



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110639050 A

(43)申请公布日 2020.01.03

(21)申请号 201911045481.7

(22)申请日 2019.10.30

(71)申请人 重庆医科大学

地址 400016 重庆市渝中区医学院路1号

(72)发明人 江奇锋 李杨 熊兴良 查小英  
章艳

(74)专利代理机构 重庆双马智翔专利代理事务  
所(普通合伙) 50241

代理人 顾晓玲

(51) Int. Cl.

A61L 15/32(2006.01)

A61L 15/18(2006.01)

A61L 15/42(2006.01)

A61L 15/46(2006.01)

A61L 15/64(2006.01)

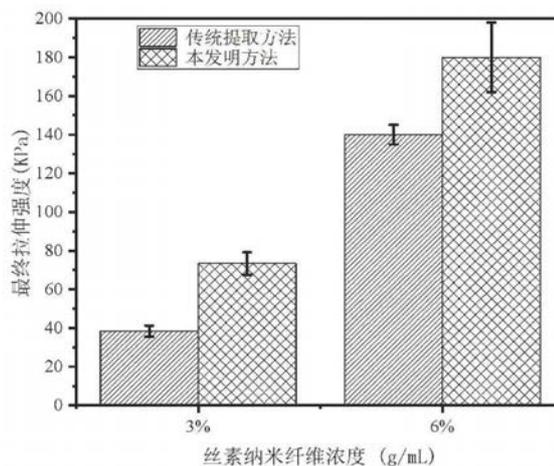
权利要求书1页 说明书6页 附图5页

## (54)发明名称

丝素纳米纤维和基于丝素纳米纤维的载银  
抗菌敷料的制备方法

## (57)摘要

丝素纳米纤维和基于丝素纳米纤维的载银  
抗菌敷料的制备方法。本发明公开了一种丝素纳  
米纤维的制备方法:1)将蚕茧放入碳酸钠溶液中  
脱胶得到丝素蛋白;2)将丝素蛋白置于氢氧化  
钠/尿素水溶液中溶解得到溶解液;3)将透析袋  
置于碳酸氢钠/EDTA溶液中沸腾处理,然后取出  
透析袋放入EDTA溶液中沸腾处理;4)将步骤2)得  
到的溶解液倒入处理好的透析袋中透析,超声处  
理,冷冻离心,得到丝素纳米纤维水溶液。还公开  
了一种载银抗菌敷料的制备方法:1)采前述方法  
制备丝素纳米纤维水溶液;2)取硝酸银溶解于得  
到的丝素纳米纤维水溶液中,硝酸银与丝素纳米  
纤维水溶液的质量体积比为0.02%~0.08%,在  
紫外条件下从杯底照射;3)紫外照射完毕后先预  
冷,再冷冻,最后将其真空冷冻干燥,即得。



1. 一种丝素纳米纤维的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

1) 将蚕茧剪碎,清洗,放入碳酸钠溶液中脱胶,清洗,烘干,得到丝素蛋白;

2) 取氢氧化钠和尿素配制氢氧化钠/尿素水溶液,将步骤1)得到的丝素蛋白置于氢氧化钠/尿素水溶液中溶解得到溶解液;

3) 配制EDTA溶液和碳酸氢钠溶液,取碳酸氢钠溶液与部分EDTA溶液混合得到碳酸氢钠/EDTA溶液,将透析袋置于碳酸氢钠/EDTA溶液中沸腾处理8~12min,然后取出透析袋放入EDTA溶液中沸腾处理8~12min,液封备用;

4) 将步骤2)得到的溶解液倒入步骤3)处理好的透析袋中透析,结束后取出透析液进行超声处理除去其中被完全溶解的丝素蛋白只保留部分溶解的丝素纳米纤维带,冷冻离心,得到丝素纳米纤维水溶液。

2. 如权利要求1所述的丝素纳米纤维的制备方法,其特征在于,所述步骤2)中,每100g氢氧化钠/尿素水溶液中,氢氧化钠与尿素的总质量为12g~36g,氢氧化钠与尿素的质量比为0.19~1.38:1,将步骤1)得到的丝素蛋白置于氢氧化钠/尿素水溶液中-24℃~-8℃溶解72~120h得到溶解液,丝素蛋白与氢氧化钠/尿素水溶液的质量比为2~6:100。

3. 如权利要求2所述的丝素纳米纤维的制备方法,其特征在于,所述步骤2)中,将步骤1)得到的丝素蛋白置于氢氧化钠/尿素水溶液中溶解期间进行多次搅拌促进溶解。

4. 如权利要求1所述的丝素纳米纤维的制备方法,其特征在于,所述步骤3)中配制的EDTA溶液浓度为1mM,碳酸氢钠溶液中碳酸氢钠的浓度为0.02g/ml,取EDTA溶液和碳酸氢钠溶液按体积比1:0.8~1.2混合。

5. 如权利要求4所述的丝素纳米纤维的制备方法,其特征在于,所述EDTA溶液的pH为7.5~8.5。

6. 如权利要求1所述的丝素纳米纤维的制备方法,其特征在于,所述步骤4)中将步骤2)得到的溶解液倒入步骤3)处理好的透析袋中透析时间为60~90h,超声处理的功率为300W,超声处理20~30min,冷冻离心,时间为20~30min。

7. 一种基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:1)采用权利要求1的方法制备丝素纳米纤维水溶液;2)取硝酸银溶解于得到的丝素纳米纤维水溶液中,硝酸银与丝素纳米纤维水溶液的质量体积比为0.02%~0.08%,烧杯封口,在紫外条件下从杯底照射使溶液中的银离子还原为纳米银颗粒;3)紫外照射完毕后先预冷,再冷冻,最后将其真空冷冻干燥,即得。

8. 如权利要求7所述的基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备方法,其特征在于,所述步骤3)紫外照射完毕后的具体处理方法是:先-24~-18℃预冷2~4h,再-80~-70℃冷冻12~24h,最后将其真空冷冻干燥,真空冷冻干燥时的温度为-5~0℃,压强为20~50pa,干燥时间为30~40h。

9. 如权利要求7所述的基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备方法,其特征在于,所述步骤2)中紫外照射的波长为254~365nm,照射时间为4~6h。

## 丝素纳米纤维和基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备 方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物材料技术领域,具体涉及一种丝素纳米纤维和基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备方法。

### 背景技术

[0002] 丝素蛋白(silk fibroin简称SF),是从蚕丝中提取的天然的,生物相容的,可生物降解的低成本聚合物纤维蛋白。家蚕茧中的SF是由甘氨酸,丙氨酸,丝氨酸,酪氨酸,缬氨酸组成的5263个氨基酸残基,而其它15种氨基酸仅占4.7%。由于其可调节的机械性能和良好的物理结构,丝蛋白对于许多生物医学的应用是具有很大吸引力的,包括药物运输,组织工程,植入式装置,生物传感器和伤口敷料。

[0003] 皮肤作为人体中最大的器官,不仅保护我们正常的新陈代谢,而且在防止紫外线辐射,化学品,外来生物和其它有害的环境因素等方面也起着重要作用。然而,创伤和烧伤常导致组织坏死并破坏皮肤的防御功能。感染是烧创伤护理过程中最为常见的并发症之一,可以导致微生物入侵,阻碍表皮组织的再生和修复,延迟伤口愈合,促使瘢痕形成,甚至威胁患者的生命安全。传统的敷料透气性差,生物相容性差,且伤口愈合缓慢,急需一种新型材料的取代。丝素蛋白作为一种天然高分子聚合物,来源广泛,生物相容性良好,可生物降解,降解时间可控制且能促进伤口愈合,是一种良好的替代品。

[0004] 由于丝素蛋白的生物相容性良好,所以可用于体内的药物定点输送;将丝素蛋白制作成为凝胶状,通过控制其对环境的应变能力,达到控制其药物释放的目的;如pH,渗透压,温度等;对临床治疗具有很大意义。丝素蛋白作为一种生物相容性良好的天然高聚物,可以制成医用支架;可植入体内加入生物分子,如生长因子等,促进软骨的生长愈合;也可作为细胞生长的基质,加入相应的细胞生长因子用作细胞定向分化培养,如血管内皮细胞等。

[0005] 蚕茧中主要含有的两种蛋白分别为丝素蛋白与丝胶蛋白,两种蛋白以一种复合体形式存在,丝胶蛋白包裹着丝素蛋白。有研究表明这种复合形式存在的蛋白质会在体内产生获得性免疫反应,当丝胶蛋白被脱去后,余下的丝素蛋白不会产生此免疫原性。因此,此研究基于提取分离丝素蛋白的技术,对于丝素蛋白的运用具有实际的意义。

[0006] 丝素蛋白的传统提取方法包括使用无机盐(溴化锂,氯化钙/乙醇/水),高浓度酸和高离子浓度的溶液经过溶解、透析和离心后得到丝素蛋白水溶液。但是此种方式有以下缺陷:溶解会过度剪切丝素蛋白,切断了大部分原始氢键,使得再生丝素蛋白的性能较原始丝素蛋白弱。另一种常见的提取方式包括使用盐酸/甲酸,甲酸/氯化钙,甲酸/溴化锂和HFIP(六氟异丙醇)做溶剂,得到丝素蛋白溶液。此种方式只破坏少量氢键,因此可以极大的保护天然丝素蛋白的纤维结构与性能,但是其中缺点有,在甲酸/氯化钙体系中不能保持水溶液状态,加水会导致蛋白析出;在甲酸/溴化锂体系中,得到的水溶液必须保存在4℃的环境中,避免过早成胶;而HFIP是有毒试剂。综上所述,传统的提取方式在不同方面有着不同

的局限性,因此需要一种新型的提取方式。

## 发明内容

[0007] 本发明针对上述问题,提供了一种丝素纳米纤维的制备方法,包括如下步骤:

[0008] 1) 将蚕茧剪碎,清洗,放入碳酸钠溶液中脱胶,清洗,烘干,得到丝素蛋白;

[0009] 2) 取氢氧化钠和尿素配制氢氧化钠/尿素水溶液,将步骤1)得到的丝素蛋白置于氢氧化钠/尿素水溶液中溶解得到溶解液;

[0010] 3) 配制EDTA溶液和碳酸氢钠溶液,取碳酸氢钠溶液与部分EDTA溶液混合得到碳酸氢钠/EDTA溶液,将透析袋置于碳酸氢钠/EDTA溶液中沸腾处理8~12min,然后取出透析袋放入EDTA溶液中沸腾处理8~12min,液封备用;

[0011] 4) 将步骤2)得到的溶解液倒入步骤3)处理好的透析袋中透析,结束后取出透析液进行超声处理除去其中被完全溶解的丝素蛋白只保留部分溶解的丝素纳米纤维带,冷冻离心,得到丝素纳米纤维水溶液。

[0012] 所述步骤2)中,每100g氢氧化钠/尿素水溶液中,氢氧化钠与尿素的总质量为12g~36g,氢氧化钠与尿素的质量比为0.19~1.38:1,将步骤1)得到的丝素蛋白置于氢氧化钠/尿素水溶液中-24℃~-8℃溶解72~120h得到溶解液,丝素蛋白与氢氧化钠/尿素水溶液的质量比为2~6:100。

[0013] 所述步骤2)中,将步骤1)得到的丝素蛋白置于氢氧化钠/尿素水溶液中溶解期间进行多次搅拌促进溶解。

[0014] 所述步骤3)中配制的EDTA溶液浓度为1mM,碳酸氢钠溶液中碳酸氢钠的质量分数为2%,取EDTA溶液和碳酸氢钠溶液按体积比1:0.8~1.2混合。

[0015] 所述EDTA溶液的pH为7.5~8.5。

[0016] 所述步骤4)中将步骤2)得到的溶解液倒入步骤3)处理好的透析袋中透析时间为60~90h,超声处理的功率为300W,超声处理20~30min,冷冻离心,时间为20~30min。

[0017] 本发明还提供了一种基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备方法,包括如下步骤:1)采用前述的方法制备丝素纳米纤维水溶液;2)取硝酸银溶解于得到的丝素纳米纤维水溶液中,硝酸银与丝素纳米纤维水溶液的质量体积比为0.02%~0.08%,烧杯封口,在紫外条件下从杯底照射使溶液中的银离子还原为纳米银颗粒;3)紫外照射完毕后先预冷,再冷冻,最后将其真空冷冻干燥,即得。

[0018] 在上述技术方案中,所述步骤3)紫外照射完毕后的具体处理方法是:先-24~-18℃预冷2~4h,再-80~-70℃冷冻12~24h,最后将其真空冷冻干燥,真空冷冻干燥时的温度为-5~0℃,压强为20~50pa,干燥时间为30~40h。

[0019] 在上述技术方案中,所述步骤2)中紫外照射的波长为254~365nm,照射时间为4~6h。

[0020] 本发明的有益效果是:

[0021] 本发明的丝素纳米纤维制备方法不会完全溶解丝素,与传统的提取方式相比较只破坏少量原始氢键与范德华力,能够较多的保留丝素的初始结构和性能;从而将其中的纤维剥落成更小的丝素纳米纤维带,均匀分散在溶液中;而且将此丝素纳米纤维溶液放置于常温(25℃)中可以保持至少15天不成胶或聚沉,始终保持乳白色均一分散的溶液状态。

本方法利用氢氧化钠/尿素混合溶剂体系溶解丝素蛋白,使得丝素纳米纤维在可修饰操作的前提下,极大的保存了天然丝素蛋白的结构和特性,例如减少氢键的破坏极大的保存了原始 $\beta$ -sheet含量,而 $\beta$ -sheet的含量与材料的力学性能密切相关。

[0022] 本发明的基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备方法步骤简单,反应条件温和、操作简易,适用于大规模批量生产,制得的敷料不仅具有良好的生物相容性能而且具有良好的生物可降解性、机械性能和抗菌性能,克服了现有商用敷料对伤口产生的炎症反应、免疫反应等一系列的排异反应。本抗菌敷料具有丝素蛋白优良的生物可降解性能,克服了现有商用纱布等敷料在移除时给患者带来的二次伤害等一系列问题。敷料中载有的纳米银颗粒具有优异的抗菌性能,其释放缓慢且持久,克服了一般敷料中药物的爆发式释放,具有持久抗菌的功效,更有益于伤口愈合。本发明制备的载银抗菌敷料不管是对革兰氏阳性菌还是对革兰氏阴性菌的生长均具有明显的抑制作用,克服了单一抗菌的问题。

### 附图说明

[0023] 图1是本发明的丝素纳米纤维的制备方法原理图。

[0024] 图2是本发明方法和传统提取方法制得的丝素纳米纤维的 $\beta$ -sheet含量对照图,其中,a是本发明方法,b是传统提取方法。

[0025] 图3是本发明的基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备方法的流程图。

[0026] 图4是本发明方法制得的基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的电镜扫描图,其中,a是制备原料丝素纳米纤维的浓度为0.03g/mL,b是制备原料丝素纳米纤维的浓度为0.06g/mL。

[0027] 图5是本发明方法制备的基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料与传统提取方法的丝素蛋白制备的敷料相比机械性能测试图。

[0028] 图6是本发明方法制备的基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料与传统提取方法的丝素蛋白制备的敷料对比的降解性能检测图,其中,a是制备原料丝素纳米纤维的浓度为0.03g/mL,b是制备原料丝素纳米纤维的浓度为0.06g/mL。

[0029] 图7是利用本发明的载银抗菌敷料进行抗菌测试的结果,其中a、b、c分别是载银抗菌敷料对大肠杆菌、绿脓杆菌和金黄色葡萄球菌生长的抑制作用。

[0030] 图8是利用本发明的载银抗菌敷料进行进行细胞相容性测试的结果。

### 具体实施方式

[0031] 下面结合实施例对本发明作进一步说明,但并不因此而限制本发明。

[0032] 下述实施例中的实验方法,如无特别说明,均为常规方法。

[0033] 实施例1丝素纳米纤维的制备

[0034] 一、制备丝素纳米纤维样品1

[0035] 制备丝素纳米纤维样品1,按照如下步骤操作,图1是本方法的原理图:

[0036] 1) 取15个大小均匀的蚕茧,每个蚕茧剪成4份,超声清洗5min,重复2次,拧干之后置于60℃烘箱中4h左右;将烘干的蚕茧置于0.02M的碳酸钠溶液中沸腾脱胶30min(2次),取出后先进行超声清洗,时间至少为10min,再用超纯水彻底冲洗,烘干,得到丝素蛋白。

[0037] 2) 取200mL的烧杯,加入100g氢氧化钠/尿素水溶液,氢氧化钠和尿素的总质量为

12g,氢氧化钠和尿素的质量比为0.19:1;取步骤1)得到的丝素蛋白2g放入该烧杯中,放置于-24℃的冰柜中持续溶解120h得到溶解液,期间每隔12h取出搅拌10min。

[0038] 3) 配制1mM的EDTA溶液200ml,并用0.1M的氢氧化钠调节pH为7.5,取其中的100ml与100ml的浓度为0.02g/ml的碳酸氢钠溶液混合,剪取20cm的透析袋(透析袋截留分子量为7000KDA)于此混合溶液中沸腾处理10min,再置于剩下的100ml EDTA溶液中沸腾处理10min。

[0039] 4) 将步骤2)得到的溶解液倒入步骤3)处理好的透析袋中,然后置于超纯水中磁力搅拌透析60h,结束后取出透析袋进行超声处理(将透析袋置于装有超纯水的烧杯中,然后将烧杯置于超声(30min,300W)声波场中处理),除去其中被完全溶解的丝素蛋白只保留部分溶解的丝素纳米纤维带;然后4500rpm、4℃冷冻离心30min,即得到浓度在0.01g/ml左右的丝素纳米纤维水溶液。

[0040] 检测本发明方法和丝素蛋白传统提取方法制得的丝素纳米纤维的 $\beta$ -sheet含量,结果如图2所示,本发明方法减少氢键的破坏极大的保存了原始 $\beta$ -sheet含量,使得丝素纳米纤维具有更好的力学性能。

[0041] 二、制备丝素纳米纤维样品2

[0042] 制备丝素纳米纤维样品2,按照如下步骤操作:

[0043] 1) 取15个大小均匀的蚕茧,每个蚕茧剪成4份,超声清洗5min,重复2次,拧干之后置于60℃烘箱中4h左右;将烘干的蚕茧置于0.02M的碳酸钠溶液中沸腾脱胶30min(2次),取出后先进行超声清洗,时间至少为10min,再用超纯水彻底冲洗,烘干,得到丝素蛋白。

[0044] 2) 取200mL的烧杯,加入100g氢氧化钠/尿素水溶液,氢氧化钠和尿素的总质量为36g,氢氧化钠和尿素的质量比为1.38:1;取步骤1)得到的丝素蛋白6g放入该烧杯中,放置于-8℃的冰柜中持续溶解72h得到溶解液,期间每隔12h取出搅拌10min。

[0045] 3) 配制1mM的EDTA溶液200ml,并用0.1M的氢氧化钠调节pH为8.0,取其中的100ml与80ml的浓度为0.02g/ml的碳酸氢钠溶液混合,剪取20cm的透析袋(截留分子量为7000kDA)于此混合溶液中沸腾处理8min,再置于剩下的100ml EDTA溶液中沸腾处理8min。

[0046] 4) 将步骤2)得到的溶解液倒入步骤3)处理好的透析袋中,然后置于超纯水中磁力搅拌透析90h,结束后取出透析袋进行超声处理(将透析袋置于装有超纯水的烧杯中,然后将烧杯置于超声(30min,300W)声波场中处理),除去其中被完全溶解的丝素蛋白只保留部分溶解的丝素纳米纤维带;然后4500rpm冷冻离心30min,即得到浓度在0.02g/ml左右的丝素纳米纤维水溶液。

[0047] 三、制备丝素纳米纤维样品3

[0048] 制备丝素纳米纤维样品3,按照如下步骤操作:

[0049] 1) 取15个大小均匀的蚕茧,每个蚕茧剪成4份,超声清洗5min,重复2次,拧干之后置于60℃烘箱中4h左右;将烘干的蚕茧置于0.02M的碳酸钠溶液中沸腾脱胶30min(2次),取出后先进行超声清洗,时间至少为10min,再用超纯水彻底冲洗,烘干,得到丝素蛋白。

[0050] 2) 取200mL的烧杯,加入100g氢氧化钠/尿素水溶液,氢氧化钠和尿素的总质量为27g,氢氧化钠和尿素的质量比为0.59:1;取步骤1)得到的丝素蛋白5g放入该烧杯中,放置于-12℃的冰柜中持续溶解90h得到溶解液,期间每隔12h取出搅拌10min。

[0051] 3) 配制1mM的EDTA溶液200ml,并用0.1M的氢氧化钠调节pH为8.5,取其中的100ml

与120ml的浓度为0.02g/ml的碳酸氢钠溶液混合,剪取20cm的透析(截留分子量为7000kDA)袋于此混合溶液中沸腾处理12min,再置于剩下的100ml EDTA溶液中沸腾处理12min。

[0052] 4) 将步骤2)得到的溶解液倒入步骤3)处理好的透析袋中,然后置于超纯水中磁力搅拌透析72h,结束后取出透析袋进行超声处理(将透析袋置于装有超纯水的烧杯中,然后将烧杯置于超声(20min,300W)声波场中处理),除去其中被完全溶解的丝素蛋白只保留部分溶解的丝素纳米纤维带;然后4500rpm冷冻离心20min,即得到浓度在0.03g/ml左右的丝素纳米纤维水溶液。

[0053] 检测样品2、3发现,相对于丝素蛋白传统提取方法,样品2、3的丝素纳米纤维的 $\beta$ -sheet含量明显高于传统方法,样品2、3的丝素纳米纤维具有更好的力学性能。

[0054] 实施例2基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备

[0055] 一种基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料的制备方法,按照以下步骤操作(图3是本方法的流程图):

[0056] 1) 按照实施例1的方法制备丝素纳米纤维样品。

[0057] 2) 取硝酸银溶解于得到的丝素纳米纤维样品水溶液中,硝酸银与丝素纳米纤维水溶液的质量体积比为0.02%~0.08%,缓慢搅拌至硝酸银均匀分散于丝素纳米纤维水溶液,烧杯封口,在波长为254nm~365nm的紫外条件下从杯底照射4~6h,将混合溶液中的银离子还原为纳米银颗粒。

[0058] 3) 取步骤2)处理完毕的混合溶液,先-24~-18℃预冷2~4h,再-80~-70℃冷冻12~24h,最后将其真空冷冻干燥(温度为-5~0℃,压强为20~50pa,干燥时间为30~40h),然后切割,得到大小均匀、厚度一致的小圆块敷料。

[0059] 按照该方法制备敷料1、敷料2、敷料3。敷料1、敷料2、敷料3采用的原料分别是实施例1制备得到的丝素纳米纤维样品1、丝素纳米纤维样品2、丝素纳米纤维样品3。其中,敷料1制备过程中的实验参数具体为:硝酸银与丝素纳米纤维水溶液的质量体积比为0.02%,在波长为365nm的紫外条件下从杯底照射6h,然后先-24℃预冷2h,再-80℃冷冻12h,最后将其真空冷冻干燥(温度为-5℃,压强为50pa,干燥时间为30h),然后切割。敷料2制备过程中的实验参数具体为:硝酸银与丝素纳米纤维水溶液的质量体积比为0.04%,在波长为254nm的紫外条件下从杯底照射4h,然后先-18℃预冷4h,再-70℃冷冻24h,最后将其真空冷冻干燥(温度为0℃,压强为20pa,干燥时间为40h),然后切割。敷料3制备过程中的实验参数具体为:硝酸银与丝素纳米纤维水溶液的质量体积比为0.08%,在波长为300nm的紫外条件下从杯底照射6h,然后先-20℃预冷3h,再-80℃冷冻12h,最后将其真空冷冻干燥(温度为-2℃,压强为20pa,干燥时间为35h),然后切割。同时按照此方法采用传统提取方法得到的丝素蛋白制备载银抗菌敷料作为对照。

[0060] 观察得到的敷料的微观表面结构,图4是敷料的电镜扫描图(不同浓度的丝素纳米纤维按照敷料1的方法制备敷料),其中,图a是制备原料丝素纳米纤维的浓度为0.03g/mL,图b是制备原料丝素纳米纤维的浓度为0.06g/mL,表明制得的抗菌敷料表面微观结构式是多孔的、片层的,敷料上载银成功,丝素蛋白海绵内部呈现出多孔结构,随蛋白溶液浓度的增加,片层厚度增加,表明制备的丝素纳米纤维海绵具有三维多孔交联结构。

[0061] 图5是本发明方法制备的基于丝素纳米纤维的载银抗菌敷料与传统提取方法的丝素蛋白制备的敷料相比机械性能测试图。图6是本发明方法制备的基于丝素纳米纤维的载

银抗菌敷料与传统提取方法的丝素蛋白制备的敷料对比的降解性能检测图,其中,图a是制备原料丝素纳米纤维的浓度为0.03g/mL,图b是制备原料丝素纳米纤维的浓度为0.06g/mL。图5与图6表明制备的本发明方法制备的敷料基底具有优异的力学性能和生物可降解性能,并展示了与传统提取方法相比的优点。

[0062] 实施例3应用实例

[0063] 一、丝素纳米纤维基底载银抗菌敷料用于抑制不同种类的细菌生长:

[0064] 按照实施例2中敷料1的制备方法制备不同敷料,并设置对照,敷料中使用的硝酸银量为硝酸银与丝素纳米纤维水溶液的质量体积比分别为0% (对照)、0.02%、0.04%和0.08%。

[0065] 图7a、图7b和图7c分别展示的是载银抗菌敷料对大肠杆菌、绿脓杆菌和金黄色葡萄球菌生长的抑制作用,硝酸银使用量0、0.02%、0.04%、0.08%的敷料在各图中分别对应的位置是右上、左上、右下和左下。由平板表面的敷料周围的抑菌光圈的大小可以直观的看出,不同浓度的载银敷料对三种不同种类的细菌的生长都具有明显的抑制作用,根据敷料内部所含纳米银颗粒浓度的不同,所展示出的抗菌光圈的大小不同,并且抗菌光圈的大小与纳米银的浓度成正相关。

[0066] 二、丝素纳米纤维基底载银抗菌敷料的细胞相容性检测:

[0067] 将前面使用的载银抗菌敷料分别置于细胞完全培养基中,在细胞孵育箱中浸泡一段时间以后,取出浸泡后的培养液对NIH3T3成纤维细胞进行正常培养,一段时间后观察细胞生长形态,如图8所示,利用CCK-8对细胞进行计数测量,可以看出各浓度的载银敷料的浸泡液中培养的细胞在数量没有显著性差异,也说明该敷料不会影响细胞的正常生长,该抗菌敷料具有很好的细胞相容性。

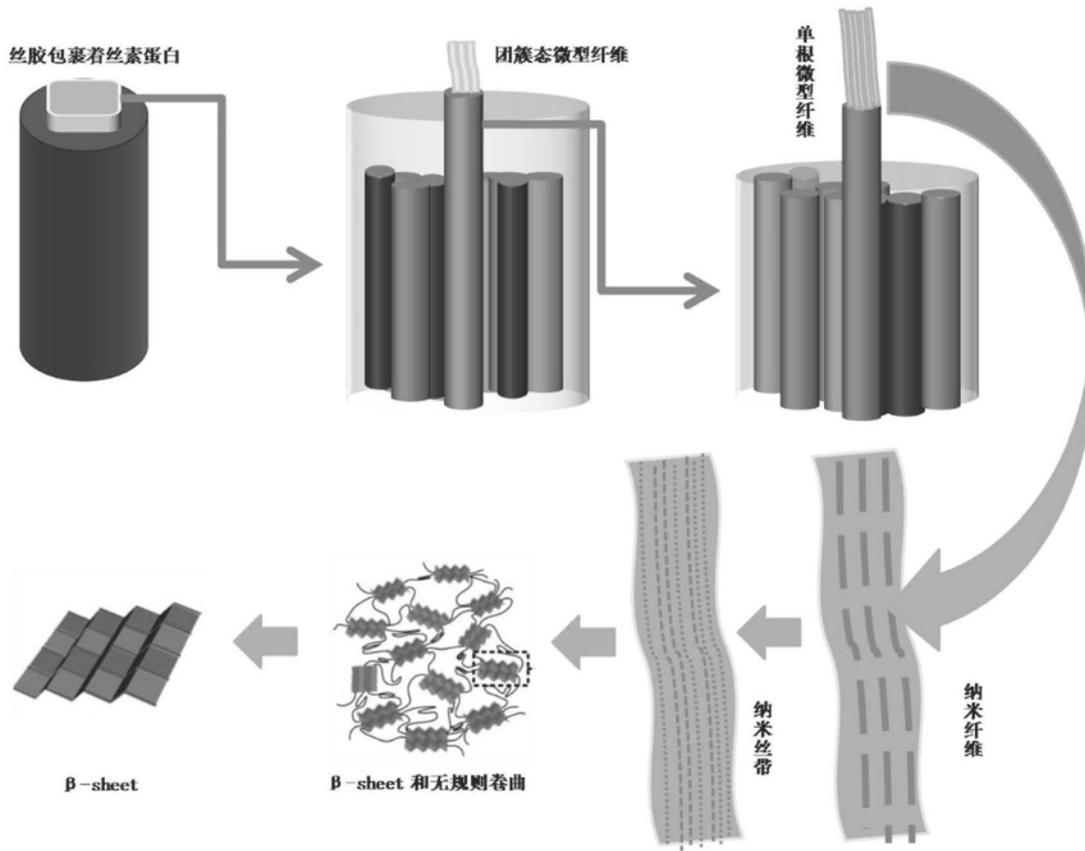


图1

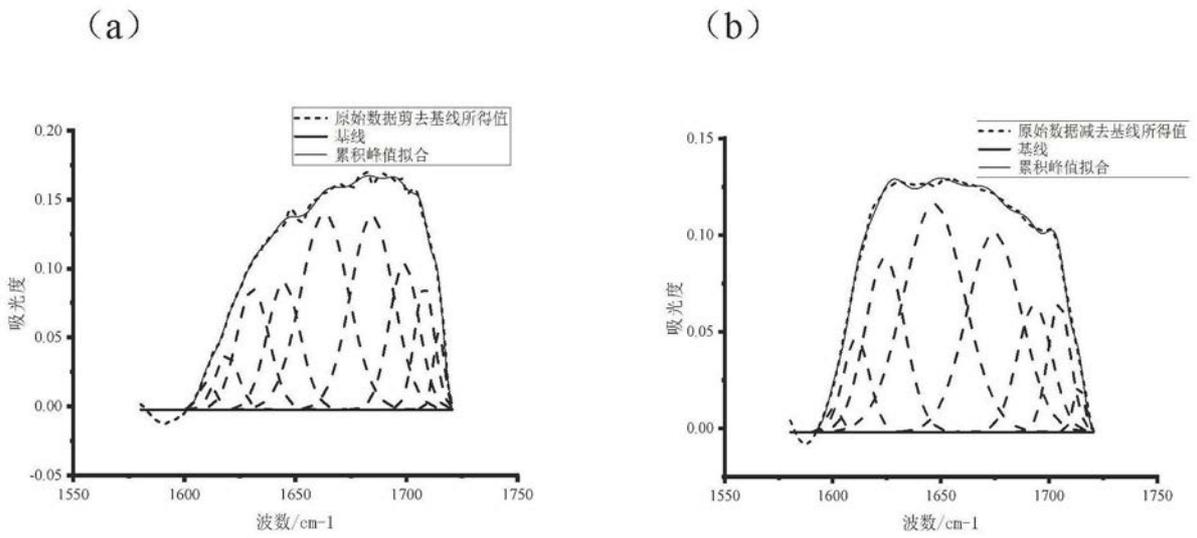


图2

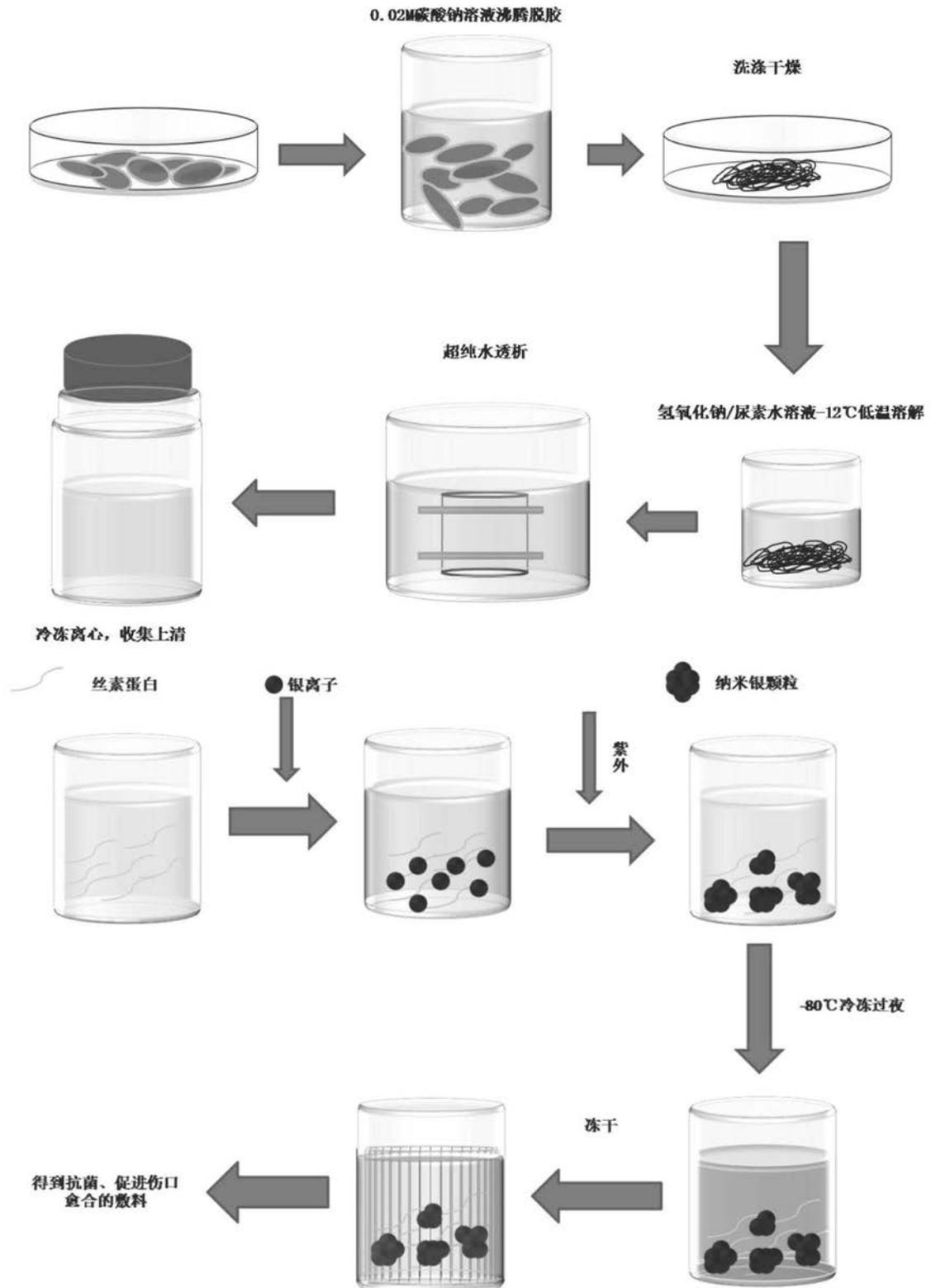
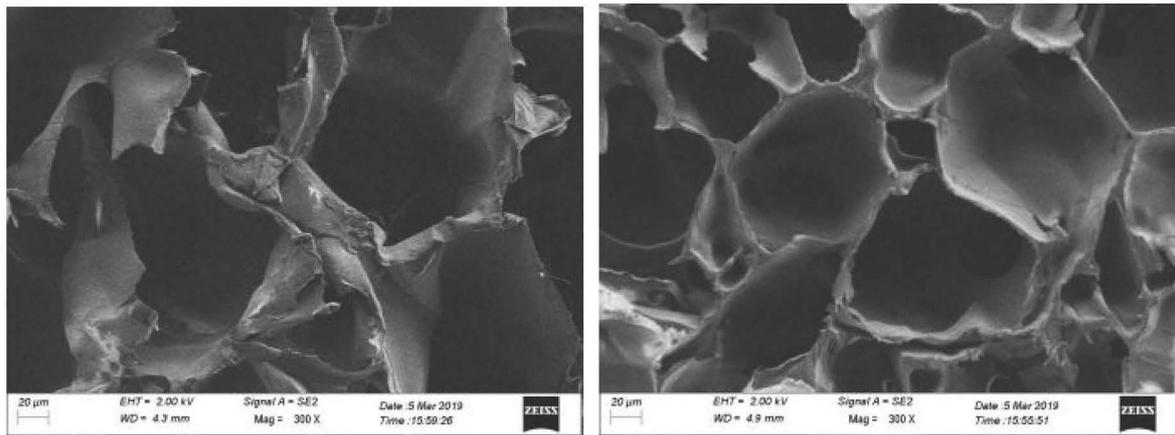


图3



(a)

(b)

图4

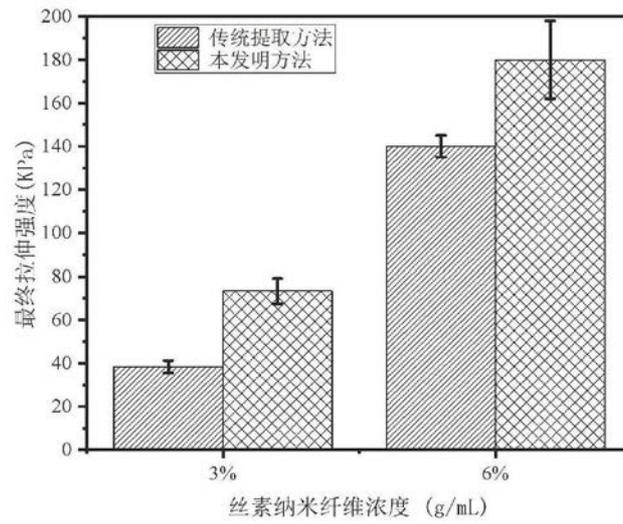


图5

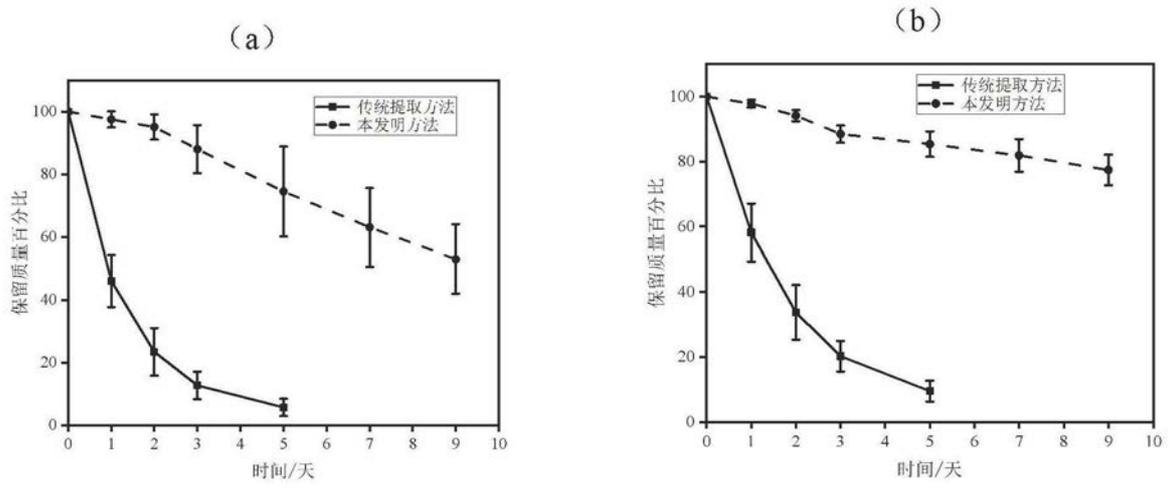


图6

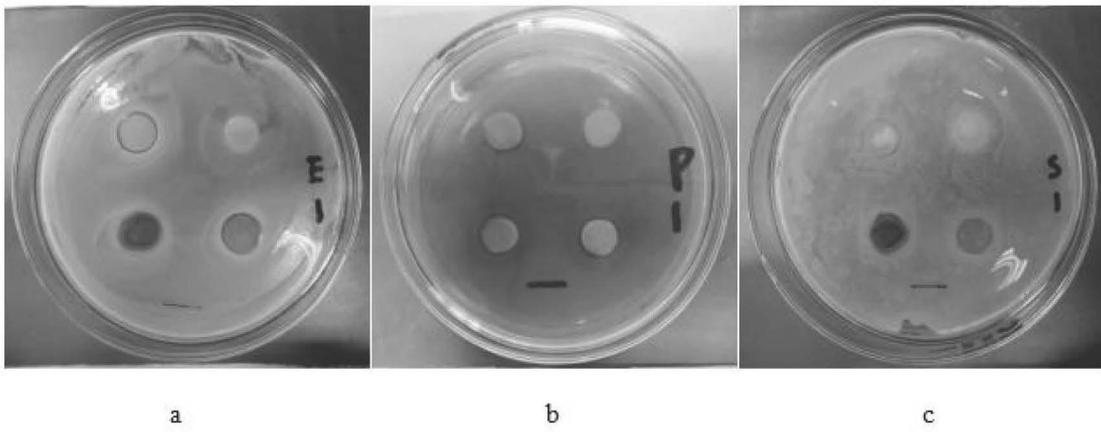


图7

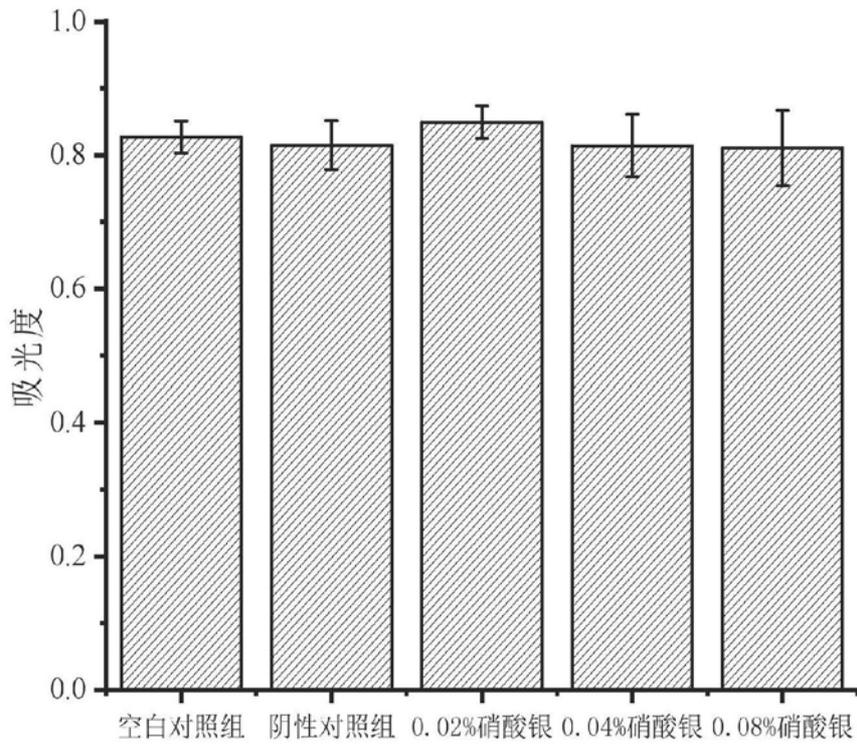


图8