

• 论 著 •

载纳米银凹凸棒细胞毒性研究*

王临艳¹, 王建荣^{2△}, 刘 斌³

(甘肃省妇幼保健院: 1. 检验科; 2. 口腔科, 兰州 730050; 3. 兰州大学口腔医学院修复科 730000)

摘要:目的 研究载纳米银凹凸棒的细胞毒性。方法 采用原位还原的方法制备了载纳米银凹凸棒。利用 X 射线衍射仪(XRD)、X 射线光电能谱(XPS)和透射电子显微镜(TEM)分析了载纳米银凹凸棒晶体结构及性能。结果 XRD 发现载纳米银凹凸棒中, 凹凸棒晶面间距没有变化, 同时有银的衍射峰出现; XPS 显示, 银以单质和离子两种形式存在; TEM 对样品形貌的观察表明, 粒径为 8~11 nm 纳米银颗粒较为均匀地负载到凹凸棒表面。细胞毒性实验表明, 载纳米银凹凸棒具有较低的细胞毒性。结论 载纳米银凹凸棒细胞毒性低, 细胞相容性较高。

关键词:凹凸棒; 银; 细胞毒性, 免疫

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.11.015

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)11-1179-02

Investigation of the cytotoxicity of nanopalygorskite carrying argmentum

Wang Linyan¹, Wang Jianrong^{2△}, Liu Bin³

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. The Department of Stomatology, Gansu Provincial Maternity and Child-care Hospital, Lanzhou 730050, China; 3. The College of Stomatology, Lanzhou University 730000, China)

Abstract: **Objective** To investigate cytotoxicity of nanopalygorskite carrying argmentum. **Methods** Nanopalygorskite carrying argmentum was prepared by in situ reducing and the structure and performance of it were analyzed by X-ray diffractometer(XRD), X-ray photoelectron spectroscopy(XPS) and transmission electron microscope(TEM). **Results** No change of interplanar spacing, but the diffraction peak of argmentum of nanopalygorskite carrying argmentum was observed by XRD. The existence of elementary substance and ion type of argmentums was confirmed by XPS. The argmentum particles, with diameters about 8—11 nm, were equally loaded to the surface of nanopalygorskite carrying argmentums, indicated by TEM. The cytotoxicity of nanopalygorskite carrying argmentums was weak, confirmed by cytotoxicity assay. **Conclusion** Nanopalygorskite carrying argmentum can have low cytotoxicity and high compatibility with cells.

Key words: attapulgite; silver; cytotoxicity, immunologic

本文利用凹凸棒良好的吸附性, 采用原位还原的方法制备了载纳米银凹凸棒。透射电镜(TEM)分析显示, 纳米银颗粒均匀地分布在凹凸棒上, 采用 X 射线衍射仪(XRD)、X 射线光电能谱(XPS)分析和元素分析等方法研究, 纳米银颗粒在凹凸棒表面负载的特征, 并通过细胞毒性实验法(MTT)表明, 载纳米银凹凸棒具有较低的细胞毒性和较高的细胞相容性。

1 材料与方法

1.1 载纳米银凹凸棒制备 将 5 g 凹凸棒分散在 50 mL 水中, 加入 5 mL 巯基乙醇, 常温下搅拌, 超声分散 24 h 后离心, 分别用水和乙醇洗涤, 在 40 °C 真空干燥 24 h。取 0.2 g 上述凹凸棒于 50 g 乙二醇中, 后加入 2 g PVP, 再次功率超声分散 24 h, 随后将 0.5 g AgNO₃ 缓慢加入, 同时搅拌 30 min, 然后常温搅拌 12 h, 离心分离后用水洗涤, 干燥后即可得到载纳米银凹凸棒^[1-4]。

1.2 X 射线衍射分析 日本理学 D/maxa-rB 型 X 射线衍射仪, CuKα 靶, 狭缝 D_s=S_s=1°, R_s=0.3 mm, 管电压 40 kV, 管电流 80 mA, 步长 0.02°, 扫描范围 10~100°。

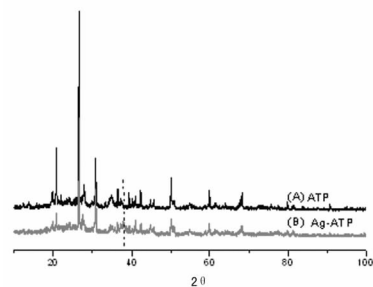
1.3 原子吸收分析 银含量原子吸收光谱仪为日本日立公司 Z-5000 型, 取 0.1 g Ag-ATP, 用浓硝酸在加热下溶解 Ag, 后过滤溶液并洗涤, 标定为 100 mL 溶液, 用原子吸收光谱仪测定^[5]。

1.4 XPS XSAM 800 多功能 X 射线光电子能谱仪。

1.5 透射电镜(TEM)分析 日立 H-800 透射电子显微镜, 试样于无水乙醇中经超声处理, 铜网滴膜。

2 结 果

2.1 XRD 分析 见图 1。图 1 中 A、B 分别是凹凸棒和载纳米银凹凸棒的 XRD 图谱, 从 A、B 的比较可以看出, 载纳米银凹凸棒的衍射峰与凹凸棒一致, 证明这个方法制备的载纳米银凹凸棒并没有改变凹凸棒的原有结构。而 2θ=38.06°的衍射峰(图 1 虚线所示)的出现说明银成功负载到凹凸棒表面(标准图谱 4-783)^[6-7]。



(A): 纯凹凸棒; (B): 载纳米银后的凹凸棒。

图 1 凹凸棒及载纳米银凹凸棒 X 射线衍射分析

2.2 XPS 分析 载纳米银凹凸棒 XPS 能谱。图 2 样品全谱显示, Si2p(103.1 eV)、O1s(531.8 eV)、C1s(285 eV) 和 S2p

(162.7 eV)特征峰。图 3 可以看出,在 368.1 和 374.1 eV 出现 Ag3d5/2 和 Ag3d3/2 的峰,说明银以银单质和银离子两种形式存在,见图 2、3。

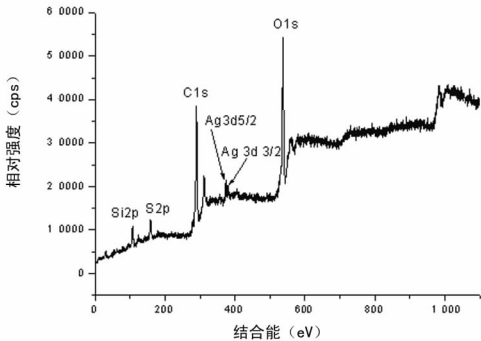


图 2 载纳米银凹凸棒 XPS 全谱

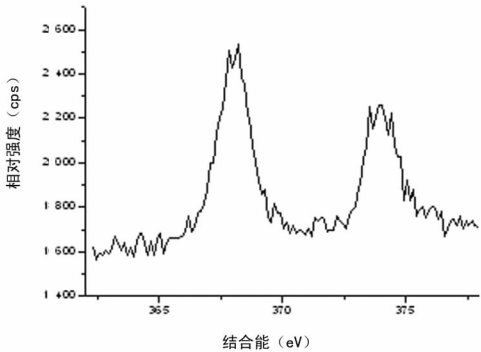


图 3 载纳米银凹凸棒 Ag3d XPS 谱

2.3 原子吸收分析 载纳米银凹凸棒含银量为 9.13%, SiO₂ 为 79.28%。

2.4 TEM 分析 凹凸棒呈纤维状,表面有大量的纳米银颗粒均匀附着,粒径大约为 8~11 nm。

2.5 细胞毒性实验 培养 MC-3T3 成骨细胞系,常规细胞复苏、培养、传代。在 HG-DMEM 培养基中恒温(37℃)2 h,加入 20 μL 不同浓度经高压灭菌样品的 PBS 溶液,继续培养 24 h 后。每孔加入 MTT 溶液(5 mg/mL 的 PBS 溶液)20 μL,37℃ 继续孵育 4 h,终止培养,小心吸取孔内培养上清液,每孔加入

150 μL 二甲基亚砷(DMSO),轻轻震荡 20 min,酶标仪(Bio-Rad, Model 550)测定各孔在波长 570 nm 处的光吸收值(DMSO 为空白),以该吸收值与未加样品的条件下进行的细胞培养(TCPS)所测定吸收值的百分比表示细胞活性。整个实验过程中,每个培养孔有 1 mL 培养基(约 5×10⁴ 个/平方厘米)^[8-9]: 0.059+0.067+0.058)/0.223 1×100%=82.47%, (0.265+0.259+0.298)/0.561×100%=146%。加入不同浓度样品的 PBS 溶液继续孵育 24 h 后的细胞活性显示,在细胞培养基中依次加入不同浓度样品的 PBS 溶液继续孵育 24 h 后,细胞均有良好的活性。

3 讨论

以 PVP 为稳定剂,乙二醇为还原剂,通过原位还原的方法成功将粒径为 8~11 nm 纳米的银颗粒均匀负载到经硫醇处理的凹凸棒表面,元素分析表明其含银量为 9.13%。对样品的 XRD 证明,载银前、后凹凸棒的结构并没有发生变化,且具有较好的细胞相容性。该方法最大的特点是操作简单、载银量容易控制,且在凹凸棒表面不存在其他杂质离子,具有良好的应用前景。

参考文献

[1] 郑自立. 中国坡缕石[M]. 北京:地质出版社,1997:47.
[2] 王丽华,段丽斌,盛京. 聚丙烯凹凸棒土纳米复合材料结晶形态和形貌研究[J]. 高分子学报,2004(3):424-428.
[3] 朱海青,周杰. 凹凸棒土载铜(银)抗菌剂的研制及性能研究[D]. 合肥:合肥工业大学,2005.
[4] 王临艳,宫雪,王建荣. 载纳米银凹凸棒的制备和表征及其抗菌性能[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(4):10-11.
[5] 胡发社,程海丽,杨飞华,等. 坡缕石型载银抗菌剂的研制[J]. 现代化工,2001,21(6):35-37.
[6] 陈天虎,李宏伟,汪家权,等. 凹凸棒土银纳米复合抗菌材料制备方法和表征[J]. 硅酸盐通报,2005,24(2):123-126.
[7] 宋功保,刘福生. 坡缕石的红外光谱研究[J]. 岩石学报,1999,15(3):470-474.
[8] 徐芝华,吴培福,曾兴梅,等. 成骨细胞与破骨细胞的体外培养[J]. 中国兽医杂志,2008,44(12):30-31.
[9] 马威,时惠英,刘宝林,等. 成骨细胞在微弧氧化处理后纯钛表面的附着、增殖及 ALP 活性[J]. 实用口腔医学杂志,2005,21(1):106-110.

(收稿日期:2010-12-10)

(上接第 1178 页)

不适用脲酶法测尿素,也不适合一些酶测定。同时,草酸钾使细胞水分外渗,不适合离子的检测。中国三甲医院的临床生化实验室已基本上实现了标本检测的自动化和生化全套检测使用一管血的可能,而使用血浆葡萄糖水平无疑给临床检验人员和医师增加麻烦。虽然血浆葡萄糖和血清葡萄糖测定结果间存在差异($P<0.01$),但 2 组结果相关性良好, $Y=0.926\ 2X-0.434\ 4$; $r^2=0.973\ 1$ 。是否可以通用血清葡萄糖的结果乘以校正系数来得到血浆葡萄糖的结果,血浆葡萄糖测定结果是否优于血清葡萄糖结果还有待进一步研究和探讨。

参考文献

[1] Report of a WHO consultation. Definition, diagnosis and classification of Diabetes Mellitus and its complications [R]. WHO/NCD/NCS, Geneva: WHO, 1991:1.

[2] D'Orazio P, Burnett RW, Fogh-Andersen N, et al. Approved IFCC recommendation on reporting results for blood glucose (abbreviated) [J]. Clin Chem, 2005, 51(9):1573-1576.
[3] 叶应妩,王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 2 版. 南京:东南大学出版社,1997:1.
[4] World Health Organization. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations [R]. Geneva: WHO, 2002:1.
[5] 张镜如. 生理学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2000:55.
[6] 王抒,李健斋,李义龙,等. 北京市职业人群血糖水平及高血糖检出率的变化[J]. 中华检验医学杂志,2004;27(6):365-367.

(收稿日期:2011-01-12)