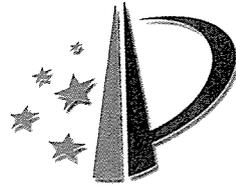


证书号第 1459946 号



# 发明专利证书

发明名称：不同形态丝素的制备方法

发明人：李翼；赵政；胡军岩；陈爱政

专利号：ZL 2010 1 0609121.8

专利申请日：2010 年 12 月 28 日

专利权人：香港理工大学

授权公告日：2014 年 08 月 13 日

本发明经过本局依照中华人民共和国专利法进行审查，决定授予专利权，颁发本证书并在专利登记簿上予以登记。专利权自授权公告之日起生效。

本专利的专利权期限为二十年，自申请日起算。专利权人应当依照专利法及其实施细则规定缴纳年费。本专利的年费应当在每年 12 月 28 日前缴纳。未按照规定缴纳年费的，专利权自应当缴纳年费期满之日起终止。

专利证书记载专利权登记时的法律状况。专利权的转移、质押、无效、终止、恢复和专利权人的姓名或名称、国籍、地址变更等事项记载在专利登记簿上。



局长  
申长雨

申长雨





# (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102558292 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 11

(21) 申请号 201010609121. 8

(22) 申请日 2010. 12. 28

(71) 申请人 香港理工大学

地址 中国香港九龙红磡

(72) 发明人 李翼 赵政 胡军岩 陈爱政

(74) 专利代理机构 深圳市顺天达专利商标代理

有限公司 44217

代理人 郭伟刚

(51) Int. Cl.

C07K 1/14(2006. 01)

C07K 14/435(2006. 01)

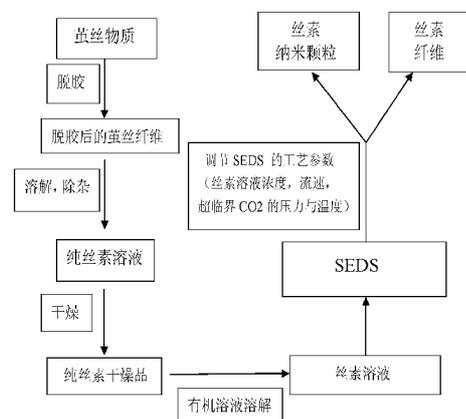
权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 5 页

## (54) 发明名称

不同形态丝素的制备方法

## (57) 摘要

本发明公开了一种不同形态丝素的制备方法,首先去除茧丝物质中的丝胶部分,再经干燥得到脱胶后的茧丝物质干燥品;接着将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解,并去除杂质得到丝素溶液,再经干燥得到丝素干燥品;然后将丝素干燥品溶于有机溶剂,配制丝素有机溶液;最后采用超临界流体强制分散溶液方法制备不同形态丝素,包括丝素纳米颗粒和丝素纤维。本发明的制备方法安全、简单且成本低廉,且得到的丝素纳米颗粒或纤维产品具备独特的物理化学性质,可用于纺织、生物医学等多个领域。



1. 一种不同形态丝素的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:
  - S1:去除茧丝物质中的丝胶部分,再经干燥得到脱胶后的茧丝物质干燥品;
  - S2:将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解,并去除杂质得到丝素溶液,再经干燥得到丝素干燥品;
  - S3:将丝素干燥品溶于有机溶剂,配制丝素有机溶液;
  - S4:采用超临界流体强制分散溶液方法制备不同形态丝素,  
当所述丝素有机溶液中的丝素浓度小于等于 2%时,所述不同形态丝素为丝素纳米颗粒;  
当所述丝素有机溶液中的丝素浓度大于 2%且小于 6%时,所述不同形态丝素为丝素纤维;  
当所述丝素有机溶液中的丝素浓度大于等于 6%时,所述不同形态丝素为丝素块状物。
2. 根据权利要求 1 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述茧丝物质为茧丝、绢丝、生丝中的至少一种。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述去除茧丝物质中的丝胶部分的方法包括利用煮沸的碳酸钠溶液或高温高压水,所述高温高压水是指温度 100 ~ 130℃且压力为 0 ~ 0.18MPa 的水。
4. 根据权利要求 1 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述步骤 S2 中,将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解到氯化锂溶液或  $\text{CaCl}_2 : \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$  的三元溶液中,所述三元溶液中  $\text{CaCl}_2 : \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$  按摩尔比为 1 : 2 : 8。
5. 根据权利要求 1 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述步骤 S2 中的干燥处理为喷雾干燥、冷冻干燥或烘干。
6. 根据权利要求 1 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述步骤 S3 中的有机溶剂为六氟异丙醇或二甲亚砜。
7. 根据权利要求 1 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述步骤 S4 中,所述采用超临界流体强制分散溶液方法制备不同形态丝素的过程中,所述丝素有机溶液的流速为 0 ~ 8ml/min。
8. 根据权利要求 1 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述步骤 S4 中,所述采用超临界流体强制分散溶液方法制备不同形态丝素的过程中,超临界流体为超临界二氧化碳。
9. 根据权利要求 9 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述超临界二氧化碳的压力为 8 ~ 30MPa。
10. 根据权利要求 8 或 9 所述的不同形态丝素的制备方法,其特征在于,所述超临界二氧化碳的温度为 32 ~ 45℃。
11. 一种丝素纳米颗粒的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:
  - S1:去除茧丝物质中的丝胶部分,再经干燥得到脱胶后的茧丝物质干燥品;
  - S2:将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解,并去除杂质得到丝素溶液,再经干燥得到丝素干燥品;
  - S3:将丝素干燥品溶于有机溶剂,配制丝素浓度为 0.4%~0.6%的丝素有机溶液;
  - S4:采用超临界流体强制分散溶液方法制备丝素纳米颗粒,其中,丝素有溶液的流速

为 0.4 ~ 0.6ml/min, 超临界流体为超临界二氧化碳, 所述超临界二氧化碳的温度为 33 ~ 35°C, 压力为 10 ~ 12MPa。

12. 一种丝素纤维的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

S1: 去除茧丝物质中的丝胶部分, 再经干燥得到脱胶后的茧丝物质干燥品;

S2: 将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解, 并去除杂质得到丝素溶液, 再经干燥得到丝素干燥品;

S3: 将丝素干燥品溶于有机溶剂, 配制丝素浓度为 2% ~ 4% 的丝素有机溶液;

S4: 采用超临界流体强制分散溶液方法制备丝素纤维, 其中, 丝素有溶液的流速为 2 ~ 4ml/min, 超临界流体为超临界二氧化碳, 所述超临界二氧化碳的温度为 33 ~ 35°C, 压力为 10 ~ 12MPa。

## 不同形态丝素的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及材料制备技术领域,尤其涉及一种不同形态丝素的制备方法。

### 背景技术

[0002] 来源于家蚕的丝素蛋白是一种由5507个氨基酸组成的生物大分子蛋白质。这种蛋白质的主要成分甘氨酸、丙氨酸和丝氨酸组成的重复结构(-Gly-Ala-Gly-Ala-Gly-Ser-)导致丝素纤维里形成了反平行 $\beta$ -折叠结构。由于具备良好的生物相容性和降解性,适度的吸湿和保湿性,和紫外吸收功能,丝素粉末已经被广泛的作为添加剂和基材应用于食品工业和特殊化妆品领域。除此以外,丝素也以包括膜、三维支架、凝胶、电纺丝和微球等的多种形式作为一种药物控制释放载体在生物医药材料领域得到大量应用。

[0003] 现有技术公开了一些制备丝素粉末的方法。例如,已有专利直接研磨丝素纤维或者先用化学方法让丝线产生脆性从而再研磨它而获得粉末。然而这种方法获得的丝素粉末尺寸比较大而且不是球形,所以限制了其在特殊化妆品以及制药领域的应用。另有专利介绍了其他制备丝素粉末的过程。这个过程由几个部分组成,溶解脱过胶的丝素纤维在中性盐比如硝酸钙溶液里并且透析该溶液出去盐分和小分子,最后利用喷雾干燥的过程获得粉末。然而此丝素粉末由于其亲水性能而不适合用作化妆品的添加剂。还有专利描述了一种制备直径3-6 $\mu\text{m}$ 的结晶性丝素粉末的方法。此方法主要是将丝织物放入95 $^{\circ}\text{C}$ 或更高温度的碱性溶液里,以降低丝的强度,接着将强度已经降低的丝继续用碱处理并且干燥,最后将干燥后的丝研磨成精细的丝素粉末。另有专利则公开了一种制备尺寸小于3 $\mu\text{m}$ 的结晶性丝素粉末的技术。首先将丝放置于100-150 $^{\circ}\text{C}$ 和1-5个大气压的碱性溶液,让丝的强度减少到0.02g/d左右或者更小。然后将除去盐分以及干燥后得到的丝碾磨成直径小于小于3 $\mu\text{m}$ 的结晶性丝素粉末,这种粉末有着优异的性能,能广泛应用于不同的领域。

[0004] 现有的公开技术只限于制备微尺寸的丝素粉末。目前研究表明,纳米尺度相对与微米尺度的颗粒有许多优点,比如能更好地穿透上皮细胞,更高的载药量,以及更多的给药或者利用形式如口服或者吸入或者涂抹渗透。有一个最新专利公开了制备直径为30-60纳米的丝素颗粒的方法。该方法主要是利用过量的有机溶剂与水溶性的丝素溶液混合以诱导丝素分子 $\beta$ -折叠结构的产生,从而产生纳米丝素颗粒,由于良好的生物相容性,这种纳米丝素颗粒在化妆品,药物载体等领域有着很好的应用前景。

[0005] 有关丝素纤维的制备方法,大部分的专利都试图找到合适的溶剂去制备丝素溶液,从而纺制成纤维。例如已有专利公开了一种制备纤维或者膜的方法,该方法主要是利用乙二胺铜,氢氧化铜-氨水,氢氧化铜-碱-甘油,溴化锂,硫氰酸钠,或者硝酸盐或者硫氰酸锌,钙或者镁水溶液来溶解丝素蛋白,然后透析除去杂质。另有专利描述了另一种制备丝素纤维的方法。首先将丝素溶解在一种盐溶液中,然后除盐,除水,接着重新溶解丝素于六氟异丙醇中,最后通过喷丝口去纺制丝素纤维。

### 发明内容

[0006] 本发明要解决的技术问题在于,与现有技术中的丝素纳米颗粒或纤维的制备方法不同,此处提供一种不同形态丝素的制备方法,其可根据要求制得丝素纳米颗粒或丝素纤维。

[0007] 依据本发明一方面,提供一种不同形态丝素的制备方法,包括以下步骤:

[0008] S1:去除茧丝物质中的丝胶部分,再经干燥得到脱胶后的茧丝物质干燥品;

[0009] S2:将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解,并去除杂质得到丝素溶液,再经干燥得到丝素干燥品;

[0010] S3:将丝素干燥品溶于有机溶剂,配制丝素有机溶液;

[0011] S4:采用超临界流体强制分散溶液方法制备不同形态丝素,

[0012] 当所述丝素有机溶液中的丝素浓度小于等于 2% 时,所述不同形态丝素为丝素纳米颗粒;

[0013] 当所述丝素有机溶液中的丝素浓度大于 2% 且小于 6% 时,所述不同形态丝素为丝素纤维;

[0014] 当所述丝素有机溶液中的丝素浓度大于等于 6% 时,所述不同形态丝素为丝素块状物。

[0015] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,其中,所述茧丝物质为茧丝、绢丝、生丝中的至少一种。

[0016] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,其中,所述去除茧丝物质中的丝胶部分的方法包括利用煮沸的碳酸钠溶液或高温高压水,所述高温高压水是指温度 100 ~ 130℃ 且压力为 0 ~ 0.18MPa 的水,其中,压力下限不为 0。

[0017] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,优选地,所述步骤 S2 中,将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解到氯化钙溶液或  $\text{CaCl}_2 : \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$  的三元溶液中,所述三元溶液中  $\text{CaCl}_2 : \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} : \text{H}_2\text{O}$  按摩尔比为 1 : 2 : 8。

[0018] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,优选地,所述步骤 S2 中的干燥处理为喷雾干燥、冷冻干燥或烘干。

[0019] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,优选地,所述步骤 S3 中的有机溶剂为六氟异丙醇或二甲亚砜。

[0020] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,优选地在所述步骤 S4 中,所述采用超临界流体强制分散溶液方法制备不同形态丝素的过程中,所述丝素有机溶液的流速为 0 ~ 8ml/min。应当注意的是,该流速范围并不包括 0ml/min。

[0021] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,优选地在所述步骤 S4 中,所述采用超临界流体强制分散溶液方法制备不同形态丝素的过程中,超临界流体为超临界二氧化碳。

[0022] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,进一步优选地,所述超临界二氧化碳的压力为 8 ~ 30MPa。

[0023] 本发明所述的不同形态丝素的制备方法,进一步优选地,所述超临界二氧化碳的温度为 32 ~ 45℃。

[0024] 依据本发明另一方面,还提供一种丝素纳米颗粒的制备方法,包括以下步骤:

[0025] S1:去除茧丝物质中的丝胶部分,再经干燥得到脱胶后的茧丝物质干燥品;

[0026] S2:将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解,并去除杂质得到丝素溶液,再经干燥得到丝

素干燥品；

[0027] S3:将丝素干燥品溶于有机溶剂,配制丝素浓度为 0.4%~0.6%的丝素有机溶液；

[0028] S4:采用超临界流体强制分散溶液方法制备丝素纳米颗粒,其中,丝素有溶液的流速为 0.4~0.6ml/min,超临界流体为超临界二氧化碳,所述超临界二氧化碳的温度为 33~35℃,压力为 10~12MPa。

[0029] 依据上述的方法,可以获得具有良好球形结构、尺度分布均匀、大小为 50nm 的丝素纳米颗粒。

[0030] 依据本发明另一方面,还提供一种丝素纤维的制备方法,包括以下步骤：

[0031] S1:去除茧丝物质中的丝胶部分,再经干燥得到脱胶后的茧丝物质干燥品；

[0032] S2:将脱胶后的茧丝物质干燥品溶解,并去除杂质得到丝素溶液,再经干燥得到丝素干燥品；

[0033] S3:将丝素干燥品溶于有机溶剂,配制丝素浓度为 2%~4%的丝素有机溶液；

[0034] S4:采用超临界流体强制分散溶液方法制备丝素纤维,其中,丝素有溶液的流速为 2~4ml/min,超临界流体为超临界二氧化碳,所述超临界二氧化碳的温度为 33~35℃,压力为 10~12MPa。

[0035] 依据上述方法,可以获得具有良好纤维结构、形态均匀、尺度为 0.2mm 的丝素纤维。

[0036] 本发明提供了一种新的和简单的方法,通过控制制备过程中的相应工艺参数及条件,可以制备具有不同形态的丝素材料,包括丝素纳米颗粒和丝素纤维。本发明采用超临界流体强制分散溶液 (SEDS) 方法制备不同形态丝素,其安全、简单,且成本低廉。另外,本发明制得的丝素纳米颗粒和纤维,具备独特的物理化学性质,可以用作纺织或生物医学应用中的功能材料。

## 附图说明

[0037] 下面将结合附图及实施例对本发明作进一步说明,附图中：

[0038] 图 1 是本发明的不同形态丝素的制备方法的流程图；

[0039] 图 2 是 SEDS 装置的示意图；

[0040] 图 3a 是本发明实施例 1 利用 SEDS 制备的丝素纳米颗粒的 SEM 图；

[0041] 图 3b 是本发明实施例 1 利用 SEDS 制备的丝素纳米颗粒的 SEM 图；

[0042] 图 4a 是 SEDS 前本发明实施例 1 的丝素的 TG-DSC 曲线图；

[0043] 图 4b 是 SEDS 后本发明实施例 1 的丝素纳米颗粒的 TG-DSC 曲线图；

[0044] 图 5 是本发明实施例 1 的 SEDS 前的丝素和 SEDS 后的丝素纳米颗粒的 FTIR 图；

[0045] 图 6 是本发明实施例 1 的 SEDS 前的丝素和 SEDS 后的丝素纳米颗粒的 X 射线粉末衍射图谱；

[0046] 图 7 是本发明实施例 2 的丝素纤维的光学照片；

[0047] 图 8a 是本发明实施例 2 的丝素纤维的 SEM 图；

[0048] 图 8b 是本发明实施例 2 的丝素纤维的 SEM 图。

## 具体实施方式

[0049] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下结合附图及实施例对本发明进行进一步的详细说明。

[0050] 图 1 是本发明的不同形态丝素的制备方法的流程图。从图 1 可以看出,本发明的制备方法主要包括以下几个步骤:

[0051] 1. 蚕丝的脱胶:将茧丝物质用高温高压水或者煮沸的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  溶液处理,以除去茧丝物质的丝胶部分,再用去离子水冲洗后干燥得到脱胶后的干燥茧丝物质。该处所指的茧丝物质可包括茧丝、绢丝、生丝中的一种或多种。另外,高温高压水是指温度为  $100 \sim 130^\circ\text{C}$ ,且压力为  $0 \sim 0.18\text{MPa}$  的水。应当指出的是,本文中所有涉及下限为 0 的数值范围中,均不包括 0 下限,但是包括相应的上限。

[0052] 2. 制备丝素干燥品:将脱胶后的干燥茧丝物质溶于氯化锂溶液或者三元有机溶液体系  $\text{CaCl}_2 : \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 2 : 8(\text{mol})$ ,  $70^\circ\text{C}$ , 6h 中,然后透析去除盐类以及杂质,最后干燥得到丝素干燥品。其中,该步骤中的干燥处理优选为喷雾干燥、冷冻干燥或烘干。

[0053] 3. 将丝素干燥品溶于六氟异丙醇或者二甲亚砜中,以配制成不同浓度的用于丝素有机溶液。该处及上面提到的  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  的浓度均是指质量体积比。

[0054] 4. 采用 SEDS 制备不同形态丝素:由于超临界  $\text{CO}_2$  的 SEDS 技术具有  $\text{CO}_2$  无毒、不可燃、价格低和反应条件温和 ( $T_c = 31.1^\circ\text{C}$ ,  $P_c = 7.38\text{MPa}$ ) 的特点,故本发明利用超临界  $\text{CO}_2$  作为超临界流体。

[0055] 图 2 示出了本发明使用的 SEDS 装置的示意图。图 2 中,1 是丝素有机溶液,2 是高效液相泵,3 是  $\text{CO}_2$  储气罐,4 是制冷机,5 是泵,6 是热交换器,7 是针头,8 是过滤器,9 是气体流量计,10 是出气口,11 是气浴室,12 是高压釜,F 是丝素有机溶液传送通道,  $\text{sccCO}_2$  是超临界  $\text{CO}_2$  传送通道。如图 2 所示,该装置可主要分为  $\text{CO}_2$  供应系统、有机溶液发送系统和高压结晶釜 12 等三个组成部分。 $\text{CO}_2$  供应系统包括  $\text{CO}_2$  储气罐 3、制冷机 4、泵 5、热交换器 6 和针头 7 等,有机溶液发送系统包括丝素有机溶液 1、高效液相泵 2、针头 7 等。开始,  $\text{CO}_2$  由  $\text{CO}_2$  储气罐 3 流出,并利用制冷机 4 将  $\text{CO}_2$  的温度降至  $0^\circ\text{C}$ ,从而保证进入泵 5 的  $\text{CO}_2$  处于液化状态。泵 5 将液化的  $\text{CO}_2$  从  $\text{CO}_2$  储气罐 3 以一定的速度泵出。热交换器 6 用于将离开泵 5 的液态  $\text{CO}_2$  加热到所需温度。当高压釜 12 中  $\text{CO}_2$  达到所需温度和压力,并处于超临界状态后,将  $\text{CO}_2$  以稳定的速率传送到气浴室 11 中,下游的放气阀门用来调节气浴室 11 中超临界  $\text{CO}_2$  的压力并使其维持在所需的压力大小。利用高效液相泵 2 将丝素有机溶液 1 通过一个不锈钢的针头 7 泵入到高压釜 12。此针头 7 的内孔是丝素有机溶液传送通道 F,而外孔则是超临界  $\text{CO}_2$  传送通道  $\text{sccCO}_2$ 。针头 7 的这种几何设计促进了两种介质的混合。当丝素有机溶液的进样结束后,高压釜 12 中的超临界  $\text{CO}_2$  的压力和温度继续保持一定,并且继续将  $\text{CO}_2$  泵入高压釜 12,使其用以清洗丝素产品并带走残留的有机溶剂。当清洗过程结束后,泵 5 停止工作,从而使得高压釜 12 中的  $\text{CO}_2$  压力慢慢地减小到大气压状态。此时,我们可以开启高压釜 12 并收集到丝素产品(颗粒、纤维或块状物)。在 SEDS 过程中,通过调节 SEDS 技术的工艺参数和条件,包括丝素有机溶液的浓度、丝素溶液的泵入速度(流速)、超临界  $\text{CO}_2$  的压力和温度等,可以获得不同形态的丝素产品,包括纳米颗粒、纤维等。

[0056] 当丝素有机溶液中丝素浓度小于等于 2% 时,只能获得丝素纳米颗粒,其平均直径

大约为 50nm。随着浓度的增加,纳米颗粒的尺寸会变大。当浓度大于 2%,小于 6%时,丝素产品变成纤维形态。此纤维的直径大约 0.2mm,主要由纳米纤维组成。但是,随着浓度的继续增加,对纤维的形成有负面影响。当浓度高于 6%时,纳米颗粒和纤维都无法获得,只能产生块状物。丝素有机溶液的流速和超临界二氧化碳对丝素产品的形态影响较小。一般地,流速越小,纳米颗粒和纤维的直径就越小;压力越大,所形成的纳米颗粒和纤维尺度就越小。除此以外,相较于丝素浓度、流速以及超临界二氧化碳的压力而言,超临界二氧化碳的温度对丝素产品的形态几乎没有什么影响。一般地,丝素有机溶液的流速为 0~8ml/min。另外,对于超临界,其压力一般优选为 8~30MPa,温度为 32~45℃。

[0057] 对得到的具有不同形态的丝素产品的物理化学定性分析表明,本发明制得的丝素产品可以用作纺织、生物医学等多种应用中的功能材料。

[0058] 下面的例子将对发明进行进一步说明,但并不用于限制本发明。

[0059] 实施例 1

[0060] 将 100g 茧丝放入去离子水中,然后在 120℃、0.1MPa 的蒸汽加热器中反应 60min 以将表层的丝胶除去。脱胶率由双缩脲反应和称重法进行测量,结果证实蚕丝表层丝胶已经被完全去除。随后,将得到的脱胶后的茧丝用去离子水冲洗干净,并干燥以用作下一步。

[0061] 将 15g 干燥的已脱胶茧丝放入 70℃ 的 1000 毫升  $\text{CaCl}_2 : \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 2 : 8(\text{mol})$  的三元溶剂中反应 6h 以获取丝素溶液。接着利用半透膜除去盐分以及其它杂质以得到纯的丝素水溶液,然后利用冷冻干燥机干燥此溶液,可以获得纯的丝素干燥品。

[0062] 将制备的丝素干燥品溶于六氟异丙醇中以得到 0.5% (质量体积比) 丝素有机溶液。

[0063] 最后,通过 SEDS 技术利用此丝素有机溶液来制备丝素纳米颗粒。SEDS 过程的各项参数及条件为:丝素有机溶液流速为 0.5ml/min,超氧  $\text{CO}_2$  的压力、温度和  $\text{CO}_2$  流速分别维持在 10MPa、308K、每小时 30 个标准升 (NL·h<sup>-1</sup>)。当丝素有机溶液进样结束后,高压釜 12 中的超临界  $\text{CO}_2$  的压力和温度继续保持一定,并且继续将  $\text{CO}_2$  泵入高压釜 12,用其清洗丝素产品 30 分钟,并带走残留的六氟异丙醇。当清洗过程结束后, $\text{CO}_2$  泵 5 停止工作,从而使得高压釜 12 中的  $\text{CO}_2$  压力慢慢地降至大气压状态。此时,开启高压釜 12 并收集丝素纳米颗粒产品。下面对丝素纳米颗粒做定性分析说明。

[0064] 丝素纳米颗粒形貌

[0065] 图 3a 和图 3b 是本实施例制备的丝素纳米颗粒的扫描电镜 (SEM) 图,其中,图 3a 为  $\times 80000$ ,图 3b 为  $\times 20000$ 。由图可以看出,这些丝素纳米颗粒具有很好的球形结构,而且表面比较光滑,纳米颗粒的平均直径大约为 50 纳米,并且尺寸分布比较集中。

[0066] TG-DSC 分析

[0067] 为了进一步地了解丝素纳米颗粒的物理化学性质,我们尝试通过测量样品的热重-差示扫描量热曲线来考察氨基酸粉末的一些物理性质。热重 (Thermogravimetry, TG) 测量法是测量具有不同相转变温度和熔化温度的成分含量的一种方法,差示扫描量热仪 (differential scanning calorimetry, DSC) 是一种用于测量复合物相转变过程中所包含的温度和能量变化的工具。

[0068] 图 4a 和图 4b 分别示出了 SEDS 前的丝素和 SEDS 后的丝素纳米颗粒的 TG-DS 曲线,

它们相应的玻璃化转变温度、重结晶温度、分解温度和质量变化(400℃)如表1所示。图4a和图4b中,曲线1是TG曲线,曲线2是DSC曲线。

[0069] 表1:丝素材料的玻璃化转变温度、重结晶温度、分解温度和质量变化(400℃)  
[0070]

样品	玻璃化转变温度 ( $T_g$ )	重结晶温度 ( $T_c$ )	分解温度 ( $T_d$ )	质量变化 (400℃)
丝素 (SEDS 前)	202.3℃	230.8℃	299.4℃	51.42%
丝素纳米颗粒 (SEDS 后)	202.7℃	226.1℃	302.5℃	56.07%

[0071] 曲线1中,当温度小于100℃时,出现的吸热峰是由于水的蒸发所造成的。随着温度的增加,由冷冻干燥获得的无定型的丝素(SEDS前)在202.3℃有一个吸热峰,这是由于玻璃化转变所造成的,相应的在230.8℃处出现了一个放热峰,这是由于重结晶导致的,即丝素的结构由无定型到 $\beta$ -折叠结构,而在299.4℃的吸热峰则表示丝素开始降解。在SEDS后,制备的丝素纳米颗粒具有的玻璃化转变温度、重结晶温度、分解温度分别变为202.7、226.1、302.5℃。很明显,丝素的热力学行为在SEDS前后没有明显的变化。另外,由曲线2可以看出,SEDS前后丝素及丝素纳米颗粒的质量变化(400℃)分别为51.42和56.07%。总之,SEDS过程对丝素的热力学性质没有明显的影响。

[0072] 傅里叶红外光谱分析

[0073] 傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared, FTIR)图,其能通过红外吸收光谱来揭示物质的化学改变。图5是本发明实施例1的SEDS前的丝素和SEDS后的丝素纳米颗粒的FTIR图,其中,曲线1为SEDS后的丝素纳米颗粒的FTIR图,曲线2为SEDS前的丝素的FTIR图。图中示出了它们相应的特征峰。1654 $\text{cm}^{-1}$ 和1534 $\text{cm}^{-1}$ 处的特征峰分别是丝素(SEDS前)的酰胺I和酰胺II吸收峰,这表明由冷冻干燥获得的丝素是无定型结构。在SEDS后,丝素纳米颗粒的酰胺I和酰胺II吸收峰分别移到1657 $\text{cm}^{-1}$ 和1541 $\text{cm}^{-1}$ 处,除此以外,在1514 $\text{cm}^{-1}$ 处出现了一个微弱的峰,这是由于丝素纳米颗粒的 $\beta$ -折叠结构造成的。然而,丝素纳米颗粒的主要二级结构与SEDS前的丝素一样,仍然是无规则卷曲。因此,在SEDS过程前后,丝素的性质没有发生明显的变化。该结果同下面详述的X射线粉末衍射分析的结果相一致。

[0074] X射线粉末衍射分析

[0075] X射线粉末衍射(X-ray powder diffraction, XRPD)是一种确定样品结晶结构的技术。图6是本发明实施例1的SEDS前的丝素和SEDS后的丝素纳米颗粒的X射线粉末衍射图谱,其中,曲线1为SEDS后的丝素纳米颗粒的XRPD图,曲线2为SEDS前的丝素的XRPD图。如图6所示,在 $2\theta = 20.4^\circ$ 处的宽广峰和在 $2\theta = 12.8^\circ$ 处的尖锐峰是由silk I结晶结构造成的,这表示在SEDS过程前的丝素是一种无定型状态。在SEDS过程后,在 $9.6^\circ$ 处出现了一个由silk II结晶结构导致的微弱峰,但在 $2\theta = 20.4^\circ$ 处的宽广峰和在 $2\theta = 12.8^\circ$ 处的尖锐峰仍然处于主导地位。因此,丝素纳米颗粒是由无规则卷曲结构和 $\beta$ -折叠结构所组成,前者占据绝对的主导地位,是一种无定型的结构。因此,在SEDS过程前后,丝素在结晶结构方面没有明显变化。

[0076] 该实施例中,通过 SEDS 技术制备了丝素纳米颗粒。另外,还利用 SEM、TG-DSC、FTIR 和 XRRD 技术对 SEDS 前后的丝素(或丝素纳米颗粒)的物理化学性质进行了定性分析,结果表明,SEDS 过程对丝素的化学性质没有明显的影响。考虑到丝素本身良好的生物相容性、吸湿和保持水分的能力,以及卓越的紫外吸收能力,由 SEDS 技术制备的丝素纳米颗粒在生物医学、食品工业、化妆品等领域将会有广阔的应用前景。

[0077] 实施例 2

[0078] 将 100g 生丝放入煮沸的 0.5% 的碳酸钠溶液,反应半个小时将表层的丝胶除去。脱胶率由双缩脲反应和称重法进行测量,结果证实蚕丝表层丝胶已经被完全去除。随后,将所得到的脱胶后的生丝用去离子水冲洗干净,并干燥以用作下一步。

[0079] 将 25g 干燥的已脱胶生丝放入 70 °C 的 1000 毫升  $\text{CaCl}_2 : \text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} : \text{H}_2\text{O} = 1 : 2 : 8(\text{mol})$  的三元溶剂中反应 8h 以获取丝素溶液。接着利用半透膜除去盐分以及其它杂质以得到纯的丝素水溶液,然后利用冷冻干燥机干燥此溶液,可以获得纯的丝素干燥品。

[0080] 将制备的丝素干燥品溶于六氟异丙醇中以得到 4% (质量体积比) 丝素有机溶液。

[0081] 最后,通过 SEDS 技术利用此丝素有机溶液制备丝素纤维。该 SEDS 过程的各项参数及条件为:丝素有机溶液流速为 2mL/min,超氧  $\text{CO}_2$  的压力、温度和  $\text{CO}_2$  流速分别维持在 10MPa、318K、每小时 30 个标准升 ( $\text{NL} \cdot \text{h}^{-1}$ )。当丝素有机溶液进样结束后,高压釜 12 中的超临界  $\text{CO}_2$  的压力和温度继续保持一定,并且让继续将  $\text{CO}_2$  泵入高压釜 12,用其清洗丝素产品 45 分钟,并带走残留的六氟异丙醇。当清洗过程结束后, $\text{CO}_2$  泵 5 停止工作,从而使得高压釜 12 中的  $\text{CO}_2$  压力慢慢地减小至大气压状态。此时,开启高压釜 12 并收集丝素纤维产品。下面对丝素纤维做定性分析说明。

[0082] 图 7 是本实施例的丝素纤维的光学照片,图 8a 是本实施例的丝素纤维的 SEM 图,图 8b 是本实施例的丝素纤维的 SEM 图,其中,图 8a 为  $\times 25$ ,图 8b 为  $\times 20000$ 。由图 7、图 8a 和图 8b 可以看出,明显地,经过 SEDS 过程后,丝素有机溶液中的丝素变成了丝素纤维,这种纤维的直径大约为 0.2 毫米,由纳米纤维组成,且具备多重网孔结构。这种丝素纤维在纺织领域、生物医学领域等,特别是组织工程三维支架方面将有良好的应用前景。

[0083] 以上所述仅为本发明的具有代表性的实施例,不以任何方式限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换或改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

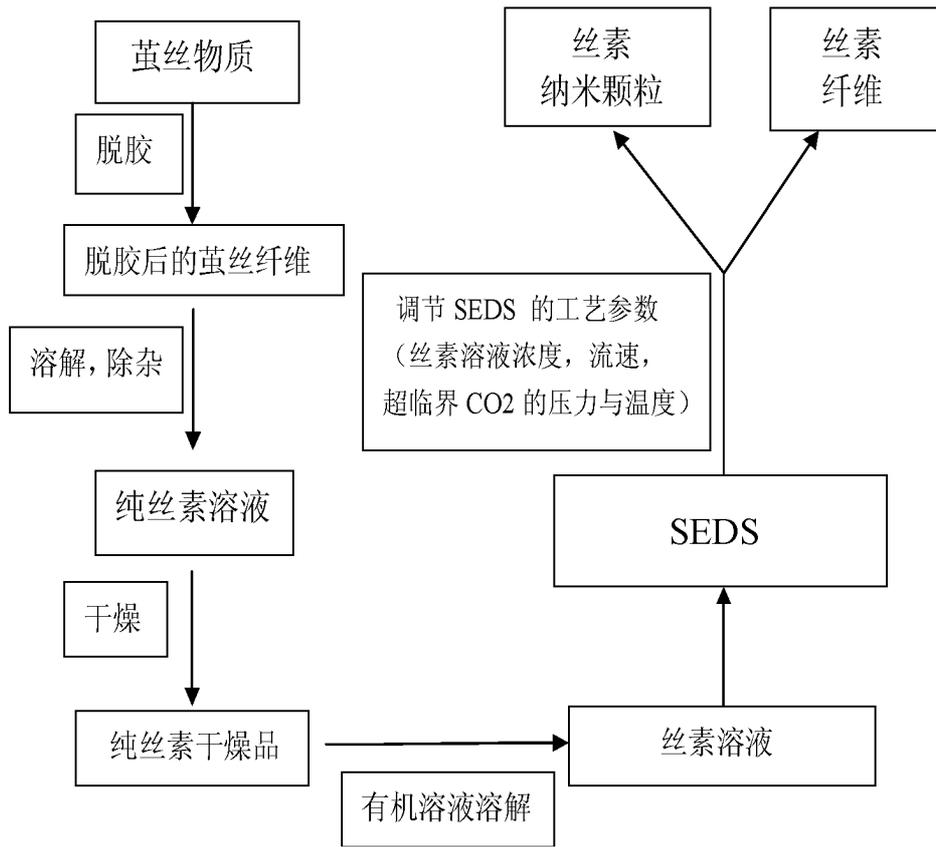


图 1

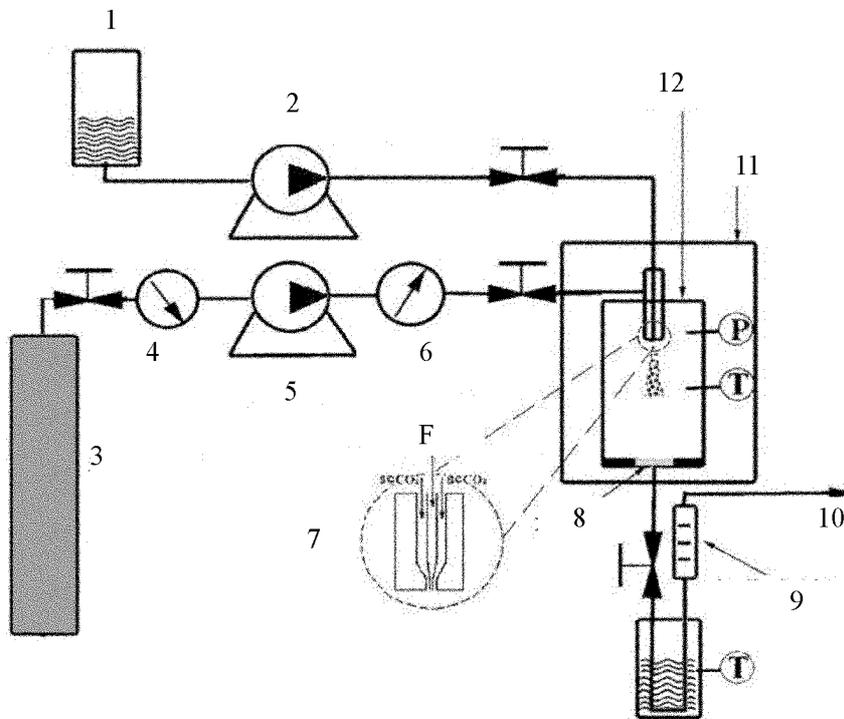


图 2

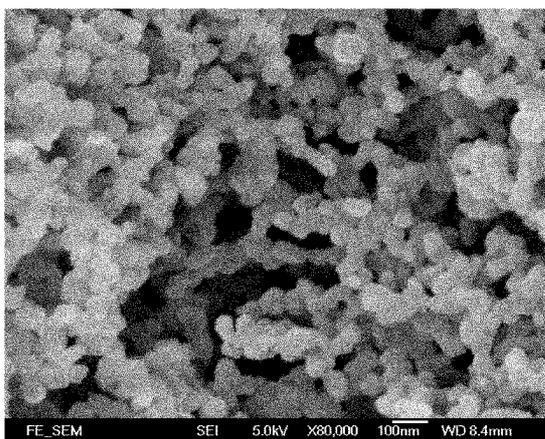


图 3a

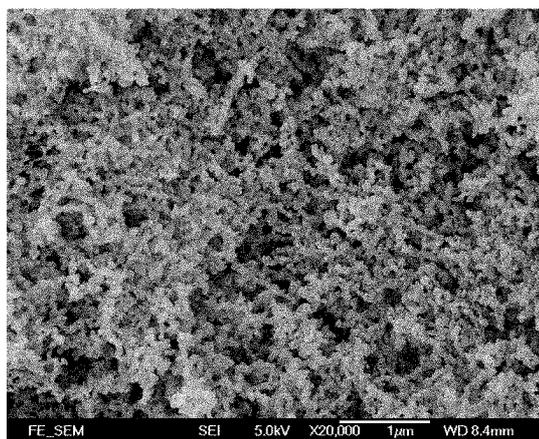


图 3b

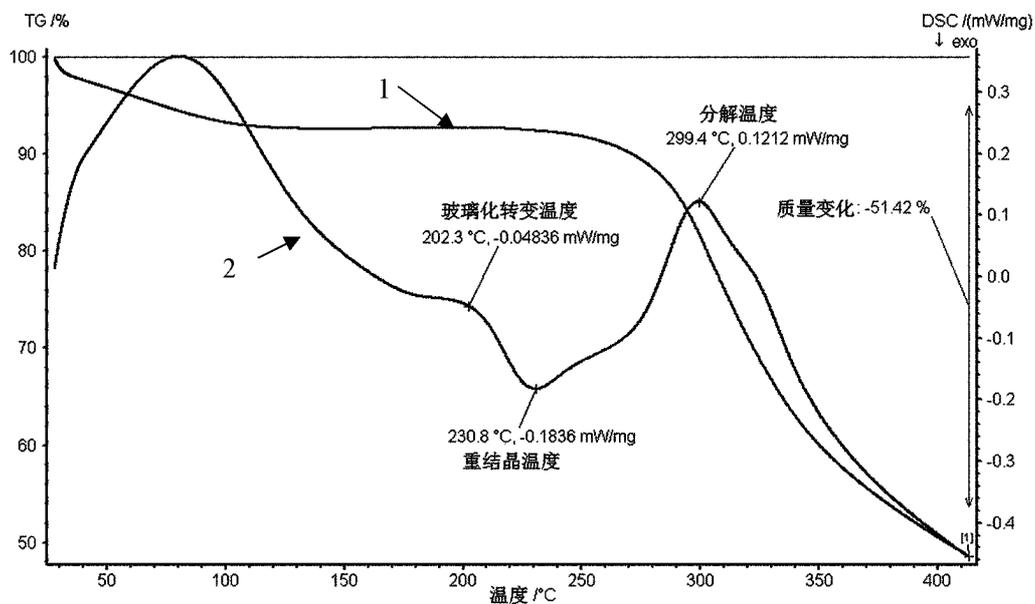


图 4a

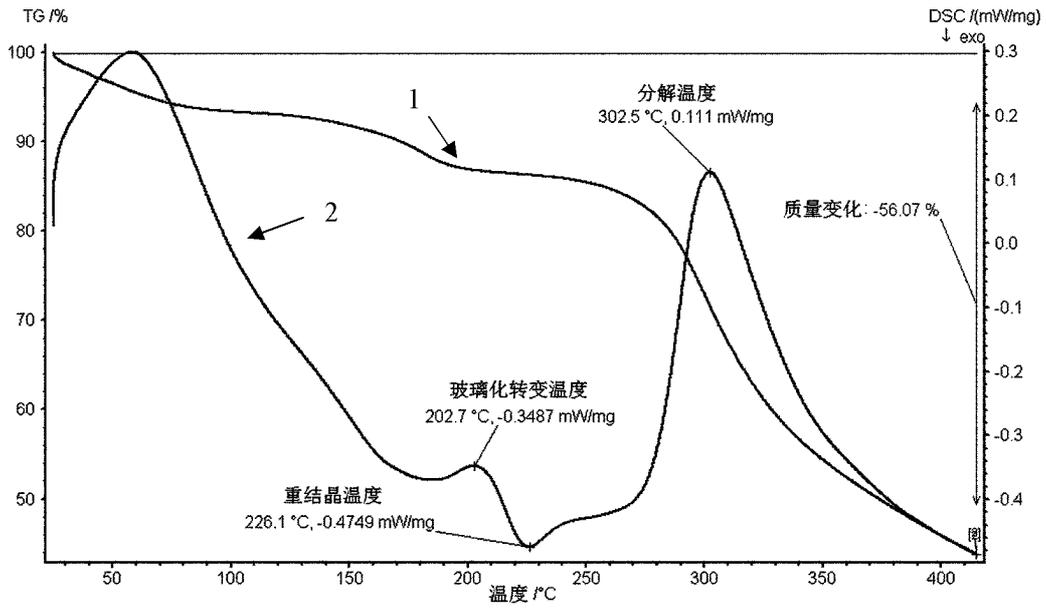


图 4b

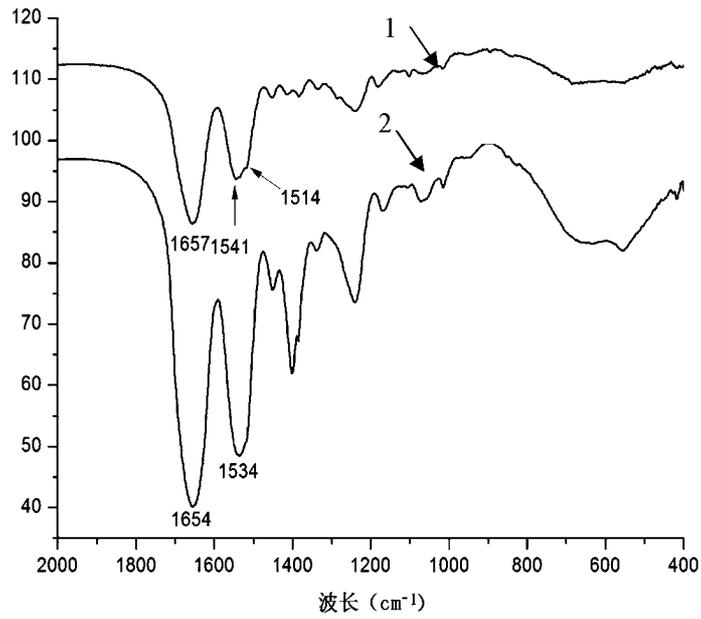


图 5

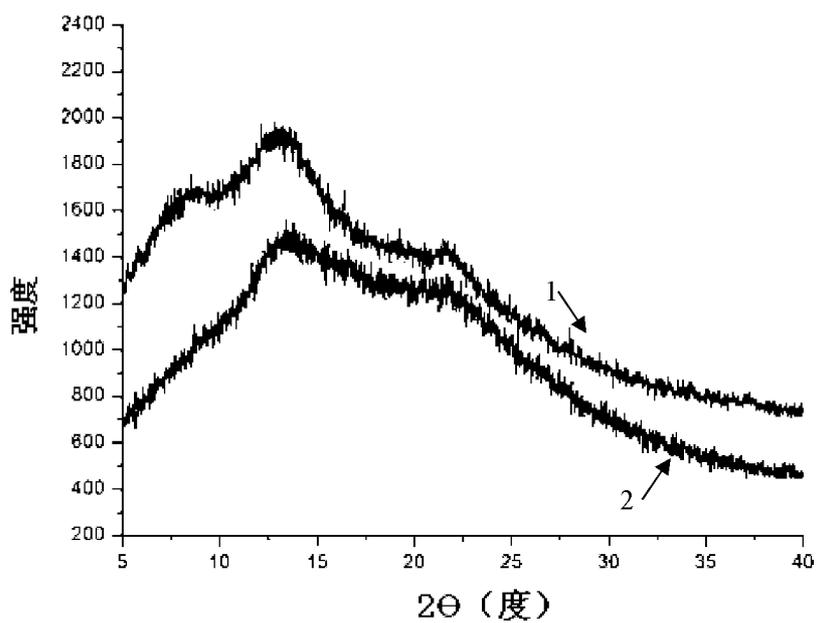


图 6

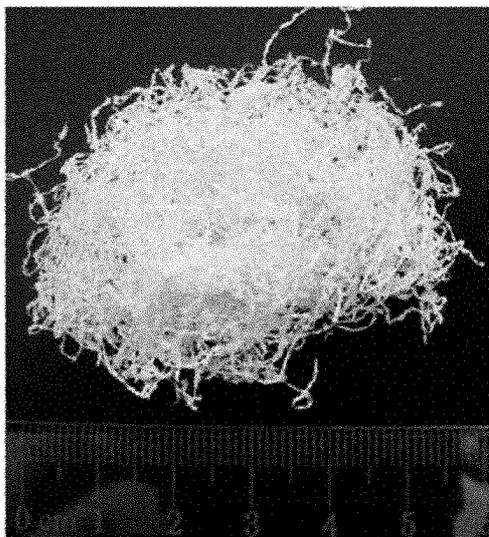


图 7

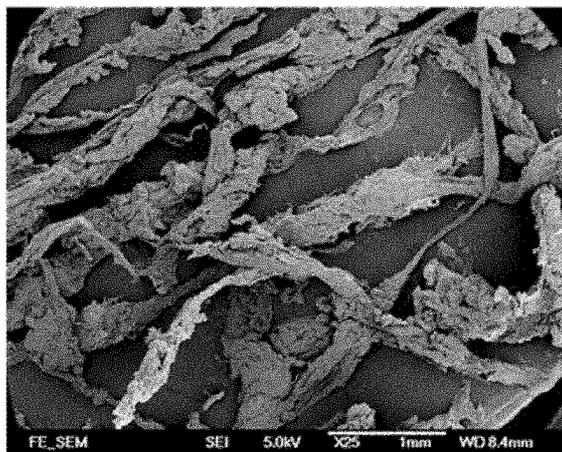


图 8a

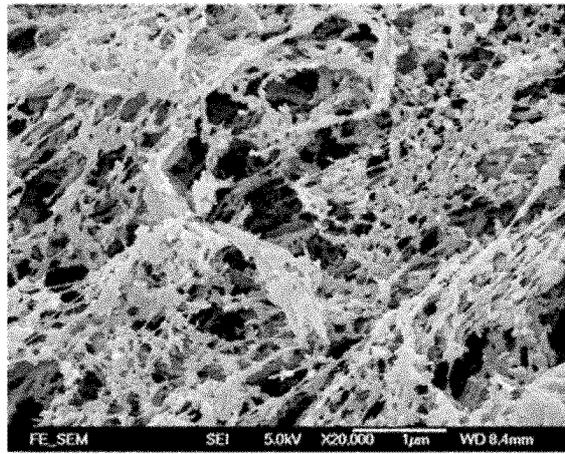


图 8b