



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105478792 A

(43) 申请公布日 2016. 04. 13

(21) 申请号 201510889011. 4

(22) 申请日 2015. 12. 05

(71) 申请人 浙江大学

地址 310027 浙江省杭州市西湖区浙大路  
38 号

(72) 发明人 王征科 黄晓飞 胡巧玲

(74) 专利代理机构 杭州求是专利事务所有限公  
司 33200

代理人 韩介梅

(51) Int. Cl.

B22F 9/24(2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 发明名称

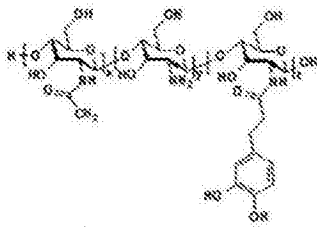
一种改性壳聚糖 - 纳米银溶胶的绿色制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种改性壳聚糖 - 纳米银溶胶的绿色制备方法。该方法先通过酰胺化反应将儿茶酚基接枝到壳聚糖上, 制得改性的壳聚糖。再利用儿茶酚基的还原性和壳聚糖的螯合作用, 将改性壳聚糖作为还原剂和稳定剂, 与硝酸银溶液反应制得改性壳聚糖 - 纳米银溶胶。本发明制得的溶胶具有粒径分布窄、不易团聚、稳定性高等优点。壳聚糖与纳米银的协同抗菌作用, 使复合纳米银表现出很强的抗菌性。由于壳聚糖良好的生物相容性, 使被包裹的纳米银的生物毒性大大降低, 在生物医用领域有巨大的应用前景。该制备方法无需外加还原剂, 原料来源广泛, 工艺简单, 反应温和, 符合绿色化学的要求。

1. 一种改性壳聚糖-纳米银溶胶的绿色制备方法,其特征在于:将儿茶酚基接枝到壳聚糖上,制得改性壳聚糖;再利用壳聚糖的螯合作用和儿茶酚基的还原作用,将改性壳聚糖与硝酸银溶液反应制得改性壳聚糖-纳米银溶胶。

2. 如权利要求1所述的改性壳聚糖-纳米银溶胶的绿色制备方法,其特征在于:所述的壳聚糖的脱乙酰度 $\geq 90\%$ ,分子量为50000~100000;所述的儿茶酚基由3-(2,4-二羟基)苯基丙酸提供;所述的将儿茶酚基接枝到壳聚糖上,具体为:将3-(2,4-二羟基)苯基丙酸与壳聚糖上的氨基通过酰胺化反应进行缩合,得到改性壳聚糖,其结构式如下所示:



3. 如权利要求1所述的改性壳聚糖-纳米银溶胶的绿色制备方法,其特征在于,具体步骤如下:

1) 将壳聚糖粉末分散于去离子水中,调节pH为5.0,配制成质量浓度为0.1~1%的壳聚糖水溶液;向壳聚糖水溶液中加入3-(2,4-二羟基)苯基丙酸,使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的30~60%,再加入1-乙基-(3-二甲氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐作为催化剂,使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的30~60%,30~60℃下反应12~24h,得到改性壳聚糖水溶液,透析冻干后得到改性壳聚糖;

2) 将步骤1)中得到的改性壳聚糖溶于去离子水中,配制成质量浓度为1~5%的改性壳聚糖水溶液;

3) 将硝酸银溶于去离子水中,配制出质量浓度为20~60%的硝酸银水溶液;

4) 在避光条件下,取改性壳聚糖水溶液,水浴加热,温度为30~100℃,磁力搅拌下,加入硝酸银水溶液,改性壳聚糖水溶液与硝酸银水溶液的体积比为100~500:1~10,反应1~5h,制得改性壳聚糖-纳米银溶胶。

## 一种改性壳聚糖-纳米银溶胶的绿色制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于纳米银抗菌复合材料制备领域,涉及一种溶胶的制备方法,具体涉及一种改性壳聚糖-纳米银溶胶的绿色制备方法。

### 背景技术

[0002] 纳米材料是指至少有一维空间上的尺寸在1到100nm之间的颗粒,由于独特的性质和潜在的应用前景而备受关注,纳米技术也成为了研究的热点,在各个研究领域中掀起了热潮。在众多纳米材料中,纳米银因其特殊的物理和化学性质,及其在抗菌、催化、医药、生物传感器等领域的潜在应用价值,已经成为科学家们研究的重点。在抗菌材料领域,纳米银以其高效的杀菌性和抗菌广谱性,颇受国内外研究者的关注。常见的纳米银制备方法有:化学还原法、模板法、微波辐射法等。化学还原法是最常见的制备方法,但是在制备过程中多以硼氢化钠这类化学试剂作为还原剂,这为后续分离提纯粒子带来了困难,也对环境产生了污染。随着人们对环保性和安全性的重视,对绿色无毒的还原剂的研究日益增多。另外,由于纳米粒子表面能高、易团聚,在制备纳米银过程中还需添加稳定剂,使纳米银表面钝化,稳定性提高。不仅如此,稳定剂的包覆有望解决纳米银的安全性问题。不少研究表明,游离的纳米银与细胞接触时会产生细胞毒性,这就大大制约了纳米银在生物医用领域的应用。选择生物毒性低、生物相容性好的稳定剂包覆纳米银,或能改善纳米银的细胞毒性。

[0003] 壳聚糖是一种环境友好的天然高分子材料,具有良好的细胞亲和性和生物相容性,具有止血、抗菌、促进伤口愈合等作用,被广泛应用于生物医用领域。其分子链上含有大量的氨基,对银具有螯合作用,可以作为纳米银的稳定剂。且壳聚糖与纳米银的协同抗菌作用,能使壳聚糖-纳米银溶胶表现出更强的抗菌性。然而壳聚糖的水溶性不佳,只能在酸性环境下发挥稳定作用,而正常生物体环境多呈中性或弱碱性,这就制约了壳聚糖-纳米银溶胶在生物体内的应用。

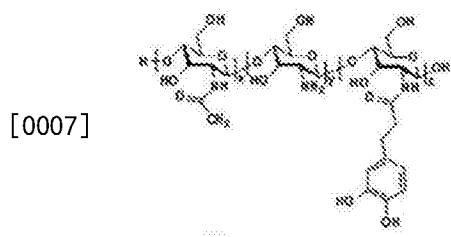
### 发明内容

[0004] 本发明的目的是克服现有技术的不足,提供一种改性壳聚糖-纳米银溶胶的绿色制备方法,该方法通过对壳聚糖进行化学改性,引入具有还原性的化学结构,如儿茶酚基团,同时提高了壳聚糖的水溶性,在水相中制备出改性壳聚糖-纳米银溶胶,无需额外添加还原剂,该方法绿色无毒、对环境友好,制得的溶胶在生物体环境中更稳定、更安全,抗菌性更强。

[0005] 本发明通过以下技术方案实现:将儿茶酚基接枝到壳聚糖上,制得了具有良好水溶性的改性壳聚糖;利用壳聚糖的螯合作用和儿茶酚基的还原性,将该改性壳聚糖作为还原剂和稳定剂,与硝酸银溶液反应制得改性壳聚糖-纳米银溶胶。

[0006] 上述技术方案中,所述的壳聚糖的脱乙酰度 $\geq 90\%$ ,分子量为50000~100000;所述的儿茶酚基由3-(2,4-二羟基)苯基丙酸提供;所述的将儿茶酚基接枝到壳聚糖上,具体

为:将3-(2,4-二羟基)苯基丙酸与壳聚糖上的氨基通过酰胺化反应进行缩合,得到改性壳聚糖,其结构式如下所示:



[0008] 上述的改性壳聚糖-纳米银溶胶的绿色制备方法,具体步骤如下:

[0009] 1)将壳聚糖粉末分散于去离子水中,调节pH为5.0,配制成质量浓度为0.1~1%的壳聚糖水溶液;向壳聚糖水溶液中加入3-(2,4-二羟基)苯基丙酸(HCA),使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的30~60%,再加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC)作为催化剂,使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的30~60%,30~60℃下反应12~24h,得到改性壳聚糖水溶液,透析冻干后得到改性壳聚糖;

[0010] 2)将步骤1)中得到的改性壳聚糖溶于去离子水中,配制成质量浓度为1~5%的改性壳聚糖水溶液;

[0011] 3)将硝酸银溶于去离子水中,配制出质量浓度为20~60%的硝酸银水溶液;

[0012] 4)在避光条件下,取改性壳聚糖水溶液,水浴加热,温度为30~100℃,磁力搅拌下,加入硝酸银水溶液,改性壳聚糖水溶液与硝酸银水溶液的体积比为100~500:1~10,反应1~5h,制得改性壳聚糖-纳米银溶胶。

[0013] 通过本发明方法得到的改性壳聚糖-纳米银溶胶中的银纳米粒子呈现球形,粒径分布窄、稳定性高、不易团聚、抗菌性强、细胞毒性低。

[0014] 本发明相对于现有技术具有以下优点:

[0015] 1)本发明中用改性壳聚糖作为还原剂和稳定剂在水相中制备出了改性壳聚糖-纳米银溶胶,无需其他还原剂、稳定剂、有机溶剂等化学试剂,制备工艺绿色、环保、无毒,符合绿色化学的要求。

[0016] 2)本发明将儿茶酚基接枝到壳聚糖上,使其具有了良好的水溶性,使被共价修饰的纳米银在水中分散更稳定、不易团聚,解决了传统的壳聚糖-纳米银溶胶只在酸性条件下稳定的缺点。

[0017] 3)本发明制备得到的改性壳聚糖-纳米银溶胶,由于壳聚糖和纳米银的双重抗菌作用,使复合纳米粒子的抗菌性很强。

[0018] 4)本发明制备得到的改性壳聚糖-纳米银溶胶由于包覆了生物相容性良好的壳聚糖,降低了细胞毒性,有望应用于生物医用领域。

## 附图说明

[0019] 图1为本发明实施例3制得的改性壳聚糖-纳米银溶胶的紫外可见光谱图。

[0020] 图2为实施例3制得的改性壳聚糖-纳米银溶胶的透射电镜图。

[0021] 图3为实施例3制得的改性壳聚糖-纳米银溶胶的紫外可见光谱图。

[0022] 图4为实施例3制得的改性壳聚糖-纳米银溶胶的抑菌圈测试结果照片。

## 具体实施方式

[0023] 以下结合实例进一步说明本发明。

[0024] 实施例1:

[0025] 1)将壳聚糖粉末分散于去离子水中,调节pH为5.0,配制成质量浓度为0.1%的壳聚糖水溶液;向壳聚糖水溶液中加入3-(2,4-二羟基)苯基丙酸(HCA),使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的30%,再加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC)作为催化剂,使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的30%,40℃下反应12h,得到改性壳聚糖水溶液,透析冻干后得到改性壳聚糖;

[0026] 2)将步骤1)中得到的改性壳聚糖溶于去离子水中,配制成质量浓度为1%的改性壳聚糖水溶液;

[0027] 3)将硝酸银溶于去离子水中,配制出质量浓度为20%的硝酸银水溶液;

[0028] 4)在避光条件下,取1mL改性壳聚糖水溶液,水浴加热,温度为40℃,磁力搅拌下,加入100 $\mu$ L硝酸银水溶液,反应1h,制得改性壳聚糖-纳米银溶胶。

[0029] 实施例2:

[0030] 1)将壳聚糖粉末分散于去离子水中,调节pH为5.0,配制成质量浓度为0.5%的壳聚糖水溶液;向壳聚糖水溶液中加入3-(2,4-二羟基)苯基丙酸(HCA),使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的40%,再加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC)作为催化剂,使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的40%,40℃下反应18h,得到改性壳聚糖水溶液,透析冻干后得到改性壳聚糖;

[0031] 2)将步骤1)中得到的改性壳聚糖溶于去离子水中,配制成质量浓度为3%的改性壳聚糖水溶液;

[0032] 3)将硝酸银溶于去离子水中,配制出质量浓度为30%的硝酸银水溶液;

[0033] 4)在避光条件下,取3mL改性壳聚糖水溶液,水浴加热,温度为70℃,磁力搅拌下,加入50 $\mu$ L硝酸银水溶液,反应3h,制得改性壳聚糖-纳米银溶胶。

[0034] 实施例3:

[0035] 1)将壳聚糖粉末分散于去离子水中,调节pH为5.0,配制成质量浓度为1%的壳聚糖水溶液;向壳聚糖水溶液中加入3-(2,4-二羟基)苯基丙酸(HCA),使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的60%,再加入1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳酰二亚胺盐酸盐(EDC)作为催化剂,使其摩尔浓度为壳聚糖中氨基摩尔浓度的60%,30℃下反应24h,得到改性壳聚糖水溶液,透析冻干后得到改性壳聚糖;

[0036] 2)将步骤1)中得到的改性壳聚糖溶于去离子水中,配制成质量浓度为5%的改性壳聚糖水溶液;

[0037] 3)将硝酸银溶于去离子水中,配制出质量浓度为50%的硝酸银水溶液;

[0038] 4)在避光条件下,取5mL改性壳聚糖水溶液,水浴加热,温度为100℃,磁力搅拌下,加入10 $\mu$ L硝酸银水溶液,反应1h,制得改性壳聚糖-纳米银溶胶。

[0039] 本例制得的改性壳聚糖-纳米银溶胶的紫外可见光谱图如图1所示,可以看出在波长410nm处出现了纳米银的特征吸收峰。且该特征吸收峰为单峰,说明纳米粒子的形态比较规整,且单峰宽很窄,说明粒子的粒径分布很窄。

[0040] 其透射电镜图如图2所示,由图可知,纳米粒子,粒径分布较均一,没有明显的团聚现象。

[0041] 图3为其紫外可见光谱图,在室温下未避光静置2个月,即61天后,粒子的特征吸收峰较静置1天后的变化不明显,证明复合纳米银的稳定性很强、不易团聚。

[0042] 图4为本例制得的改性壳聚糖-纳米银溶胶的抑菌圈测试结果照片。抑菌圈的越大表示抗菌能力越强。对照组为改性壳聚糖溶液,实验组为不同浓度的改性壳聚糖-纳米银溶胶。由图可知,复合纳米银溶胶在很低的浓度下对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都表现出很强的抗菌性,证明复合纳米银的抗菌性很强。

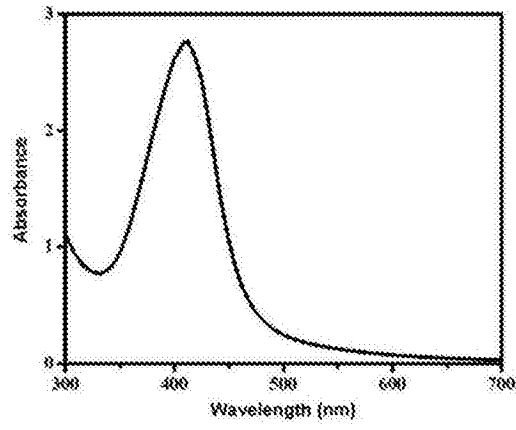


图1

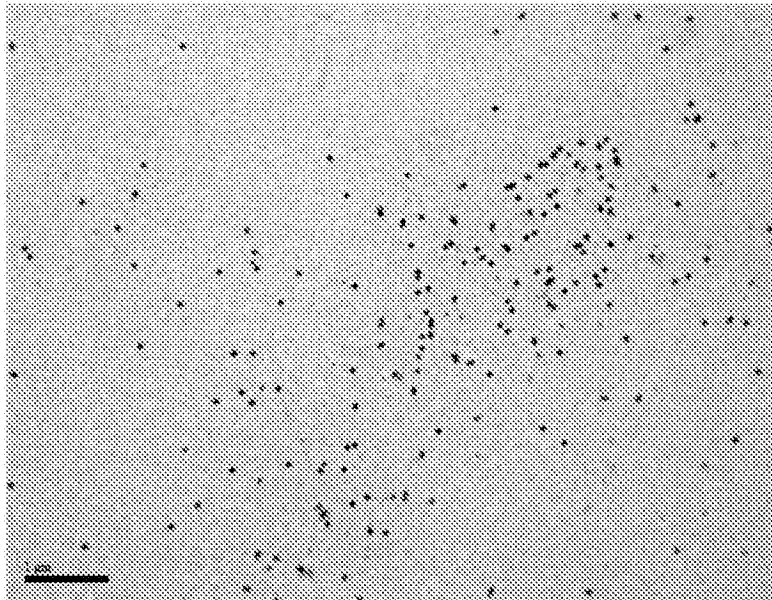


图2

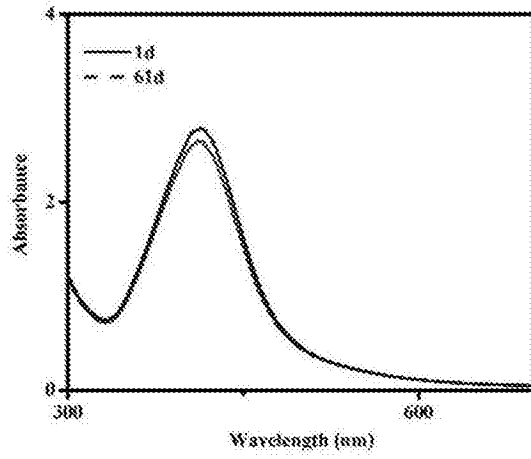


图3

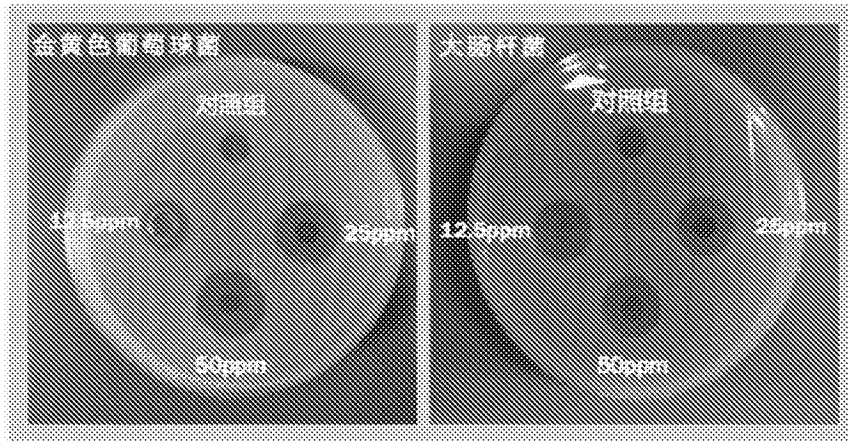


图4