

含纳米银的抗菌水凝胶研究*

杨立群¹, 林凯城¹, 沈荣春¹, 马林¹, 张黎明¹, 卢亢²
(1. 中山大学化学与化学工程学院//聚合物复合材料及功能材料教育部重点实验室//
新型聚合物材料设计合成与应用广东省高校重点实验室, 广东广州 510275;
2. 广东泰宝科技医疗用品有限公司, 广东普宁 515300)

摘要: 为赋予水凝胶的抗菌性能, 该文对含有纳米银的水凝胶进行了研究。首先在硝酸银溶液加入硼氢化钠还原剂和聚乙烯吡咯烷酮分散剂, 合成纳米银; 然后将不同体积的纳米银分散液加入到卡波姆溶液中, 搅拌下滴加氢氧化钠溶液, 制备含纳米银的水凝胶。紫外-可见光谱法的结果表明硝酸银被还原成纳米银, X-射线粉末衍射法证实纳米银被分散在水凝胶中, 并通过 Scherrer 公式计算出纳米银的尺寸约为 5 nm。溶胀性能测试结果表明水凝胶的溶胀率约为 900%。抑菌性能测试结果显示, 当水凝胶中纳米银浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (低于纳米银的安全浓度 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 水凝胶能有效抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长。所制备的抗菌水凝胶可望应用于创伤皮肤和皮肤疾病的外用治疗。

关键词: 水凝胶; 纳米银; 卡波姆; 抗菌性能; 溶胀性能

中图分类号: O635 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2011) 06-0058-04

Silver Nanoparticles-based Antibacterial Hydrogels

YANG Liqun¹, LIN Kaicheng¹, SHEN Rongchun¹, MA Lin¹, ZHANG Liming¹, LU Kang²

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering//DSAPM Lab//PCFM Lab,
Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Guangdong Tai-Bao Corporation of Medical Technology, Guangdong Pulin 515300, China)

Abstract: The silver nanoparticles-based hydrogels were investigated in order to increase the antibacterial property in this work. The silver nanoparticles were synthesized in aqueous silver nitrate solution by adding sodium borohydride as a reduction reagent and polyvinyl pyrrolidone as a dispersion aid. And then the silver nanoparticles-based hydrogels were further prepared in the carbomer solution by adding the dispersion solutions of silver nanoparticles with different volumes and sodium hydroxide solution. The result of UV-vis analysis indicated that the silver nanoparticles were successfully synthesized. The existence of silver nanoparticles in the hydrogels was confirmed by X-ray scattering analysis, and the diameters of silver nanoparticles were calculated to be about 5 nm according to the Scherrer equation. The swelling ratio of the hydrogels was determined to be 900%. The hydrogels exhibited strong antibacterial properties to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* with the content of silver nanoparticles 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$, which is lower than the safe content of silver nanoparticles 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The hydrogels are thus anticipated to be used for the treatment of wounded skin and skin disease.

Key words: hydrogel; silver nanoparticle; carbomer; antibacterial property; swelling property

* 收稿日期: 2011-07-13

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20974130); 教育部高校基本科研业务费中山大学青年教师培育资助项目 (09lgpy14); 广东省部产学研结合资助项目 (2009B090300122)

作者简介: 杨立群 (1969年生), 女, 副教授; E-mail: yanglq@mail.sysu.edu.cn

水凝胶是一种三维立体、以化学键或物理交联作用形成的亲水性聚合物网络, 它既有液体的运动性和流动性, 又具有固体的形稳性^[1]。一些药物分子能与亲水性聚合物共同形成水凝胶, 因此, 水凝胶在医疗行业具有广阔的应用前景^[1-2]。

据报道银离子具有很强的杀菌性^[3-4], 例如硝酸银和磺胺嘧啶银对革兰氏阴性菌、革兰氏阳性菌和霉菌均有强烈的杀灭作用。纳米银与传统的银离子杀菌剂相比, 具有更好的杀菌效果, 所以, 纳米银在医学上得到了广泛应用, 临床多用于烧伤创面、痤疮等皮肤疾病的治疗^[5-7]。研究表明, 纳米银的浓度高于 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, 细胞的正常增殖受到影响, 大量细胞坏死, 表现出明显的细胞毒性^[8-9]; 当纳米银的浓度在 25 ~ 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 对细胞有轻微的毒性, 浓度低于 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时已无细胞毒性^[9]。所以, 纳米银的安全使用浓度应低于 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

本工作以卡波姆为水凝胶基材, 制备含有纳米银的水凝胶, 通过紫外可见光谱 (UV-vis) 法和 X-射线粉末衍射 (XRD) 法研究水凝胶中纳米银的结构, 并研究水凝胶对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑制作用以及溶胀性能。

1 实验部分

1.1 原料及试剂

卡波姆 940 (广州市伊高化工有限公司); 聚乙烯吡咯烷酮 (PVP K90 广州巴泰化工有限公司); 硝酸银 (分析纯) 和硼氢化钠 (分析纯) 购自天津市大茂化学试剂厂; 十二水磷酸氢二钠 (分析纯) 和二水磷酸二氢钠 (分析纯) 购自广州化学试剂厂。

1.2 纳米银的合成

磁力搅拌下, 在 3 mL 硝酸银溶液 (2 mg/mL) 中加入 20 mg 聚乙烯吡咯烷酮, 形成均相溶液后, 缓慢滴加 3 mL 硼氢化钠溶液 (0.18 mg/mL), 室温反应 1 h, 得到浓度为 1 mg/mL 橘黄色纳米银溶液, 超声 10 min, 用蒸馏水稀释至纳米银的浓度 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

1.3 制备含纳米银的水凝胶

如表 1 所示, 将不同体积的纳米银溶液 (40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 分别加入至 2 mL 卡波姆溶液 (20 mg/mL) 中, 充分搅拌 30 min, 缓慢加入 0.1 mL 氢氧化钠溶液 ($\rho = 0.4\%$), 制备含纳米银的水凝胶。

表 1 水凝胶的制备

Table 1 Preparation of the hydrogels

水凝胶	V(纳米银)/mL	c(纳米银)/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
HNA - I	0.01	0.2
HNA - II	0.05	1.0
HNA - III	0.25	5.0
HNA - IV	0.50	10

1.4 UV-vis 分析

纳米银溶液 (0.1 mg/mL) 用紫外-可见分光光度计 (UV-3150, 日本岛津公司) 进行 UV-vis 分析。

1.5 XRD 分析

用 X-射线粉末衍射仪 (D-MAX 2200 VPC, 日本 RIGAKU 公司) 分析经冷冻干燥的水凝胶中纳米银的晶体结构, 工作电压 40 kV, 工作电流 20 mA 条件下, 2θ 的扫描范围为 10 ~ 50°, 扫描速率 3°/min。纳米银的晶体结构分析参考 JCPDS 卡片。

1.6 水凝胶的抗菌性能测试

参照文献 [10] 进行水凝胶的抗菌性能测试: 称取牛肉膏 (0.5 g)、蛋白胨 (1 g)、NaCl (0.5 g)、琼脂 (2 g) 溶于 100 mL 蒸馏水, 加热融化, 待溶液冷至室温时, 用 1.0 mol/L NaOH 溶液调 pH 至 7.2, 高压灭菌约 30 min。待溶液冷却至约 50 °C, 分别加入大肠杆菌种和金黄色葡萄球菌种, 冷却形成固体培养基。利用打洞法注入水凝胶样品, 于 37 °C 恒温下培养 30 h, 测量抑菌圈尺寸。

1.7 水凝胶的溶胀性能测试

水凝胶的溶胀率 (Swelling ratio) 定义为水凝胶在水溶液中吸水溶胀后的质量与干态水凝胶的质量的百分比。

准确称量干凝胶, 置于磷酸盐缓冲液 (PBS, pH 7.4) 中, 于 37 °C 下进行溶胀实验, 在一定时间间隔点取出水凝胶, 并用滤纸擦去水凝胶表面的水, 称量。

2 结果与讨论

2.1 纳米银的合成

在合成纳米银的过程中, 加入了生物相容性较好的 PVP 作为分散保护剂, 并采用超声振荡和搅拌。PVP 在还原硝酸银制备纳米银的过程中起到着重要的作用^[11]: ①PVP 中的 N 和 O 原子提供电子对给 Ag^+ 的 sp 轨道, 形成配合物, 使 Ag^+ 更容易被还原单质银, 有利于形成银纳米晶核; ②PVP 附

着在纳米银颗粒表面,阻止了纳米银发生团聚,起到了分散稳定的作用。

图 1 为合成纳米银反应溶液的 UV-vis 谱图,在波长为 392 nm 处出现了一个较强的吸收峰,归属于纳米银的等离子共振吸收峰^[12],证明在硼氢化钠的还原作用和聚乙烯吡咯烷酮的分散稳定作用下,硝酸银被还原成纳米银。

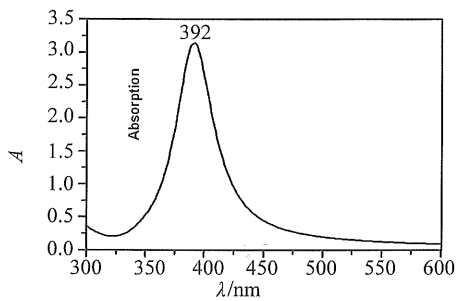


图 1 纳米银溶液的 UV-vis 谱图

Fig. 1 UV-vis spectrum of the silver nanoparticle's dispersion

2.2 含纳米银水凝胶的制备

卡波姆是一类含有聚烯基聚醚交联的弱酸性丙烯酸聚合物,在氢氧化钠溶液中,卡波姆的碳链骨架上产生负电荷,排斥力使其交联结构伸展,形成水凝胶。据文献报道,纳米银安全使用的浓度低于 25 μg/mL^[9],本工作以卡波姆为水凝胶基材,制备了一系列含纳米银的水凝胶(图 2)。可以看出这些水凝胶的黄色不断加深,表明水凝胶中纳米银的含量逐渐增大。

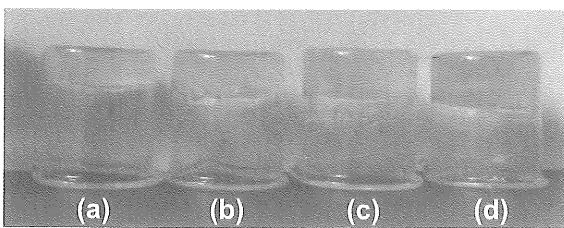


图 2 水凝胶照片: (a) HNA-I, (b) HNA-II, (c) HNA-III, (d) HNA-IV

Fig. 2 The photos of hydrogels: (a) HNA-I, (b) HNA-II, (c) HNA-III and (d) HNA-IV

2.2 水凝胶中纳米银的晶体结构分析

通过 XRD 方法对于态水凝胶中纳米银的晶体结构进行了分析。如图 3 所示,在 2θ 为 38.1° 处出现了较强的晶体衍射峰。参考 JCPDS 卡,归属于立方晶系银的 (111) 晶面的衍射峰。此外,在 2θ 为 44.2° 处出现的较弱晶体衍射峰,归属于立方晶

系银的 (200) 晶面的衍射峰。这些结果证实水凝胶中含有纳米银。

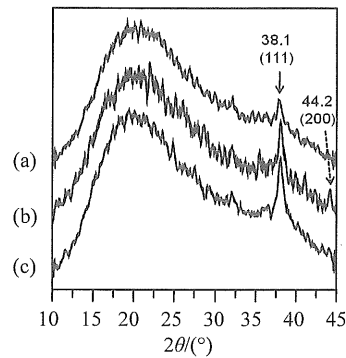


图 3 水凝胶的 XRD 图: (a) HNA-II, (b) HNA-III, (c) HNA-IV

Fig. 3 XRD patterns of the hydrogels: (a) HNA-II, (b) HNA-III, (c) HNA-IV

根据 XRD 理论,结合 Scherrer 公式(式 1)^[13],通过水凝胶在 2θ 为 38.1° 处的晶体衍射峰,计算出其中含有纳米银大小约为 5 nm。

$$D = 0.9\lambda / \beta \cos \theta \quad (1)$$

式中, D 为晶体平均直径, λ 为 X 射线波长 (0.154 18 nm), β 为衍射峰的半高宽。

2.3 水凝胶的抗菌性能分析

对水凝胶的抗菌性能进行了测试,结果如图 4 所示,抑菌圈尺寸列于表 2。可以观察到抑菌圈的直径随着水凝胶中纳米银的加入量增大,表明水凝胶的抗菌性能在不断提高。并且水凝胶对金黄色葡萄球菌生长的抑制作用稍高于大肠杆菌,这类似于文献报道的纳米银制剂抑菌作用^[14-15]。因此,该抗菌水凝胶在皮肤外用治疗方面具有较好的应用前景。

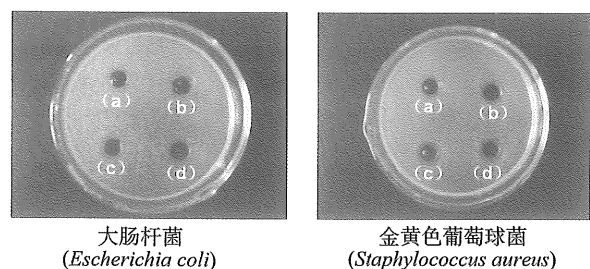


图 4 水凝胶抑菌照片: (a) HNA-I, (b) HNA-II, (c) HNA-III, (d) HNA-IV

Fig. 4 The antibacterial photos of hydrogels: (a) HNA-I, (b) HNA-II, (c) HNA-III and (d) HNA-IV

表 2 水凝胶的抗菌性能分析

Table 2 The antibacterial property of hydrogels

水凝胶	抑菌圈尺寸/cm	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
HNA-I	0.60	0.70
HNA-II	0.70	0.80
HNA-III	0.75	1.00
HNA-IV	0.85	1.03

2.4 水凝胶的溶胀性能分析

卡波姆类水凝胶的溶胀性取决于丙烯酸聚合物交联结构的伸展程度, 越容易伸展的丙烯酸聚合物, 其形成水凝胶后溶胀率越高。抗菌水凝胶的溶胀性能如图 5 所示。大约在 30 min 后, 4 种水凝胶的溶胀率基本达到恒定值, 溶胀率约为 900%。

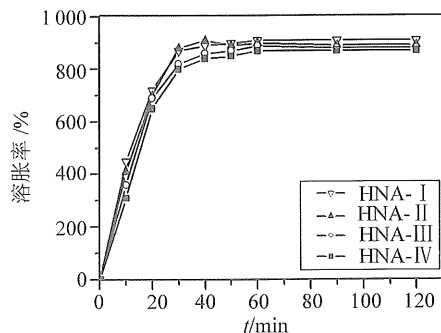


图 5 水凝胶的溶胀曲线

Fig. 5 Swelling curves of hydrogels

3 结 论

以卡波姆为水凝胶基材, 制备出含有纳米银的抗菌水凝胶。UV-vis 法的结果表明, 在硼氢化钠的还原作用和聚乙烯吡咯烷酮的分散稳定作用下, 硝酸银被还原成纳米银。X-射线粉末衍射法的结果证实水凝胶中存在纳米银, 并通过 Scherrer 公式计算出纳米银的尺寸约为 5 nm。水凝胶能有效抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长, 其溶胀率约为 900%。

参考文献:

[1] HAMIDI M, AZADI A, RAFIEI P. Hydrogel nanoparticles in drug delivery [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2008, 60: 1638 - 1649.

[2] YANG L, LAN Y, GUO H, et al. Ophthalmic drug-loaded N,O-carboxymethyl chitosan hydrogels: synthesis, *in vitro* and *in vivo* evaluation [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2010, 31: 1625 - 1634.

[3] 廖镇江, 邹京宁, 吕国宁, 等. 硝酸银软膏对 II 度烧伤创面治疗作用的多中心临床研究 [J]. *中华烧伤杂志*, 2006, 22(5): 359 - 361.

[4] 李辉. 磺胺嘧啶银临床应用回顾 [J]. *河南北方学院学报: 医学版*, 2005, 22(2): 71 - 73.

[5] 尾崎又治, 架集诚一郎. 纳米微粒导论 [M]. 赵健泽, 张联盟, 译. 武汉: 武汉工业大学出版社, 1991.

[6] 赵维娟, 黄通瑞, 张梅. 纳米银水凝胶体外皮肤渗透作用研究 [J]. *医药导报*, 2009, 28(8): 1006 - 1008.

[7] 郭运学, 田华, 武钦学, 等. 纳米银外用抗菌凝胶治疗痤疮炎性丘疹疗效观察 [J]. *中国实用医药*, 2010, 5(15): 75 - 76.

[8] CARLSON C, HUSSAIN S M, SCHRAND A M, et al. Unique cellular interaction of silver nanoparticles: size-dependent generation of reactive oxygen species [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2008, 112: 13608 - 13619.

[9] 张富强, 余文, 傅远飞. 六种纳米载银无机抗菌剂的体外细胞毒性比较 [J]. *中华口腔医学杂志*, 2005, 40(6): 504 - 507.

[10] MA Y, YI J, ZHANG L. A facile approach to incorporate silver nanoparticles into dextran-based hydrogels for antibacterial and catalytical application [J]. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 2009, 46: 643 - 648.

[11] HE R, QIAN X, YIN J, et al. Formation of silver dendrites under microwave irradiation [J]. *Chemical Physics Letters*, 2003, 369: 454 - 458.

[12] 樊新, 黄可龙, 刘素琴, 等. 化学还原法制备纳米银粒子及其表征 [J]. *功能材料*, 2007, 6(38): 996 - 1002.

[13] PRAKASH I, MURALIDHARAN P, NALLAMUTHU N, et al. Preparation and characterization of nanocrystallite sicuprous oxide [J]. *Materials Research Bulletin*, 2007, 42: 1619 - 1624.

[14] 陈美婉, 吴红梅, 刘长秀, 等. 不同纳米银制剂抑菌作用的实验研究 [J]. *中国消毒学杂志*, 2009, 26(2): 132 - 134.

[15] 谢小保, 李文茹, 曾海燕, 等. 纳米银对大肠杆菌的抗菌作用及其机制 [J]. *材料工程*, 2008, 10: 106 - 109.