

学校编码：10384

分类号_____密级_____

学号：24520121153161

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

单宁酸银凝胶的合成、表征和抗菌活性的
实验研究

A Green Synthesis of Silver Gel Using Tannic Acid , its
Characterization and Antibacterial Activity

陈 玲 凤

指导教师姓名：蔡少甫副教授

专 业 名 称：外科学

论文提交日期：2015 年 4 月

论文答辩时间：2015 年 5 月

学位授予日期：2015 年 6 月

答辩委员会主席：_____

评 阅 人：_____

2015 年 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1.经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2.不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

英文缩写一览表

英文缩写	英文全称	中文全称
UV-VIS	ULTRAVIOLET-VISIBLE SPECTROSCOPY	紫外可见吸收光谱
XPS	X-RAY PHOTOELECTRON SPECTROSCOPY	X 射线光电子能谱
NMR	NUCLEAR MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY	核磁共振波谱
MALDI-TO F-MS	MATRIX-ASSISTED LASER DESORPTION/ IONIZATION TIME OF FLIGHT MASS SPECTROMETRY	基质辅助激光解吸电离飞行时 间质谱
ESI-MS	ELECTROSPRAY IONIZATION OF MASS SPECTROMETRY	电喷雾质谱
MTT	THIAZOLYL BLUE TETRAZOLIUM BROMIDE	噻唑蓝
DMSO	DIMETHYL SULFOXIDE	二甲基亚砷
MIC	MINIMAL INHIBITION CONCENTRATION	最小抑菌浓度
DA	DALTON	统一原子质量单位
M	MOL/L	摩尔每升
PBS	PHOSPHATE BUFFERED SALINE	磷酸盐缓冲液
SPR	SURFACE PLASMON RESONANCE	表面等离子振荡吸收峰

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘 要

研究目的:

纳米银的绿色合成是近年来纳米材料研究的热点之一,现有关于纳米银的制备方法和抗菌性能研究尚缺乏统一标准。单宁酸制备纳米银凝胶是一种简便高效的方法,但其抗菌性能优劣和能否将其应用于临床治疗,国内外未见相关报道。本实验采用一种简便高效的方法制备出稳定性好和粒径均匀的单宁酸银凝胶,并对单宁酸银凝胶进行多种表征分析。在表征单宁酸银相关化学结构性质的基础上,制备出三组不同数量级别的单宁酸银抗菌凝胶,采用 MTT 法对其进行抗菌性能测定,优化出抗菌最佳浓度,探讨了单宁酸银凝胶对四种不同细菌的抗菌效果,深入研究单宁酸银浓度与抗菌效果的量效关系,为单宁酸银凝胶的临床抗菌应用提供理论依据。

研究方法:

- 1、以单宁酸作为还原剂和保护剂合成纳米银制剂。对纳米银的合成方法进行实验参数优化:如 pH 和温度等形成条件、反应物摩尔浓度配比;
- 2、单宁酸银结构的表征分析:运用紫外可见吸收光谱、X 射线光电子能谱、核磁共振氢谱和核磁共振碳谱、基质辅助激光解吸电离技术、电喷雾质谱等方法进行表征分析,推断其配位络合作用和结构性能特征;
- 3、从 10^{-5} 到 10^{-3} 不同数量级条件下,合成低、中、高三组不同浓度的单宁酸银产物,并分别测试三组中稳定性最高的最佳浓度。
- 4、所合成的单宁酸纳米银产物具有高效的抗菌能力,采用多孔板-MTT 法对细菌活性进行抗菌性能测试,得到单宁酸银凝胶对大肠杆菌、金葡菌、白色念珠菌、绿脓杆菌的抑制率,并研究浓度量效关系,探讨此种合成方法得到的单宁酸银纳米凝胶的最佳配方比例,及能否作为潜在的烧伤创面治疗用药。

研究结果:

- 1、以单宁酸作为还原剂和稳定剂,在合适的实验条件下还原硝酸银绿色合成单宁酸银纳米凝胶,用 UV-vis、XPS、NMR、ESI、MALDI 对凝胶产物进行

了表征分析，UV-vis 结果显示单宁酸与银离子的最佳络合比例为 1:20；XPS 结果显示单宁酸银凝胶中表面的银以离子状态和单质状态两种形式共同存在；NMR、ESI、MALDI 结果显示单宁酸的酚羟基参与了配位作用，且单宁酸与硝酸银发生络合作用，形成螯合物。

2、配制了低、中、高三组不同数量级别的单宁酸银抗菌凝胶，通过紫外可见光谱对三组进行表征分析以观察每组的最佳稳定浓度，结果为：低、中、高质量分数的抗菌凝胶最佳浓度分别为 $41\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $245\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2095\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

3、对三组抗菌凝胶分别以金黄色葡萄球菌、绿脓杆菌、白色念球菌、大肠杆菌为供试细菌，进行抗菌性能测试，结果显示：四种细菌对低浓度抗菌凝胶均最为敏感，说明低浓度组抗菌活性最强。

研究结论：

1、建立了一种简便、稳定的纳米银凝胶制备方法，并对其结构进行表征分析；

2、单宁酸银抗菌凝胶具有良好的抗菌效果，确定了不同细菌的抗菌最佳浓度。

关键词：单宁酸 纳米银 抗菌凝胶

Abstract

Objective:

The green synthesis of silver nanoparticles have attracted attention among the development of nanomaterials, while there exists no uniform standards on their preparation and antibacterial study. Among the various options, the synthesis of silver nanoparticles using tannic acid is one of the most effective method. Though it's still a question whether the silver nanoparticles can be used in clinical treatment. In this study, an gel formulation containing well-shaped silver nanoparticles were prepared, and the gel formulation were characterized by several methods to study the chemical structure. Then three groups contain different concentrations of antibacterial gel formulation were prepared, and MTT assay was used to evaluate the antibacterial activities, and further study the mechanism, providing theoretical basis for the clinical application of the gel formulation.

Content:

- 1、 Using tannic acid as the protective agent and reducing agent, by means of adjusting the amount of silver nitrate, the temperature volume and the concentration ratio of reactants, well-shaped silver nanoparticles were prepared.
- 2、 The prepared silver nanoparticles were characterized by UV-vis、 XPS、 NMR、 ESI、 MALDI.
- 3、 Three groups contain different concentrations of antibacterial gel formulation were prepared and the most stable concentration were tested out.
- 4、 MTT assay was used to evaluate the antibacterial activities. The results shows that the prepared gel formulation has good antibacterial effect to the bacterial.

Results:

Using tannic acid as the protective agent and reducing agent to prepare silver nanoparticles. The prepared silver nanoparticles were characterized by UV-vis、 XPS、 NMR、 ESI、 MALDI. The results of UV-vis shows that the optimal ratio of tannic acid

and silver ions is 1: 20;The results of XPS shows that silver ions and elemental state were both exists on the surface of silver nanoparticles;The results of NMR、ESI、MALDI shows phenolic-OH groups is capable of donating electrons , thus each tannic acid molecule is able to chelate with silver ions. Three groups contain different concentrations of antibacterial gel formulation were prepared, and the results of UV-vis suggests that he most stable concentration in each group is $41\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $245\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2095\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

Conclusion:

- 1、 Set up a simple and stable way to prepare silver nanoparticles and antibacterial gel formulation, the chemical structure was characterized ;
- 2、 The prepared gel formulation has good antibacterial effect to the bacteria, four different kinds of bacteria were examined with MTT essay, and the optimal antibacterial concentration was determined.

Key words: Tannic acid;Silver nanopaticles;antibacterial

目 录

摘 要.....	I
ABSTRACT.....	III
目 录.....	V
TABLE OF CONTENTS.....	VIII
第一章 前 言	1
1.1 纳米材料的简介	1
1.2 纳米银的研究	2
1.2.1 纳米银颗粒的形成	3
1.2.2 纳米银的制备方法	4
1.2.3 纳米银的形态尺寸调控研究	6
1.2.4 纳米银的表征方法	6
1.2.5 纳米银在医药方面的应用	7
1.3 单宁酸研究	8
1.3.1 单宁酸的结构与性质	9
1.3.2 单宁酸的分离提取及纯化研究	10
1.3.3 单宁酸与金属离子形成配合物的研究	11
1.3.4 单宁酸的表征方法	12
1.4 烧伤科常用抗菌剂	13
1.4.1 抗菌剂的概念与分类	13
1.4.2 烧伤外用抗菌剂	14
1.5 抗菌性能评价与测试	16
第二章 纳米银的绿色合成与表征研究	19
2.1 实验试剂及仪器	20
2.1.1 实验试剂	20

2.1.2 实验仪器及设备	20
2.1.3 实验主要原料的选择	21
2.2 实验过程（单宁酸/纳米银凝胶的制备）	22
2.3 表征手段与检测方法	22
2.4 实验结果与讨论	23
2.4.1 单宁酸与硝酸银反应机理分析	23
2.4.2 实验参数与制备条件的优化	24
2.4.3 UV-vis 分析	24
2.4.4 XPS 分析	26
2.4.5 NMR 分析	27
2.4.6 ESI 分析	28
2.4.7 MALDI 分析	29
第三章 纳米银抗菌凝胶的制备与表征研究	31
3.1 实验试剂及仪器	31
3.1.1 实验试剂	31
3.1.2 实验仪器及设备	31
3.1.3 纳米银抗菌凝胶制备原理	31
3.2 实验过程与表征方法	32
3.2.1 紫外-可见光谱分析	32
3.2.2 抗菌凝胶的配制	32
3.3 实验结果与讨论	36
3.3.1 低浓度抗菌凝胶 UV-vis 分析	36
3.3.2 中等浓度抗菌凝胶 UV-vis 分析	36
3.3.3 高浓度抗菌凝胶 UV-vis 分析	37
3.4 小结	38
第四章 纳米银凝胶的抗菌性能研究	39
4.1 实验材料	39
4.1.1 主要试剂	39
4.1.2 主要实验仪器	39

4.1.3 菌株	40
4.2 实验方法	40
4.3 结果分析与讨论	41
结 论	49
创 新 与 展 望	51
参 考 文 献	53
致 谢	61

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Contents

ABSTRACT IN CHINESE	I
ABSTRACT.....	III
ABSTRACT IN ENGLISH	V
TABLE OF CONTENTS.....	VIII
CHAPTER 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Introduction of nanomaterials.....	1
1.2 The research of silver nanoparticles	2
1.2.1 Introduction of nanomaterials	3
1.2.2 The formation of silver nanoparticles	4
1.2.3 The preparation of silver nanoparticles	6
1.2.4 Shape control synthesis of silver nanoparticles	6
1.2.5 The characterization of silver nanoparticles	7
1.3 The research of tannic acid	8
1.3.1 Structure and properties of tannic acid	9
1.3.2 Separation and extraction method of tannic acid.....	10
1.3.3 The preparation of silver nanoparticles	11
1.3.4 Tannic acid and metal ions.....	12
1.4 Antibacterial agents of burns infection.....	13
1.4.1 Introduction of antibacterial agents	13
1.4.2 Introduction of antibacterial agents of burns infection.....	14
1.5 Evaluation of antibacterial activities	16
CHAPTER 2 THE PREPARATION AND INTRODUCTION OF SILVER NANOPARTICLES.....	19
2.1 Experimental materials.....	20
2.1.1 Experimental reagents.....	20

2.1.2 Experimental instruments	20
2.1.3 Experimental raw material	21
2.2 Experimental method	22
2.3 Characterization of final products and test methods	22
2.4 Experimental results	23
2.4.1 Mechanism of reaction	23
2.4.2 Selection of experimental conditions	24
2.4.3 UV-vis analysis	24
2.4.4 XPS analysis	26
2.4.5 NMR analysis	27
2.4.6 ESI analysis	28
2.4.7 MALDI analysis	29
CHAPTER 3 THE PREPARATION AND CHARACTERIZATION	
OF ANTIBACTERIAL GEL FORMULATION	31
3.1 Experimental materials	31
3.1.1 Experimental reagents	31
3.1.2 Experimental instruments	31
3.1.3 mechanism of preparation	31
3.2 Experimental methods and characterization	32
3.2.1 Experimental methods	32
3.2.2 Characterization	32
3.3 Experimental results and discussions	36
3.3.1 UV-vis analysis of low concentration	36
3.3.2 UV-vis analysis of moderate concentration	36
3.3.3 UV-vis analysis of high concentration	37
3.4 Brief summary	38
CHAPTER 4 THE ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF GEL	
FORMULATION	39

4.1 Experimental materials	39
4.1.1 Experimental reagents.....	39
4.1.2 Experimental instruments	39
4.1.3 Bacterial strain	40
4.2 Experimental methods and characterization	40
4.3 Experimental results	41
CONCLUSION	49
INNOVATION	51
REFERENCE	53
ACKNOWLEDGEMENT	61

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.