

苏州大学

硕士学位论文

(2009 届)

静电纺 PLA、PLGA 及丝素纤维膜的降解
性能研究

Study on degradation of electrospun PLA、PLGA
and silk fiber membranes

研究生姓名 王立新

指导教师姓名 张幼珠

专业名称 纺织材料与纺织品设计

研究方向 纳米纤维及其应用

论文提交日期 2009 年 4 月

苏州大学学位论文独创性声明及使用授权的声明

学位论文独创性声明

本人郑重声明：所提交的学位论文是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不含其他个人或集体已经发表或撰写过的研究成果，也不含为获得苏州大学或其它教育机构的学位证书而使用过的材料。对本文的研究作出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。本人承担本声明的法律责任。

研究生签名： 王立新 日 期： 2009年5月

学位论文使用授权声明

苏州大学、中国科学技术信息研究所、国家图书馆、清华大学论文合作部、中国社科院文献信息情报中心有权保留本人所送交学位论文的复印件和电子文档，可以采用影印、缩印或其他复制手段保存论文。本人电子文档的内容和纸质论文的内容相一致。除在保密期内的保密论文外，允许论文被查阅和借阅，可以公布（包括刊登）论文的全部或部分内容。论文的公布（包括刊登）授权苏州大学学位办办理。

研究生签名： 王立新 日 期： 2009年5月

导师签名： 张幼璋 日 期： 2009年5月

静电纺 PLA、PLGA 及丝素纤维膜的降解性能研究

中文摘要

采用静电纺丝技术能够得到直径从几十纳米到几微米的连续的纳米纤维，是制备超细纤维的一种主要方法。纳米纤维具有直径小、比表面积大、孔隙率高等特点，因而具有广泛的应用，可作为组织工程支架及生物医用材料。

论文选择了 PLA、PLGA 及丝素三种生物可降解材料进行静电纺丝，并对各自的降解性能进行了详细研究。通过纤维膜的失重率、相对分子质量、断裂强度的变化以及 SEM 观察其降解过程中形貌的变化；再通过 X 射线衍射和 DTA 测试降解过程中的结晶度变化，来表征三种纤维膜的降解性能。PLA 静电纺丝工艺条件本课题组已有研究，在此基础上制得 PLA 纤维膜。再将其浸入到 PBS 溶液中进行降解。降解前两周相对分子质量下降率明显快于失重率，断裂强度逐渐下降，降解 16 周时纤维粗细不均，并出现少许断裂。降解过程中，样品结晶度不断下降。

在 PLGA 纤维膜降解性能研究之前，首先研究了 PLGA 质量分数、电压和极距对所制得纤维形态结构的影响，确定较优工艺条件为：质量分数 7%，电压 20kV，极距 13cm。在较优工艺条件下制得 PLGA 纤维膜，然后浸入到 PBS 溶液中进行降解。PLGA 纤维膜降解速度快于 PLA 纤维膜。两周时相对分子质量下降率和失重率快速增加，但失重率仍滞后于相对分子质量下降率，此时纤维已经出现少许断裂，断裂强度快速减小。10 周时纤维形态消失，样品变得硬脆并崩解成小碎片。X 射线衍射和 DTA 测试发现 PLGA 纤维膜降解前后都为无定型聚合物。

静电纺丝素纳米纤维膜在 PBS 溶液体外降解过程中，质量损失非常缓慢，力学强度下降小，通过电镜观察随着降解时间的延长，10 周时纤维大量断裂。红外光谱测试发现静电纺丝素纳米纤维膜乙醇处理后主要以 β 折叠构象为主，随着降解时间的延长出现无规卷曲，并逐渐增多。

关键词：PLA PLGA 丝素 静电纺丝 降解

作者：王立新

指导教师：张幼珠

Study on degradation of electrospun PLA、 PLGA and silk fiber membranes

Abstract

The electrospinning technique is one of the most important methods of producing continuous nanofibers with diameter range from several micrometers to tens of nanometers. With small diameter, high surface area to volume ratio and high porosity, nanofiber can be used in tissue engineering and biomedical engineering.

In this paper, three degradable materials, PLA、 PLGA and SF(silk fibroin) were elected to electrospin and studied on the degradation of them detailedly. Through the membranes of the weight loss, molecular weight, breaking intensity and SEM observation of the changes in morphology, meanwhile through X-ray diffraction and DTA testing in the process of degradation of crystal changes, the degradation of three types of fiber membranes performance were characterized. Our group has studied the conditions of electrospun PLA, PLA membranes were obtained on this basis, and then immersed in PBS solution to degradate. The molecular weight of the first two weeks declined significantly and faster than the rate of weight loss and breaking intensity. The fibers were uneven and broken in the degradation of 16 weeks. During the degradation process, crystal of samples decreased gradually.

Before studying the degradation of PLGA membrane, firstly, the effect of concentration、 voltage and distance on the morphology and structure of the PLGA fibers were studied. The optimum conditions were as follows: the concentration of 7%, voltage 20kV, distance 13cm. PLGA membranes were immersed in PBS solution to degradate. Degradation of PLGA membranes was faster than PLA membranes. There is a rapid increase in weight loss and the molecular weight reduction in two weeks, but the weight loss rate is still lagging behind the decline in the molecular weight reduction. At the same time, the fibers have been some fracture, breaking intensity decreased rapidly. The fibers disappeared in the 10 weeks; the sample had become hard, brittle and small pieces. X-ray diffraction and DTA tests found that PLGA fiber membranes were amorphous polymer before and after degradation.

In vitro degradation process of electrospun SF membranes in PBS solution, the weight loss was very small and the breaking intensity declined slowly. SEM observed that a large number of fibers broke in 10 weeks. IR test found that electrospun SF membranes after ethanol post-treatment were mainly β -sheet structure, random coil emerged and increased gradually with the degradation time.

Key words: PLA; PLGA; silk fibroin; electrospinning; degradation

Written by Wanglixin

Supervised by Zhangyouzhu

目 录

第一章 序言.....	1
1 静电纺丝的研究进程及现状	1
2 纳米纤维的生物应用	3
2.1 组织工程支架.....	3
2.2 药物控制释放.....	4
2.3 医用敷料.....	4
3 生物可降解材料的研究现状	4
3.1 合成生物可降解材料.....	5
3.2 天然生物可降解材料.....	6
4 本课题研究的目的是和内容	8
4.1 研究的目的.....	8
4.2 研究的内容.....	8
4.3 创新点.....	8
参考文献.....	10
第二章 静电纺 PLA 纤维膜的降解性能研究.....	16
1 实验材料与方法	16
1.1 实验材料.....	16
1.2 实验仪器.....	17
1.3 实验方法及原理.....	17
2 结果与讨论	20
2.1 纤维形貌的变化.....	20
2.2 X 射线衍射(XRD).....	21
2.3 DTA 测试.....	22
2.4 失重率.....	23
2.5 相对分子质量的变化.....	24

2.6 断裂强度的变化.....	25
3 降解机理.....	26
4 结论.....	27
参考文献.....	28
 第三章 静电纺 PLGA 工艺条件及其纤维膜的降解性能研究.....	30
1 实验材料及方法.....	31
1.1 实验材料.....	31
1.2 实验方法.....	31
1.3 测试方法.....	32
2 结果与讨论.....	34
2.1 PLGA 静电纺丝工艺条件的确定.....	33
2.1.1 纺丝液质量分数对 PLGA 纤维形貌及直径的影响.....	34
2.1.2 电压对 PLGA 纤维形貌及直径的影响.....	35
2.1.3 极距对 PLGA 纤维形貌及直径的影响.....	35
2.2 PLGA 纤维膜降解性能.....	36
2.3 PLGA 与 PLA 纤维膜降解性能的比较.....	42
3 结论.....	44
参考文献.....	46
 第四章 静电纺丝素纳米纤维膜的降解性能研究.....	48
1 实验材料及方法.....	48
1.1 实验材料.....	48
1.2 实验方法.....	49
2 结果与讨论.....	51
2.1 失重率.....	51
2.2 断裂强度.....	51
2.3 形貌结构.....	52

2.4 红外测试.....	53
3 结论.....	55
参考文献.....	56
第五章 结论及展望.....	57
1 研究结论.....	57
1.1 静电纺 PLA 纤维膜的降解性能研究.....	57
1.2 静电纺 PLGA 工艺条件及其纤维膜的降解性能研究.....	57
1.3 静电纺丝素纳米纤维膜降解性能的研究.....	58
2 展望.....	59
攻读期间发表论文及专利申请.....	60
致谢.....	61

第一章 序言

纳米是长度单位，即 10^{-9} 米。严格地讲，纳米纤维是指纤维直径在 $1\sim 100\text{nm}$ 范围内的纤维。但目前对纳米纤维的定义说法不一，有人把直径小于 $1\mu\text{m}$ 的纤维称为纳米纤维，而有人则定义直径小于 $0.3\mu\text{m}$ 的纤维称为纳米纤维，也有文献将纳米纤维定义为直径为纳米级，长度超过 $1\mu\text{m}$ 的物质^[1]。纳米纤维最大的特点就是比表面积大，导致其表面能和活性的增大，从而产生了小尺寸效应、表面(或界面)效应、量子尺寸效应、宏观量子隧道效应等，在化学、物理(热、光、电磁等)性质方面表现出特异性。可广泛应用在服装、食品、医药、能源、电子、造纸、航空航天等领域。

静电纺丝是目前制备纳米纤维最重要的基本方法，能直接、连续制备聚合物纳米纤维，是国内外的研究热点。静电纺丝技术制得的纳米纤维，可用做无纺布、过滤材料，也可制造高性能的生物大分子纤维、导电类分子纤维制品和药性高分子纤维，这一技术除了用来制造上述的有机纳米纤维之外，广大科研人员也在积极改造静电纺丝机和研究其加工技术。

1 静电纺丝的研究进程及现状

静电纺丝的研究已有 70 多年的历史，70 多年来，各国学者对静电纺丝进行了大量的研究，包括工艺参数的影响、不同高聚物的纺丝、纺丝机械装置的改进、纺丝过程的射流不稳定及所制得纳米纤维的应用等等。下面简要介绍静电纺丝的发展历程。

1934 年，Formalas 在美国陆续申请了几项关于静电纺丝技术的专利^[2~7]，这被认为是静电纺丝的起源。1952 年，Vonneguth 和 Neubauer^[8]用他们设计的离子化装置得到了微粒直径约为 $0.1\mu\text{m}$ 的高带电射流。1964 年，Taylor^[9]分析了在电场作用下管孔处液滴变形的条件，发现当液滴被拉伸成半垂锥角为 49.3° 时，液滴才比较稳定。1966 年，Simons^[10]申请了关于静电纺丝法制备超细超轻无纺布设备的专利。研究中他还发现当溶液的粘度较低时，所获得的纤维较短、较细，反之则纤维较长、较粗。1971 年，Baumgarten^[11]用静电纺丝法制备了直径为 $0.05\sim 1\mu\text{m}$ 的丙烯酸树脂纤维，

并观察了纤维直径、射流长度、溶液黏度、加料速度及环境气体组分之间的关系。然后直到 1980 年,随着近代测试技术的发展,人们开始对静电纺丝技术进行系统的理论和实验研究,理论的逐步成熟,又进一步促进了静电纺丝制备纳米纤维的研究工作的进展,其中 Akron 大学的 Renker 等人^[12]对其工艺及应用作了较深入的研究,已经在实验室制得了二十多种聚合物纳米纤维。

20 世纪 90 年代以来,各国研究者对静电纺丝进行了广泛而深入的研究,有基础理论的研究,有应用领域的探讨,也有纺丝装置及工艺条件的改进等。1995 年,Chun^[13]用透射扫描电镜、扫描电镜和原子力显微镜表征了聚对苯二甲酸乙二醇酯电纺纳米纤维。Srinivasan^[14]电纺液晶态芳香聚酰胺、聚对苯二甲酰对苯二胺和导电聚合物聚苯胺。Fang^[15]通过分流喷射的静电纺丝技术制备了直径在 50~80nmDNA 纳米纤维,其中有一些珠状物。Kim^[16, 17]将聚苯并咪唑电纺成纳米纤维,还研究了这种纳米纤维在环氧树脂和橡胶基质中的增强效应。2002 年,Kenawy^[18]等研究了静电纺丝超细纤维膜在药物释放上的应用。Megelski^[19]等研究了静电纺丝超细纤维的小孔结构和表面化学性能。2003 年,Koski^[20]全面系统地研究静电纺丝超细纤维微观形貌的影响因素、表征、过程参数的改进(如提高纺丝产量和纤维的取向),以及间接地制备无机氧化物超细纤维等,扩大静电纺丝超细纤维的应用范围等。2004 年,Phillip^[21]及 Kwoun^[22]研究了多组分聚合物的静电纺丝,聚合物的共混纺丝克服了单一聚合物静电纺纳米纤维的一些缺点。2005 年 Shenoy^[23]等研究了静电纺丝过程中分子链交缠对纤维形成的作用;He^[24]等人研究了静电纺丝过程中电流和纺丝液流量之间的关系;Theron^[25]等研究多喷嘴静电纺丝及射流曲线轨迹,并建立了数学模型。2006 年,Hur^[26]首次在真空条件下进行静电纺丝,通过激光器、显微镜和 CCD 照相机观察和分析在真空条件下纳米纤维的运动轨迹。

我国对静电纺丝的研究始于 20 世纪末,一些科研院所和高校对静电纺丝开展了广泛的研究。2000 年,纺织科学研究院张锡玮等^[27]承担国家自然科学基金项目,成功纺制了聚丙烯腈纤维。2002 年,中科院长春应用化学研究所曹敬等^[28]用静电纺丝制得聚乳酸(PLA)及乙交酯丙交酯共聚物(PLGA80/20)的纳米纤维,并提出静电纺丝的机理。2003 年,天津工业大学姚海霞等^[29]用静电纺丝法制备了超吸水纤维。天津大学袁晓燕^[30]承担国家自然科学基金项目,将丙交酯与己内酯共聚物(PLA-CL)溶解在丙酮进行静电纺丝。2004 年,东华大学王新威^[31]等用聚丙烯腈(PAN)、聚间

苯二甲酰间苯二胺(MPIA)溶解在二甲基乙酰胺(DMAC)中静电纺丝,并对静电纺丝形成过程作了较深入的研究。苏州大学张幼珠等^[32~35]将再生丝素、再生丝素/PLA复合、再生丝素/明胶共混、再生丝素/壳聚糖共混静电纺丝,并对所制得纳米纤维的形貌直径和微细结构以及生物性能进行了大量研究。

从国内外静电纺丝的研究现状来看,研究的重点已经不再是新的聚合物、工艺参数、溶剂选择等,而更着重于其实际应用,特别是静电纺丝产品应用于生物材料,已经成为研究热点,吸引了越来越多的科学工作者及研究机构的关注。随着各国研究的深入及纳米技术、纳米纤维研究的深入人心,静电纺丝必将具有广阔的发展前景,静电纺纳米纤维也必将得到很好的应用,发挥其独特的效用。

2 纳米纤维的生物应用

从生物学角度看,几乎所有的人体组织和器官都是由纤维状结构组成的。例如,骨、牙齿、胶原、软骨以及皮肤等。所有这些组织结构均是由不同层次的纳米纤维结构组成。因此,静电纺纳米纤维在生物医学领域中的应用已经成为国际上研究的重点和热点,也展示出巨大的发展前景。

2.1 组织工程支架

纳米纤维具有与天然细胞外基质相近的微观结构,使制备的支架能够仿天然细胞外基质的结构。较好的人造医用组织支架,应能支持细胞的粘附、生长,具有良好的生物相容性、结构稳定性及可降解吸收性,并且制作方便、价格低廉。静电纺纳米纤维在组织工程支架领域中有重要的地位,其高的比表面积,有利于细胞粘附、增殖和分化,以及有效释放活性因子;其合适的孔径和高的孔隙率,有利于细胞种植和细胞外基质的形成,氧气和营养物质的传输,代谢物的排放等。

Byung 等^[36]在静电纺丝素纳米纤维上种植人体角化细胞和纤维原细胞,结果表明丝素纳米纤维宽的孔径分布、高孔隙率和高的比表面积,有利于细胞粘附和增殖;静电纺丝素纳米纤维涂上 I 型胶原后能促使细胞的黏附和伸展。Powell H.M.等^[37]静电纺聚己内酯(PCL)制得人造血管支架,在其上培养平滑肌组织细胞(VSMC)。结果发现,人体 VSMC 细胞与 PCL 人造血管支架的相容性很好,能粘附在 PCL 支架上,细胞分化和增殖状态良好。Li 等^[38]对 PLGA 纳米纤维支架进行了研究,发现它与细胞外基质结构类似,可为细胞生长提供空间,有利于支架与环境之间的营养交换及新陈代谢。

2.2 药物控制释放

理想的药物释放系统能够提高药物的利用率、延长药效、降低毒副作用并且降低给药次数，是生物医药领域的研究热点之一。静电纺纳米纤维具有直径小、比表面积大等优点，能缩短药物的扩散距离、促进药物的溶解和提高药效。而且纤维载体本身可生物降解，药物随着纤维载体的降解而缓慢释放，避免了初期突释所产生的危害。

景遐斌等^[39]将阿霉素溶解在可生物降解高分子的溶液中进行静电纺丝，形成包裹有阿霉素的超细纤维非织造布，所制得的纤维直径可控制在 0.1~0.2 μm 。Chu^[40]等人将细胞包埋在静电纺丝法制得的 PLA 纤维膜中，形成纤维膜/细胞/纤维膜复合体系，他们认为这种细胞载体对细胞活性没有影响，可以包埋不同细胞以用于修复神经缺损和引导骨组织再生等。X Zong^[41]把抗生素 mefoxin 以 1% 的浓度添加在 PDLA 的纺丝液中，纺制了平均直径 160nm 纤维，纳米纤维对药物不仅有控释作用，可有效防止手术粘连，而且对药物没有影响。王立新等^[42]将双胍醋酸盐与再生丝素共溶于甲酸，通过静电纺丝制备了丝素/药物纳米纤维膜，有效的延长了药物的释放时间。何莉等^[43]也通过静电纺丝制备了载药聚乳酸纤维膜，达到对药物的控释。张幼珠等^[44]将抗菌剂与丝素共溶于极性溶剂中，静电纺丝制得纳米纤维膜，药物释放效果好，是一种理想的抗菌创面医用材料。

2.3 医用敷料

静电纺丝制备的纳米纤维非织造网在治疗外伤方面有很大的应用前景。非织造网的纤维直径可以在几纳米到几微米之间，用作创伤敷料可以阻挡细菌灰尘对伤口的感染与污染，同时还可以保障水分与空气的自由出入，非常有利于伤口的愈合。Smith Daniel 等^[45]设计的医用设备，可以将生物可降解聚合物溶液直接在电场力作用下喷射到皮肤的受伤部位，形成的纤维膜状敷料有利于皮肤生长，促进创伤愈合，而且还不会留下疤痕。Kataphina 等^[46]将花粉孢子、藻酸盐颗粒和抗生素盐酸四环素等药物加入到 PLA 和 PEVA (50:50) 混合液中，通过静电纺丝法制得治疗烧伤专用敷料。

3 生物可降解材料的研究现状

某些生物医用材料和所有的组织工程材料都应是生物可降解材料，要求具有良好的生物相容性、生物降解性和降解产物无毒等特征。生物降解性是指在特定条件或自然条件下能够被微生物或酶或化学分解而发生降解的性能。降解过程中的物理变化

包括外形、力学性能、失重、降解时间乃至最后失去功能等，化学变化包括相对分子质量的改变、降解中间产物及其对周围环境的影响、降解最终产物等。因此生物可降解材料的降解过程研究是必不可少的。生物可降解材料按其来源可以分为合成生物可降解材料和天然生物可降解材料。近年来，对这两种材料的体内外降解实验研究已经非常广泛。

3.1 合成生物可降解材料

3.1.1 聚乳酸 (PLA)

Pitt^[47]研究发现PLA的体外降解和体内降解均为其酯键的简单水解，中间产物为乳酸单体，最终产物是CO₂和H₂O。麦杭珍等^[48]将定量的PLA薄膜分别在弱碱性人工模拟体液、缓冲溶液、活性淤泥和一般土壤中进行降解。实验表明在四种环境下PLA均可降解，且碱性环境对降解起促进作用。扬帆等^[49]将不同相对分子质量的PLA制成薄膜，再将其投入到pH=7.4的模拟体液中，在37℃恒温槽中进行水解，相对分子质量低的样品降解速率快于相对分子质量高的样品。以静电纺丝制备PLA纤维膜进行降解研究报道比较少，赵敏丽等^[50]以二氯甲烷为溶剂配制PLLA 纺丝液，通过静电纺丝得到纳米纤维膜，将PLLA 纤维膜放入与人体环境相近的磷酸盐缓冲溶液(pH=7.4 ,37 ℃)中。随着降解的进行PLLA 纤维出现了断裂和粘连现象，PLLA 纤维膜浸泡溶液的pH值随时间变化呈逐渐下降的趋势，7周后质量损失8.5%。

3.1.2 聚羟基乙酸 (PGA)

王德春等^[51]将PGA三维多孔泡沫作为兔软骨细胞培养支架，培养14d形成PGA一软骨细胞复合体，移植于同种异体兔膝关节全层缺损，PGA逐渐降解，8周时完全降解消失，术后16周在实验侧可见典型的软骨组织。寇士军等^[52]通过PLLA、PGA的复合纺丝，获得一种芯鞘复合纤维，并对复合纤维的缓冲液水解和酶水解进行分析。结果表明中复合纤维的降解率随着PGA含量的增加而增加。Young You等^[53]将PGA与PLA按不同比例共溶于六氟异丙醇 (HFIP) 进行静电纺丝制得PGA/PLA多孔膜，降解结果同样表明PGA含量增加降解速度加快。何勇等^[54]将PLA / PGA组织膜应用于牙槽嵴黏骨膜扩张，体内实验观察发现：PLA / PGA组织膜的降解于4周时开始，24周降解基本完成，能够达到新骨组织基本构建完成的时间要求。

3.1.3 聚乙丙交酯 (PLGA)

李宏卫等^[55]把PLGA膜在DMEM 培养液和角化细胞培养液中进行降解。测其质量损失得知PLGA膜第1、2 周降解近20%,第3、4 周时降解50%以上。随放置时间的延长,膜表面可见大小不等的凹陷和空洞,最终完全降解。但侯宇川等^[56]在降解介质为流动的尿液中,只观察到材料在6~7 周内降解为随尿液流动的细小颗粒,并未完全降解。Qing Cai等^[57]将PLGA多孔膜同时放在水中和酶中进行降解发现, PLGA降解分两个时期进行,第一个时期相对分子质量迅速下降,而质量损失滞后;第二个时期,相对分子质量下降减缓,而质量损失增加,尤其酶降解质量下降快于水降解。研究表明PLGA降解为简单水解,而酶的存在使得表面PLGA降解的产物更易扩散到水中。Xinhua Zong等^[58]将PLGA(GA/LA=90:10)静电纺丝制得无纺膜,醇处理后进行体外降解实验发现,在降解2到12天内,无纺膜的拉伸性能随着无定形区的水解而有所增加。

3.1.4 聚己内酯 (PCL)

宋存先^[59]等将PCL胶囊植入大鼠背部皮下进行降解,结果表明起始相对分子质量6.6万的PCL胶囊在体内可完整存在两年,两年中相对分子质量逐渐下降,植入480d时,相对分子质量由6.6万降为2.4万,两年时降为1.5万,30个月时降为0.8万。Y.Cha等^[60]将PCL浇铸成膜,然后放入pH=7.4的磷酸盐缓冲溶液中降解,提出PCL在体内的降解分两个阶段进行,第一阶段表现为相对分子质量不断下降,但不发生形变和失重。第二阶段是指相对分子质量降至5000以后,材料开始变为碎片并发生失重。

3.2 天然生物可降解材料

3.2.1 丝素 (Silk fibroin)

丝素是蚕丝脱去丝胶后得到的一种天然高分子材料。丝素蛋白由18种氨基酸组成,与人体有良好的组织相容性。但对其降解过程及降解机制的研究报道较少。一般认为,丝素可以在体内被慢慢吸收,而且还可以通过改变丝素材料的结构形态来调控其降解速率^[61]。Minoura N等^[62]把处理过的丝素膜进行体外降解实验,酶降解5d后质量损失仅10%,继续观察证实丝素完全降解需要相当长的时间。Mingzhong Li^[63]在对多孔丝素膜进行体外酶降解实验中发现,降解后Silk II晶型消失而Silk I晶型增加,并且胰蛋白酶对丝素降解能力高于蛋白酶。Zuo Bao-qi等^[64]采用湿法纺丝工艺获得再生丝素纤维,再以放线菌在37℃、pH=7.0的模拟人体环境条件下进行降解实验,30d体外

降解率达到37.61%,而天然丝素纤维降解率只有10.7%。目前对丝素最终降解产物尚不清楚,因此其在应用研究开发方面的研究还任重道远。

3.2.2 胶原 (Collagen) 和明胶 (Gelatin)

胶原是一种常用的医用高分子材料,来源丰富,广泛存在于动物的骨、皮和筋腱中。由于胶原种类很多,其降解成的多肽种类复杂,还需要进一步的研究。胶原受胶原酶作用降解速度很快,往往需要对其进行改性,同时也可改善其力学性质和生物稳定性。首先是化学交联改性,何薇婧等^[65]研究发现通过戊二醛交联后,胶原降解程度大大减小。也有研究发现交联剂的使用可以牵制胶原大分子链段的运动使聚合物的降解性能下降^[66,67]。其次是共混改性,梁屹等人^[68]将胶原与PVA共混后发现,随PVA含量的增加,其成膜后样品的降解速率下降,降解时间延长。

明胶是胶原经温和断裂的产物,是一种水溶性蛋白质。两者具有相同的化学组成,都具有良好的生物性能和可降解性。李承明等^[69]考察了明胶质量分数、降解时间、降解温度、明胶溶液pH值等因素对明胶热降解反应的影响规律。结果表明:热催化是明胶降解的有效方法,较合适的降解条件为明胶质量分数10%,体系pH值7.0。降解温度121℃,降解时间2 h。郭明勋等^[70]研究表明明胶发生微生物降解后会造成明胶分子中多肽链的肽键水解,使明胶降解的主要细菌是芽孢杆菌SP(*Bacillus* SP)和假单胞菌SP(*Pseudomonas* SP)。

3.2.3 甲壳质 (Chitin) 和壳聚糖 (Chitosan)

甲壳质是虾、蟹、昆虫的外壳等提炼加工而成的一种天然高聚物。壳聚糖是甲壳质经浓碱处理脱去乙酰基的产物,又称可溶性甲壳质。在自然界中,甲壳质的含量在100亿吨以上,是极为丰富的再生资源。两者既有良好的理化、机械性质,又具有很好的生物相容性和生物可降解性。甲壳质不溶于水和稀酸,要采用分步水解法,即先用较温和的条件,然后再用强烈的条件以达到完全水解^[71]。甲壳质在自然界中主要由细菌和真菌等微生物参与降解^[72]。

壳聚糖大分子依靠 β -1, 4甙键的作用连接而成,对酸很敏感,而且温度对壳聚糖化学降解的影响很大,这是因为降解过程的活化能较高。降解后的壳聚糖由结晶高聚物转变为无定形态^[73]。卢凤崎等^[74]将壳素糖与明胶按一定比例共混制膜,通过体外降解实验证明了其降解性,并且发现壳聚糖降解速度慢于明胶。刘天富等^[75]将不同取代度的羟丙基壳聚糖进行降解发现,改性后的壳聚糖亲水基团增加,降解速度加快,

并且溶菌酶对羟丙基壳聚糖的生物降解有促进作用。Hyung Kil Noh等^[76]通过静电纺丝制得壳聚糖纳米纤维膜，纤维平均直径163nm，体外降解15天质量残留80%。植入小鼠皮下28天降解，未发现任何炎症反应，证明了其良好的生物相容性。

4 本课题研究的目的是内容

4.1 研究的目的

本课题组曾将合成生物可降解材料（PLA、PLGA）与天然生物可降解材料（丝素、明胶）进行静电纺丝，多层构建复合纤维膜并用于组织工程支架。而作为组织工程支架材料其降解性能的研究必不可少。只有很好的掌握所用材料的降解速度、降解时间、降解过程中的变化等，才能更好的提高其应用性。因此本论文对PLA、PLGA、丝素这三种材料在降解过程中的性能变化进行了详细的研究，为PLA、PLGA、丝素静电纺纤维膜作为组织工程材料应用于医学领域提供依据，奠定基础。

4.2 研究的内容

（1）将PLA溶解于氯仿、丙酮的混合溶剂中，制得均匀纺丝液，进行静电纺丝，制得PLA纤维膜，再将PLA纤维膜经乙醇处理后浸入到PBS溶液中进行降解。通过纤维膜的质量变化（失重率）、相对分子质量、断裂强度的变化以及SEM 观察其降解过程中形貌的变化；再通过X射线衍射和DTA测试降解过程中的结晶度变化，来表征PLA纤维膜的降解性能。

（2）将PLGA(LA:GA=75:25)溶解于氯仿、丙酮的混合溶剂中，制得均匀纺丝液，进行静电纺丝，制得PLGA纤维膜。首先研究了PLGA静电纺丝时纺丝液质量分数、电压、极距等工艺参数对所制得PLGA纤维形态结构的影响，确定最佳工艺后制备PLGA纤维膜。再将PLGA纤维膜经乙醇处理后浸入到PBS溶液中进行降解。通过测定失重率、相对分子质量、断裂强度以及SEM 观察其降解过程中形貌的变化，再通过X射线衍射和DTA测试降解过程中的结晶度变化，来表征PLGA纤维膜的降解性能。

（3）丝素溶解于甲酸中，制得均匀纺丝液，进行静电纺丝，制得纳米纤维膜。再将纤维膜浸入PBS溶液中进行降解。降解过程中纤维膜的结构与性能变化以失重率、断裂强度、形貌结构及微细结构进行表征。

4.3 创新点

（1）首次比较了PLA与PLGA静电纺纤维膜的降解速率和降解性能，为不同的

降解要求选择不同的材料提供实验依据。

(2) 首次对静电纺丝素纳米纤维膜的体外降解性能进行了详细的研究。

参考文献

- [1] ZhangX, Tao X,Fan Y. Research and Application of Polymer Nanofiber[J]. Journal of Donghua University, 2003,20(1):32~38.
- [2] Formhals A 1934 Process and Apparatus for Preparing Artificial Threads, US Patent Specification 1-975-504.
- [3] Formhals A 1938 Artificial Fiber Construction, US Patent Specification 2-109-333
- [4] Formhals A 1938 Method and Apparatus for the Production of Fibers, US Patent Specification 2-116-942
- [5] Formhals A 1938 Method and Apparatus for the Production of Fibers, US Patent Specification 2123992
- [6] Formhals A 1939 Method and Apparatus for the Production of Artificial Fibers, US Patent Specification 2158416
- [7] Formhals A 1939 Method and Apparatus for Spinning, US Patent Specification 2160962
- [8] Vonnegut B, Neubauer R L [J].Journal of Colloid Science, 1952, 7:616.
- [9] Taylor GI. Electrically driven jets. Proc. R. Soc.Lond. 1964, 313 A: 453.
- [10] Simons H L. US Patent, No.3280229,1966.
- [11] Baumgarten PK. Electrostatic spinning of acrylic microfibers[J]. Journal of Colloid Interface Science,1971, 36: 71~9.
- [12] Reneker D H. Polymer made by electrospinning[R]. International Conference for Inaguration of SOTSEA, 2002:10~12.
- [13] Doshi J, Reneker D H [J].Electrostatic, 1995, 35:151 ~ 160.
- [14] Srinivasan G, Reneker D H [J]. Polymer International, 1995, 36:195 ~ 201.
- [15] Fang X, Reneker D H[J].1997,36:169 ~ 173.
- [16] Kim J, Reneker D H. [J]. Polymer, 1999, 39(5):849 ~ 854.
- [17] Kim J, Reneker D H. [J]. Korea S. Polymer. Compos, 1999, 20:124 ~ 131.
- [18] Kenawy E R,Bowlin G I ,Mansfield K,et al.Release of tetracycline hydrochloride from electrospun poly(lacticacid)and a blend.J Control Release,2002,81:57.

- [19] Megelski S, Stephens J S, Chase D B, et al. Micro and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers[J]. *Macromolecules*, 2002, 35: 8456.
- [20] Koski A, Yim K, Shivkumar S. Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning[J]. *Mater Lett*, 2004, 58: 493.
- [21] Phillip Gibson, Hedi Schreuder-Gibson, Donald Rivin. Transport properties of porous membranes based on electrospun nanofibers. *Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2001, 187-188: 469 ~ 481.
- [22] Kwoun. S. J., Lec. R. M., Han. B. A novel polymer nanofibers interface for chemical sensor applications. *Proceedings of the Annual IEEE International Frequency Control Symposium*, 2000: 52 ~ 57.
- [23] Suresh L. Shenoy, W. Douglas Bates, Harry L. Frisch, et al. Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer-polymer interaction limit[J]. *Polymer*, 2005, 46: 3372 ~ 3384.
- [24] Ji-Huan He, Yu-Qin Wan, Jian-Yong Yu. Scaling law in electrospinning: relationship between electric current and solution flow rate. *Polymer*, 2005, 46: 2799 ~ 2801.
- [25] S. A. Theron, A. L. Yarin, Multiple jets in electrospinning: experiment and modeling[J]. *Polymer*, 2005, 46: 2889 ~ 2899.
- [26] Hur, S., Kim, W. D. The electrospinning process and mechanical properties of nanofiber mats under vacuum conditions [J]. *Key Engineering Materials*, v 326 ~ 328, 2006: 393 ~ 396.
- [27] 张锡玮, 夏禾, 徐纪钢. 静电纺丝法纺制纳米级聚丙烯腈纤维毡[J]. *塑料*, 2000, 29(2): 16 ~ 19.
- [28] Zheng Jing, Chen Xuesi. Biodegradable Ultra fine Fibers Prepared by Electrospinning[C]. *2002 International on Advanced Fiber Materials*, 2002: 69 ~ 70.
- [29] 姚海霞, 赵庆章, 邓新华. 静电纺丝法制备超吸水纤维的研究[J]. *纺织科学研究*, 2003, 14(4): 1 ~ 5.
- [30] 袁晓燕, 董存海, 赵瑾. 静电纺丝制备生物降解性聚合物超细纤维[J]. *天津大学学报*, 2003, 36(67): 707 ~ 709.
- [31] 王新威, 胡祖明, 潘婉莲. 电纺丝形成纤维的过程分析[J]. *合成纤维工业*, 2004, 27: 1 ~ 3.

- [32] 张幼珠, 尹桂波, 居静霞等. 电子纺纳米丝素纤维的制备及结构研究[C]. 第五届国际丝绸会议, 2004 年.
- [33] 张幼珠, 吴佳林, 王立新, 等. 静电纺分层构建 PLA/丝素复合纤维膜的结构与性能[J]. 合成纤维工业, 2008, 35(12): 30 ~ 33.
- [34] 鲍伟伟, 王曙东, 张幼珠, 等. 静电纺再生丝素/明胶纳米纤维的结构与性能[J]. 纺织学报, 2008, 29(3): 1 ~ 4.
- [35] 常丽娜, 张幼珠. 静电纺丝素/壳聚糖纳米纤维的研究. 丝绸, 2005, 12: 28 ~ 30.
- [36] Byung Moo Min, Gene Lee, So Hyun Kim et al. Electrospinning of silk fibroin nanofiber and its effect on the adhesion and spreading of normal human keratinocytes and fibroblasts in vitro[J]. Biomaterials, 2004, 25(7-8): 1289 ~ 1297.
- [37] Powell H M, Mitra S, Kniss D A. Electrospun tubular scaffolds for vascular tissue engineering[C]. Transactions-7th World Biomaterials Congress. 2004: 1677.
- [38] Li WJ, Laurencin CT, Caterson EJ, Tuan RS. Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering. Journal of Biomedical Materials Research, 2002, 60: 613 ~ 621.
- [39] 景遐斌, 曾敬, 陈学思, 等. 阿霉素的超细纤维剂型及其制备方法[P]. 中国专利: 1543972, 2004.
- [40] Chu B, Hsiao BS, Hadjiargyrou M, Fang DF, Zong XH, & Kim K. Cell delivery system comprising a fibrous matrix and cells. US Patent, 6,790,455, 2004
- [41] Xinhua Zong, Kwangsok Kim, Dufei Fang. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes[J]. Polymer, 2002, 43: 4403 ~ 4412
- [42] 王立新, 张幼珠, 何莉. 静电纺丝素纳米纤维释药体系研究[J]. 丝绸, 2007, 6: 17 ~ 19.
- [43] 何莉, 王立新, 张幼珠. 载药聚乳酸纤维膜的制备及释药性能研究[J]. 合成纤维, 2007, 9: 19 ~ 21.
- [44] 张幼珠, 尹桂波, 王立新. 抗菌丝素复合纳米纤维材料及其制备方法[P]. 中国专利, 专利号: 200610041016.2.
- [45] Smith Daniel, Reneker Darrell, Kataphinan Woraphon. Electrospun skin masks and use thereof[P]. US Pat Appl, US 879386, 2000.
- [46] Kataphinan W, Dabney S, Smith D. Fabrication of electrospun and encapsulation into

polymer nanofibers[R]. J Textile Apparel, Technol Manage. Special issue:The Fiber Society Spring 2001 Conference, Raleigh NC,2001

[47] Pitt C G.The degradation of poly (DL-Lactide), Poly(ϵ -caprolacton) and their copolymers in vivo [J].Biomaterials, 1981, 2:215~220.

[48]麦杭珍, 赵耀明, 陈军武.聚乳酸的成型加工及其降解性能[J].塑料工业,2000,5(28):28~30.

[49] 杨帆,陈一岳,林茵,等.聚乳酸的降解性能及其微球剂的研究[J].中国药房,2002,5(13):263~265.

[50] 赵敏丽,隋刚,杨小平,等.电纺丝 PLLA/HA 复合纤维支架的制备及体外降解性能研究[J].中国生物医学工程学报,2006,4(25):476~480.

[51] 王得春, 陈峥嵘, 宋后燕, 等. 聚乙醇酸负载同种异体软骨细胞移植修复兔关节软骨缺损[J]. 中华创伤杂志, 1997,13(4) :228~231.

[52] 寇士军, 李亚滨. PLLA / PGA 复合纤维的降解研究 [J].天津纺织科技, 2004,42(3):5~11.

[53] Young You,Sung Won Lee,Ji Ho Youk,et al. In vitro degradation behaviour of non-porous ultra-finepoly(glycolic acid)/poly(L-lactic acid) fibres and porousultra-fine poly(glycolic acid) fibres[J]. Polymer Degradation and Stability,2005, 90:441~448.

[54] 何勇,周驱,赵辉,等.PLA / PGA组织膜应用于牙槽嵴黏骨膜扩张初探[J]. 临床口腔医学杂志,2006,22(6):328~330.

[55] 李宏卫,温玉明,王昌美,等.聚乳酸-乙醇酸膜材料在细胞培养液中的降解实验[J].口腔医学,2005,25(1):12~14.

[56] 侯宇川, 王春喜, 郑佐柱,等. 生物降解输尿管支架材料丙交酯/乙交酯共聚物的生物相容性及体内外降解特性[J]. 吉林大学学报(医学版),2005,31(4):526~529.

[57] Qing Cai, Guixin Shi, Jianzhong Bei,et al. Enzymatic degradation behavior and mechanism of Poly(lactide-co-glycolide) foams by trypsin[J]. Biomaterials,2003,24:629~638.

[58] Xinhua Zong, Shaofeng Ran, Dufei Fang,et al. Control of structure, morphology and property in electrospun poly(glycolide-co-lactide) non-woven membranes via post-draw

treatments[J]. Polymer,2003,44:4959~4967.

[59] 宋存先,王彭延,孙洪范,等.聚己内酯在体内的降解、吸收和排泄[J].生物医学工程, 2000,17(1):25 ~ 28.

[60] Y Cha,C G Pitt.The biodegradability of polyester blends[J].Biomaterials, 1990,11(2):108~112.

[61] Altman G H,Diaz F,Jakuba C,et al.Silk-based biomaterials[J].Biomaterials,2003, 24(3):401~406

[62] Minoura N, Tsukada M, Nagura M. Physico-chemical properties of silk fibroin membrane as a biomaterial [J]. Biomaterials, 1990,11(6):430~434.

[63] Minzhong Li,Masayo Ogiso,Norihiko Minoura.Enzymatic degradation behavior of porous silk fibroin sheets[J].Biomaterials,2003,24(2):357~365.

[64] Zuo Baoqi,Wu Zhiyu.Mechanical and biodegradable properties of regenerated fibroin fibers[J].Chinese Journal of Clinical Rehabilitation,2006,10(1):168~171.

[65] 何薇婧,黄玉东,李艳辉.交联胶原蛋白的降解表征[J]. 化学与黏合, 2005,27(3):139 ~ 142.

[66] F H HEIJMEN, J. S. DU PONT, E. MIDDELKOOP,et al. Cross-linking of dermal sheep collagen with tannic acid [J].Biomaterials ,1997,18(17):749~754.

[67] L H H OLDE DAMINK, P J DIJKSTRA, MJ A VAN LUYN,et al.Invivo degradation of dermal sheep collagen cross-linked using a water-soluble carbodiimide[J].Biomaterials,1996,17(7) :679~684.

[68] 梁屹,刘玲蓉,张其清. 聚乙烯醇与胶原共混支架药膜的结构与降解性能[J]. 中国医学科学院学报,2004.26(1):18 ~ 23.

[69] 李承明, 姜莹, 黄雅钦, 等.热降解明胶的研究[J]. 化工科技,2006,14(3):30 ~ 32.

[70] 郭明勋, 孙文萍.明胶的微生物降解[J].明胶科学与技术, 2004,24(4):184 ~ 185.

[71] 蒋挺大. 甲壳素[M]. 化学工业出版社.

[72] 刘晨光,陈西广,刘万顺.甲壳质脱乙酰基酶的研究概况及进展[J].生物工程进展, 1999,19(1):32 ~ 35.

[73] 傅晓琴. 壳聚糖在乙酸 / 水溶液中的降解机理及其溶液性质研究. 硕士学位论文, 1997.

- [74] 卢凤崎,曹宗顺.壳聚糖-明胶混合膜的制备及其生物降解性研究[J].生物医学工程学杂志, 1998, 15(4):323 ~ 324.
- [75] 刘天富,戚秋鹏,隋红,等.不同取代度的羟丙基壳聚糖生物降解性研究[J].中国海洋药物杂志, 2004,1:33 ~ 36.
- [76] Hyung Kil Noh, Sung Won Lee, Jin-Man Kim,et al. Electrospinning of chitin nanofibers: Degradation behavior and cellular response to normal human keratinocytes and fibroblasts[J].Biomaterials, 2006,27(21):3934~3944.

第二章 静电纺 PLA 纤维膜的降解性能研究

聚乳酸(Polylactic Acid, PLA)是一种新兴的,由可再生资源——乳酸聚合而成的高分子聚酯,具有良好的生物相容性和生物可降解性。它在微生物、水、酸、碱等的作用下能完全分解,降解产物为二氧化碳和水,对环境及人体无毒害作用,是一种理想的生物医用材料。经美国食品和药品管理局(FDA)批准^[1]广泛用作药物控释载体^[2,3]、医用手术缝合线^[4]及骨折内固定材料^[5]等生物医用高分子材料,具有广阔的应用前景。

PLA 作为生物医用材料其降解性能的研究成为当前研究的一个重要方面。有研究人员^[6~8]曾以 PLA 薄膜或 PLA 棒材为组织工程材料进行降解实验,研究了实验过程中 PLA 结构与性能的变化。但以静电纺 PLA 纤维膜作为组织工程材料及其降解性的报道较少。随着静电纺丝技术快速发展,通过这种方法制得的 PLA 超细纤维在组织工程中的应用也越来越受到人们的重视。国内外关于 PLA 静电纺丝已有许多研究^[9~11],本课题组也对 PLA 及 PLA 复合静电纺丝做了相关的研究^[12],但对其降解性能的研究还较少。因此本论文对静电纺 PLA 纤维膜降解性能作了深入的研究,为 PLA 纤维膜应用于生物医学领域奠定基础。

本章将 PLA 溶解于氯仿和丙酮(体积比 2:1)混合溶剂中制得质量分数为 5%的均匀纺丝液,进行静电纺丝得到纤维膜。醇处理后再将纤维膜按 1:4 的浴比($\text{cm}^2:\text{ml}$)放入磷酸盐缓冲溶液(PBS)中进行降解,通过纤维膜的失重率、相对分子质量、断裂强度的变化以及 SEM 观察其降解过程中形貌的变化;再通过 X 射线衍射和 DTA 测试降解过程中的结晶度变化,来表征 PLA 纤维膜的降解性能。

1 实验材料与方法

1.1 实验材料

聚乳酸(PLA)(美国 Natureworks 公司,相对分子质量为 1.5×10^5)

氯仿(三氯甲烷)(上海化学试剂有限公司,分析纯)

丙酮（中国上海试剂总厂，分析纯）

无水乙醇（上海化学试剂有限公司，分析纯）

NaOH(中国上海试剂总厂，分析纯)

KH₂PO₄（中国医药上海化学试剂公司，分析纯）

1.2 实验仪器

高压静电发生器（DW-P503-4AC 型，天津市东文高压电源厂）

微量泵（WZS-50F2 型，浙江大学医学仪器有限公司）

电子天平（Atartorius BS224S 型，北京赛多利斯仪器系统有限公司）

恒温双向磁力搅拌器（90-3 型，上海振荣科学仪器有限公司）

真空干燥箱（DZF-6051 型，上海精宏试验设备有限公司）

水浴振荡器（HD500 型，南通宏大实验仪器有限公司）

乌氏粘度计

数字式织物厚度测试仪（YG(B)141D 型，常州第二纺织机械厂）

扫描电子显微镜（S-570 型，日本日立公司）

Instron 强伸度测试仪（3365 型，美国）

红外光谱分析仪（Nicolet5700 系列，美国）

DTA/TG 热分析仪（Diamond 5700 型，美国）

X 射线多晶衍射仪（X'Pert-Pro MPD，荷兰帕纳科公司）

自行设计的静电纺丝装置

1.3 实验方法及原理

1.3.1 纤维膜的制备

将 PLA 颗粒加入氯仿与丙酮混合溶液（体积比 2:1）中，室温下用磁力搅拌器搅拌至完全溶解，得质量分数为 5%的 PLA 纺丝液，在电压 25kV，极距（喷丝口到接收屏之间距离）15cm，流量 0.1ml/h 的工艺条件^[12]下进行静电纺丝。将静电纺 PLA 纤维膜浸于无水乙醇溶液中 15min，然后室温干燥 24h。将制成的膜片裁成 5cm×5cm 的方形试样，备用。

1.3.2 磷酸盐缓冲溶液（PBS）的制备

精确称取在 110~120℃下干燥的磷酸二氢钾 13.609 克，溶于去离子水中，准确

稀释至 500ml；将氢氧化钠配成饱和溶液，藏于内敷有石蜡的玻璃瓶中，密闭放置至溶液清亮，然后量取 5ml 清亮的氢氧化钠饱和溶液，用去离子水稀释至 1000ml，标定调整溶液体积使浓度为 0.1mol/l。然后准确量取 39.34ml 氢氧化钠溶液与 25ml 磷酸二氢钾溶液混合后稀释至 100ml 制得 pH=7.4 的缓冲溶液。

1.3.3 体外降解实验

将 PLA 纤维膜试样真空干燥 48 小时后称重，在 250ml 的锥形瓶中加入 PBS 溶液 100 mL，将上述制得的方形试样完全浸入其中，每个锥形瓶中浸入 1 个试样，共 5 个试样。用胶塞密封，置于(37±1)℃水浴中进行水解实验。分别在水解第 2，4，8，12，16 周取样进行测试及表征。

1.3.4 测试及表征方法

1. 失重率的测定：采用烘干称重法测定试样降解前后的质量。失重率 $= (W_0 - W_1) / W_0 \times 100\%$ ，其中 W_0 为降解前干燥 48h 质量， W_1 为降解后干燥 48h 质量。

2. 相对分子质量的测定：

用乌氏粘度计，采用稀释法，以三氯甲烷为溶剂，PLA 纤维膜初始浓度 c 为 0.002g/ml，在(25±0.1)℃下测定。以丙酮为参照溶液， $\eta_{\text{丙}}=0.3075\text{cp}$ $\rho_{\text{丙}}=0.7851\text{g/ml}$ ；测出丙酮溶液流经粘度计规定两刻度线之间的时间 $t_{\text{丙}}=25.22\text{s}$ ；三氯甲烷溶液流经粘度计规定两刻度线之间的时间 $t_{\text{三}}=24.14\text{s}$ 根据公式

$$\frac{\eta_{\text{丙}}}{\rho_{\text{丙}}} = At_{\text{丙}} - \frac{B}{t_{\text{丙}}}$$

$$\frac{\eta}{\rho_{\text{三}}} = At_{\text{三}} - \frac{B}{t_{\text{三}}}$$

可求得 $A=0.0188$ $B=2.0473$ (A 、 B 为仪器常数) 则 $k=B/A=108.9$

$$\text{相对粘度 } \eta_r = \frac{t - \frac{k}{t}}{t_{\text{丙}} - \frac{k}{t_{\text{丙}}}} \quad \text{增比粘度 } \eta_{\text{sp}} = \eta_r - 1$$

将 PLA 纤维膜溶液浓度稀释成 4 个不同的浓度，分别测粘度，最后由曲线 $\eta_{\text{sp}}/c \sim c$ 与曲线 $\ln \eta_r/c \sim c$ 外推至 $c \rightarrow 0$ ，两直线相交于一点，此截距即为特性粘度 $[\eta]$ ，按公式 $[\eta]=4.41 \times 10^{-4} M \eta^{0.72}$ ，计算相对分子质量^[13]。

$$\text{相对分子质量下降百分率} = \frac{\text{降解前相对分子质量} - \text{降解后相对分子质量}}{\text{降解前相对分子质量}} \times 100\%$$

3.断裂强度的测定：将 PLA 纤维膜剪成宽为 10mm×50mm 的细长条，每条纤维膜在 YG(B)141D 型数字式织物厚度测试仪上选择 5 个点测其厚度，计算其平均值即得膜的厚度。样品在恒温恒湿条件（T=23℃，RH=70%）下平衡 24 小时后，在 Instron3365 型强伸度测试仪上测定膜的断裂强力和绝对断裂伸长，样品的夹持长度为 30mm，拉伸速率为 20mm/min。以下列公式计算相对强度。

$$\text{断裂强度(N/mm}^2\text{)} = \frac{\text{断裂强力(N)}}{\text{膜厚度(mm)} \times \text{膜宽度(mm)}}$$

$$\text{断裂强度下降百分率} = \frac{\text{原样断裂强度} - \text{降解后断裂强度}}{\text{原样断裂强度}} \times 100\%$$

4.SEM 测试:用日本日立公司 S-570 型扫描电镜观察其形貌,放大倍率为 1000 倍。通过 SEM 照片可以清晰观察在不同降解时期纤维形态的变化。

SEM 成像原理：扫描电子显微镜（SEM）主要是利用二次电子成像。由聚光镜和物镜构成的电子光学系统，把电子枪发射出来的电子聚集成为一束极细的电子束，并聚焦于样品的表面，同时按顺序地对样品表面进行逐行扫描；用检测器收集从样品表面发射出来的二次电子，经视频放大形成图像信号，再经显像管显示。由于显像管的偏转线圈与扫描线圈保持同步，所以显像管显示的样品图像定位点与样品表面电子束的定位点始终保持完全准确的对应关系，即为同步扫描。所以可以根据 SEM 照片观察、分析样品表面形貌特征。

5.DTA 分析：采用美国 PE 公司 diamond 5700 DTA/TG 热分析仪，扫描范围为 40～400℃，升温速度 10℃/min，氮气保护，流量 120ml/min。通过 DTA 测出样品的结晶熔融热从而计算出样品的结晶度，分析降解过程中结晶度的变化。

DTA 的基本原理：将试样和参比物置于以一定速率加热或冷却的温度的相同状态环境中，记录下试样和参比物之间的温差 ΔT ，并对时间或温度作图，得到 DTA 曲线。TG 基本原理：TG 是指在程序控制下，测量物质的质量变化与温度的关系。在热谱图上横坐标为 T（或时间 t），纵坐标为样品保留重量的分数，所得质量—温度（或时间）曲线成阶梯状。有的聚合物受热时不止一次失重，每次失重的百分数可由该失重平台所对应的纵坐标数值直接得到。失重曲线下降时，开始失重的温度为起始分解

温度，曲线中止下降转为平台处的温度为分解中止温度。

结晶度计算公式： $X_c.h = \Delta H_m / 93$ ，式中 ΔH_m —测得样品的熔融热；93J/g—聚乳酸完全结晶的熔融热^[14, 15]。

6.XRD 分析：样品剪成粉末，管电压 40kv，管电流 30mA，扫描速度 2°/min。2 θ 角范围 5°~45°。通过 X 射线衍射图谱可以定性分析降解过程中样品结晶度的变化。

原理：X 射线衍射技术是鉴定物质晶相的有效手段，通过 X 射线衍射图谱可以确定纳米单元的结构参数，获得纳米粒子或基体近邻原子排布的变化情况；也可以确定纳米粒子的粒径分布、体积分数和粒子/基体界面面积、粒子排布造成的干涉效应；还可以分析晶体的结构。对于简单的晶体结构，根据衍射图谱可确定晶胞中的原子位置，晶胞参数以及晶胞中的原子数。

2 结果与讨论

表征材料降解性能的指标较多，常用的有：失重率、力学性能、相对分子质量以及纤维形貌等。同时还可利用红外光谱、DSC 或 DTA、X 射线衍射等仪器测试并分析纤维膜在降解过程中微细结构的变化。本章主要研究了静电纺 PLA 纤维膜在降解过程中的形貌、失重率、相对分子质量、断裂强度等性能的变化，再通过 DTA 和 X 射线衍射分析了降解过程中微细结构的变化。

2.1 纤维形貌的变化

通过 SEM 观察纤维形貌可以直接反映出不同降解时期纤维的变化情况。从图 1 中可以看出 2 周时纤维发生吸水溶胀。随着降解的进行 8 周时 PLA 纤维变得粗细不均，并且出现粘连现象，到 16 周时纤维直径明显变细，同一根纤维粗细严重不均匀，并出现少许断头。

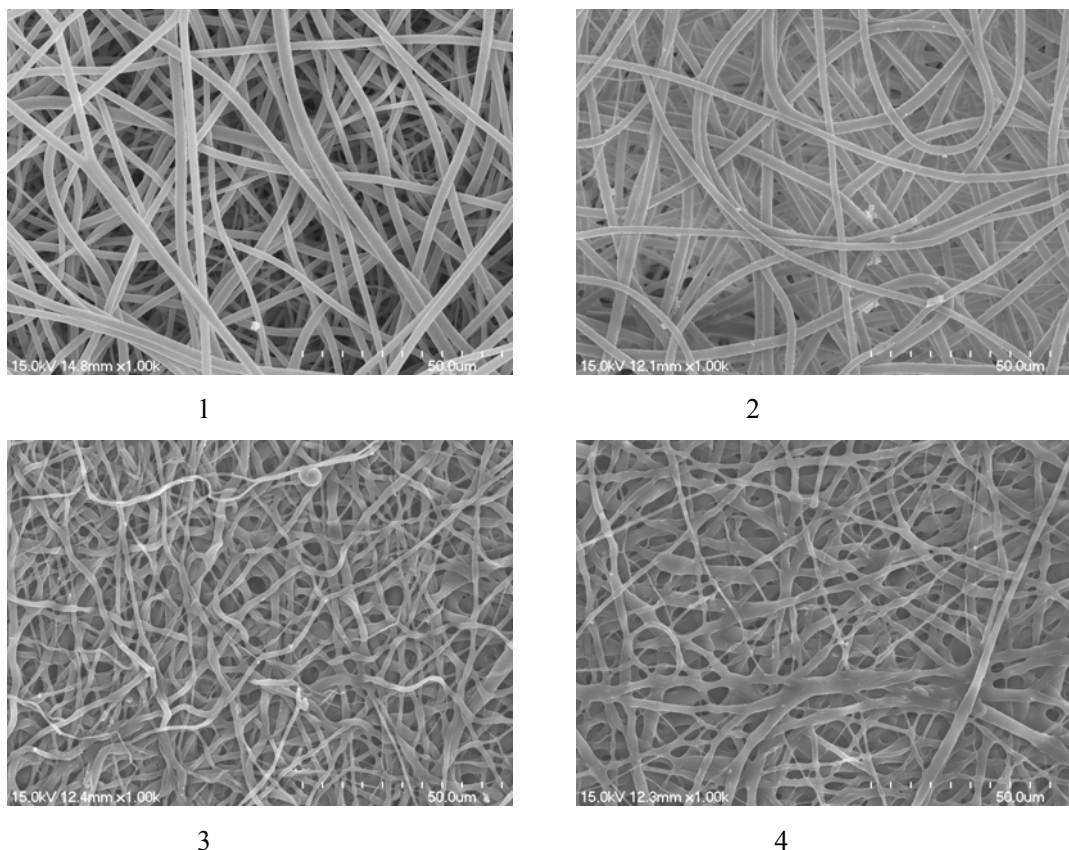


图 1 不同降解时期 PLA 纤维膜的 SEM 照片：

1-PLA 纤维膜原样 2-降解 2 周 3-降解 8 周 4-降解 16 周

2.2 X 射线衍射(XRD)

X 射线衍射是测定聚合物结晶度的主要方法。同时通过 X 射线衍射图谱也可定性分析降解过程中聚合物结晶程度的变化。国外研究报道^[16, 17]结晶型 PLA 聚合物具有四个结晶特征峰 $2\theta=14.6^\circ, 16.68^\circ, 19.14^\circ$, 和 22.27° 。由图 2 中 1 号样品可以看出 PLA 纤维膜降解前有 4 个结晶特征峰, $2\theta=14.68^\circ, 16.688^\circ, 19.148^\circ$, 和 22.278° , 与文献报道一致。降解至第 2 周时两个强度较弱峰 14.68° 和 22.278° 已经消失, 另两个峰的强度也减弱, 表明结晶程度降低。随着降解时间的进行, 结晶峰强度继续减弱。到 12 周时结晶峰 19.148° 消失, 16 周时结晶峰 16.688° 强度继续减弱。从 X 射线衍射图谱可以看出, PLA 纤维膜在 PBS 溶液中逐渐发生降解, 结晶度逐渐降低。

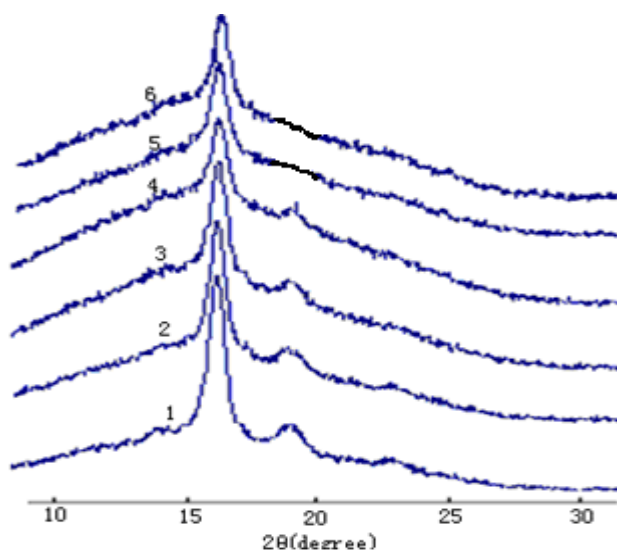


图 2 不同降解时期 PLA 纤维膜的 X 射线衍射曲线

1-PLA 纤维膜原样, 2-降解 2 周, 3-降解 4 周, 4-降解 8 周, 5-降解 12 周 6-降解 16 周

2.3 DTA 测试

降解过程中采用 DTA 测试可以测定聚合物的结晶度, 同时通过结晶度的变化来表征其降解性能。图 3 为不同降解时期 PLA 纤维膜的结晶熔融热。随着降解时间的延长, 结晶熔融热逐渐下降。表 1 列出了不同降解时期 PLA 纤维膜的结晶熔融热和结晶度。从中可以看出材料降解 2 周时结晶度略微有所下降, 证明两周内主要为非晶区水解, 晶区水解较少。随着降解时间的延长结晶度不断下降, 当 16 周时下降到 16.77%。通过结晶度定量分析可以看出 PLA 纤维膜晶区降解非常缓慢, 要达到完全降解需要很长时间。

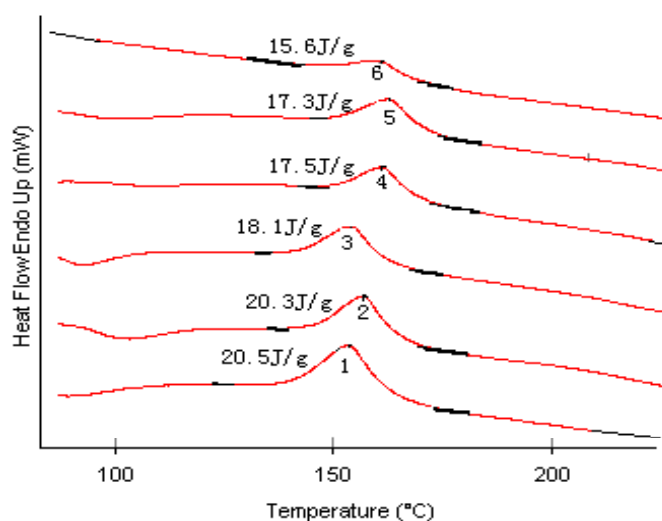


图 3 不同降解时期 PLA 纤维膜的 DTA

1-PLA 纤维膜原样, 2-降解 2 周, 3-降解 4 周, 4-降解 8 周, 5-降解 12 周, 6-降解 16 周

表 1 不同降解时期 PLA 纤维膜的结晶熔融热和结晶度

	原样	降解 2 周	降解 4 周	降解 8 周	降解 12 周	降解 16 周
ΔH_m (J/g)	20.5	20.3	18.1	17.5	17.3	15.6
Xc.h(%)	22.04	21.83	19.46	18.82	18.60	16.77

2.4 失重率

PLA 纤维膜浸入在 PBS 溶液中,随着时间的延长,降解程度加深,部分降解产物溶于 PBS 溶液中造成质量损失即失重率。所以失重率大小可以用来表征材料降解的快慢。失重率大则质量损失快,降解速率快。表 2 和图 4 表明降解前两周失重率明显上升接近 10%,而 2 至 16 周仅上升近 12%。这是因为前两周 PLA 纤维膜中非晶区水解速度较快,部分水解产物在短时间就可以溶解在水中,失重率迅速增加。两周后失重率继续上升,但速度减缓,这是因为非晶区中部分水解产物还未能达到可以溶解在水中的程度,仍然保持在纤维膜中。同时晶区水解已经开始,水解速度降低,失重率上升减缓,16 周时近 20%。

表 2 PLA 纤维膜降解不同时期的失重率

降解时间 (week)	2	4	8	12	16
降解前样品质量 (g)	0.1836	0.1935	0.1990	0.2764	0.3930
降解后样品质量 (g)	0.1673	0.1723	0.1695	0.2269	0.3143
失重率 (%)	8.88	10.96	14.82	17.91	20.05

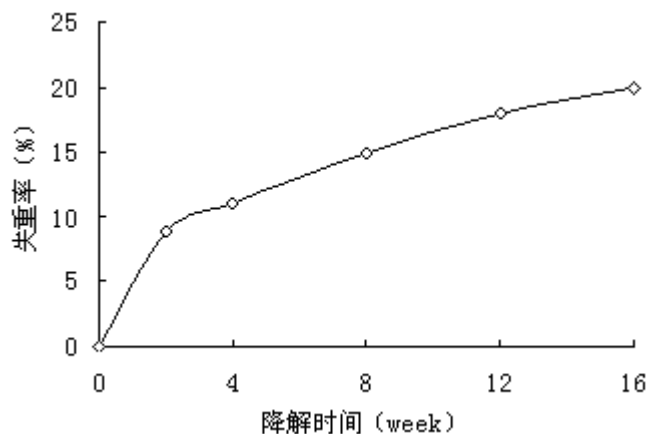


图 4 PLA 纤维膜降解过程中的失重率曲线

2.5 相对分子质量的变化

相对分子质量是表征聚合物降解的一项重要指标。PLA 相对分子质量的改变主要是由于酯键的水解断裂，所以相对分子质量变化快慢直接反映了其降解速度的快慢。

表 3 PLA 纤维膜原样相对分子质量的测定数据与结果

原样浓度	c=0.002g/ml	2/3c	1/2c	1/3c	1/4c
t (s)	30.434	27.399	26.448	25.78	25.498
η_r	1.284479	1.120361	1.068041	1.030988	1.015266
η_{sp}	0.284479	0.120361	0.068041	0.030988	0.015266
η_{sp}/c	142.2397	90.27099	68.04062	46.48209	30.53169
$\ln \eta_r/c$	125.1767	85.23843	65.82577	45.77643	30.30099

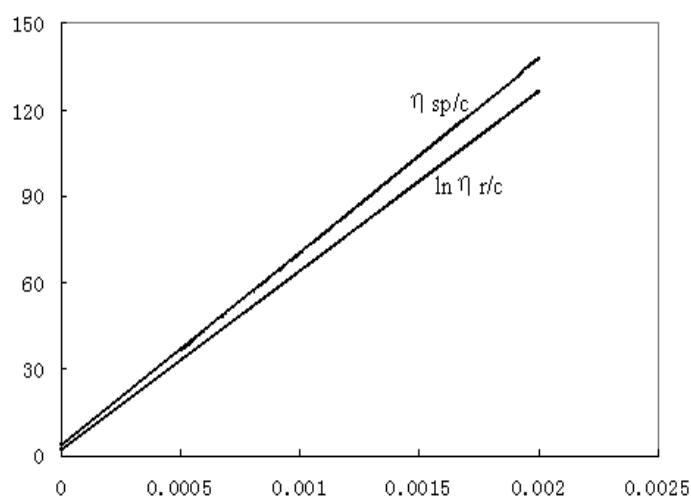


图 5 PLA 纤维膜原样相对分子质量的测定数据与结果

由表 3 和图 5 可知，曲线 $\eta_{sp}/c \sim c$ 与 $\ln \eta_r/c \sim c$ 外推到 $c=0$ 的相交点为 2.43，根据稀释式粘度测量原理可知 $[\eta]$ 即为 2.43，由公式 $[\eta]=4.41 \times 10^{-4} M_n^{0.72}$ 可求出 PLA 纤维膜原样的相对分子质量约为 15.712 万。

通过上述同样方法测得不同降解时期样品相对分子质量如下表 4。

表 4 PLA 纤维膜不同降解时期的相对分子质量

降解时间 (week)	0	2	4	8	12	16
$[\eta]$	2.43	1.63	1.52	1.44	1.32	1.06
$M_n (\times 10^4)$	15.712	9.024	8.182	7.588	6.699	4.954

根据测试方法中相对分子质量下降百分率计算公式计算不同降解时期相对分子质量下降百分率见图 6。

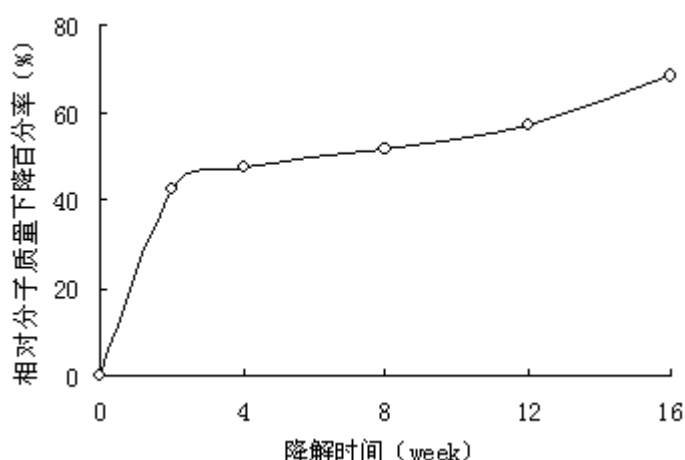


图 6 PLA 纤维膜降解过程中相对分子质量下降百分率

图 6 表明随降解时间延长相对分子质量逐渐减小。前两周相对分子质量快速下降了 42%，而 2 至 16 周之间相对分子质量仅下降了 26%，证明 PLA 纤维膜前两周降解速度很快。前两周 PLA 非晶区大分子链受水解作用而较快地被随机切断，引起相对分子质量快速下降。后几周，除非晶区内分子链的水解外，晶区内分子链开始水解，但因结晶区分子链排列紧密，水分子难以进入并水解酯键，因此相对分子质量下降缓慢。另外，由失重率和相对分子质量可见，在降解过程中，相对分子质量下降快，质量的减少慢，相对分子质量的下降与失重率并不同步，这是由于在降解过程中，大分子链酯键断裂，不断生成相对分子质量低的聚合物。但只有当降解产物小到可以游离出聚合物基体，才会发生明显的质量损失，所以降解初期试样失重率明显滞后于相对分子质量的下降。

2.6 断裂强度的变化

作为可降解材料，随着降解时间的延长材料力学性能必然下降。因此可由材料的断裂强度来表征其降解的程度和快慢。同时还可掌握材料在一定时间内所保持的力学强度，以满足组织再生所需要的时间。所以对其降解过程中断裂强度变化的测试是必不可少的一项。从表 5 和图 7 中可以看出降解前两周 PLA 纤维膜断裂强度下降比较快，接近 23%。主要是因为非晶区易吸水，水分子进入纤维膜的孔隙内使其溶胀，破坏了纤维分子之间的作用力，同时相对分子质量的快速下降导致分子间作用力减小，断裂强度快速下降。2 周后下降速度减缓，16 周时下降 36%，这是结晶区水解困

难，相对分子质量下降缓慢所致。

表 5 PLA 纤维膜降解过程中的断裂强度

降解时间 (week)	2	4	8	12	16
降解前样品(N/mm ²)	2.2	2.13	2.18	2.51	3.3
降解后样品(N/mm ²)	1.7	1.56	1.58	1.74	2.1
下降百分率 (%)	22.7	26.8	27.5	30.5	36.4

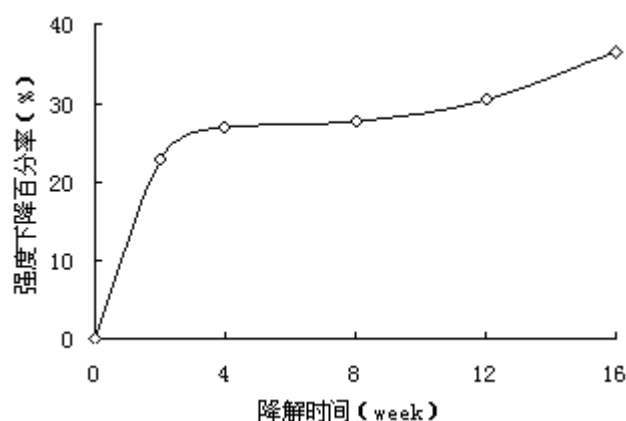


图 7 PLA 纤维膜降解过程中的强度下降曲线

3 降解机理

聚乳酸 (PLA) 分子结构式如图 8，其中的酯键易水解生成乳酸，代谢最终产物是 CO₂ 和 H₂O。

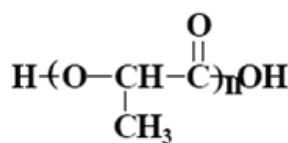


图 8 聚乳酸 (PLA) 分子结构式

从化学角度看，高聚物的降解主要存在三种机制^[18,19]：1.疏水性聚合物通过主链上不稳定键的水解变成低相对分子质量、水溶性分子；2.不溶于水的聚合物通过侧链基团的水解、离子化或质子化，变成水溶性聚合物；3.不溶于水的聚合物被水解掉不稳定的交联链变成可溶于水的线型聚合物。

聚乳酸及其共聚物的体外降解可认为主要是酯键的酸碱水解所致。在酸碱水解初期，聚乳酸的相对分子质量较大，聚合物酯键水解断裂是随意的，链的分子被酸碱水解的位点多，故相对分子质量下降快，但是短链分子仍有一定的聚合度，且粘附在

一起，重量丧失不明显。随着降解时间的延长，当相对分子质量小到可以溶于水的极限值时，整体结构即发生变形和失重，逐步变为微小的碎片进入液体最终降解。

从结晶度角度看，由于晶区分子链段排列紧密，水不容易渗透进去，降解过程总是从非晶区到结晶区。水分子先渗入非晶区，导致酯键的断裂，这个过程比较容易，导致相对分子质量的快速下降和力学性能降低。当大部分非晶区降解完成时，才由边缘向结晶区的中心开始降解。晶区水分子渗入困难，降解缓慢。

4 结论

通过静电纺丝制得 PLA 纤维膜，对其在 PBS 溶液中进行降解的各项性能进行研究得到如下结论：

4.1 PLA 纤维膜的失重率、相对分子质量以及断裂强度在降解 2 周内下降较快，但失重率的增加明显滞后于相对分子质量的下降，2 周后三者下降速度减缓。

4.2 PLA 纤维形貌观察发现，随着降解时间的延长，纤维直径逐渐变细且单根纤维变得粗细不匀，16 周时纤维出现少许断头。

4.3 X 射线衍射与 DTA 测试证明，降解过程中 PLA 纤维膜结晶度逐渐下降。降解 2 周时纤维膜的结晶度下降较小，16 周时下降较大。由此说明 2 周内降解主要发生在非晶区，2 周后晶区开始降解，降解速度减缓。

4.4 PLA 纤维膜在 PBS 溶液中可以发生降解，但完全降解生成 CO_2 和 H_2O 需要时间很长。

参考文献

- [1] Vert M, Christel P, Chabot F, et al. J Macromolecular Biomaterial Bocaraton[C], Florida USA: CRC-Press Inc, 1984: 120.
- [2] F. W. Nijssen, B. A. Zonnenberg, J. R. W. Woittiez, et al. Holmium -166 Poly Lactic Acid Microspheres Applicable for Intra-Arterial Radionuclide Therapy of Hepatic Malignancies: Effects of Preparation and Neutron Activation Techniques[J]. European Journal of Nuclear Medicine, 1999, 26(7): 699~704.
- [3] Toshinobu Seki, Takeo Kawaguchi, Hirotaka Endoh, et al. Controlled Release of 3', 5'-Diester Prodrugs of 5-Fluoro-2'-Deoxyuridine from Poly-L-Lactic Acid Microspheres[J]. Journal of Pharmaceutic Sciences, 79(11): 985~987.
- [4] Krkchekdorf HR, Kreiser SI. Polyactides-Synthesis Characterization and Medical Application[J]. Macromol Syrup, 1996, 103: 85~102.
- [5] Suganuma J, Alexander H. Biologic Response of Intramedullary Bone to Poly(L-Lactic Acid)[J]. J Appl Biomater, 1993, 4: 13~27.
- [6] Pitt C G. The degradation of poly (DL-Lactide), Poly (ϵ -caprolacton) and their copolymers in vivo [J]. Biomaterials, 1981, 2: 215~220.
- [7] 麦杭珍, 赵耀明, 陈军武. 聚乳酸的成型加工及其降解性能[J]. 塑料工业, 2000, 5(28): 28~30.
- [8] Hooper KA, Macon ND, Kohn J. Comparative histological evaluation of new tyrosine-derived polymers and poly (L-lactic acid) as a function of polymer degradation [J]. Biomed Mater Res, 1998, 41: 443~454.
- [9] S-H. Tan, R. Inai, M. Kotaki, S. Ramakrishna. Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process[J]. Polymer, 2005, 46: 6128~6134.
- [10] Xinhua Zong, Kwangsok Kim, Dufei Fang. Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes[J]. Polymer, 2002, 43(16): 4403~4412.
- [11] C.Y. Xu, R. Inai, M. Kotaki, et al. Aligned biodegradable nanofibrous structure: a potential scaffold for blood vessel engineering[J]. Biomaterials, 2004(25): 877~886.
- [12] 张幼珠, 吴佳林, 王立新, 等. 静电纺分层构建 PLA/丝素复合纤维膜的架构和性

能[J].合成纤维工业, 2008,(3):1~4.

[13] 全大萍, 袁润章, 卢泽俭, 等.高分子量 DL-丙交酯的合成及热降解[J].应用化学, 2000,17(3):268~271.

[14] Tsuji H. Ikada Y. Polymer Degradation and Stability, 2000,67:179~189.

[15] 廖凯荣, 全大萍, 高建文, 等. PLLA/PDLLA 共混物的力学性能及体外降解特性研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2002,41(1):51~54.

[16] Ki Woong Kim, Seong Ihl Woo. Synthesis of High-Molecular-Weight Poly(l-Lactic acid) by Direct Polycondensation[J]. Macromol. Chem. Phys, 2002,203:2245~2250.

[17] M. F. Gonzalez R. A. Ruseckaite T. R. Cuadrado. Structural Changes of Polylactic-Acid (PLA) Microspheres under Hydrolytic Degradation[j]. J Appl Polym Sci, 1999,71: 1223~1230.

[18] 林建平, 吴礼光, 张林, 等. 医用可生物降解高分子材料[J]. 功能高分子学报, 1996,9(4):631~638.

[19] 宇恒星, 董南薰, 王朝生, 等. 聚乳酸的热降解模型研究[J]. 东华大学学报(自然科学版), 2002,28(6):31~34.

第三章 静电纺 PLGA 工艺条件及其纤维膜的降解性能研究

聚乳酸-乙醇酸 (Polylactide-co-glycolide, PLGA), 是由乳酸($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$)和乙醇酸($\text{HO}-\text{CH}_2-\text{COOH}$)两种单体在催化剂的作用下聚合而成的高分子共聚物。由于其良好的生物降解性和生物相容性, 可广泛应用于生物医学领域^[1,2,3]。

近年来采用静电纺丝制备 PLGA 组织工程支架成为研究热点, 国内外关于静电纺丝参数与 PLGA 纤维形态之间关系的研究已有报道, 但针对 PLGA 溶剂的选择研究较少。何晨光等^[4,5]曾用四氢呋喃和 DMF 作为溶剂研究了纺丝液浓度、电场强度和流量对纤维支架表面形貌的影响; 王颖俊等^[6]同样采用四氢呋喃和 DMF 作为溶剂研究了电纺丝过程中溶剂的挥发对纤维直径、形态结构及其膜的动态力学性能的影响; Young 等^[7]在研究中发现提高溶剂 DMF 的导电性和极性可以明显降低纤维直径; Katti DS 等^[8]以四氢呋喃和三氯甲烷为溶剂研究发现纺丝液质量分数提高, 溶液粘度增大, 溶液流动性降低, 会加剧喷头堵塞。本论文首次以三氯甲烷和丙酮混合溶液作为溶剂, 通过对纺丝参数的控制, 获得静电纺 PLGA 纤维膜, 为组织工程支架提供材料。

作为组织工程材料, 以其他方法构建 PLGA 组织工程支架及其降解行为的研究已有报道。Holy 等^[9]研究了 PLGA 75/25 多孔泡沫在不同 pH 值的降解介质中的体外降解规律; Lu 等^[10]采用溶液浇铸-粒子沥滤法制备出 PLGA 多孔泡沫材料, 研究了不同孔径的多孔泡沫材料体外降解规律; Taiyo Yoshioka 等^[11]研究了 PLGA 作为骨组织材料的体外降解过程中质量损失和外观形貌的变化。而对静电纺 PLGA 纤维膜的降解性能研究报道甚少^[12]。

本章研究工作之一是以氯仿和丙酮 (体积比 2: 1) 混合溶液溶解 PLGA 制得纺丝液进行静电纺丝, 并研究了纺丝液质量分数、电压、极距等工艺参数对所制得纤维形态结构的影响。用扫描电镜 (SEM) 观察纳米纤维的形貌并计算其直径及其分布, 并分析工艺参数对其形貌和直径影响的规律和原因, 确定较优的工艺条件, 为 PLGA 纤维膜降解性能的研究提供实验材料。研究工作之二是通过测定在 PBS 溶液中不同

降解时间下 PLGA 纤维膜的失重率、相对分子质量、断裂强度以及 SEM 观察其形貌的变化，再通过 DTA 和 X 射线衍射测试从微观角度来表征其降解性能。

1 实验材料及方法

1.1 实验材料

聚乳酸-乙醇酸 (PLGA) (济南岱罡生物材料有限公司, 相对分子质量 1.1×10^5 , LA/GA=75:25)

氯仿 (三氯甲烷) (上海化学试剂有限公司, 分析纯)

丙酮 (中国上海试剂总厂, 分析纯)

无水乙醇 (上海化学试剂有限公司, 分析纯)

1.2 实验方法

1.2.1 纺丝液的制备

将 PLGA 加入氯仿与丙酮混合溶液 (体积比 2:1) 中, 搅拌溶解获得质量分数为 5%、7%、9% 的纺丝液。

1.2.2 静电纺丝装置

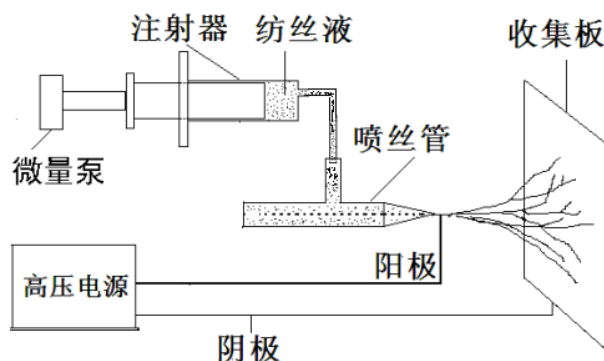


图 1 静电纺丝装置示意图

静电纺丝装置如图 1 所示, 将纺丝液加入针管中, 依靠微量泵控制流速。利用高压直流电源提供高压电源, 正极输出的电极与喷丝管前端的针头相连, 阴极与金属网收集板相连。

1.2.3 纤维膜的制备

在工艺条件确定后, 在最佳工艺条件下进行静电纺丝。将静电纺 PLGA 纤维膜浸于无水乙醇溶液中 15min, 然后室温干燥 24h。将制成的膜片裁成 $5\text{cm} \times 5\text{cm}$ 的方形试样, 备用。

1.2.4 磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 的制备

精确称取在 110~120℃ 下干燥的磷酸二氢钾 13.609 克, 溶于去离子水中, 准确稀释至 500ml; 将氢氧化钠配成饱和溶液, 藏于内敷有石蜡的玻璃瓶中, 密闭放置至溶液清亮, 然后量取 5ml 清亮的氢氧化钠饱和溶液, 用去离子水稀释至 1000ml, 标定调整溶液体积使浓度为 0.1mol/L。然后准确量取 39.34ml 氢氧化钠溶液与 25ml 磷酸二氢钾溶液混合后稀释至 100ml 制得 pH=7.4 的缓冲溶液。

1.2.5 体外降解实验

将 PLGA 纤维膜试样真空干燥 48 小时后称重, 在 250ml 的锥形瓶中加入 PBS 溶液 100 ml, 将上述制得的方形试样完全浸入其中, 每个锥形瓶中浸入 1 个试样, 共 5 个试样。用胶塞密封, 置于(37±1)℃ 水浴中进行水解实验。分别在水解第 2, 4, 6, 8, 10 周取样进行测试及表征。

1.3 测试方法

1. 失重率的测定: 采用烘干称重法测定试样降解前后的质量。失重率 $= (W_0 - W_1) / W_0 \times 100\%$, 其中 W_0 为降解前干燥 48h 后质量, W_1 为降解后干燥 48h 后质量。

2. 相对分子质量的测定: 用乌氏粘度计, 采用稀释法, 以三氯甲烷为溶剂, PLGA 纤维膜初始浓度 c 为 0.002g/ml, 在 (25±0.1)℃ 下测定。以丙酮为参照溶液, $\eta_{\text{丙}} = 0.3075\text{cp}$ $\rho_{\text{丙}} = 0.7851\text{g/ml}$; 测出丙酮溶液流经粘度计规定两刻度线之间的时间 $t_{\text{丙}} = 25.22\text{s}$; 三氯甲烷溶液流经粘度计规定两刻度线之间的时间 $t_{\text{三}} = 24.14\text{s}$ 根据公式

$$\frac{\eta_{\text{丙}}}{\rho_{\text{丙}}} = At_{\text{丙}} - \frac{B}{t_{\text{丙}}}$$
$$\frac{\eta}{\rho_{\text{三}}} = At_{\text{三}} - \frac{B}{t_{\text{三}}}$$

可求得 $A=0.0188$ $B=2.0473$ (A、B 为仪器常数) 则 $k=B/A=108.9$

$$\text{相对粘度 } \eta_r = \frac{t - \frac{k}{t}}{t_{\text{丙}} - \frac{k}{t_{\text{丙}}}}$$
$$\text{增比粘度 } \eta_{sp} = \eta_r - 1$$

将 PLGA 纤维膜溶液浓度稀释成 4 个不同的浓度，分别测粘度，最后由曲线 $\eta_{sp}/c \sim c$ 与曲线 $\ln \eta_r/c \sim c$ 外推至 $c \rightarrow 0$ ，两直线相交于一点，此截距即为特性粘度 $[\eta]$ 。图2为山东济南岱罡生物科技有限公司提供的PLGA 共聚物粘度和相对分子质量的关系图。曲线拟合后公式为 $M_\eta = 1.8404 \times 10^5 \times [\eta]^{1.4939}$ ($R^2=1$)。

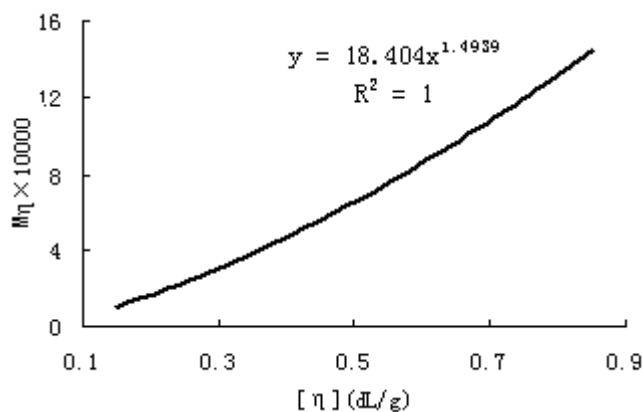


图 2 粘度与相对分子质量的关系图

$$\text{相对分子质量下降百分率} = \frac{\text{降解前相对分子质量} - \text{降解后相对分子质量}}{\text{降解前相对分子质量}} \times 100\%$$

3.断裂强度的测定：将纳米纤维膜剪成宽为 10mm×50mm 的细长条，每条纳米纤维膜在 YG(B)141D 型数字式织物厚度测试仪上选择 5 个点测其厚度，计算其平均值即得膜的厚度。样品在恒温恒湿条件（T=23℃，RH=70%）下平衡 24 小时后，在 Instron3365 型强伸度测试仪上测定膜的断裂强力和绝对断裂伸长，样品的夹持长度为 30mm，拉伸速率为 20mm/min。以下列公式计算相对强度。

$$\text{断裂强度(N/mm}^2\text{)} = \frac{\text{断裂强力(N)}}{\text{膜厚度(mm)} \times \text{膜宽度(mm)}}$$

$$\text{断裂强度下降百分率} = \frac{\text{原样断裂强度} - \text{降解后断裂强度}}{\text{原样断裂强度}} \times 100\%$$

4.SEM 测试:用日本日立公司 S-570 型扫描电镜（SEM）观察其形貌，放大倍率为 1000 倍。测试条件：恒温 20℃，湿度 65%；然后用 Photoshop 7.0 将电镜照片分为 9 部分，每部分取 15 根纤维，共取 135 根纤维用度量工具测其直径，对比电镜照片标准尺度即可得纤维的实际直径，根据所得数据计算纤维直径的平均值及标准方差。标准方差的大小反映了数据对平均值的离散程度，标准偏差越小，表明纤维直径分布越集中，反之则越分散

5.DTA 分析: 采用美国 PE 公司 Diamond 5700 DTA/TG 热分析仪, 扫描范围为 40~400℃, 升温速度 10℃/min, 氮气保护, 流量 120ml/min。

6.XRD 分析: 样品剪成粉末, 管电压 40kv, 管电流 30mA, 扫描速度 2°/min。2 θ 角范围 5°~45°。

2 结果与讨论

2.1 PLGA 静电纺丝工艺条件的确定

纺丝液的质量分数, 静电纺丝过程中的电压、极距等主要工艺参数对纤维的形态结构有很大的影响。本次实验通过固定其他工艺参数, 分别对纺丝液的质量分数、电压、极距等工艺参数进行研究。

2.1.1 纺丝液质量分数对 PLGA 纤维形貌及直径的影响

固定纺丝电压 20kV、极距 13cm、流量 0.1ml/h 等工艺条件, 分别配制质量分数为 5%、7%、9%的纺丝液进行静电纺丝。实验结果见图 3 和表 1 所示。

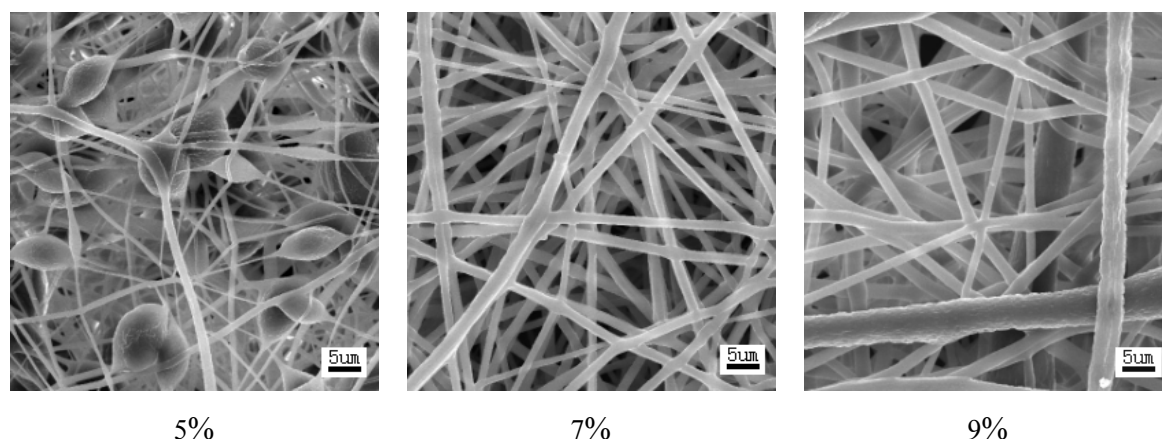


图 3 不同质量分数静电纺 PLGA 纤维 SEM 照片

表 1 不同质量分数静电纺 PLGA 纤维直径

PLGA 溶液质量分数 (%)	5	7	9
平均直径(nm)	800	1544	1987
标准偏差 (nm)	280	165	387

由图 3 和表 1 可见, 随着纺丝液质量分数的提高, 纤维直径逐渐增大。这是由于随着纺丝液质量分数的增加, 溶液粘度增大, 喷射流分化困难导致纤维直径提高, 且直径分布不均匀。质量分数为 5%时, 纤维直径较细但出现许多珠状物, 这是溶剂挥发不完全所致。质量分数为 7%时所得纤维的形貌规整, 直径分布也较为均匀。质量

分数为 9%时所得纤维的直径较粗，离散度也很大。故纺丝液质量分数可选择 7%。

2.1.2 电压对 PLGA 纤维形貌及直径的影响

喷丝口与接收屏之间的电压的大小，也是影响静电纺丝的一个重要参数。配制 PLGA 质量分数为 7%的纺丝液，固定极距为 13cm、流量 0.1ml/h，分别在 20kV、25kV、30kV 的条件下进行静电纺丝。实验结果见图 4 和表 2。

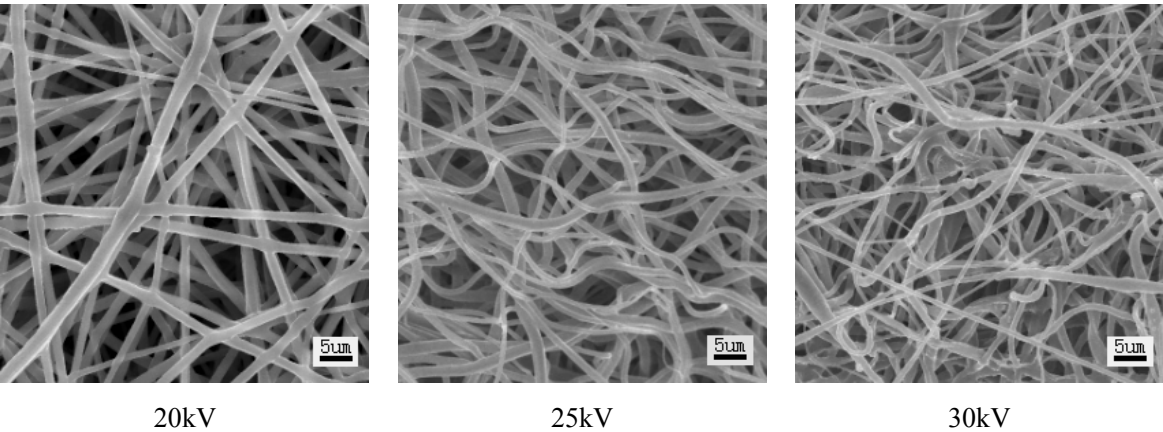


图 4 不同电压下静电纺 PLGA 纤维 SEM 照片

表 2 不同电压下静电纺 PLGA 纤维直径

电压 (kV)	20	25	30
平均直径(nm)	1544	1212	1054
标准偏差 (nm)	165	172	241

由图 4 和表 2 可见，随着电压的增大，纤维的平均直径有所下降，这是由于随着电压的增大，电场强度增大，从而克服表面张力容易，喷射流易分化，导致直径下降。当电压为 20kV 时，纤维的直径 1500nm 左右，这是由于低电压下，喷射流受到的排斥力不大，分化能力不强，纤维直径较粗，所以电压不宜再降低。但纤维形貌规整，均匀度较好。当电压为 25kV 时，纤维直径变细，但纤维形貌不规整，弯曲很多，同时直径分布离散程度稍微增大。电压为 30kV 时所得纤维的直径最小，但纤维形貌不规整且出现断头。故选择 PLGA 静电纺丝的电压为 20kV。

2.1.3 极距对 PLGA 纤维形貌及直径的影响

在电纺过程中，不同的溶液体系有不同的合适的接收距离，接收距离是影响纤维形貌的一个重要参数。配制质量分数为 7%的 PLGA 溶液，固定电压为 20kV、流量为 0.1ml/h、极距分别为 8cm、13cm、18cm 下进行静电纺丝。实验结果见图 5。

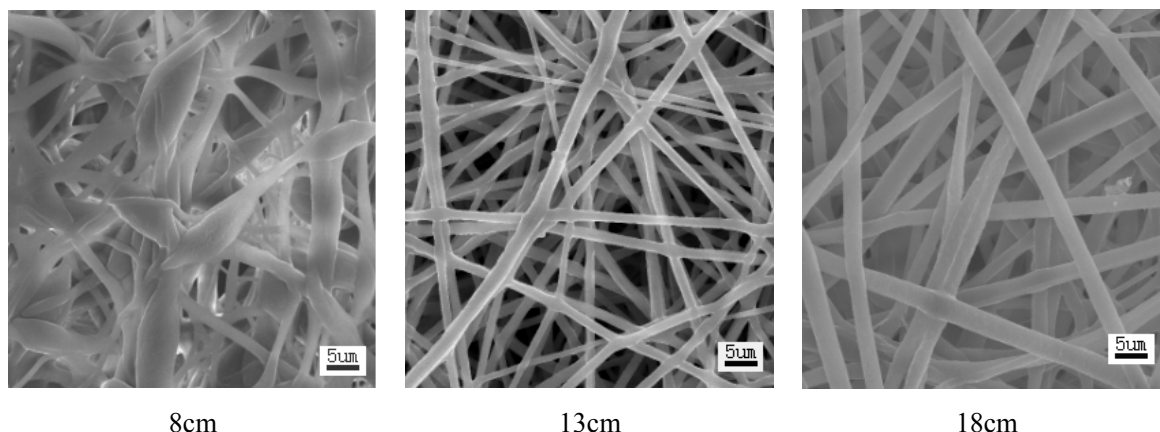


图 5 不同极距下静电纺 PLGA 纤维 SEM 照片

由图 5 可知，当接收距离为 8cm 时，只有很少的纤维产生，珠节占大部分。当接收距离为 13cm 时，几乎无珠节产生，能形成超细纤维。这是由于增大纺丝极距有利于溶剂的挥发和喷射流的分化，给纤维的成型提供了足够的固化与分化时间，使得纤维在电场作用下充分拉伸固化。当接收距离进一步增大，电场强度下降，喷射流受到拉伸小，分化能力减弱，使得纤维直径明显增大，另外距离增大导致接收屏收集纤维较少。故选择 PLGA 静电纺丝的接收距离为 13cm。

较优工艺条件：质量分数 7%，电压 20kV，极距 13cm

2.2 PLGA 纤维膜降解性能

将 PLGA 颗粒加入氯仿与丙酮混合溶液（体积比 2:1）中，室温下用磁力搅拌器搅拌至完全溶解，得质量分数为 7% 的 PLGA 纺丝液，在电压 20kV，极距 13cm，流量 0.1ml/h 的较优工艺条件下进行静电纺丝。将静电纺 PLGA 纤维膜浸于无水乙醇溶液中 15min，然后室温干燥 24h。将制成的膜片裁成 5cm×5cm 的方形试样后浸入 PBS 溶液中进行降解。

表征材料降解性能的方法较多，常用到的有：失重率、力学性能、相对分子质量以及纤维形貌等。从微观角度研究的方法主要有：红外光谱测试、DSC 或 DTA、X 射线衍射等。按照第二章 PLA 纤维膜降解性能研究内容，本章也主要研究了 PLGA 纤维膜在降解过程中的形貌、质量、相对分子质量、断裂强度等结构性能的变化。同时通过 DTA 和 X 衍射分析了降解过程中微细结构的变化。

2.2.1 纤维形貌的变化

通过 SEM 观察纤维形貌可以直接观察降解不同时期纤维的变化情况。图 6 是不同降解时期 PLGA 纤维膜的 SEM 图片。2 周时纤维吸水发生溶胀。8 周时纤维大面积出现断裂甚至因溶蚀出现较大孔洞。10 周时纤维形态完全消失，同时纤维膜崩解成小的碎片，并且变得硬脆。

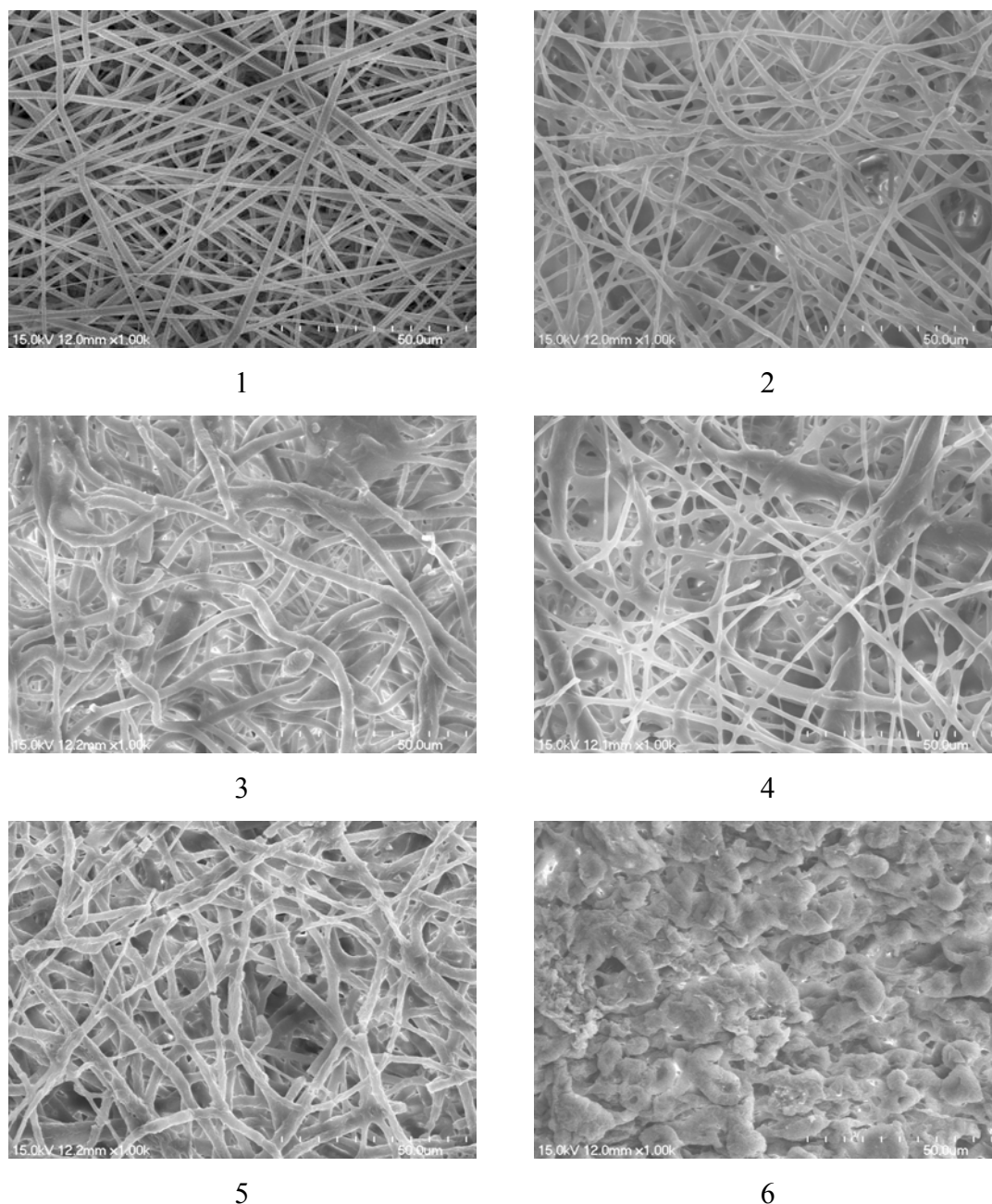


图 6 PLGA 纤维膜在不同降解时期的 SEM 图片

1-PLA 纤维膜降解前，2-降解 2 周，3-降解 4 周，4-降解 6 周，5-降解 8 周，6-降解 10 周

2.2.2 X 射线衍射

聚合物降解过程中结晶区的存在对降解性能影响较大，通过 X 射线衍射可以测定聚合物中是否具有结晶区，从而对降解过程进行更好的分析。从静电纺 PLGA 纤维膜降解过程中 X 射线衍射图谱（图 7）可以看到，PLGA 纤维膜原样没有出现结晶衍射峰，说明其为无定型聚合物。随着降解的进行，也未出现任何结晶衍射峰，静电纺 PLGA 纤维膜在降解前后均为无定型聚合物。

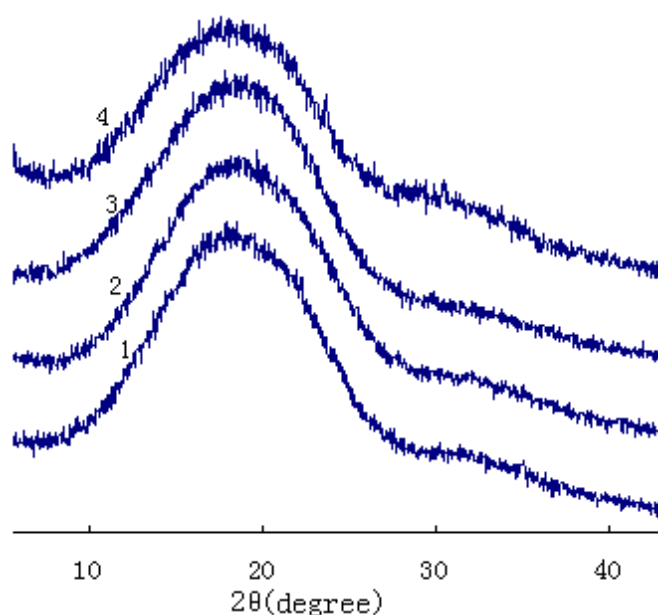


图 7 PLGA 纤维膜不同降解时期的 X 衍射

1-PLGA 纤维膜原样，2-降解 4 周，3-降解 8 周，4-降解 10 周

2.2.3 DTA 测试

降解过程中采用 DTA 测试可以测知聚合物中分子链的排列规整程度，规整程度下降表明聚合物大分子链被降解后变得无序。如图 8 可见，静电纺 PLGA 纤维膜降解前后都有一个分解吸热峰，但分解温度不同。PLGA 纤维膜原样在 332.78℃ 处出现吸热峰，随着降解时间的延长，10 周时吸热峰温度下降到 273.79℃。这是因为在降解过程中，PLGA 大分子链受水分子作用被随机切断，相对分子质量下降，分子间作用力减小，热分解温度降低。同时降解后分子链排列更加无序，也使其分解吸热峰温度逐渐降低。

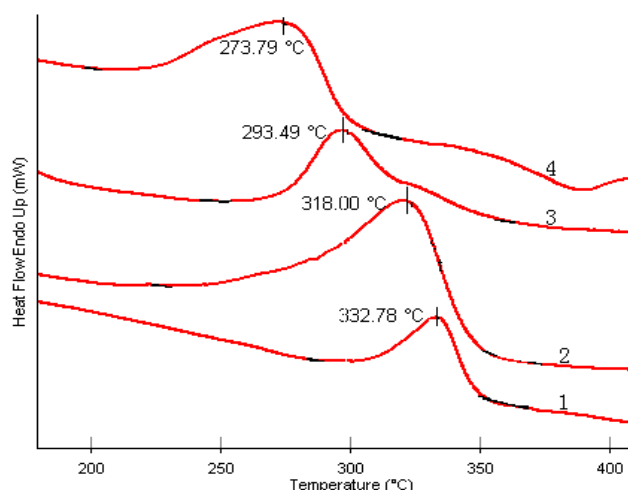


图 8 不同降解时期 PLGA 纤维膜的 DTA

1-PLGA 纤维膜原样，2-降解 4 周，3-降解 8 周，4-降解 10 周

2.2.4 失重率

PLGA 纤维膜浸入在 PBS 溶液中，随着时间的增加，降解程度加深，部分降解产物溶于 PBS 溶液中造成质量损失即失重率。所以失重率的变化可以用来表征材料降解的快慢。失重率大则质量损失就快，降解速率就快。表 3 和图 9 表明降解前 2 周失重率快速增加达到 13.04%，这是因为 GA 是一个相对较亲水的组分，样品放入 PBS 溶液中迅速发生吸水溶胀，高分子链段优先从 GA-GA 或 GA-LA 相接的酯键处断裂，从而造成 GA 成分的快速水解丢失，质量损失比较快。随着降解时间延长，失重率继续增加，但速度缓慢，第 2 周到第 8 周失重率增加 16%左右。之后到第 10 周仅增加 2%。这是因为 GA 成分的快速降解后，LA 成分降解缓慢，质量损失不明显。也有文献报道^[13]在 PLGA 降解过程中，随着 GA 成分的逐渐减少，LA 成分会形成不完善的结晶，延缓降解的进行。

表 3 降解不同时期 PLGA 纤维膜的失重率

降解时间 (week)	2	4	6	8	10
原 样 (g)	0.1112	0.0651	0.2502	0.0930	0.0613
降 解 后 (g)	0.0967	0.0542	0.1925	0.0661	0.0429
失重率 (%)	13.04	16.70	23.06	28.91	30.01

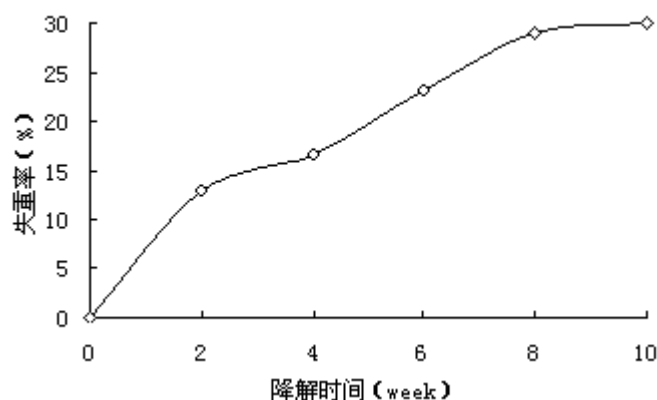


图 9 PLGA 纤维膜降解过程中的失重率曲线

2.2.5 相对分子质量的变化

相对分子质量是表征聚合物降解的一项重要指标。PLGA 相对分子质量的改变主要是由于酯键的水解，所以相对分子质量变化快慢直接反映了其降解速度的快慢。

表 4 PLGA 纤维膜原样相对分子质量的测定数据与结果

原样浓度	c=0.002g/ml	2/3c	1/2c	1/3c	1/4c
t (s)	29.734	27.299	26.451	25.493	25.338
η_r	1.24697	1.114882	1.068206	1.014987	1.006883
η_{sp}	0.24697	0.114882	0.068206	0.014987	0.006883
η_{sp}/c	123.485	86.16155	68.20644	22.47996	13.76542
$\ln \eta_r/c$	110.3583	81.56148	65.98102	22.31317	13.71827

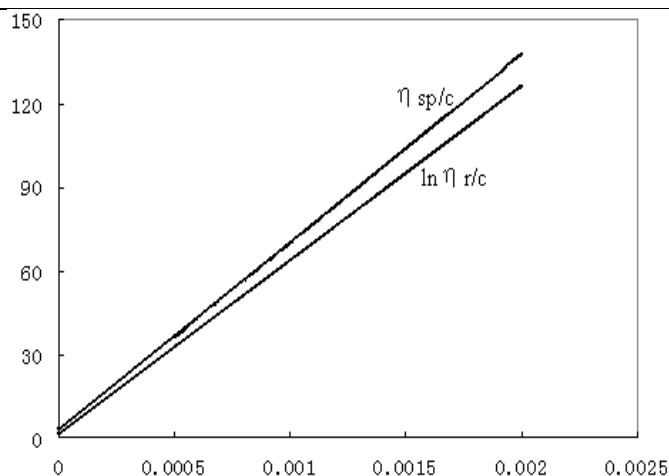


图 10 PLGA 纤维膜原样相对分子质量的测定数据与结果

由表 4 和图 10 可知，曲线 $\eta_{sp}/c \sim c$ 与 $\ln \eta_r/c \sim c$ 外推到 $c=0$ 的相交点为 0.71，根据稀释式粘度测量原理可知 $[\eta]$ 即为 0.71,由公式 $M\eta=1.8404 \times 10^5 \times [\eta]^{1.4939}$ ($R^2=1$) 可

求出 PLGA 纤维膜原样的相对分子质量约为 110333。

通过上述同样方法测得不同降解时期样品相对分子质量如下表 5

表 5 PLGA 降解过程中特性粘度与相对分子质量

降解时间 (week)	0	2	4	6	8	10
$[\eta]$ dL/g	0.71	0.48	0.40	0.33	0.28	0.26
M_n	110333	61478	46818	35124	27479	24599

由表 5 中数据，根据测试方法中相对分子质量下降百分率计算公式计算不同降解时期相对分子质量下降百分率见图 11。

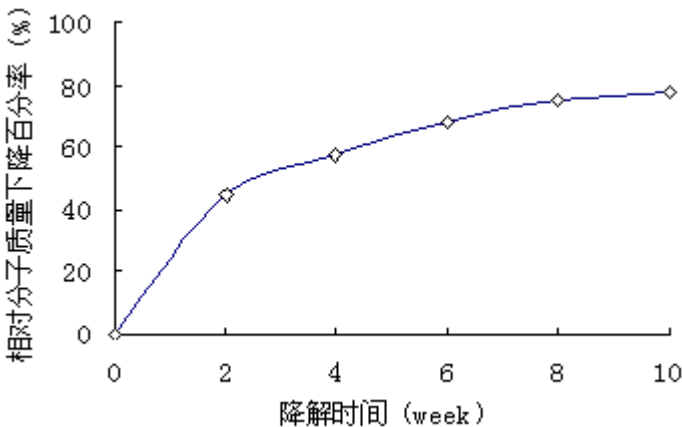


图 11 PLGA 纤维膜降解过程中相对分子质量下降百分率

由表 5 和图 11 可见，随着降解的进行，PLGA 纤维膜的相对分子质量逐渐减小，表明 PLGA 共聚物的可降解性。降解 2 周内相对分子质量下降很快下降率达到 44.28%。2 周后相对分子质量下降速率减小，但持续下降，10 周时相对分子质量下降率为 77.7%。这是因为 GA 是个亲水的组分，降解前两周高分子链段优先从 GA-GA 或 GA-LA 相接的酯键处断裂，所以相对分子质量快速下降。PLGA 体外降解过程中相对分子质量下降快于质量损失。这是因为 PLGA 的降解主要是酯键的水解，通过水分子的作用，聚合物大分子链逐渐被破坏，最终完全降解生成二氧化碳和水。在降解过程中分子链中酯键的水解断裂是无规则的，每个酯键都可能被水解。分子链越长，被水解的部位就越多，相对分子质量降低也就越快，所以一般表现为降解前期相对分子质量快速下降，而这时部分降解产物的相对分子质量还未能小到可以游离出聚合物基体，造成质量损失。

2.2.6 断裂强度的变化

作为可降解材料，随着降解时间的延长材料力学性能必然下降，因此可由材料的断裂强度来表征其降解的程度和快慢。另外，通过测定断裂强度以掌握材料在一定时间内所保持的力学性能，以满足组织再生所需要的时间。所以对其降解过程中断裂强度变化的测试是必不可少的一项指标。由表 6 和图 12 可以看出，降解前两周纤维膜断裂强度下降较快，达到 36.8%。这是因为两周内水分进入纤维膜的孔隙内使其吸水溶胀，破坏了纤维分子之间的作用力，同时因相对分子质量快速下降，分子之间作用力减小，导致断裂强度快速下降。两周后下降速度减缓，纤维膜开始发硬。8 周时力学性能下降了 58.8%，此时样品开始出现崩解。十周时样品硬脆，崩解，丧失力学性能，未能进行测量。PLGA 纤维膜力学性能下降较快，观察可见形状明显变化，膜逐渐变硬脆，10 周时样品已经成碎片。可见 PLGA 中 GA 组分的加入对力学性能和降解性能都有很大影响。

表 6 PLGA 纤维膜降解过程中的断裂强度

降解时间 (week)	2	4	6	8
原 样 (N/mm ²)	4.83	4.72	4.59	5.12
降解后 (N/mm ²)	3.05	3.29	2.33	2.11
下降百分率 (%)	36.8	43.1	49.2	58.8

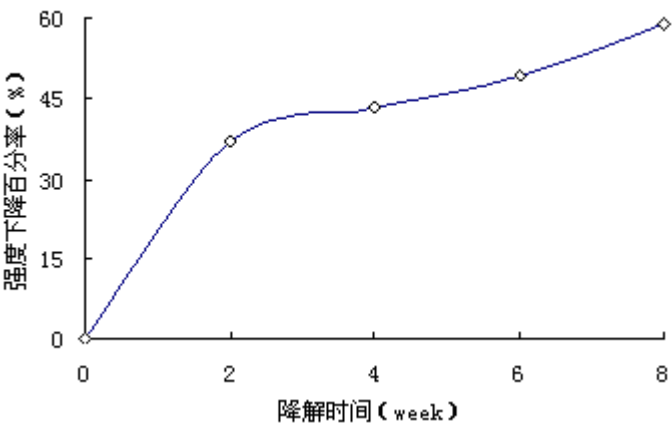


图 12 PLGA 纤维膜降解过程中的强度下降曲线

2.3 PLGA 与 PLA 纤维膜降解性能的比较

将第二章静电纺 PLA 纤维膜的各项降解性能与本章静电纺 PLGA 纤维膜进行比

较分析。

2.3.1 形貌结构

由第二章图 1 观察到 PLA 纤维 2 周时发生溶胀, 8 周时纤维变得粗细不匀, 至 16 周时纤维直径明显变细, 出现少许断头, 但纤维膜仍能保持膜状, 未发生碎裂; 本章图 6 显示 PLGA 纤维 2 周时发生溶胀, 8 周时纤维大面积出现断裂甚至因溶蚀出现较大孔洞。10 周时纤维形态完全消失, 同时纤维膜崩解成小的碎片, 并且变得硬脆。PLGA 纤维膜比 PLA 纤维膜易降解。

2.3.2 X 射线衍射和 DTA

X 射线衍射 (第二章图 2) 和 DTA 测试 (第二章图 3) 发现 PLA 纤维膜在降解前后都为结晶聚合物, 降解前两周主要在非晶区内发生酯键水解, 两周后, 晶区内开始降解, 降解速度缓慢, 降解过程中结晶度逐渐下降。

本章图 7 的 X 射线衍射图谱证明 PLGA 纤维膜在降解前后都为无定型聚合物。本章图 8 的 DTA 测试分析发现, 随着降解时间的延长, 纤维膜热分解温度降低, 这是 PLGA 大分子链发生水解断裂, 分子链排列更加无序, 同时相对分子质量减小, 分子间作用力减小, 热稳定性下降所致。

由于 PLA 纤维膜为结晶聚合物, PLGA 纤维膜为无定型聚合物, 因此, PLGA 纤维膜的降解速率大于 PLA。

2.3.3 失重率

由第二章表 2 可知 PLA 纤维膜 2 周时失重率为 8.88%, 16 周时为 20.05%; 由本章表 3 可知 PLGA 纤维膜 2 周时失重率为 13.04%, 10 周时为 30.01%。两者在降解前 2 周失重率上升很快, 两周后上升速度减缓。这是因为 PLA 纤维膜初期主要为非晶区水解, 降解速度快, 失重率上升快, 两周后晶区水解开始, 降解速度慢, 失重率上升缓慢。

相同降解时间相比, PLGA 纤维膜失重率大于 PLA 纤维膜, 这是因为 PLA 纤维膜为结晶聚合物, 降解速度慢。而 PLGA 纤维膜为无定型聚合物, 同时 PLGA 中 GA 组分亲水性较大, 易于水解, 降解速度快。

2.3.4 相对分子质量

第二章图 6 和本章图 11 对比发现, PLA 纤维膜与 PLGA 纤维膜的相对分子质量变化规律一致, 都是前两周下降快, 两周后下降速度减慢。原因与失重率变化原因相

同, PLGA 纤维膜相对分子质量下降快于 PLA 纤维膜。

失重率和相对分子质量比较后发现, 两种聚合物在降解过程中, 相对分子质量下降百分率大于失重率, 这是由于在降解过程中, 大分子链酯键断裂, 不断生成相对分子质量低的聚合物。但只有当降解产物小到可以游离出聚合物基体, 才会发生明显的质量损失, 所以降解初期试样失重率明显滞后于相对分子质量下降百分率

2.3.5 断裂强度

由第二章表 5 和本章表 6 对比发现, PLGA 纤维膜断裂强度下降快于 PLA 纤维膜。变化规律和变化原因与失重率、相对分子质量一致。

综上所述, 在 PBS 溶液体外降解过程中, PLGA 纤维膜解速率大于 PLA 纤维膜, 可根据降解速度的要求调节 LA 与 GA 的共聚比例以满足降解要求

3 结论

通过静电纺丝, 成功制备了 PLGA 纤维膜, 详细讨论了纺丝液的质量分数, 电压、接收距离对纤维形貌的影响, 得到如下结论:

3.1 纺丝液质量分数的影响: 在其它工艺条件一定时, 当质量分数为 5%, 纤维有较多珠状物; 当质量分数为 9% 时, 纤维的直径最粗; 当质量分数为 7% 时, 所纺得的纤维均匀性最好且纤维相对较细。

3.2 电压的影响: 在其它工艺条件一定时, 电压 20 kV 时, 纤维形貌规整。随着电压的增高, PLGA 纤维的平均直径略有下降, 但纤维弯曲, 离散程度增大。电压过高时易产生断头。

3.3 极距的影响: 在其它工艺条件一定时, 随着收集距离的增加, 纤维中珠节的尺寸及密度逐渐的减小, 当极距为 13cm 时, 无珠节产生, 纤维形貌结构好。极距为 18cm 时, 纤维收集较少。

3.4 在静电纺 PLGA 纤维膜降解实验中, PLGA 静电纺丝的工艺条件确定为: 质量分数 7%、电压 20kV、极距为 13cm。

在较优工艺条件下, 通过静电纺丝制得 PLGA 纤维膜, 对其在 PBS 溶液中进行降解的各项性能进行研究得到如下结论:

3.5 PLGA 纤维膜的失重率、断裂强度以及相对分子质量在降解 2 周内下降较快, 但相对分子质量与失重率的变化并不同步, 前者下降较快。2 周后三者下降速度减缓。

3.6 PLGA 纤维形貌观察发现,随着降解时间的延长,纤维直径逐渐变细且粗细不匀,8 周时纤维大量断裂,出现空洞,10 周时纤维形态消失,纤维膜崩解成小碎片。

3.7 X 衍射证明静电纺 PLGA 纤维膜降解前后均为无定型聚合物,DTA 测试发现降解过程热分解温度降低,这是相对分子质量下降,分子链排列无序所致。

3.8 PLGA 纤维膜在 PBS 中可以发生降解,但完全降解生成 CO_2 和 H_2O 需要时间很长。

3.9 PLGA 纤维膜在 PBS 溶液中降解速率大于 PLA 纤维膜,可根据降解速度的要求调节 LA 与 GA 的共聚比例以满足降解要求。

参考文献

- [1] Yoshimoto H, Shin YM, Terai H, et al. A biodegradable nanofiber scaffold by electrospinning and its potential for bone tissue engineering[J]. *Biomaterials*, 2003, 24(12): 2077~2082.
- [2] Shi G X, Cai Q, Wang C Y, et al. Fabrication and biocompatibility of cell scaffolds of poly(L-lactic acid) and poly(L-lactic-co-glycolic acid)[J]. *Polymers for Advanced Technologies*, 2002, 13(3): 227~232.
- [3] Sander E A, Alb A M, Nauman E A, et al. Solvent effects on the microstructure and properties of 75 / 25 poly(D, L-lactide-co-glycolide) tissue scaffolds[J]. *Journal of Biomedical Materials Research-Part A*, 2004, 70(3): 506~513.
- [4] 何晨光, 高永娟, 赵莉, 等. 静电纺丝的主要参数对PLGA 纤维支架形貌和纤维直径的影响[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2007, 3(1): 11~14.
- [5] 何晨光, 赵莉, 崔磊, 等. 静电纺丝制备PLGA 纤维支架的初步研究[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2006, 2(1): 25~27.
- [6] 王颖俊, 高长有. 溶剂挥发性对PLGA电纺纤维直径及其膜动态力学性能的影响[J]. *组织工程与重建外科杂志*, 2007, 3(1): 7~10.
- [7] Young You, Seung Jin Lee, Byung-Moo Min, et al. Effect of solution properties on nanofibrous structure of electrospun poly(lactic-co-glycolic acid)[J]. *Applied Polymer Sci*, 2006, 99(3): 1214~1221.
- [8] Katti DS, Robinson KW, Ko FK, et al. Bioresorbable Nanofiber- Based Systems for Wound Healing and Drug Delivery: Optimization of Fabrication Parameters[J]. *Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater*, 2004, 70B: 286~296.
- [9] Holy C E, Dang S M, Davies J E, et al. In vitro degradation of a novel poly(lactide-co-glycolide) 75 / 25 foam[J]. *Biomaterials*, 1999, 20: 1177~1185.
- [10] Lu L, Peter S J, Lyman M D, et al. In vitro and In vivo degradation of porous poly(DL-lactic-co-glycolic acid) foams[J]. *Biomaterials*, 2000, 21: 1837~1845.

- [11] Taiyo Yoshioka, Naoki Kawazoe, Tetsuya Tateishi, et al. In vitro evaluation of biodegradation of poly(lactic-co-glycolic acid) sponges[J].Biomaterials,2008,29(24):2438~2443.
- [12] 任杰, 诸静, 顾书英. 电纺丝法制备纳米纤维薄膜的降解性能研究[J]. 材料导报,2006,20(VI):79~81.
- [13] 蔡晴, 贝建中, 王身国, 等.乙交酯/丙交酯共聚物的体内外降解行为及生物相容性研究[J].功能高分子学报, 2000,13(3):249~254.

第四章 静电纺丝素纳米纤维膜的降解性能研究

丝素蛋白 (Silk Fibroin) 有良好的生物相容性, 无毒, 无刺激性, 极小的炎症反应性。不仅对组织无毒副作用, 还对皮肤、牙周组织等有营养与修复的作用。丝素蛋白正是由于具有上述性质, 在生物医学领域和组织工程中得到了日益广泛的应用^[1]。但作为生物材料, 其降解性能的研究较少, 尤其是静电纺丝素纳米纤维膜的降解性能研究未见报道。丝素的体外降解研究中发现蛋白酶和糜蛋白酶能够降解丝素^[2]。Minoura N 等^[3]把处理过的丝素膜进行体外降解实验, 酶降解 5 d 后质量损失 10%。Lam 等^[4]将丝素埋入小鼠腹部周围肌肉内, 第 6 周开始分裂, 24 周后观察不到碎屑, 因此他认为很有可能是通过蛋白水解酶的消化作用使丝素快速降解了。Zuo Baoqi 等^[5]采用湿法纺丝工艺获得再生丝素纤维, 再以放线菌在 37℃、pH 7.0 的模拟人体环境条件下进行降解实验, 30 d 体外降解率达到 37.61%。目前对丝素降解过程及其最终降解产物尚不清楚, 一般认为丝素在体内可以被降解吸收, 但需要的时间很长。这就需要把丝素与其他高聚物复合、共混来改变其弱点, 提高应用价值。

本课题组对丝素静电纺丝已有很多研究^[6~8], 对静电纺丝素纳米纤维膜作为组织工程支架材料的研究也有报道^[9]。作为组织工程支架材料, 其降解性能的研究必不可少。所以本章将丝素溶于甲酸中制得均匀纺丝液进行静电纺丝制得纳米纤维膜, 再将纤维膜乙醇处理后浸入 PBS 溶液中进行降解。通过纤维膜的失重率、断裂强度的变化以及 SEM 观察其降解过程中形貌的变化; 再通过红外光谱分析降解过程中丝素构象的变化, 来表征丝素纳米纤维膜的降解性能。

1 实验材料及方法

1.1 实验材料

桑蚕丝

无水氯化钙 (中国金山县兴塔化工厂, 分析纯)

无水碳酸钠 (上海试剂研究所金城试剂厂, 分析纯)

甲酸（质量分数 98%，天津市有机合成厂，分析纯）

无水乙醇（上海化学试剂有限公司，分析纯）

1.2 实验方法

1.2.1 再生丝素膜的制备

（1）蚕丝的脱胶

取废桑蚕丝用 0.05% Na_2CO_3 溶液以 1 : 50 的浴比（80g 废桑蚕丝、4g Na_2CO_3 、4000ml 去离子水）在 100℃下煮沸 30min。重复三次，放在室温通风处晾干，得丝素。

（2）丝素的溶解

配制摩尔比为 $\text{CaCl}_2 : \text{H}_2\text{O} : \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} = 1 : 8 : 2$ 的三元混合溶剂，将丝素以 1 : 10 的浴比分批加入三元溶剂中，置于 $76 \pm 2^\circ\text{C}$ 的水浴锅内恒温搅拌，直至完全溶解即得丝素-氯化钙溶液。

（3）丝素溶液的透析

将丝素-氯化钙溶液倒入洁净的透析袋中，两头封口，先用流动的自来水透析两天，再用去离子水透析八次，每次一小时。之后用脱脂棉过滤掉溶液中的杂质，存入试剂瓶，放进冰箱备用。

（4）再生丝素室温干燥膜的制备

取丝素溶液放入 20cm×10cm 的 ABS 塑料盒中，每盒 40ml，置于平坦干净之处室温干燥 48h，揭膜待用。

1.2.2 静电纺再生丝素、丝素\明胶纳米纤维膜的制备

将再生丝素膜溶于 98%甲酸制得质量分数 13%的纺丝液，在电压 30kV，极距（喷丝口到接收屏之间距离）13cm，流量 0.2ml/h 的工艺条件下进行静电纺丝。将静电纺丝素纳米纤维膜浸于无水乙醇溶液中 15min，然后室温干燥 24h。将制成的膜片裁成 5cm×5cm 的方形试样，备用。

1.2.3 磷酸盐缓冲溶液（PBS）的制备

精确称取在 110~120℃下干燥的磷酸二氢钾 13.609 克，溶于去离子水中，准确稀释至 500ml；将氢氧化钠配成饱和溶液，藏于内敷有石蜡的玻璃瓶中，密闭放置至溶液清亮，然后量取 5ml 清亮的氢氧化钠饱和溶液，用去离子水稀释至 1000ml，标定调整溶液体积使浓度为 0.1mol/l。然后准确量取 39.34ml 氢氧化钠溶液与 25ml 磷酸二氢钾溶液混合后稀释至 100ml 制得 pH=7.4 的缓冲溶液。

1.2.4 降解实验

将静电纺丝素纳米纤维膜试样真空干燥 48 小时后称重,在 250ml 的锥形瓶中加入 PBS 溶液 100ml,将上述制得的方形试样完全浸入其中,每个锥形瓶中浸入 1 个试样,共 5 个试样。用胶塞密封,置于 $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 水浴中进行水解实验。分别在水解第 2, 4, 6, 8, 10 周取样进行测试及表征。

1.2.5 实验方法及原理

1. 失重率的测定:采用烘干称重法测定试样降解前后的质量。失重率 $= (W_0 - W_1) / W_0 \times 100\%$,其中 W_0 为降解前干燥 48h 质量, W_1 为降解后干燥 48h 质量。

2. 断裂强度的测定:将纳米纤维膜剪成宽为 $10\text{mm} \times 50\text{mm}$ 的细长条,每条纳米纤维膜在 YG(B)141D 型数字式织物厚度测试仪上选择 5 个点测其厚度,计算其平均值即得膜的厚度。样品在恒温恒湿条件 ($T=23^{\circ}\text{C}$, $\text{RH}=70\%$) 下平衡 24 小时后,在 Instron3365 型强伸度测试仪上测定膜的断裂强力和绝对断裂伸长,样品的夹持长度为 30mm,拉伸速率为 $20\text{mm}/\text{min}$ 。以下列公式计算相对强度。

$$\text{断裂强度}(\text{N}/\text{mm}^2) = \frac{\text{断裂强力}(\text{N})}{\text{膜厚度}(\text{mm}) \times \text{膜宽度}(\text{mm})}$$

$$\text{断裂强度下降百分率} = \frac{\text{原样断裂强度} - \text{降解后断裂强度}}{\text{原样断裂强度}} \times 100\%$$

3. SEM 测试:用日本日立公司 S-570 型扫描电镜观察其形貌,放大倍率为 10000 倍。

4. 采用 Nicolet5700 系列红外光谱仪,将所要测试的样品剪成粉末再与 KBr 混合研磨后压片,置于光路中测试,测量范围 $4000 \sim 400\text{cm}^{-1}$ 。通过 IR 测试分析降解前后丝素纤维膜微细结构的变化

原理:红外光谱通常指的是中红外,即振动光谱,其波长范围是 $2.5 \sim 25\mu\text{m}$ 。当入射光的交变电场的频率相当于分子的振动和转动速率变化时,便发生红外吸收,这时电磁辐射被引起振动振幅或转动速率变化的分子所吸收。当分子吸收了红外射线,振动或转动加剧,使偶极矩发生变化,分子由原来处于较低的振动能级跃迁到较高的能级。红外吸收光谱正是因为物质的分子对红外线选择吸收而产生能级跃迁,从而在原来连续谱带上某些波长的红外线强度降低,如果原来入射线强度为 I_0 ,透射后强度为 I ,则透射率 $= I/I_0$,吸收率 $= 1 - \text{透射率}$,如果以波长或波数为横坐标,以透射率、吸收率或光密度为纵坐标,画成光谱图,就成为该物质的红外吸收光谱。

2 结果与讨论

本章主要研究了静电纺丝素纳米纤维膜在降解过程中的形貌、失重率和断裂强度的变化，同时通过红外光谱分析了降解过程中丝素微细结构的变化。

2.1 失重率

样品浸入 PBS 溶液中，由于降解中间产物的溶失会产生质量损失即失重率。所以失重率的大小可以用来表征降解的快慢。失重率大即质量损失快，降解速率快。

由表 1 和图 1 可以看出，随着降解时间的延长，失重率逐渐增加。丝素纳米纤维膜降解过程中质量损失十分缓慢，10 周时失重率仅为 5.27%。当静电纺丝素纳米纤维膜乙醇处理后，其 β 化程度提高，结晶度提高，水溶性大大下降^[10]，水分子不易进入到丝素内部，破坏大分子链结构，降解速度缓慢。

表 1 静电纺丝素纳米纤维膜降解过程中的失重率

降解时间 (week)	2	4	6	8	10
降解前质量(g)	0.1369	0.1161	0.0821	0.0846	0.0948
降解后质量(g)	0.1334	0.1127	0.0791	0.0805	0.0898
下降百分率 (%)	2.56	2.91	3.65	4.84	5.27

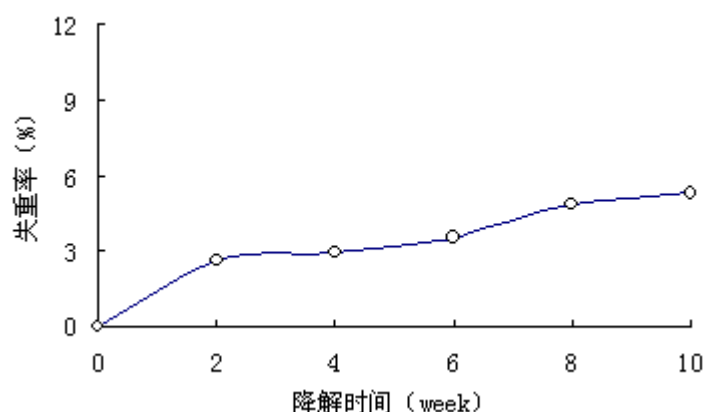


图 1 静电纺丝素纳米纤维膜降解过程中的失重率曲线

2.2 断裂强度

作为可降解材料，随着降解时间的延长材料力学性能必然下降。这就要求材料在一定时间内要保持其力学强度，以满足组织再生所需要的时间。所以对其降解过程中断裂强度变化的测试是必不可少的一项研究。由表2和图2可见，丝素纳米纤维膜降

解过程中力学性能下降缓慢，10周时仅下降17%左右。降解过程中纳米纤维膜观察不到明显的溶胀现象，形状基本不变。这是由于乙醇处理后的丝素纳米纤维膜中丝素构象大部分已转变为 β 折叠构象，分子间排列紧密，水分子很难通过表层浸入到内部，其可降解性下降，力学性能改变相应减小。

表 2 丝素纳米纤维膜降解过程中的断裂强度

降解时间 (week)	2	4	6	8	10
降解前样品 (N/mm ²)	4.83	4.72	4.29	4.32	4.57
降解后样品 (N/mm ²)	4.49	4.27	3.77	3.71	3.79
下降百分率 (%)	7.04	9.53	12.12	14.12	17.07

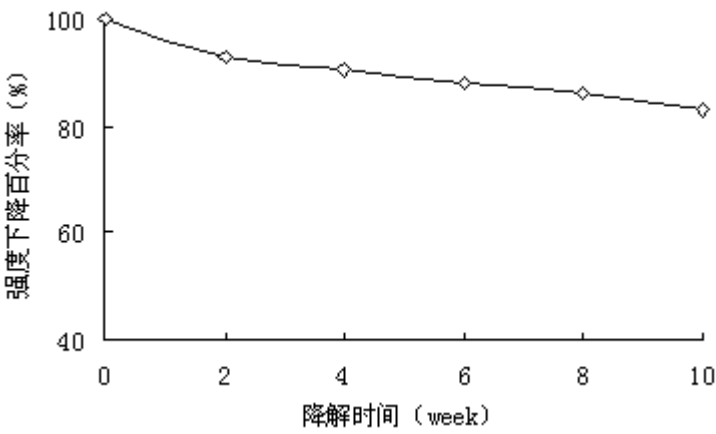


图2 丝素纳米纤维膜降解过程中的强度下降曲线

2.3 形貌结构

通过对纤维形貌的观察可以直接看到不同降解时期纤维所发生的变化。由图3中可以看出降解2周时丝素纳米纤维有轻微溶胀，纤维形态未发生明显改变。随着降解时间的延长，降解产物扩散到水中，导致6周时单根丝素纤维粗细不匀，趋于断裂。10周时可以清晰看出纤维由于降解发生大量断裂。

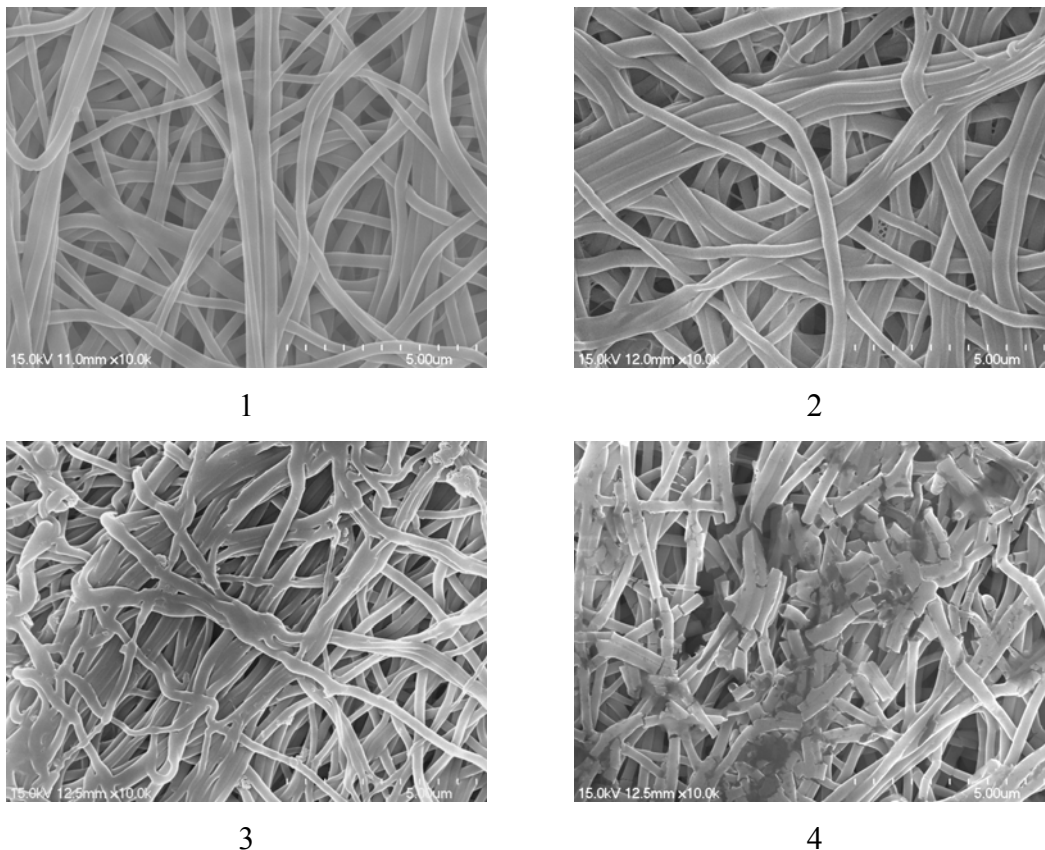


图3 丝素纳米纤维在不同降解时期的SEM图片

1-丝素纳米纤维膜原样 2-降解2周 3-降解6周 4-降解10周

2.4 红外测试

丝素纤维的物理和化学性能主要取决于分子的构象和结晶度。丝素蛋白至少有三种构象：无规卷曲、Silk I 和 Silk II。

红外光谱是研究固态和液态蛋白质结构的一个很有效的方法。它能够显示蛋白质分子肽键的特征性振动谱带、主链骨架的振动谱带，以及侧链的振动谱带。由于肽键(酰胺键)的环境是组成蛋白质主链的基本结构，因此，可以利用肽键的特征性振动谱带(简称酰胺带)作为指标来推断蛋白质的主链构象。对于丝素而言，最主要的二条酰胺带是：酰胺 I 和酰胺 II。利用红外光谱酰胺 I 和酰胺 II 特性谱带表征丝素蛋白的二级结构。表 3 是丝素蛋白特定构象时酰胺 I 和酰胺 II 在红外光谱中的经验值^[11]。

表3 红外光谱中丝素蛋白特定构象的经验值

特征峰 构 象	酰胺 I (cm^{-1})	酰胺 II (cm^{-1})	酰胺III (cm^{-1})
β 折叠	1625~1640	1515~1525	1230~1235
无规卷曲	1650~1660	1535~1545	1235

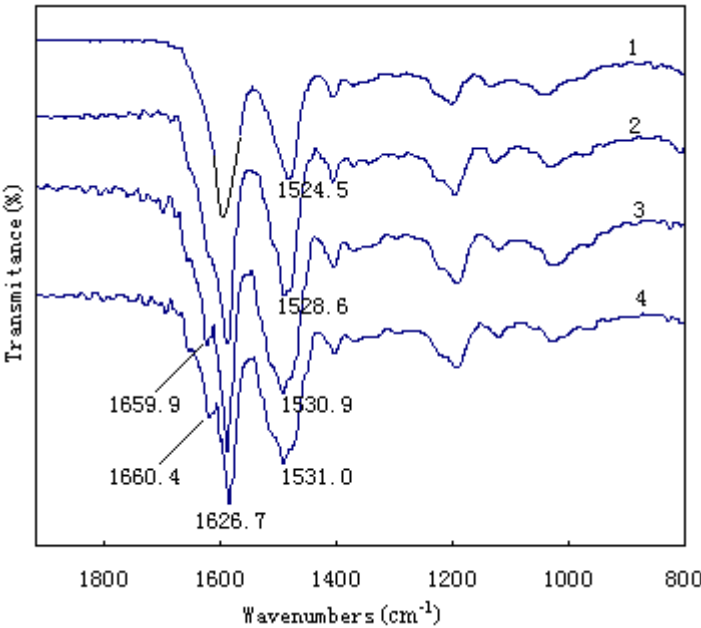


图4 丝素纳米纤维膜不同降解时期的红外光谱图

1-原样 2-降解4周 3-降解8周 4-降解10周

丝素红外光谱分析时，主要以分析酰胺 I 峰和酰胺 II 峰为主。图4中丝素纳米纤维膜酰胺 I 特征峰为 1626.7 cm^{-1} ，对照表3可知，降解前后丝素主要以 β 折叠构象为主。降解8周时酰胺 I 峰出现无规卷曲特征峰 1659.9 cm^{-1} ，10周此峰值强度稍微增大。证明降解过程中无规卷曲增多。原样中酰胺 II 特征峰为 1524.5 cm^{-1} 属于 β 折叠特征峰，降解4周时，峰值增大到 1528.6 cm^{-1} ，偏移出 β 折叠特征峰范围，8周、10周时峰值继续向长波数方向移动，说明无规卷曲增多。醇处理后的丝素纳米纤维膜主要是 β 折叠构象，浸入PBS溶液中在水分子作用下，丝素大分子之间的一些结合键发生断裂后，排列趋向无规卷曲。由红外图谱明确可知，静电纺丝素纳米纤维膜在PBS溶液中可以降解。

3 结论

3.1 静电纺丝素纳米纤维膜在PBS溶液体外降解过程中，质量损失非常缓慢，断裂强度下降也很小，通过电镜观察随着降解时间的延长，10周时纤维出现断裂。

3.2 红外光谱测试发现静电纺丝素纳米纤维膜降解前主要以 β 折叠构象为主，随着降解时间的延长出现无规卷曲并逐渐增多。

3.3 丝素作为天然高分子材料，通过静电纺丝制得纳米纤维膜可在PBS溶液中降解。但降解过程缓慢，完全降解需要时间很长。

参考文献

- [1] 陈艳雄, 陈敏, 朱谱新. 丝素蛋白的研究和应用进展[J]. 纺织科技进展, 2007,2:13 ~ 18.
- [2] Asakura T, Demura M, Date T, et al. NMP study of silk I structure of Bombyx mori silk fibroin with N-15-and C-13-NMR chemical shift contour plots[J]. Biopolymers, 1997, 41:193~203.
- [3] Minoura N, Tsukada M, Nagura M. Physico-chemical properties of silk fibroin membrane as a biomaterial[J]. Biomaterials, 1990,11(6):430~434.
- [4] Lam K H, Nijenhuis A J, Bartels H, et al. Reinforced poly(L-Lactic Acid) fibers as suture material[J]. J Appl Biomater, 1995,(6):7~91.
- [5] Zuo Baoqi, Wu Zhiyu. Mechanical and biodegradable properties of regenerated fibroin fibers[J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2006,10(1):168~171.
- [6] 居静霞, 张幼珠, 尹桂波. 再生丝素纳米纤维的制备及其应用[J]. 丝绸, 2004,7:41 ~ 43.
- [7] 张幼珠, 尹桂波, 居静霞. 电子纺纳米丝素纤维的制备及结构研究[J]. 丝绸, 2005,1:14 ~ 17.
- [8] 尹桂波, 张幼珠. 静电纺再生丝素纳米纤维形态结构的研究[J]. 丝绸, 2005,2:16 ~ 18.
- [9] Yin-Guibo, Zhang-Youzhu, Bao-Weiwei, et al. Study on the Properties of the Electrospun Silk Fibroin/Gelatin Blend Nanofibers for Scaffolds[J]. Journal of Applied Polymer Science, 2009,111:1471~1477.
- [10] 鲍韡韡, 王曙东, 张幼珠, 等. 静电纺再生丝素/明胶纳米纤维的结构与性能[J]. 纺织学报, 2008,29(3):1 ~ 4.
- [11] Kosuke Ohgo, Chenhua Zhao, Mitsuhiro Kobayashi et al. Preparation of non-woven nanofibers of Bombyx mori silk: Samia Cynthia ricini silk and recombinant hybrid silk with electrospinning method [J]. Polymer, 2003,44:841~846.

第五章 结论及展望

首先,本论文对静电纺PLA、丝素纤维膜在PBS溶液体外降解过程中的性能进行了研究。其次,本论文又研究了PLGA静电纺丝的工艺条件,在确定较优工艺条件后,对静电纺PLGA纤维膜的PBS溶液体外降解过程也进行了研究。通过纤维膜的失重率、相对分子质量、断裂强度的变化以及SEM 观察其降解过程中形貌的变化;再通过X射线衍射、红外光谱和DTA测试降解过程中的微细结构变化,来表征纤维膜的降解性能。PLA和PLGA是合成生物可降解材料,丝素是天然生物可降解材料,三者都具有良好的生物相容性。对这三者降解性能的研究为其以后在生物医学领域的应用提供了实验基础。

1 研究结论

1.1 静电纺 PLA 纤维膜的降解性能研究

通过静电纺丝制得 PLA 纤维膜,对其在 PBS 溶液中进行降解的各项性能进行研究得到如下结论:

- (1) PLA 纤维膜的失重率、相对分子质量以及断裂强度在降解 2 周内下降较快,但失重率的增加明显滞后于相对分子质量的下降,2 周后三者下降速度减缓。
- (2) PLA 纤维形貌观察发现,随着降解时间的延长,纤维直径逐渐变细且单根纤维变得粗细不匀,16 周时纤维出现少许断头。
- (3) X 射线衍射与 DTA 测试证明,降解过程中 PLA 纤维膜结晶度逐渐下降。降解 2 周时纤维膜的结晶度下降较小,16 周时下降较大。由此说明 2 周内降解主要发生在非晶区,2 周后晶区水解开始,降解速度减缓。
- (4) PLA 纤维膜在 PBS 溶液中可以发生降解,但完全降解生成 CO_2 和 H_2O 需要时间很长。

1.2 静电纺 PLGA 工艺条件及其纤维膜的降解性能研究

通过静电纺丝,成功制备了 PLGA 纳米纤维,详细讨论了纺丝液的质量分数,

电压、接收距离对纤维形貌的影响,得到如下结论:

(1) 纺丝液质量分数的影响: 在其它工艺条件一定时, 当质量分数为 5%, 纤维有较多珠状物; 当质量分数为 9%时, 纤维的直径最粗; 当质量分数为 7%时, 所纺得的纤维均匀性最好且纤维相对较细。

(2) 电压的影响: 在其它工艺条件一定时, 电压 20 kV 时, 纤维形貌规整。随着电压的增高, PLGA 纤维的平均直径略有下降, 但纤维弯曲, 离散程度增大。电压过高时易产生断头。

(3) 极距的影响: 在其它工艺条件一定时, 随着收集距离的增加, 纤维中珠节的尺寸及密度逐渐减小, 当极距为 13cm 时, 无珠节产生, 纤维形貌结构好。极距为 18cm 时, 纤维收集较少。

(4) 在静电纺 PLGA 纤维膜降解实验中, PLGA 静电纺丝的工艺条件确定为: 质量分数 7%、电压 20kV、极距为 13cm。

在较优工艺条件下, 通过静电纺丝制得 PLGA 纤维膜, 对其在 PBS 溶液中进行降解的各项性能进行研究得到如下结论:

(5) PLGA 纤维膜的失重率、断裂强度以及相对分子质量在降解 2 周内下降较快, 但相对分子质量与失重率的变化并不同步, 前者下降较快。2 周后三者下降速度减缓。

(6) PLGA 纤维形貌观察发现, 随着降解时间的延长, 纤维直径逐渐变细且粗细不均, 6~8 周时纤维大量断裂, 10 时纤维形态消失, 纤维膜崩解成小碎片。

(7) X 衍射证明静电纺 PLGA 纤维膜降解前后均为无定型聚合物, DTA 测试发现降解过程热分解温度降低, 这是相对分子质量下降, 分子链排列无序所致。

(8) PLGA 纤维膜在 PBS 中可以发生降解, 但完全降解生成 CO_2 和 H_2O 需要时间很长。

(9) PLGA 纤维膜在 PBS 溶液中降解速率大于 PLA 纤维膜, 可根据降解速度的要求调节 LA 与 GA 的共聚比例以满足降解要求。

1.3 静电纺丝素纳米纤维膜的降解性能研究

(1) 静电纺丝素纳米纤维膜在PBS溶液体外降解实验过程中, 质量损失非常缓慢, 断裂强度下降也很小, 通过SEM观察随着降解时间的延长, 10周时纤维大量断裂。

(2) 红外光谱测试发现静电纺丝素纳米纤维降解前主要以 β 折叠构象为主, 随着降解

时间的延长出现无规卷曲并逐渐增多。

(3) 丝素作为天然高分子材料,通过静电纺丝制得纳米纤维膜可在PBS溶液中降解。但降解过程缓慢,完全降解需要时间很长。

2 展望

PLA与PLGA是经美国食品和药品管理局(FDA)批准广泛用作药物控释载体、医用手术缝合线及骨折内固定材料等合成生物可降解材料,具有广阔的应用前景。丝素是天然生物可降解材料,具有良好的生物性能,但降解缓慢,完全降解需要时间很长。本论文对三者PBS溶液中的体外降解性能研究是基础性研究,初步证明了其可降解性。进一步的研究应模拟人体内环境,对三者进行体外生物酶降解。详细掌握三者的酶降解过程后,再将三者所制得的组织工程支架植入动物体内进行体内实验。本课题组正在积极进行动物体内实验,期待能够为三者 in 生物医学领域的应用做出贡献。

静电纺丝技术能简便迅速地得到纳米级的聚合物纤维而受到人们的青睐。静电纺丝技术开发超细、纳米纤维作为生物医用材料特别是组织工程支架材料,是近年来各国专家、学者研究的一个热点。利用静电纺丝技术产生超细、纳米纤维来制备组织工程血管支架的工艺流程简单,普遍适用多种天然和合成高分子聚合物。通过静电纺丝制得可生物降解材料的纤维在生物医学领域必将得到广泛应用

攻读研究生期间发表论文及专利申请

一、发表论文

1. 静电纺丝素纳米纤维释药体系研究

王立新, 张幼珠, 何莉, 丝绸, 2007 年第 6 期, 17~19.

2. 生物可降解材料的降解行为研究进展

王立新, 国外丝绸, 2008 年第 1 期, 27~29.

3. 静电纺 PLGA 纤维膜的体外降解性能研究.

王立新, 张幼珠, 李双燕, 合成纤维, 2009 年第 4 期, 26~29.

4. 载药聚乳酸纤维膜的制备及释药性能研究

何莉, 王立新, 张幼珠, 合成纤维, 2007 年第 9 期, 19~21.

5. 静电纺分层构建 PLA/丝素复合纤维膜的结构和性能.

张幼珠, 吴佳林, 王立新, 合成纤维工业, 2008 年第 3 期, 1~4.

二、授权专利

发明名称: 抗菌蚕丝复合纳米纤维材料及其制备方法

授权号: 200610041016.2

发明人: 张幼珠, 尹桂波, 王立新, 何莉

致 谢

本论文是在导师张幼珠教授悉心关怀下完成的。感谢张老师的悉心指导和淳淳教诲!也感谢张老师在生活和做人方面的支持和帮助。张老师严谨的科研态度、勤勉的科学精神和一丝不苟的治学风范、和蔼可亲的态度给我留下了深刻的印象,也是我工作和学习的榜样。至此论文完成之际,谨向导师表达我诚挚的敬意和良好的祝愿。

在实验和论文的进展中,许多老师也提供了积极的帮助。感谢苏州大学材料工程学院测试中心的金建峰、彭伟良、秦大可、王新波、李春萍老师在论文实验与测试阶段的大力支持! 论文的实验完成离不开你们的大力支持。

论文的完成过程中,同时感谢本课题组尹桂波、吴佳林、王曙东、李双燕的帮助,衷心祝愿他们工作顺利、心想事成。

随着毕业论文工作的结束,我的硕士研究生生活也要画上圆满的句号了,回顾这些年的生活,最要感谢我的父母,是他们教导我从小树立认真学习、勤奋刻苦的态度,感谢他们的养育之恩和我学业的支持。同时感谢女朋友冯业霞对我的理解和支持,感谢三年研究生期间她对我的无私奉献,谢谢!

王立新

2009 年 3 月于工科楼 609