

超声处理对聚乳酸/丝素蛋白复合 纳米纤维膜孔径的影响

张 洁,张海涛,邢同海,骆菁菁,熊 杰

(浙江理工大学先进纺织材料与制备技术教育部重点实验室,杭州 310018)

摘 要: 利用静电纺丝技术制备聚乳酸/丝素蛋白(PLA/SF)复合纳米纤维膜。探讨 90% 甲醇溶液处理对 PLA/SF 复合纳米纤维膜结构的影响,以及超声处理对该纤维膜孔径的影响。用 FE-SEM、FT-IR、XRD 和孔径测试表征样品,结果表明:甲醇处理诱导组分 SF 的构象由无规卷曲转变成 β -折叠,纤维发生明显溶胀现象;超声处理时间不变,随着超声处理功率的增加,PLA/SF 复合纳米纤维堆积的越松散,孔径增大;超声处理功率不变,随着处理时间的增加,纳米纤维堆积的越松散,孔径增大;超声处理后,纤维膜厚度增加。

关键词: 静电纺丝;超声处理;PLA/SF 复合纳米纤维膜;孔径

中图分类号: TQ340.65

文献标志码: A

0 引 言

聚乳酸是一种新型的生物降解材料,具有良好的生物相容性及生物可降解性,是理想的绿色高分子材料。丝素蛋白具有独特的力学性能、生物相容性、控制生物降解性、易加工性^[1],丝素蛋白在生物医学领域有着广阔的应用前景^[2-3]。

组织工程支架作为细胞生长和繁殖的载体,要求有适合细胞生长的孔结构、较高的孔隙率和机械性能^[4]。培养不同的细胞时,对纤维膜支架孔径大小有不同的要求。目前人们研究改变纤维膜孔径的方法有:改变纺丝参数^[5-6]、改变接收装置^[7-8]、材料舍弃法^[9]、微米-纳米堆砌法^[10]、物理处理法^[11-12]等方法。物理处理法中超声处理法简便易行,其方法是将静电纺纤维膜浸入一定体积的去离子水中进行超声处理,通过超声处理震动的机械性分离使得纤维间发生相对滑动,改变纤维膜中纤维的堆积密度以改变纤维膜的孔径大小。Lee 等^[11]与 Gu 等^[13]将静电纺纤维膜浸入一定体积的去离子水中进行超

声处理,结果表明超声处理有效地增大了纤维支架的孔径及孔隙率。

由于纯丝素蛋白在力学性能上表现出较大的脆性,而聚乳酸则是一种具有良好韧性的高聚物,两者复合可以用来改善丝素蛋白的脆性。笔者在前期经多次试纺实验得知,当 PLA 与 SF 的质量比为 1:1 时,PLA/SF 复合纳米纤维的表面形貌及结构性能最好。本文利用静电纺丝制备 PLA/SF 复合纳米纤维膜(质量比为 1:1),甲醇处理后对其进行超声处理。并探讨甲醇处理对 PLA/SF 复合纳米纤维膜结构的影响,及超声处理对 PLA/SF 复合纳米纤维膜孔径的影响。

1 实验部分

1.1 实验原料与设备

丝素蛋白(实验室自制);聚乳酸(平均相对分子质量为 100000,深圳光华伟业);六氟异丙醇(HFIP,分析纯,盐城冬阳生物制品),甲醇(分析纯,杭州高晶精细化工),去离子水(实验室自制)。

收稿日期: 2015-01-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(11272289)

作者简介: 张 洁(1989-),女,安徽宿州人,硕士研究生,主要从事大孔径组织工程支架方面的研究。

通信作者:熊 杰, E-mail: jxiong@zstu.edu.cn

静电纺丝装置(自制,其中,滚筒(自制)直径为9cm;注射泵:KDS220, KD Scientific, Inc.;高压电源:FC60P2, 0~60 kV, Glassman High Voltage, Inc.;针筒:Popper & Sons, Inc.);超声波细胞破碎仪(VCX130, 美国 Sonics);冷冻干燥机(FreeZone® 2.5 Liter Freeze Dry Systems, LABCONCO公司);电子天平(DKB-501A, 上海精宏实验设备);恒温磁力搅拌器(IKA® CM-MAG HS 7, 广州仪科实验室技术);真空干燥箱(DZG-6050SA, 上海森信实验仪器);场发射扫描电子显微镜(FE-SEM, Ultra 55, 德国蔡司);X-射线衍射仪(XRD, ARL-X'TRA, 美国赛默飞);傅立叶红外光谱仪(FT-IR, Nicolet 5700, 美国赛默飞)。

1.2 聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜的制备

称取适量的聚乳酸、丝素蛋白(质量比为1:1),使其溶于 HFIP 中,得到质量分数为 8% 的 PLA/SF 纺丝液。将纺丝液倒入 10 mL 注射针筒内,以铝箔为接收装置,采用平板接收。采用传统静电纺丝装置,在纺丝电压为 12 kV, 纺丝流率为 0.6 mL/h, 纺丝距离为 13 cm 的纺丝条件下进行纺丝,纺得的 PLA/SF 复合纳米纤维膜于真空干燥箱中静置备用。

1.3 超声处理

采用超声波细胞破碎仪对 PLA/SF 复合纳米纤维膜进行超声处理。将 PLA/SF 复合纳米纤维膜裁剪为 2 cm×2 cm 的正方形,90% 甲醇溶液处理 20 min 后使其浸入 20 mL 去离子水中,在 0℃ 水浴内进行超声处理。第一,固定超声处理时间为 3 min,改变超声处理功率(26、52、65、104、130 W),以研究超声处理功率对纤维膜孔径的影响;第二,固定超声处理功率为 65 W,改变超声处理时间(3、5、10 min),以研究超声处理时间对纤维膜孔径的影响。将超声处理后的 PLA/SF 复合纳米纤维膜冷冻后放入冷冻干燥机内进行干燥,然后放入真空干燥箱中静置备用。

1.4 测试与表征

首先利用场发射扫描电子显微镜(FE-SEM)观察 PLA/SF 复合纳米纤维膜甲醇处理前后及超声处理后的形貌,并使用 Image-Pro® Plus6.2 图像分析软件测量 SEM 图片中纤维的平均直径及纤维膜的孔径。然后采用傅里叶红外光谱仪(FT-IR)、X 射线衍射仪(XRD)分析纤维的结构。

2 结果与讨论

2.1 甲醇处理对纤维结构及性能的影响

2.1.1 甲醇处理对聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维形貌的影响

SF 不溶于水是其作为组织工程支架材料使用的前提条件。因此,将静电纺 PLA/SF 复合纳米纤维膜置于质量分数为 90% 的甲醇溶液中处理 20 min 以诱导 SF 构象由无规卷曲转变为 β -折叠结构。图 1 为甲醇处理前后 PLA/SF 复合纳米纤维的扫描电镜图。从图 1 可以看出,处理前 PLA/SF 复合纳米纤维呈无序分布,纤维表面光滑,没有串珠产生,平均直径为 424 nm;甲醇处理后,PLA/SF 复合纳米纤维变卷曲,纤维间未发生明显的粘连现象,但纤维表面较粗糙,平均直径为 928 nm,发生较明显的溶胀现象。

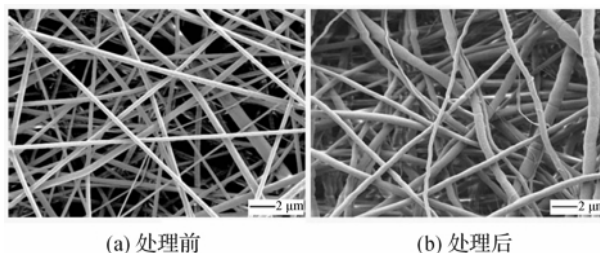


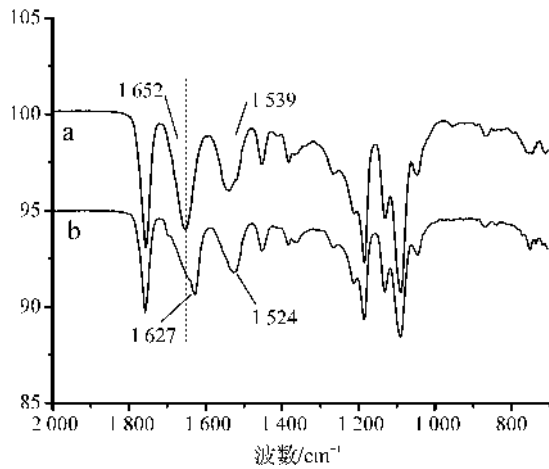
图1 甲醇处理前后聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜的扫描电镜照片

2.1.2 甲醇处理对聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维结构的影响

图 2 为甲醇处理前后 PLA/SF 复合纳米纤维膜的 FT-IR 谱图。由图 2 曲线(a)可以看出,未经甲醇处理的 PLA/SF 复合纳米纤维膜中的组分 SF 的酰胺 I、酰胺 II 的特征吸收峰分别为 1 652、1 539 cm^{-1} ;由曲线(b)可以看出,经甲醇处理后的 PLA/SF 复合纳米纤维膜中的组分 SF 的酰胺 I、酰胺 II 的特征吸收峰分别为 1 627、1 524 cm^{-1} 。静电纺纯 PLA 纳米纤维膜存在三个明显的峰,依次为 1 756、1 184 cm^{-1} 和 1 090 cm^{-1} 。由比较曲线(a)和(b)可知,甲醇处理前后,组分 PLA 的特征吸收峰未发生位置偏移,组分 SF 的酰胺 I、酰胺 II 的特征吸收峰发生了明显的位置偏移。与表 1 中丝素蛋白的红外光谱特征谱带数据^[14-15]作对照,表明甲醇处理后 PLA/SF 复合纳米纤维膜中的 SF 的构象由无规卷曲结构转向 β -折叠结构,而组分 PLA 的结构不变。这是因为甲醇处理能诱导 SF 酰胺区发生明显的 β 化晶型转变,使得 SF 的构象从无规卷曲结构转变成规整排列的 β -折叠结构。结果表明甲醇处理后,PLA/SF 复合纳米纤维膜中组分 SF 不溶于水。

表 1 丝素蛋白的红外光谱特征吸收峰位置 cm^{-1}

结构类型	酰胺 I	酰胺 II
β -折叠	1 700、1 625~1 640	1 515~1 525
无规卷曲	1 650~1 660	1 535~1 545



(a)处理前;(b)处理后

图 2 甲醇处理前后聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜的红外光谱

图 3 为甲醇处理前后 PLA/SF 复合纳米纤维膜的 X-衍射图谱,同样可证明甲醇处理诱导组分 SF 的构象从无规卷曲结构转变成规整排列的 β -折叠结构。由图 3 可以看出,甲醇处理前 PLA/SF 复合纳米纤维只在中心为 13.8° 的宽峰处出现了衍射峰,PLA 是难结晶的,说明 PLA/SF 复合纳米纤维中仅有少量为与 β -折叠结晶相关的有序排列和少量的 PLA 晶体,大部分结构为无定形结构。甲醇处理

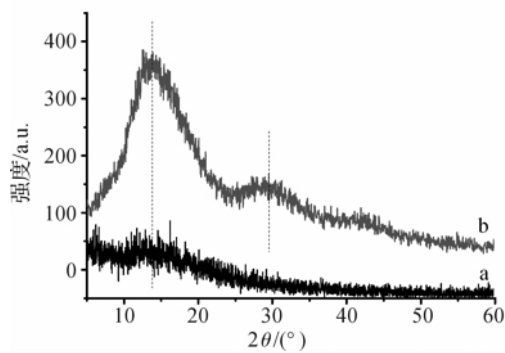


图 3 甲醇处理前后聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜的 XRD 曲线
a. 处理前;b. 处理后

后,PLA/SF 复合纳米纤维除了在 13.8° 处出现强的衍射峰外,还在 29.6° 处出现了衍射峰。由图 2 的 FT-IR 谱图分析可知,甲醇处理前后 PLA/SF 复合纳米纤维中的 PLA 组分的结构不变,说明甲醇处理后 PLA/SF 复合纳米纤维中组分 SF 形成了与 β -折叠相关的结晶结构,使其不溶于水。

2.2 超声处理对纤维膜的结构的影响

2.2.1 超声处理功率对聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜孔径的影响

图 4 为不同超声功率处理的 PLA/SF 复合纳米纤维膜的扫描电镜图。表 2 为超声处理前后的 PLA/SF 复合纳米纤维膜的孔径。图 4(a)可以看出,超声处理前 PLA/SF 复合纳米纤维堆积的比较紧密,孔径比较小。同时图 4 可见,不同超声处理功率(26、52、65、104、130W),相同处理时间(3min)处理后,随着超声处理功率的增大,PLA/SF 复合纳米纤维堆积的越松散,孔径增大(见表 2)。

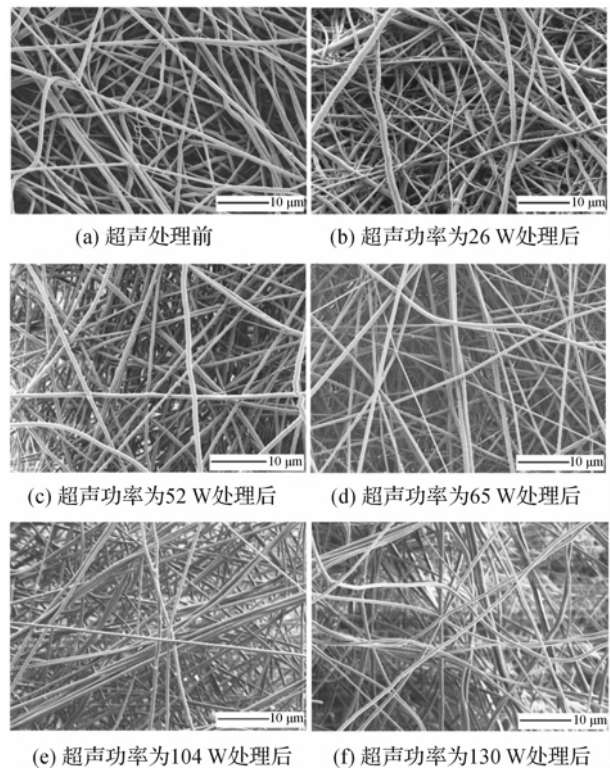


图 4 不同超声功率处理聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜的扫描电镜照片

表 2 聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜的孔径

纤维膜	超声处理前	超声处理功率/W(时间 3 min)					超声处理时间/min(功率 6.5 W)		
		26	52	65	104	130	3	5	10
孔径/ μm	2.486	4.141	9.042	12.558	15.82	21.855	12.558	17.209	22.791

2.2.2 超声处理时间对聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜孔径的影响

图5为不同超声处理时间处理PLA/SF复合纳米纤维膜的扫描电镜图。由图4(a)可知,超声处理前PLA/SF复合纳米纤维堆积得比较紧密,孔径比较小。由图5可知,在同一超声处理功率(65 W)下,随着超声处理时间的增加,PLA/SF复合纳米纤维堆积得越松散,孔径增大(如表2所示)。

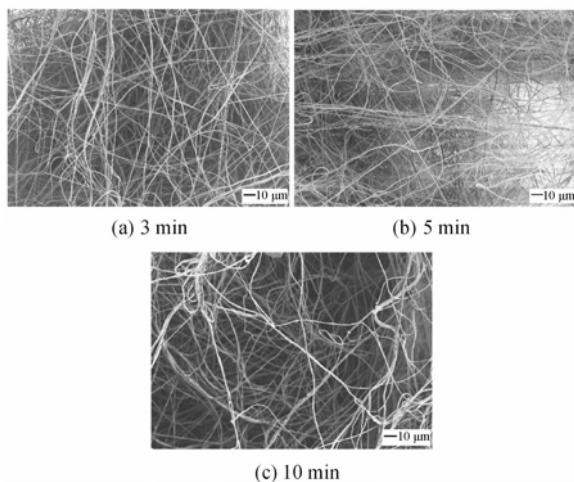


图5 不同超声处理时间处理聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜的扫描电镜图

2.2.3 超声处理对聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维膜宏观结构的影响

图6为超声处理前后的PLA/SF复合纳米纤维膜的宏观形貌。从图6(a)可以看出,超声处理前的PLA/SF复合纳米纤维膜比较薄,表面比较平整,纤维堆积得较紧密,呈薄膜状。从图6(b)可以看出,超声处理后的PLA/SF复合纳米纤维支架比较厚,表面比较不平整,纤维堆积得较松散,呈棉花

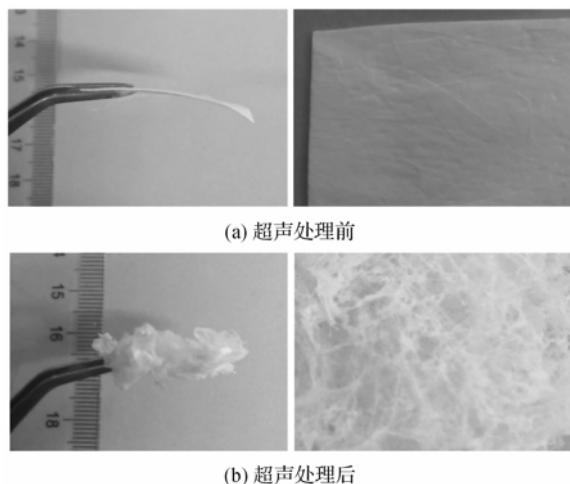


图6 超声处理前后的聚乳酸/丝素蛋白复合纳米纤维支架的宏观形貌

状。比较图6(a)、(b)可知,超声处理改变了PLA/SF复合纳米纤维支架的宏观结构,增加了纤维膜的厚度,增大了纤维支架的孔径,使其由薄膜状变为棉花状,由二维结构转变为三维结构。

3 结论

a)采用静电纺丝法可纺得PLA/SF复合纳米纤维膜。甲醇处理对PLA/SF复合纳米纤维中组分SF的构象有影响,组分SF的构象由无规卷曲转变成 β -折叠,使其不溶于水,纤维的直径增加,发生较明显的溶胀现象。

b)在超声处理后,纤维支架呈三维立体结构,在超声处理时间不变的情况下,随着超声处理功率的增加,PLA/SF复合纳米纤维堆积得越松散,孔径增大;超声处理功率不变,随着超声处理时间的增加,PLA/SF复合纳米纤维堆积得越松散,孔径增大。

c)超声处理对PLA/SF复合纳米纤维膜的宏观结构产生影响。在超声处理前,PLA/SF复合纳米纤维支架比较薄,表面比较平整,纤维堆积得较紧密,呈薄膜状。超声处理后,PLA/SF复合纳米纤维支架比较厚,表面比较不平整,纤维堆积得较松散,呈棉花状。超声处理使得PLA/SF复合纳米纤维膜的厚度增加、孔径增大,由二维结构转变为三维结构,成为具有大孔径的组织工程支架。

参考文献:

- [1] Zhang X H, Baughman C B, Kaplan D L. In vitro evaluation of electrospun silk fibroin scaffolds for vascular cell growth [J]. *Biomaterials* 2008, 29(14): 2217-2227.
- [2] Meinel L, Hofmann S, Betz O, et al. Osteogenesis by human mesenchymal stem cells cultured on silk biomaterials: comparison of adenovirus mediated gene transfer and protein delivery of BMP-2 [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(28): 4993-5002.
- [3] Lawrence B D, Marchant J K, Pindrus M A, et al. Silk film biomaterials for cornea tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2009, 30(7): 1299-1308.
- [4] 任杰, 诸静, 任天斌. 组织工程三维多孔支架制备技术的最新进展 [J]. *同济大学学报: 自然科学版*, 2005, 33(12): 1664-1667.
- [5] Sisson K, Zhang C, Farach-Carson M C, et al. Fiber diameters control osteoblastic cell migration and differentiation in electrospun gelatin [J]. *Journal of Biomedical Materials Research A*, 2010, 94(4): 1312-1320.

- [6] Rnjak-Kovacina J, Wise S G, Li Z, et al. Tailoring the porosity and pore size of electrospun synthetic human elastin scaffolds for dermal tissue engineering [J]. *Biomaterials*, 2011, 32(28): 6729-6736.
- [7] McClure M J, Wolfe P S, Simpson D G, et al. The use of air-flow impedance to control fiber deposition patterns during electrospinning[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(3): 771-779.
- [8] Blakeney B A, Tambralli A, Anderson J M, et al. Cell infiltration and growth in a low density, uncompressed three-dimensional electrospun nanofibrous scaffold[J]. *Biomaterials*, 2011, 32(6): 1583-1590.
- [9] Phipps M C, Clem W C, Grunda J M, et al. Increasing the pore sizes of bone-mimetic electrospun scaffolds comprised of polycaprolactone, collagen I and hydroxyapatite to enhance cell infiltration [J]. *Biomaterials*, 2012, 33(2): 524-534.
- [10] Erica J L, Perumcherry R S, Krishna P C, et al. Fabrication and characterization of multiscale electrospun scaffolds for cartilage regeneration [J]. *Biomedical Materials*, 2013, 8(1): 014103.
- [11] Lee J B, Jeong S I, Bae M S, et al. Highly porous electrospun nanofibers enhanced by ultrasonication for improved cellular infiltration[J]. *Tissue Engineering: Part A*, 2011, 17(21/22): 2695-2702.
- [12] Choi H W, Johnson J K, Nam J, et al. Structuring electrospun polycaprolactone nanofiber tissue scaffolds by femtosecond laser ablation[J]. *Journal of Laser Applications*, 2007, 19(4): 225-231.
- [13] Gu B K, Sang J P, Min S K, et al. Fabrication of sonicated chitosan nanofiber mat with enlarged porosity for use as hemostatic materials [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 97(1): 65-73.
- [14] Hiroaki Y, Tetsuo A. The structure of bombyx mori silk fibroin membrane swollen by water studied with ESR, ¹³C-NMR, and FT-IR Spectroscopies [J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 1990, 40(9/10): 1745-1756.
- [15] 顾建华. 再生丝素膜的 β 化作用[J]. *苏州丝绸工学院学报*, 1993, 13(1): 40-43.

Effects of Ultrasonic Treatment on Pore Size of Polylactic Acid /Silk Fibroin Composite Nanofiber Membrane

ZHANG Jie, ZHANG Hai-tao, XING Tong-hai, LUO Jing-jing, XIONG Jie

(Key Laboratory of Advanced Textile Materials and Manufacturing Technology, Ministry of Education, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, 310018, China)

Abstract: Polylactic acid/ silk fibroin (PLA/SF) composite nanofiber membrane was prepared by electrospinning technique. The effects of 90% methanol solution treatment on the structure of PLA/SF composite nanofiber membrane and the effects of ultrasonic treatment on the pore size of the fibrous membrane were investigated. FE-SEM, FT-IR, XRD and Aperture Test were used to characterize the samples. The results show that the conformation transition of SF from random coil to β -sheet structure was induced by methanol obvious swelling phenomenon happens to fibers; under the same ultrasonic treatment processing time, with the increase in ultrasonic treatment power, PLA/SF composite nanofibers cumulate in a looser way, and pore size increases; under the same ultrasonic treatment power, with the increase in the ultrasonic processing time, nanofibers cumulate in a looser way, and pore size increases; after the treatment, the thickness of the fiber membranes increases.

Key words: electrospinning; ultrasonic treatment; PLA/SF composite nanofibers; pore size

(责任编辑: 张祖尧)