面朝下,移至平板中央,置于生态气候箱(温度为 28℃,光照为 80%,湿度为 80%)中培养 5 d 后,用十字交叉法测量菌落直径,并计算菌丝生长抑菌率。每个处理重复 3 次。

$$\text{菌落直径(cm)} = \text{测量菌落直径平均值} - 0.90$$

$$\text{菌丝生长抑制率(\%)} =$$

$$[(\text{对照菌落直径} - \text{处理菌落直径}) / \text{对照菌落直径}] \times 100\%$$

1.3.3 复合纳米 TiO₂ 长效性和稳定性检测

将经过抑菌后的复合纳米 TiO₂ 进行水浸 24 h 烘干,高温曝晒 3 d 后再次考察其抑菌性能,考察其对光的耐受性。

2 结果与讨论

2.1 梭形复合纳米 TiO₂ 的表征

由金属离子 Fe³⁺、Zn²⁺、Cu²⁺ 负载的 TiO₂ 纳米粒子分别经过冷冻干燥和高温煅烧的样品的 XRD 和 TEM 谱图分别如图 1、图 2 所示。

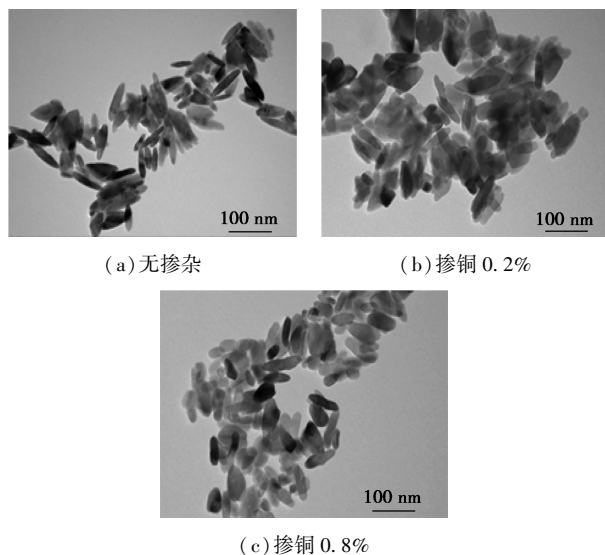
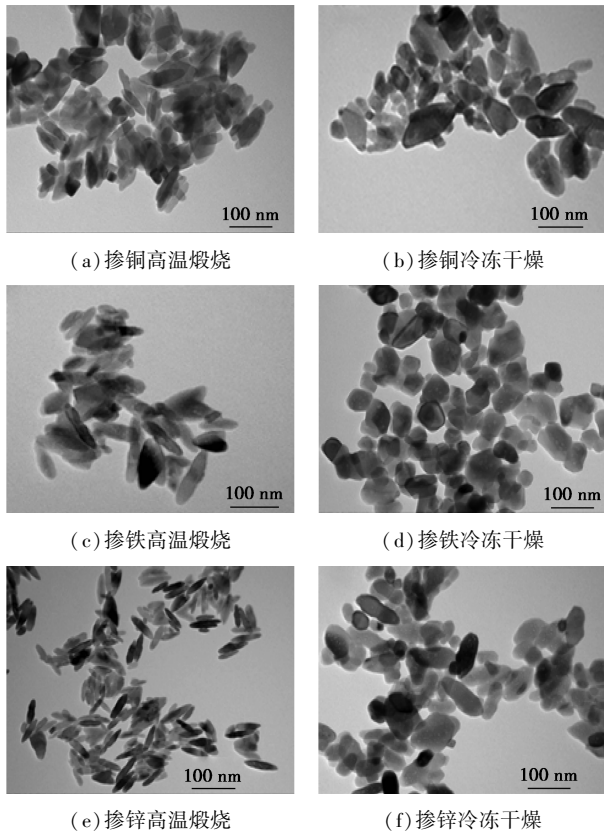


图 1 冷冻干燥纳米二氧化钛 TEM 图

图2 不同处理方法 TiO₂ 的 TEM 及 XRD

从图1、图2中可以看到,无掺杂晶体呈梭型颗粒,颗粒均匀无杂,表面很光滑。冷冻处理干燥的纳米颗粒晶型没有太大的变化,仍旧呈梭型,两头的尖角稍稍圆润,且大小均匀,表面光滑,无杂颗粒。从图1中可以看到,TiO₂晶型和表面特征与离子的掺入量没有相关性。而经过500℃高温干燥处理的掺杂纳米颗粒呈不均匀的、形状不规则的颗粒,且在其表面附着有许多小颗粒,不规则分布在晶体表面。2种不同处理方法形成不同的外貌形状,这是由于冷冻干燥过程实际上是升华干燥的过程,湿凝胶内部孔隙中的溶剂直接从固态升华到气态,从而避免液相的出现,因此可以有效阻止孔隙干燥过程产生的毛细管压力,防止孔塌陷,保持材料原有的结构形貌温度对晶型的影响,也就是说,要获得大小均匀的纳米颗粒采用冷冻干燥的方法更好,从后续的抑菌及光活性实验来看,冷冻干燥的纳米颗粒与高温处理的相比表现出较好的性能。

掺不同质量分数的 Cu²⁺ 杂改性前后复合纳米 TiO₂ 的 XRD 图如图3所示。由图3中可以看出, $2\theta = 24.26^\circ, 38.86^\circ, 46.97^\circ, 52.98^\circ, 54.06^\circ, 61.68^\circ$ 分别为锐钛矿 TiO₂ 的 (101)、(004)、(200)、(005)、(211) 和 (204) 衍射峰 (JCPDS No. 21-1272)。与未掺杂的 TiO₂ 纳米微粉进行比较, Cu²⁺ 掺杂对 TiO₂ 晶

体结构影响不大,而经过掺杂后, Cu/TiO₂ 样品中 (101)、(004)、(005) 和 (200) 衍射峰的强度没有减弱,说明掺杂铜离子对 TiO₂ 的晶型影响不大,所得到的纳米微粉为锐钛矿相,铁离子和锌离子掺杂的情况相同。

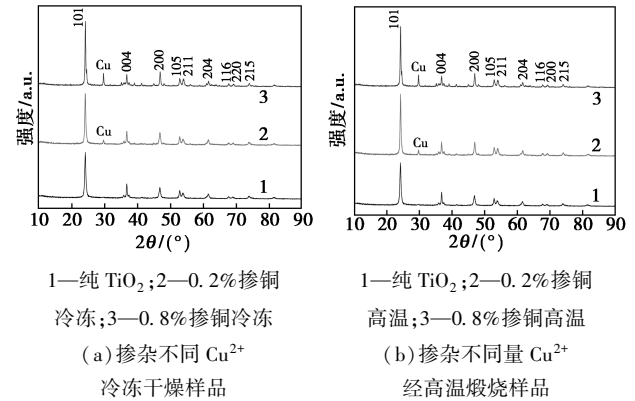
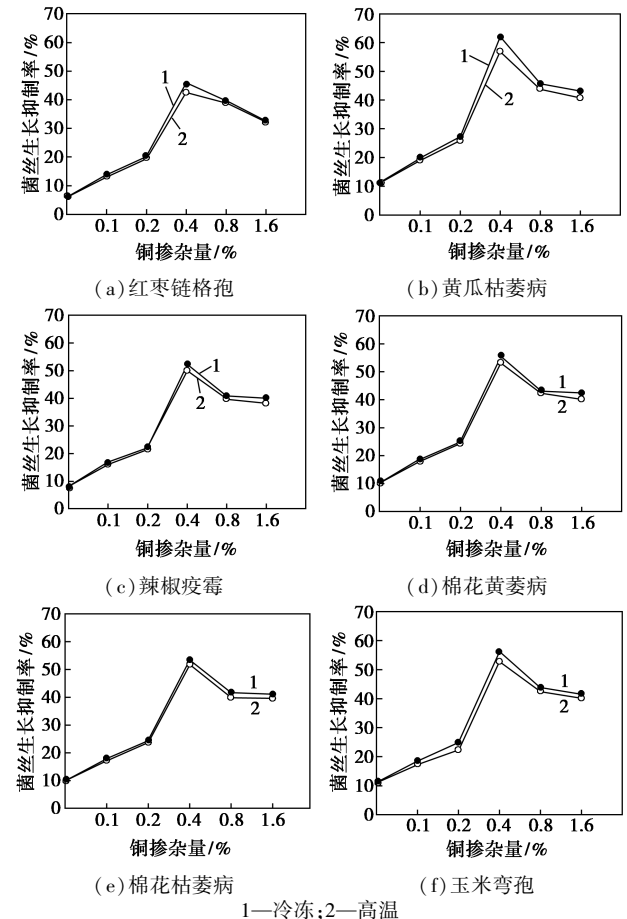


图3 纳米二氧化钛 XRD 图

2.2 复合纳米 TiO₂ 抗植物病原菌实验结果

2.2.1 不同处理方法和掺入金属离子的抑菌性能

将掺入金属离子的纳米复合 TiO₂ 经过超声配制成悬浮抗菌剂对6种植物病原菌进行抑菌实验,结果如图4~图6所示。由图4可以看出,随着 Cu²⁺

图4 掺铜纳米 TiO₂ 材料抗植物病原菌性能

掺入量的增高,抗植物病原菌的性能先增高后降低,但是均比未掺离子 TiO₂ 的抑菌性强。掺铜量为 0.4%时,复合纳米 TiO₂ 对各植物病原菌显现出最优抗菌性能,冷冻处理的略强于煅烧处理。

将 0.4%掺铜量纳米 TiO₂ 对 6 种病原菌的性能进行比较,结果可以看出,其对黄瓜枯萎病菌的菌丝生长抑制率达 61.9%。而对红枣链格孢的生长抑制率最低,为 45.3%,5 d 后高温煅烧试样,对红枣链格孢的菌丝生长抑制率仅为 42.5%。

由图 5 可以看出,掺铁复合纳米 TiO₂ 对 6 种植物病原菌的抑菌情况与 Cu²⁺ 情况类似,在掺 Fe²⁺ 量为 0.4%时,复合纳米 TiO₂ 对各植物病原菌显现出最优抗菌性能。

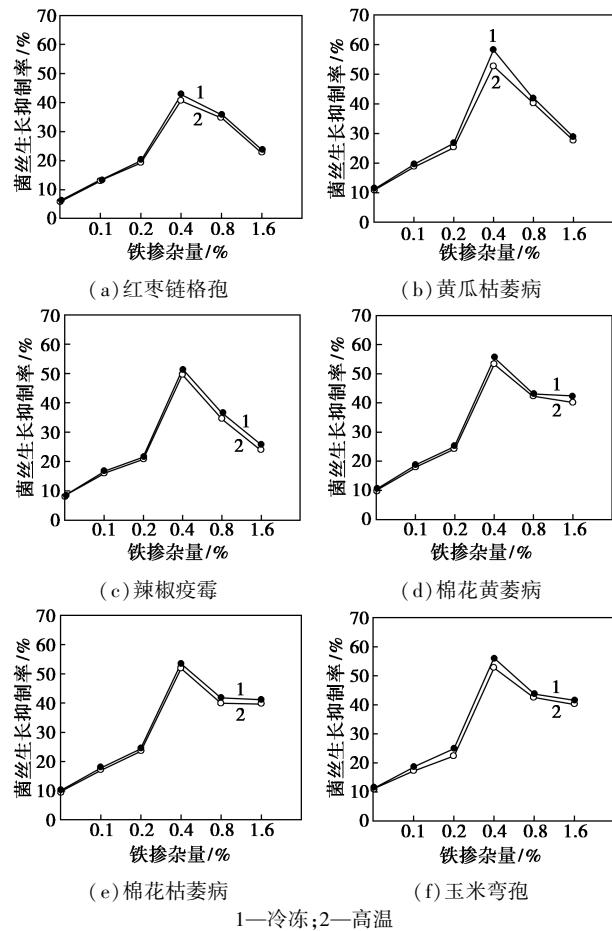


图 5 掺铁纳米 TiO₂ 抗植物病原菌性能

掺铁 0.4%纳米 TiO₂ 对植物病原菌菌丝抑制率可以看出,掺铁 0.4%纳米 TiO₂ 对黄瓜枯萎病菌的抑菌性能最好,其中冷冻干燥处理的试样对黄瓜枯萎病菌的菌丝生长抑制率可达 58.2%。而对红枣链格孢的抑菌性能最差,5 d 后高温煅烧试样,对红枣链格孢的菌丝生长抑制率仅为 40.6%。而对于不同种类的植物病原菌来说,冷冻干燥试样和高温

煅烧处理的样品也具有差异性,总体抑菌性能表现为冷冻干燥试样抑菌性能高于高温干燥试样,这与其晶体结构和晶粒尺寸相关。

掺 Zn²⁺ 纳米 TiO₂ 植物病原菌菌丝生长抑制情况如图 6 所示。由图 6 可以看出,抑制率先增大后降低,小浓度的金属离子促进光催化活性,高浓度的金属锌离子的加入,降低了电子-空穴的复合几率,导致光催化活性降低,进而使得光催化抑菌的性能减弱,但过高浓度的金属离子也同样会表现出金属离子毒性,故抑菌性能变化速率较小。

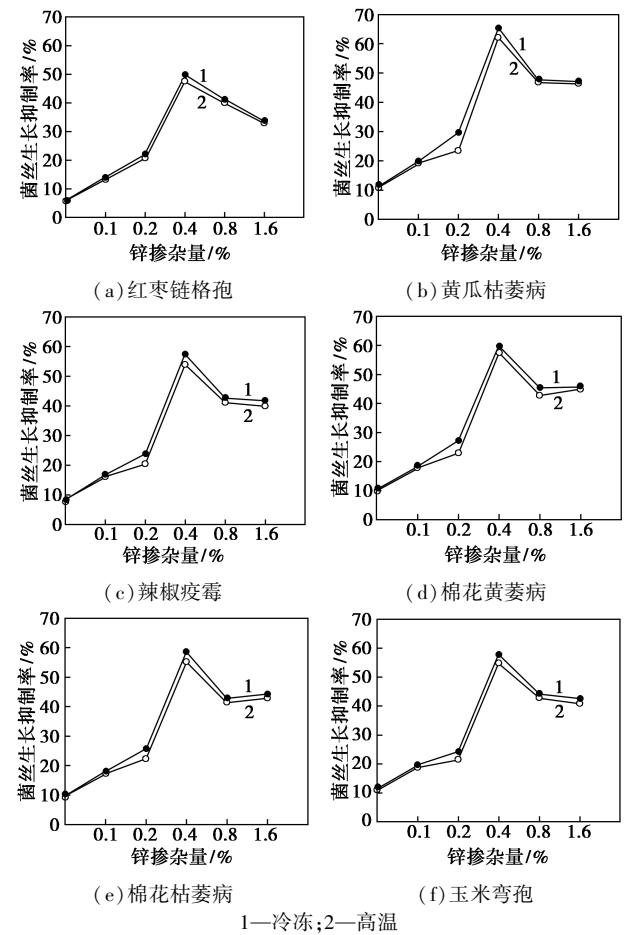


图 6 掺锌纳米 TiO₂ 抗植物病原菌性能

掺锌 0.4%纳米 TiO₂ 对植物病原菌菌丝抑制率的影响可以看出,0.4%的锌掺入抑菌效果和前 2 种离子情况大致相似,略有差异。总体对 6 种病原菌的抑制能力强些。冷冻干燥处理样品对黄瓜枯萎菌的菌丝生长抑制效果最好,抑制率达 65.3%。对链格孢菌丝生长抑制率效果较弱些。

2.2.2 复合纳米 TiO₂ 长效性和稳定性检测

根据 2.2.1 复合纳米 TiO₂ 抑制植物病原菌的试验结果,选取了掺铜、掺锌、掺铁 0.4%的 TiO₂ 纳米复合材料试样进行长效性和稳定性实验,结果如

表 1 所示。

表 1 长效性检验结果

供试菌	菌丝生长抑制率/%								
	Cu/TiO ₂			Fe/TiO ₂			Zn/TiO ₂		
	原样	水浸	曝晒	原样	水浸	曝晒	原样	水浸	曝晒
红枣链格孢	45.9	44.6	45.2	42.8	41.1	42.0	49.8	48.3	49.3
黄瓜枯萎	61.9	60.5	61.4	58.2	56.8	57.5	65.3	63.8	64.4
辣椒疫霉	52.3	51.2	51.9	51.5	50.2	51.6	57.4	55.9	55.2
棉花黄萎	55.6	54.4	55.1	53.7	51.9	52.7	59.8	58.2	59.1
棉花枯萎	53.4	51.9	52.7	52.8	51.4	52.1	58.7	57.0	58.0
玉米弯孢	56.1	55.0	55.6	55.2	53.8	54.8	57.9	56.1	56.9

从表 1 中可以看出,复合纳米 TiO₂ 经过长时间水浸和曝晒后,对 6 种植物病原菌菌丝生长抑制率仍然具有抑制作用,虽然抑制率均有所下降,说明了制备的纳米抗菌微粉具有一定的长效性和稳定性。从数据来看,水浸后试样抑菌率活性相比于暴晒下降的稍多些。因此,在保存此抑菌材料时注意要干燥、避光放置,有利于保持材料的抑菌活性。

3 结论

(1) 冷冻干燥处理和高温干燥处理并未完全改变纳米 TiO₂ 的晶体结构。金属掺杂纳米 TiO₂ 微粉为锐钛矿型,金属离子多附着在 TiO₂ 颗粒表面。而对于不同种类的植物病原菌来说,冷冻干燥试样和高温煅烧处理的样品也具有差异性,总体抑菌性能表现为,冷冻干燥试样抑菌性能高于高温干燥试样,这与其晶体结构和晶粒尺寸相关。

(2) 金属离子掺杂纳米 TiO₂ 整体表现:掺杂量为 0.4% 时,抑菌活性最好,抑菌活性大小为:Zn/TiO₂>Cu/TiO₂>Fe/TiO₂。

(3) 水浸湿和暴晒对抗菌剂的影响不大,具有较好的稳定性。

参考文献

[1] 王明爽,孙颖,陈国庆,等.赣南脐橙绿霉病菌对常用杀菌剂抗性监测[J].植物病理学报,2013,43(5):532-540.
[2] 高启迅.小麦赤霉病菌对常用杀菌剂的抗性研究[D].杭州:浙江大学,2016.

[3] 成禄艳.芒果炭疽病菌对几种杀菌剂的抗药性研究[D].广州:华南农业大学,2016.
[4] Andrew Mills, Stephen L H. An overview of semiconductor photocatalysis[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 1997, 108(1): 1-35.
[5] 廖莉玲,刘吉平.新型无机抗菌剂[J].现代化工,2001,21(7):62-64.
[6] 李君建,李巧玲.载银 TiO₂/碳纳米管复合材料的制备及其催化杀菌性能[J].化工进展,2015,34(7):1887-1892.
[7] 石振武,郭少波,薛群虎.纳米复合材料 Ag@TiO₂@SiO₂ 的制备、光催化及其抑菌性能[J].无机材料学报,2016,31(5):466-472.
[8] Luo Yan, Huang J G. Hierarchical-structured anatase-titania/cellulose composite sheet with high photocatalytic performance and antibacterial activity[J]. Chemistry (A European Journal), 2015, 21:2568-2575.
[9] 夏启斌,李忠,奚红霞,等.Fe³⁺和Ce³⁺掺杂对TiO₂光催化性能的影响[J].化工学报,2005,56(9):1666-1672.
[10] 孙红旗,程友萍,金万勤,等.镧、碳共掺杂TiO₂的制备及其可见光催化性能[J].化工学报,2006,57(7):1570-1752.
[11] Yu Huang, Zheng Xuxu, Yin Zhongyi, et al. Preparation of nitrogen-doped TiO₂ nanoparticle catalyst and its catalytic activity under visible light[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2007, 15(6):802-807.
[12] Gaixue Song, Zhenyu Chu, Wanqin Jin, et al. Enhanced performance of g-C₃N₄/TiO₂ photocatalysts for degradation of organic pollutants under visible light[J]. Chinese Journal of Chemical Engineering, 2015, 23(8):1326-1334.
[13] 张兰河,刘丽丹,陈子成,等.N,S共掺杂改性TiO₂的制备及其光催化活性[J].化工进展,2008,27(10):1610-1663.
[14] 刘文芳,周汝利,王燕子.光催化剂TiO₂改性的研究进展[J].2016,35(8):2446-2454.
[15] 张萍,崔海信,李玲玲.纳米TiO₂半导体溶胶的光生物学效应[J].无机材料学报,2008,23(1):55-60.
[16] 李敏,王振岭,石恒真,等.敏化的TiO₂纳米晶表面形貌、晶相、光谱及光催化灭菌研究[J].无机材料学报,2003,18(6):1261-1266.
[17] 陶希芹,王明力,谯顺彬.壳聚糖/纳米TiO₂复合膜的抗菌性能研究[J].广州化工,2015,43(13):85-87.
[18] 蒲丽,蒋家珍,李效禹.纳米TiO₂悬浮液对烟草青枯菌杀菌活性的研究[J].农药学报,2005,7(4):339-342.
[19] 李玲玲,崔海信,张萍.纳米TiO₂光半导体溶胶对植物病原微生物抗菌性能[J].农业工程学报,2008,24(8):223-226. ■