

CTAB 包被的不同形态纳米金的制备及其抗菌性能研究

马亚云 刘梅 李娇 李宣仪 杨宗琪

(陕西师范大学 食品工程与营养科学学院,陕西 西安 710119)

摘要 本文以 CTAB 为包被试剂合成了球形、棒状和三角形三种不同形态的纳米金颗粒,研究了它们对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*) 和大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*) 杀菌性能的差异. 通过平板计数法和浊度法,确定了它们对两种菌的最小杀菌浓度(minimum bactericidal concentrations, MBC) 和最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentrations, MIC). 棒状纳米金、三角形纳米金、球形纳米金对大肠杆菌的 MIC 分别为 0.65 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、3.71 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、21.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MBC 分别为 1.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、11.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、21.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 对金黄色葡萄球菌的 MIC 分别为 0.26 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.65 $\mu\text{g}/\text{mL}$, MBC 分别为 0.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2.65 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 结果表明无论是对大肠杆菌还是金黄色葡萄球菌,棒状纳米金的杀菌效果均高于其它两种形态,并且三种不同形态的纳米金对金黄色葡萄球菌的杀菌效果均优于大肠杆菌.

关键词 纳米金; 不同形态; 金黄色葡萄球菌; 大肠杆菌; 抗菌性能

中图分类号 TS207.3

文献标识码 A

0 引言

食品安全问题已成为当今世界极为关注的公共卫生热点问题,而食源性致病菌是引起食源性疾病的主要原因之一,抗生素的出现在控制这类疾病上发挥了很大作用. 然而抗生素的滥用,使得细菌逐渐对传统抗生素产生了耐药性,抗生素耐药性病原体的出现严重危及了人类健康. 因此,研究新型、安全、高效的抗菌材料迫在眉睫^[1].

近年来随着纳米技术的发展,纳米材料的抗菌性研究成为当前研究的一大热点. 已报道过的抗菌纳米材料^[2] 包括纳米化的传统抗菌材料(如纳米化抗生素、纳米化抗菌肽等)、无机金属和金属氧化物纳米颗粒(如金、银、铜、氧化锌等) 以及新型表面改性的纳米颗粒. 纳米颗粒作为一种新型抗菌药物,被认为具有不同于常规药物的作用机理,与传统抗生素相比,很难诱导细菌产生耐药性,因此成为新型药物研究方向之一,引起了研究人员极大的兴趣^[3,4].

作为纳米颗粒中极具代表性的金纳米粒子(gold nanoparticles, AuNPs) 其应用极其广泛. 纳米金以其良好的稳定性、尺寸效应、表面效应、光学效应以及独特的生物亲和性,在催化^[5]、生物医学^[6] 等领域具有广泛的应用. 在生物医学领域,“AuNPs” 已经成为了一种备受青睐的纳米材料,例如将其广泛应用于生物传感方向^[7-9], 药物输送载体^[10,11], 不同抗菌药物对纳米金表面进行修饰还可以将其作为一种新型的抗菌药物^[3]. 但是,与得到广泛关注的银纳米粒子的抗菌性能研究相比,对纳米金自身抗菌性能的研究相对较少.

2015年 Z. Vivian Feng 课题组^[12] 通过在纳米金表面包被不同试剂以获得带不同电荷的纳米金,从而进行抗菌效果的比较,发现负电荷的纳米金基本不具备杀菌效果,而正电荷的纳米金具备杀菌效果,且随着电荷密度的增加,杀菌效果不断增强. 2017年, Jelle Penders 课题组^[13] 分别研究了带负电的金纳米微球,金纳米花,金纳米星对金黄色葡萄球菌生长的滞后时间和指数增长率的影响,观察到一种明显的浓度和形状依赖效应. 由于形状的变化引起了抗菌效果的显著差异,推测这是由于表面面积较高,表面突起较多,这可能会使金纳米花更容易附着在细菌上,然后使膜破裂,从而导致细胞死亡.

收稿日期: 2018-04-07

基金项目: 中央高校基本科研业务费资助项目(GK201802012); 陕西省科技计划项目(2017NY-121) 资助

通讯作者: 刘梅,女,汉族,博士,副教授,研究方向: 食品安全检测与质量安全控制. E-mail: liumei@snnu.edu.cn.

十六烷基三甲基溴化铵(Hexadecyl trimethyl ammonium Bromide,CTAB)是合成表面带正电荷的纳米金最为常用的一种包被试剂,同时基于CTAB包被的方法已经被发现可以合成诸如棒、三角形、球形、立方体等众多形状的纳米金^[14],其中棒状、球形、三角形纳米金是稳定性较好、合成方法简单、并且应用较为广泛的典型三种形态的纳米金.基于此我们选择以CTAB为包被剂,表面带正电荷的球形、棒状和三角形三种不同形貌的金纳米颗粒的抗菌活性作为研究对象.

本文以CTAB为包被试剂合成了球形、棒状和三角形三种不同形貌的表面带正电荷的纳米金颗粒,并以革兰氏阳性菌中的金黄色葡萄球菌及革兰氏阴性菌中的大肠杆菌为测试菌株,通过平板计数法和浊度法,确定纳米金颗粒对两种菌的最小杀菌浓度和最小抑菌浓度,研究了三种不同形态的正电荷纳米金对测试菌株的抗菌效果,并对其抗菌作用机理进行了探讨.

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

氯金酸(HAuCl_4)、十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)、硝酸银(AgNO_3)、硼氢化钠(NaBH_4)、抗坏血酸(AA)、柠檬酸三钠($\text{C}_6\text{H}_9\text{Na}_3\text{O}_9$)、异丙醇($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$)、无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)、氯化钠(NaCl)、碘化钾(KI)、磷酸盐缓冲溶液(PBS)、琼脂粉、脑心浸液培养基(BHI)、肉汤培养基(LB)以上试剂均为市售分析纯,实验用水为超纯水.供试菌株金黄色葡萄球菌(CICC 10384)、大肠杆菌(K12)均购于中国工业微生物菌种保藏管理中心.

LDZX-30 KBS 立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;YT-CJ-2 D型超净工作台,北京亚泰科隆仪器技术有限公司;DH 4000 II 电热恒温培养箱,天津市泰勒斯仪器有限公司;PB-10 Satorius Basic pH Meter,北京赛多利斯科学仪器有限公司;ZD-85 A 双功能恒温气浴摇床,江苏省金坛市友联仪器研究所;HC-3018 R 高速冷冻离心机,科大创新股份有限公司中海分公司;DF-101 S 集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市予华仪器有限责任公司;UV-1800 型紫外-可见光谱仪,日本日立公司;JEM-2100 型透射电子显微镜,日本 Jeol 公司;Canon 500 D 数码相机,佳能有限责任公司.

1.2 纳米金的制备

1.2.1 球形纳米金的制备.根据文献^[15],在 20 mL HAuCl_4 (2.5×10^{-4} M) 溶液中加入 0.0015 g 柠檬酸三钠搅拌使柠檬酸三钠浓度为 2.5×10^{-4} M,再加入 0.6 mL 冰水配置的 NaBH_4 溶液(0.1 M),溶液立刻变为粉色,再继续搅拌 2-5 h,作为种子液.在 200 mL HAuCl_4 (2.5×10^{-4} M) 溶液中加入 6 g CTAB 使 CTAB 浓度为 0.08 M,在 45 °C 条件下加热直至溶液变为橘色,冷却至室温,作为生长液待用(注意:若形成结晶则慢慢地用温和的温度溶解).在 9 mL 生长液中加入 0.05 mL 现配的 Vc(0.1 M),在剧烈搅拌下加入 1 mL 种子液,继续搅拌 10 min,使其变为深红色,然后在 9 mL 生长液中加入 0.05 mL Vc(0.1 M),在剧烈搅拌下加入 1 mL 深红色溶液,继续搅拌 10 min,使其变为棕红色,即可得到粒径为 17 ± 2.5 nm 的球形纳米金.

后处理:在 10000 r/min,30 °C 条件下离心 15 min,除去上清液,补水至 10 mL,重复上述离心过程 2 次,最后将所得的沉积物用水稀释至原体积的一半,并在 4 °C 条件下避光保存.

1.2.2 棒状纳米金的制备.根据文献方法^[16],在 5 mL CTAB(0.2 M) 溶液中,加入 5 mL HAuCl_4 (5.0 mM) 溶液,搅拌,溶液由亮黄色变为橙色,继续搅拌并加入 0.6 mL NaBH_4 (0.01 M) 溶液(现用现配),搅拌 2 min,溶液变为黄棕色,最后将金纳米粒子溶液在 30 °C 水浴锅中恒温加热 2 h,作为种子液待用.在 5 mL CTAB(0.2 M) 溶液中,在搅拌的过程中加入 0.1 mL AgNO_3 (0.004 M) 溶液,再加入 5 mL HAuCl_4 (1 mM) 溶液,继续加入 70 mL AA(0.0788 M) 溶液.待溶液变为无色后,加入 12 μL 晶种.继续搅拌 15 min,溶液变为紫色.最后将金纳米粒子溶液在 30 °C 水浴锅中恒温加热 2 h,溶液变为深蓝色,即可得到棒状纳米金.后处理过程同球形纳米金一样.

1.2.3 三角形纳米金的制备.根据文献^[17],在 37.6 mL 水中加入 0.4 mL HAuCl_4 (2.5×10^{-4} M) 和 1 mL 柠檬酸钠(10 mM),再加入 1 mL 冰水配置的 NaBH_4 溶液(0.1 M),大力搅拌 2 min 溶液变为橙红色,再放置 2 h,确保未反应的 NaBH_4 完全水解,制成种子液.100 mL 的生长液中包含 2.5×10^{-4} M HAuCl_4 溶液和 0.05 M CTAB,再往溶液里加入 55 μL KI(0.1 M)、0.55 mL Vc(0.1 M)、0.55 mL NaOH(0.1 M) 轻轻地搅拌直至溶液变为橘色,冷却至室温,作为生长液待用.在生长液中加入 0.1 mL 种子液,添加后,生长溶液的颜色由透明变为淡红色,然后在 30 min 内转为深红色(反应溶液保持在 30 °C),即得到三角形纳米金.后处理过程同球形纳米金一样.

1.3 样品的表征

用 UV-1800 紫外-可见光谱仪(UV-Vis, 日本公司, 日本)记录样品的紫外光谱, 迅速区分球形纳米金、棒状纳米金与三角形纳米金. 用 JEM-2100 型透射电子显微镜(TEM, 日本 Jeol 公司, 日本)观测三种不同形态纳米金的形态和粒径.

1.4 抗菌性能的测试

以 *E. coli* 和 *S. aureus* 为测试菌种, 采用平板计数法及 96 孔板法来检测纳米金对测试菌种的最小杀菌浓度(MBC)和最小抑菌浓度(MIC).

1.4.1 培养基的制备. 称取 37 g 脑心浸出液培养基于 1 L 蒸馏水中, 煮沸使其充分溶解后, 调节 pH 至 7.2-7.3, 加入 15 g 琼脂粉(若配制液体培养基则不需要加入琼脂粉), 煮沸溶解后, 于 121 °C 高压灭菌 20 min. 灭菌后, 于无菌操作台上倾注平板备用.

用同样制备方法制备肉汤培养基.

1.4.2 菌悬液的制备. 从 80 °C 冰箱中取出菌冻存管, 待菌液溶解后, 采用二倍稀释法^[18,19]将菌液分别稀释至 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-6} 倍, 各取 100 μ L 涂于平板上, 在 37 °C 下培养 18 h. 在超净台中, 取出 20 mL 灭菌后的液体培养基转移到 100 mL 锥形瓶中, 用 10 μ L 移液枪吸取一个完整的菌落, 将枪头打入锥形瓶中, 放入摇床(37 °C, 260 r/min) 孵育 14 h, 之后取 5 mL 细菌悬浮液于 10 mL 离心管中, 离心(6000 r/min, 2 min), 除去上清液后, 加入 5 mL 生理盐水, 混匀后离心(6000 r/min, 2 min), 重复两次, 再将洗去培养基的菌体中加入 5 mL 生理盐水, 混合均匀后待用.

1.4.3 最小杀菌浓度. 将稀释到不同浓度的纳米金加到 PBS 缓冲溶液中, 再加入 100 μ L 稀释倍数为 2×10^4 的菌液混匀, 使反应体系为 1000 μ L. 放入摇床孵育 4 h 后, 取出 100 μ L 涂于培养平板上, 于 37 °C 下倒置培养 18 h, 观察菌落生长情况. 以只有 PBS 缓冲溶液和菌液的混合液作为实验空白对照. 平行实验 3 次. 观察菌落生长情况, 以观察到少于 5 个菌落的样品对应的浓度作为最低杀菌浓度 MBC 值.

1.4.4 最小抑菌浓度. 将稀释到不同浓度的纳米金加到液体培养基中, 再加入 100 μ L 稀释倍数为 2×10^4 的菌液混匀, 使反应体系为 1000 μ L. 取 200 μ L 加入到 96 孔板对应区域作为实验组; 把实验组的纳米金溶液换成等量的生理盐水, 然后取 200 μ L 加入到 96 孔板对应区域作为阳性对照; 把实验组的菌液和液体培养基换成等量的生理盐水, 然后取 200 μ L 加入到 96 孔板对应区域作为阴性对照. 将 96 孔板放入恒温培养箱中, 在 37 °C 条件下培养 24 h, 能阻止样品形成明显浊度的纳米金浓度即为最小抑菌浓度 MIC.

2 结果与讨论

2.1 纳米金的表征

2.1.1 紫外-可见光吸收光谱分析. 图 1 为纳米金合成之后进紫外-可见吸收光谱分析所得, 紫外光谱分析显示: 球形纳米金吸收峰在 520 nm 处, 棒状纳米金吸收峰在 525 nm 和 604 nm 处, 三角形纳米金吸收峰在 728 nm 和 928 nm 处, 三者都与参考文献中的吸收峰基本一致, 证实成功合成了球形纳米金、棒状纳米金和三角形纳米金.

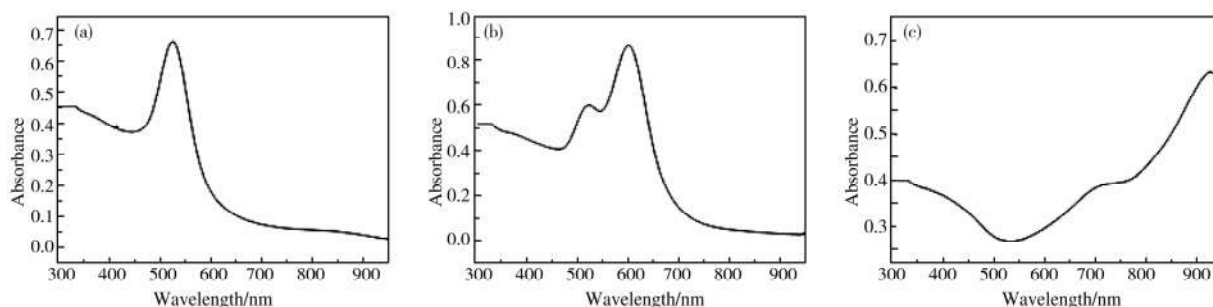


图 1 CTAB 包被的球形纳米金(a)、棒状纳米金(b)、三角形纳米金(c)的紫外-可见吸收光谱图

2.1.2 透射电镜分析(TEM). 通过透射电镜可以直观地观察到所合成的纳米金的三种不同形态和粒径, 如图 2 所示. 从图中可以看出, 三种不同形态的纳米金制备成功, 并且均相对均匀, 粒子之间分散较好. 所合成的球形纳米金粒径大约为 17 ± 2.5 nm, 所合成的棒状纳米金的长度约为 52.31 ± 0.86 nm, 宽约为 22.49 ± 0.56 nm, 长径比约为 2.3, 所合成的三角形纳米金为正三角形, 边长为 100 ± 25 nm.

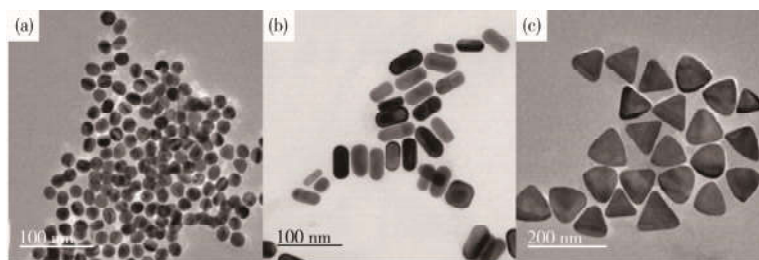


图 2 CTAB 包被的球形纳米金(a)、棒状纳米金(b)、
三角形纳米金(c)的 TEM 图

2.2 不同形态纳米金的杀菌作用研究

2.2.1 球形纳米金最小杀菌浓度. 从图 3 可知,球形纳米金对大肠杆菌的 MBC,当纳米金浓度大于 21.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,观察到平板上的菌落数均少于 5 个菌落,因此 MBC 为 21.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 球形纳米金对金黄色葡萄球菌的 MBC,当纳米金浓度大于 5.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,观察到平板上的菌落数均少于 5 个菌落,因此球形纳米金的 MBC 为 5.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

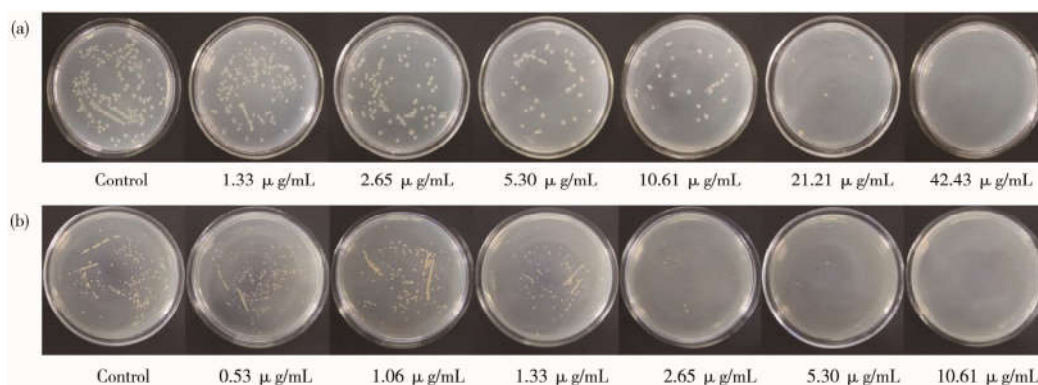


图 3 不同浓度的球形纳米金下大肠杆菌(a)、金黄色葡萄球菌(b)的平板图
(纳米金与菌液反应 4 h, 平板在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培育 18 h)

2.2.2 棒状纳米金最小杀菌浓度. 从图 4 可知,棒状纳米金对大肠杆菌的 MBC,当纳米金浓度大于 1.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,观察到平板上的菌落数均少于 5 个菌落,因此 MBC 为 1.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 棒状纳米金对金黄色葡萄球菌的 MBC,当纳米金浓度大于 0.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,观察到平板上的菌落数均少于 5 个菌落,因此棒状纳米金的 MBC 为 0.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

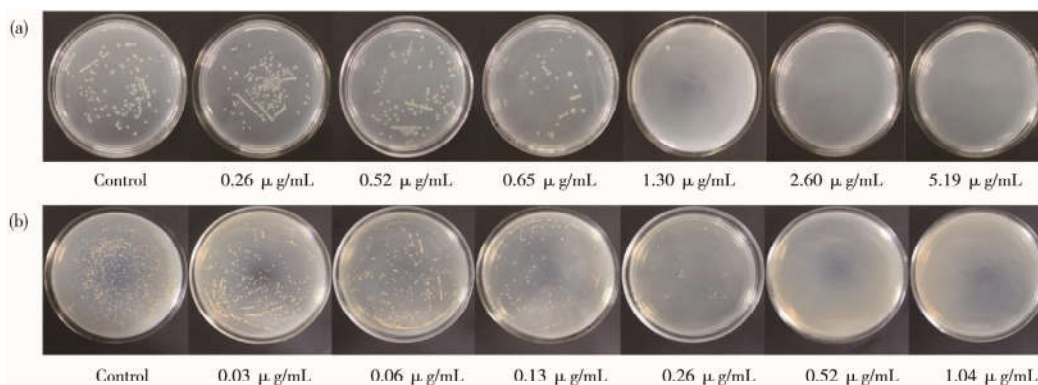


图 4 不同浓度的棒状纳米金下大肠杆菌(a)、金黄色葡萄球菌(b)的平板图
(纳米金与菌液反应 4 h, 平板在 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培育 18 h)

2.2.3 三角形纳米金最小杀菌浓度. 从图 5 可知,三角形纳米金对大肠杆菌的 MBC,当纳米金浓度大于 11.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,观察到平板上的菌落数均少于 5 个菌落,因此 MBC 为 11.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$. 三角形纳米金对金黄色葡萄球菌的 MBC,当纳米金浓度大于 1.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,观察到平板上的菌落数均少于 5 个菌落,因此三角形纳米金的 MBC 为 1.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

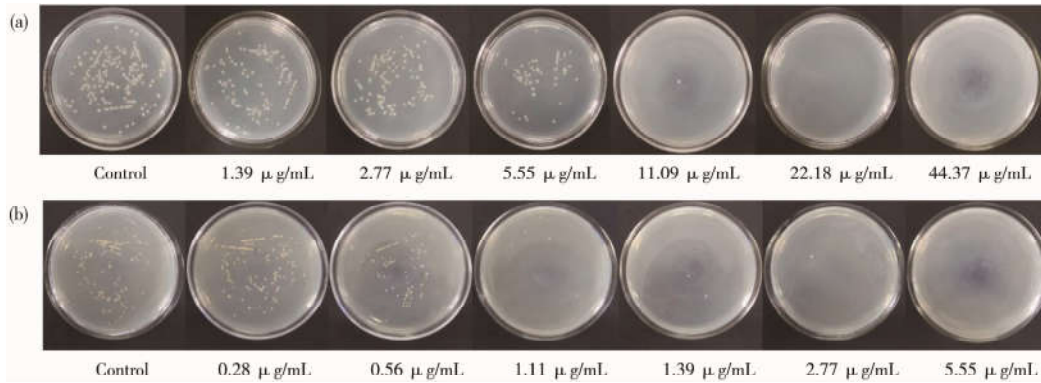


图5 不同浓度的三角形纳米金下大肠杆菌(a)、金黄色葡萄球菌(b)的平板图
(纳米金与菌液反应4 h, 平板在37℃下培育18 h)

2.3 不同形态纳米金的抑菌作用研究

2.3.1 金黄色葡萄球菌. 以金黄色葡萄球菌作为研究对象, 将合成的不同形态纳米金进行稀释, 球形纳米金稀释倍数分别为10、20、40、80、160倍, 棒状纳米金稀释倍数为1000、2000、4000、8000、10000倍, 三角形纳米金稀释倍数为50、100、200、400、800倍, 使用稀释倍数对应的纳米金浓度分别进行最小抑菌浓度的测定, 其96孔板结果如图6所示. 结果显示对于金黄色葡萄球菌, 球形纳米金的最小抑菌浓度为2.65 µg/mL, 棒状纳米金的最小抑菌浓度为0.26 µg/mL, 三角形纳米金的MIC为0.56 µg/mL.



图6 CTAB 包被的球形纳米金(a)、棒状纳米金(b)、三角形纳米金(c)对金黄色葡萄球菌37℃下培育24 h得到的最小抑菌浓度图(图中数字为纳米金的浓度, 单位为 µg/mL)

2.3.2 大肠杆菌. 以大肠杆菌作为研究对象, 将合成的不同形态纳米金进行稀释, 球形纳米金稀释倍数分别为5、10、20、40、80倍, 棒状纳米金稀释倍数为400、800、1000、2000、4000倍, 三角形纳米金稀释倍数为30、60、120、240、800、480倍, 不同形态的纳米金在不同稀释倍数对应的浓度下进行最小抑菌浓度的测定, 其96孔板结果如图7所示. 结果显示对于大肠杆菌, 球形纳米金的最小抑菌浓度为21.21 µg/mL, 棒状纳米金的最小抑菌浓度为0.65 µg/mL, 三角形纳米金的MIC为3.70 µg/mL.



图7 CTAB 包被的球形纳米金(a)、棒状纳米金(b)、三角形纳米金(c)对大肠杆菌37℃培育24 h得到的最小抑菌浓度图(图中数字为纳米金的浓度, 单位为 µg/mL)

综上所述, 通过平板计数法和96孔板法, 确定了不同形貌纳米金颗粒对金黄色葡萄球菌及大肠杆菌的最小杀菌浓度(MBC)和最小抑菌浓度(MIC)如下表1所示, 可以知道无论是对金黄色葡萄球菌还是对大肠杆菌, 三种形态纳米金中棒状纳米金的杀菌效果是最好的, 杀菌效果明显大于其它两种形态纳米金的杀菌效果. 并且无论是何种形态的纳米金, 其对金黄色葡萄球菌的杀菌效果都明显优于对大肠杆菌.

表1 不同形貌纳米金 MIC 和 MBC

	MBC/µg · mL ⁻¹		MIC/µg · mL ⁻¹	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
球形	21.21	5.30	21.21	2.65
棒状	1.30	0.52	0.65	0.26
三角形	11.09	1.11	3.70	0.56

2.4 抗菌机理的探讨

2014年,蒋兴宇课题组^[20]就通过转录和蛋白质组学的方法研究了金纳米颗粒对革兰氏阴性菌大肠杆菌的杀菌机制,发现其作用方式有两种,一种是通过破坏细菌细胞膜的膜电位,来抑制ATP酶的活性,降低ATP水平,另一种是抑制核糖体亚基结合转运RNA,并且发现虽然生成ROS是大多数抗生素和抗菌纳米材料杀菌的主要原因,但金纳米颗粒的抗菌活性不会诱发任何与之相关的过程。

张鹏等人^[21]利用聚乙烯亚胺和牛血清蛋白修饰的金纳米球和金纳米棒来作为基因载体,发现棒状金纳米颗粒的尖端具有较大曲率,导致其电荷密度比球状金纳米颗粒大;而且棒状颗粒大多会通过尖端与细胞膜接触,导致以棒状颗粒作为基因载体时,可有较高的基因转染效率,棒状纳米金由于自身特殊的形态使其在与细菌接触方面有优势.我们的实验结果中,棒状纳米金的杀菌效果较其它两种形态纳米金更好,推测有可能是因为这种特殊的接触方式。

纳米颗粒的表面电荷在其抗菌能力上起着明显的作用^[22].比如,Angélique团队^[23]研究不同的粒子直径和Zeta电位对二氧化钛纳米颗粒的杀菌活性的影响时发现,直径约为相同大小的二氧化钛纳米颗粒,当Zeta电位较高时表现出更强的抗菌效.这表明表面电荷的增强也是一种增强杀菌效果的途径,并且纳米粒子的表面带负电荷,会对表面带负电的细菌有一定的排斥作用^[24,25].

我们做了Zeta电位来验证本实验中不同形态的纳米金的杀菌效果与电荷密度的关系,棒状纳米金Zeta电位为56.8 mV,球形纳米金Zeta电位为42.1 mV,三角形纳米金Zeta电位为33.2 mV.如图8所示,三种形态的纳米金确实都带正电,且棒状纳米金较其它两种形态纳米金所带电荷密度较高,同时我们实验结果表明相较于其它两种形态,棒状纳米金的杀菌效果更好,这也进一步说明了表面带有正电荷的纳米金会随着电荷密度的增加,杀菌效果不断增强。

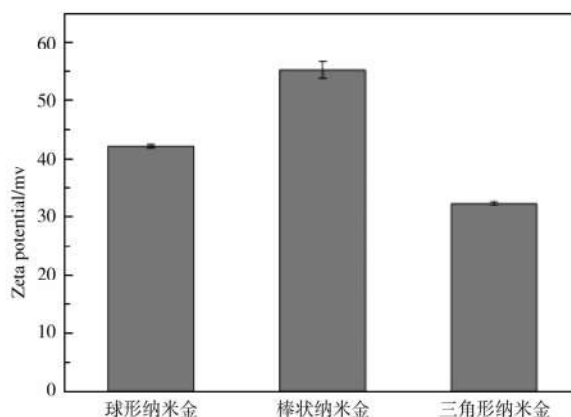


图8 CTAB包被的球形纳米金、棒状纳米金、三角形纳米金的Zeta电位

3 结论

采用CTAB包被制备出不同形态(球形、棒状、三角形)的纳米金,将金黄色葡萄球菌和大肠杆菌作为受试菌株进行抗菌研究,从抗菌特性的研究结果中可以很明显的看出,无论是对金黄色葡萄球菌还是大肠杆菌,棒状纳米金的杀菌效果都要高于其它两种形态的纳米金.细菌表面带负电荷,带正电的纳米粒子被表面带负电的细菌所吸引,与细菌的细胞膜接触,破坏细菌的细胞膜从而进入细菌内部杀死细菌.而棒状纳米金从空间效应上更易于与细菌接触,这也是它之所以具有较高杀菌特性的原因.三种形态的纳米金均对金黄色葡萄球菌表现出优于大肠杆菌的杀菌效果,这可能是因为两种细菌的细胞壁不一样所导致的,这些结果为我们进一步开展工作奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] Dizaj S M, Lotfipour F, Barzegarjalali M, et al. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles [J]. *Materials Science & Engineering C*, 2014, 44(44): 278-284.
- [2] 马万顺, 崔燕, 赵玉云, 等. 纳米颗粒抗菌机理的研究进展[J]. *生物物理学报*, 2010, 26(8): 638-648.
- [3] Zhao Y, Tian Y, Cui Y, et al. Small molecule-capped gold nanoparticles as potent antibacterial agents that target Gram-negative bacteria[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2010, 132(35): 12349-12356.
- [4] 李艳华, 陈曦萌. 石墨烯基银抗菌材料的制备方法及其抗菌机理研究[J]. *聊城大学学报(自然科学版)*, 2014, 27(3): 71-74.
- [5] Avelino C, Hermenegildo G. Supported gold nanoparticles as catalysts for organic reactions[J]. *Chemical Society Reviews*, 2008, 37: 2096-2126.
- [6] Prabakaran M, Grailler J J, Pilla S, et al. Gold nanoparticles with a monolayer of doxorubicin-conjugated amphiphilic block copolymer for

- tumor-targeted drug delivery[J]. *Biomaterials*, 2009, 30(30): 6065-6075.
- [7] Yanez-Sedeno P, Pingarron J M. Gold nanoparticle-based electrochemical biosensors[J]. *Electrochimica Acta*, 2005, 382(4): 884-886.
- [8] Lin Y W, Huang C C, Chang H T. Gold nanoparticle probes for the detection of mercury, lead and copper ions[J]. *Analyst*, 2011, 136(5): 863-871.
- [9] Guo Y, Wang Z, Qu W, et al. Colorimetric detection of mercury, lead and copper ions simultaneously using protein-functionalized gold nanoparticles[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2011, 26(10): 4064-4069.
- [10] Gu H W, Ho P L, Tong E, et al. Presenting vancomycin on nanoparticles to enhance antimicrobial activities[J]. *Nano Letters*, 2003, 3(9): 1261-1263.
- [11] Tom R T, Suryanarayanan V, Reddy P G, et al. Ciprofloxacin-protected gold nanoparticles[J]. *Langmuir*, 2004, 20(5): 1909-1914.
- [12] Pal S, Tak Y K, Song J M. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2007, 73(6): 1712-1720.
- [13] Penders J, Stolzoff M, Hickey D J, et al. Shape-dependent antibacterial effects of non-cytotoxic gold nanoparticles[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12: 2457-2468.
- [14] Yang X, Yang M, Pang B, et al. Gold nanomaterials at work in biomedicine[J]. *Chemical Reviews*, 2015, 115(19): 10410-10488.
- [15] Jana N R, Gearheart L, Murphy C J. Seeding growth for size control of 5-40 nm diameter gold nanoparticles[J]. *Langmuir*, 2001, 17(22): 6782-6786.
- [16] Wang Y, Zhou X, Xu C, et al. Gold nanorods as visual sensing platform for chiral recognition with naked eyes[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 5296-5304.
- [17] Guo Z, Fan X, Liu L, et al. Achieving high-purity colloidal gold nanoprisms and their application as biosensing platforms[J]. *Journal of Colloid & Interface Science*, 2010, 348(1): 29-36.
- [18] Fang M, Chen J H, Xu X L, et al. Antibacterial activities of inorganic agents on six bacteria associated with oral infections by two susceptibility tests[J]. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2006, 27(6): 513-517.
- [19] Kim J, Marshall M R, Wei C I. Antibacterial activity of some essential oil components against five foodborne pathogens[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 1995, 43(11): 1027-1037.
- [20] Cui Y, Zhao Y, Tian Y, et al. The molecular mechanism of action of bactericidal gold nanoparticles on *Escherichia coli*[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(7): 2327-2333.
- [21] Zhang P, Li B, Du J, et al. Gold nanoparticles coated by polyethylenimine-g-bovine serum albumin with different morphologies for effective gene delivery[J]. *Journal of Controlled Release*, 2017, 259: 102-103.
- [22] Seil J T, Webster T J. Antimicrobial applications of nanotechnology: methods and literature[J]. *International Journal of Nanomedicine*, 2012, 7(1): 2767-2781.
- [23] Angélique S, Sylvain L, Martine M, et al. Size-, composition- and shape-dependent toxicological impact of metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes toward bacteria[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(21): 8423-8429.
- [24] Silhavy T J, Kahne D, Walker S. The bacterial cell envelope[J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2010, 2(5): a000414.
- [25] Dickson J S, Koohmaraie M. Cell surface charge characteristics and their relationship to bacterial attachment to meat surfaces[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1989, 55(4): 832-836.

Preparation and Antimicrobial Activity of Gold Nanoparticles were Modified by Cetyltrimethyl Ammonium Bromide

MA Ya-yun LIU Mei LI Jiao LI Xuan-yi YANG Zong-qi

(School of Food Engineering and Nutritional Science, Shanxi Normal University, Xi'an 710119, China)

Abstract In this work, the rod, triangular and spherical gold nanoparticles were synthesized using cetyltrimethyl ammonium bromide as modified agent. The antibacterial properties of three different forms against the *S. aureus* and the *E. coli* were respectively studied. The minimum bactericidal concentration and minimum inhibitory concentration to bacteria were determined by plate counting and turbidity. For *E. coli*, the MBC of the rod, triangular and spherical gold nanoparticles was 1.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 11.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 21.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$, the MIC of the rod, triangular and spherical gold nanoparticles was 0.65 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 3.70 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 21.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$. For *S. aureus*, the MBC of the rod, triangular and spherical gold nanoparticles was 0.52 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 1.11 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 5.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, and the MIC of the rod, triangular and spherical gold nanoparticles was 0.26 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 0.56 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and 2.65 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The antimicrobial activity of the rod gold nanoparticles is superior to other two types of gold nanoparticles. And no matter what shape of the gold nanoparticles, the antimicrobial activity to *S. aureus* is better than that to *E. coli*.

Key words AuNPs; different shape; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; antimicrobial activity