



# 聚乳酸/壳聚糖/明胶复合丝线的性能分析

姚 晶<sup>a</sup>, 徐国平<sup>a</sup>, 王 悦<sup>a</sup>, 刘 涛<sup>a,b</sup>

(浙江理工大学, a.纺织科学与工程学院(国际丝绸学院); b.科技与艺术学院, 杭州 310018)

**摘 要:** 为获得具有良好生物活性和力学性能的组织工程支架用复合丝线, 以聚乳酸(PLA)长丝为原料, 经碱减量后将其与壳聚糖(CS)/明胶(Gel)水凝胶溶液进行复合, 通过冷冻干燥法获得 PLA/CS/Gel 复合丝线。利用扫描电子显微镜、红外光谱仪、万能材料试验机、浸泡模拟体液法等对试样的形貌结构、力学性能及生物活性进行表征。结果表明:水凝胶成功涂覆在 PLA 长丝表面, 且有部分渗入其内部, 复合丝线表面呈现三维多孔结构;复合丝线力学性能相较纯 PLA 长丝有所降低, 但其吸水率有所增加;复合丝线经过反复拉伸试验后质量基本不变, 表明水凝胶与 PLA 长丝具有较好的结合牢度;通过浸泡模拟体液处理后, 复合丝线表面羟基磷灰石的形成能力明显优于纯 PLA 长丝, 表现出更好的生物活性。该研究结果为复合丝线在组织工程支架中的应用提供了基础。

**关键词:** 壳聚糖;明胶;水凝胶;复合纱线;组织工程支架

**中图分类号:** TS101.4

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1673-3851 (2022) 03-0159-07

## Analysis of the properties of polylactic acid/chitosan/gelatin composite filaments

YAO Jing<sup>a</sup>, XU Guoping<sup>a</sup>, WANG Yue<sup>a</sup>, LIU Tao<sup>a,b</sup>

(a.College of Textile Science and Engineering(International Institute of Silk);

b.Keyi College, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** In order to prepare composite filaments with good biological activity and mechanical properties for the usage of tissue engineering scaffolds, polylactic acid (PLA) filaments were used as raw materials and compounded with chitosan (CS)/gelatin (Gel) hydrogel solution after alkali reduction, and PLA/CS/Gel composite filaments were obtained by freeze-drying. The morphological structure, mechanical properties and biological activity of the specimens were characterized using scanning electron microscopy, infrared spectroscopy, universal material testing machine, and immersing in simulated body fluids. The results showed that the hydrogel was successfully coated on the surface of PLA filament and it partially penetrated inside, and the surface of the composite filament showed a three-dimensional porous structure; compared with pure PLA filament, the mechanical properties of the composite filament were reduced, while the water absorption rate was improved; the mass of the composite filament remained basically unchanged after repeated tensile stress tests, indicating a firm bonding between the hydrogel and PLA filament; the formation of hydroxyapatite on the surface of composite filament was significantly better than that of pure PLA filament after being immersed in simulated body fluids, exhibiting better biological activity. The research results provide a practical basis for the application of composite filaments

收稿日期:2021-06-23 网络出版日期:2021-09-16

基金项目:国家自然科学基金项目(31900964)

作者简介:姚 晶(1997—),女,杭州人,硕士研究生,主要从事现代纺织技术和产品开发应用方面的研究。

通信作者:徐国平, E-mail: xuguoping8@126.com

in tissue engineering scaffolds.

**Key words:** chitosan; gelatin; hydrogel; composite filament; tissue engineering scaffold

## 0 引言

组织工程(Tissue engineering, TE)是研究开发用于恢复、维持及提高受损组织或器官功能的生物替代物的新兴领域<sup>[1-3]</sup>。组织工程中的生物替代物的主要组成部分是生物支架,其通过模拟天然微环境,可为细胞提供附着、增殖和分化的场所<sup>[4-5]</sup>。通常,生物支架应具有良好的生物相容性、生物活性和生物降解性,可为细胞生长提供物理环境及力学支持;还应具备疏松多孔的三维结构,以便细胞黏附生长和新陈代谢<sup>[6-8]</sup>。水凝胶具有三维聚合物网络结构,具有与天然细胞外基质相似的独特性质<sup>[8-10]</sup>。水凝胶的高含水量对营养物质及代谢物等具有高渗透性,可以促进细胞生长和组织再生;高度互连的多孔结构可以促进细胞迁移、营养物质扩散和代谢物的排除,并有利于物质交换<sup>[11-13]</sup>。基于这些特点,水凝胶被广泛应用于制备组织工程中的生物支架。

由于天然生物材料具有良好的生物相容性和优良的降解性能,在组织工程支架材料方面受到广泛的关注。壳聚糖(Chitosan, CS)和明胶(Gelatin, Gel)是制备生物支架用水凝胶的两类常用天然材料。壳聚糖是甲壳素脱乙酰化的衍生物,具有良好的生物相容性、生物降解性、抗菌性和诱导组织形成的能力<sup>[14-18]</sup>。明胶由胶原蛋白部分水解反应合成,保留了胶原蛋白的 Arg-Gly-Asp(RGD)序列,可以促进细胞黏附、增殖、迁移和分化<sup>[16-18]</sup>。将壳聚糖和明胶相结合可制备复合水凝胶材料,该材料因具有两者共同的优点,引起了研究者的关注。然而,由壳聚糖和明胶组成的复合水凝胶材料力学性能较差,限制了其在生物支架领域的应用。目前,在制备过程中添加合成材料是提升壳聚糖和明胶复合水凝胶材料常用的方法<sup>[19-21]</sup>。聚乳酸(PLA)长丝具有优异的机械性能、良好的生物相容性、可生物降解性,通过对其组分和结构进行调整,可以满足提升天然水凝胶材料力学性能的特定需求<sup>[22-23]</sup>。因此,本文提出将 PLA 长丝与 CS/Gel 水凝胶进行复合,以制备应用于组织工程的生物支架。

本文以聚乳酸(PLA)长丝为原料,经碱减量后将其与壳聚糖(CS)/明胶(Gel)水凝胶溶液进行复合,经过冷冻干燥法获得具有多孔结构的 PLA/CS/

Gel 复合丝线。利用扫描电子显微镜、红外光谱仪、万能材料试验机、浸泡模拟体液法等对试样的形貌结构、力学性能及生物活性进行表征。本文的研究结果可为复合丝线在组织工程支架中的应用提供策略支撑。

## 1 实验部分

### 1.1 材料和仪器

主要材料:聚乳酸长丝(PLA, 150 dtex/96 根, 河南省龙都生物科技有限公司),壳聚糖(CS, 脱乙酰度 $\geq 95\%$ , 上海麦克林生化科技有限公司),明胶(Gel, 分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司),去离子水(实验室自制)。

主要仪器:CFA1004 型电子天平(宁波市鄞州华丰仪器厂),DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(杭州惠创仪器设备有限公司),S82-1 型磁力搅拌器(上海志威电器有限公司),FD-1A-50 型冷冻干燥机(上海比朗仪器制造有限公司),Ultra55 型扫描电子显微镜(德国蔡司公司),JSM-5610LV·EDS 电子能谱仪(日本电子株式会社),Nicolet5700 型傅里叶变换红外光谱仪(美国 Nicolet 公司),Instron3369 万能材料试验机(美国 ITW 集团公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 CS/GEL 水凝胶的制备

称取 98 g 质量分数为 5% 的醋酸溶液,放置于磁力搅拌器上,并缓慢加入 2 g 壳聚糖粉末,搅拌至完全溶解,获得质量分数为 2% 的 CS 溶液;将 4 g 明胶固体溶解在 96 g 去离子水中,40 ℃ 水浴加热搅拌至完全溶解,获得质量分数为 4% 的 Gel 溶液;再将 CS 溶液和 Gel 溶液分别以 9:1、7:3、5:5、3:7、1:9 五个不同的体积比进行混合,搅拌均匀后获得混合均匀的 CS/Gel 水凝胶溶液。

#### 1.2.2 复合丝线的制备

对 150 dtex/96 根 PLA 长丝进行碱减量处理(NaOH 质量浓度为 5 g/L,处理温度为 90 ℃,处理时间为 20 min)后,分别取一定长度 PLA 长丝完全浸渍于以上五个不同体积比的 CS/Gel 水凝胶溶液,然后匀速牵引长丝,随后对复合丝线进行冷冻干燥处理(冷冻温度为 -51 ℃,冷冻时间为 48 h),即可获得 PLA/CS/Gel 复合丝线。

### 1.3 测试与表征

#### 1.3.1 表面形貌及元素分析

将复合丝线及经过不同时间模拟体液(SBF)浸泡的纯 PLA 长丝和复合丝线进行冷冻干燥后,采用扫描电子显微镜观察纯 PLA 长丝和复合丝线表面形貌以及羟基磷灰石的形貌。同时,通过电子能谱仪对丝线进行元素分析,观察 Ca、P 元素的含量变化。

#### 1.3.2 结构分析

利用红外光谱仪对纯 PLA 长丝和复合丝线进行化学结构分析。选用 ATR 的模式测试,光谱测试波长范围为  $4000\sim 675\text{ cm}^{-1}$ 。

#### 1.3.3 拉伸测试

利用万能材料试验机进行拉伸测试,参考标准《化学纤维 长丝拉伸性能试验方法》(GB/T 14344—2008),夹持距离为 15 mm,拉伸速率为 100 mm/min,拉伸至纱线断裂时停止。

#### 1.3.4 吸水率测试

称取一定质量( $W_1$ )冷冻干燥后的复合丝线,然后将复合丝线置于磷酸盐缓冲液(PBS)中,在 10、20、30、40、50、60 min 时分别将复合丝线取出,用滤纸去除表面水分,称重并记录质量( $W_2$ )。吸水率按式(1)计算:

$$W/\% = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100 \quad (1)$$

#### 1.3.5 结合牢度性能测试

设置夹持距离为 15 mm,拉伸速率为 100 mm/min。取一定长度复合丝线进行称重( $W_1$ ),在满足实际应用要求的情况下,将万能材料试验机的拉伸位移控制在 2 mm 和 4 mm,对复合丝线分别进行反复拉伸 100、200、300、400 次和 500 次,并保持复合丝线不断裂,进行称重( $W_2$ )。观察前后两次质量的差别。

#### 1.3.6 复合丝线体外生物活性表征

分别称取一定量 PLA 长丝和复合丝线,放置于培养皿内,并加入一定量 SBF 进行浸泡(复合丝线质量(mg)数值与 SBF 溶液体积(mL)数值间的比为 1.5),在  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  的条件下培养 7 d,每 24 h 更换新的 SBF 溶液。待浸泡结束后取出样品,用去离子水清洗后冷冻干燥。

## 2 结果与讨论

### 2.1 表面形貌分析

纯 PLA 长丝和不同 CS/Gel 体积比制备所得复合丝线的 SEM 图像如图 1 所示。由图 1(b)—

(f)中可知,CS/Gel 水凝胶均匀地涂覆在 PLA 长丝表面,并且随着水凝胶中明胶比例的增加,涂覆在丝线表面的水凝胶的孔隙减少。纯 PLA 长丝和 CS/Gel 体积比为 5:5 下制备所得复合丝线的横截面图如图 2 所示。从图 2 中可以看出,部分水凝胶渗入丝线内部,复合丝线内部的纤维排列较紧密,而纯 PLA 长丝内部的纤维排列较松散。

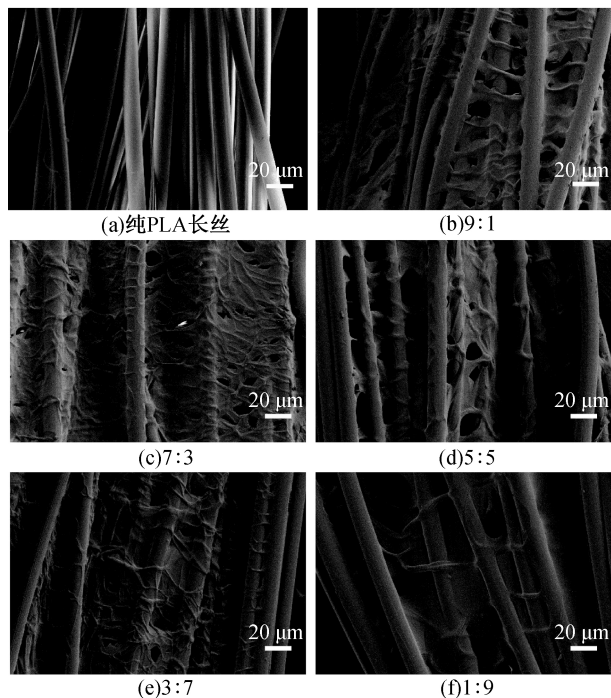


图 1 纯 PLA 长丝和不同 CS/Gel 体积比下制备所得复合丝线的 SEM 图

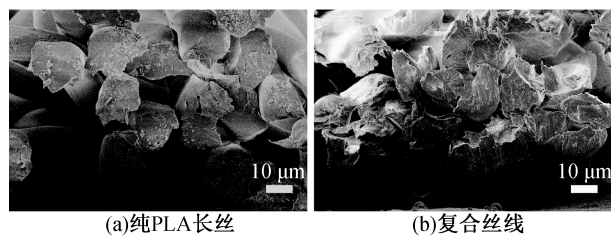


图 2 纯 PLA 长丝和 CS/Gel 体积比为 5:5 下制备所得复合丝线横截面的 SEM 图

### 2.2 化学组成分析

纯 PLA 长丝和不同 CS/Gel 体积比的复合丝线的红外光谱图如图 3 所示。从图 3 中可观察到,纯 PLA 长丝在  $2920\text{ cm}^{-1}$  和  $2850\text{ cm}^{-1}$  的特征峰对应的是 C—H 的不对称和对称拉伸,在  $1755\text{ cm}^{-1}$  的特征峰是 C=O 的伸缩振动,在  $1450\text{ cm}^{-1}$  和  $1380\text{ cm}^{-1}$  的特征峰归于 C—H 的不对称和对称弯曲,在  $1180\text{ cm}^{-1}$  处的特征峰是 C—O—C 的非对称拉伸,在  $1085\text{ cm}^{-1}$  处的特征峰是 C—O 拉伸。相比于纯 PLA 长丝,复合丝线在  $3310\text{ cm}^{-1}$  出现了新

的 O—H、N—H 拉伸特征峰,在 2920  $\text{cm}^{-1}$  和 2850  $\text{cm}^{-1}$  处的峰值有所增强,在 1650  $\text{cm}^{-1}$  的特征峰与酰胺 I 的 C=O 拉伸有关,而 1540  $\text{cm}^{-1}$  的特征峰是由于酰胺 I 的 N—H 弯曲引起的<sup>[17,24]</sup>。

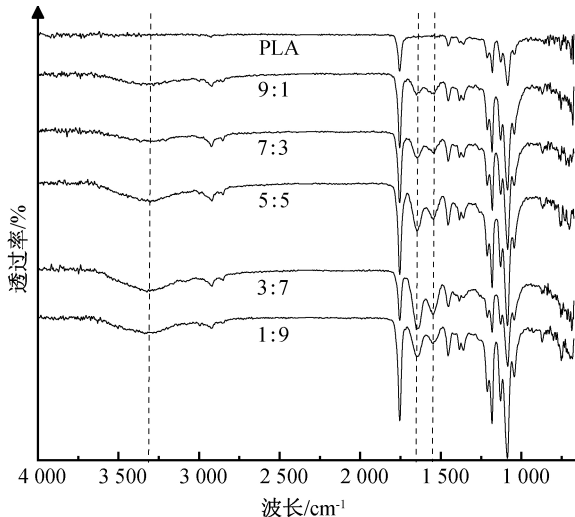


图3 纯 PLA 长丝和不同 CS/Gel 体积比下制备所得的复合丝线的红外光谱图

2.3 吸水性能分析

纯 PLA 长丝和不同 CS/Gel 体积比的复合丝线的吸水率曲线如图 4 所示。由图 4 可以发现,丝线在 PBS 中浸泡 40 min 后基本达到吸水平衡。纯 PLA 长丝吸水率在 11% 左右,复合丝线吸水率随着壳聚糖的比例提高而增加,CS/Gel 水凝胶体积比为 9:1、7:3、5:5、3:7、1:9 时,复合丝线吸水率分别对应 41%、36%、27%、20%、16%,分别是纯 PLA 长丝的 3.7、3.3、2.5、1.8、1.5 倍。相比于纯 PLA 长丝,复合丝线的吸水率有明显提高,这是因为 CS 和 Gel 都有较好的亲水性,有利于吸收水分,同时水凝胶的三维网络多孔结构也有利于水分子进入,从而提高吸水率。

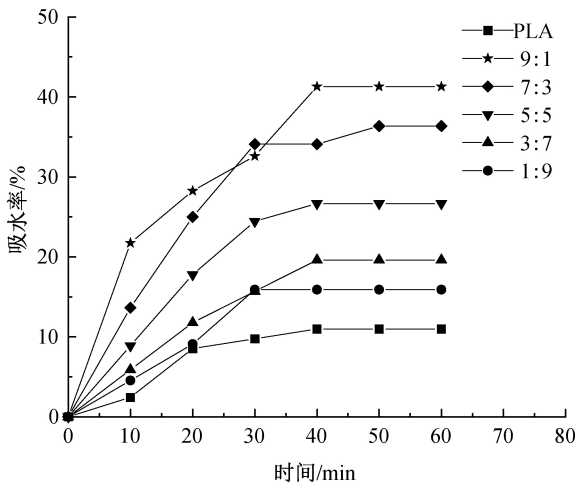


图4 纯 PLA 长丝和不同 CS/Gel 体积比下制备所得复合丝线的吸水率曲线

2.4 拉伸性能分析

纯 PLA 长丝和经过不同时长碱减量处理的 PLA 长丝的拉伸曲线如图 5 所示。从图 5 中可以看出,经过碱减量处理后,PLA 长丝强力有所损失,其中经过 40 min 处理后强力损失较大,20 min 与 30 min 强力损失相差较小。由于碱减量采用的是 NaOH 溶液,具有腐蚀性,对 PLA 长丝表面会产生刻蚀作用,处理较短时间在一定程度上有利于保留 PLA 长丝自身的性能。因此,本文采用碱减量处理 20 min 的 PLA 长丝进行后续实验。

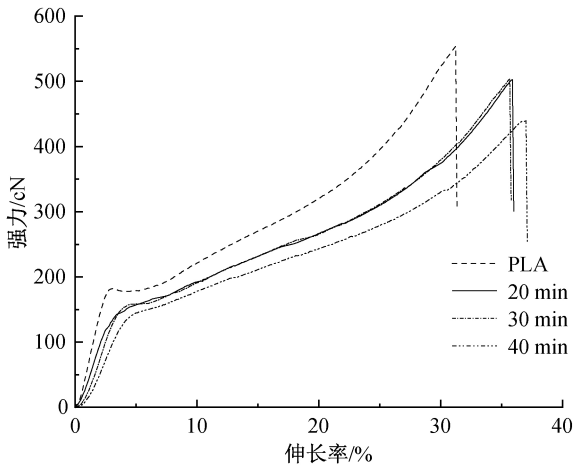


图5 纯 PLA 长丝和碱减量处理 20、30、40 min 的 PLA 长丝的拉伸曲线

碱减量处理 20 min 的 PLA 长丝和不同 CS/Gel 体积比的复合丝线的拉伸曲线如图 6 所示。从图 6 中观察到,复合丝线的强力相比于碱减量处理 20 min 的 PLA 长丝均有少量降低,而五种复合丝线之间强力差别不大,其中强力最高的是 CS/Gel 体积比为 5:5 下制备所得的复合丝线。由于复合丝线在进行冷冻干燥处理后进行拉伸试验,在低温条件处理后比碱减量处理的 PLA 长丝更脆,导致强力略有下降。

2.5 复合丝线结合牢度性能分析

CS/Gel 体积比为 5:5 的复合丝线经过反复拉伸 2 mm 和 4 mm 后的质量情况如表 1 所示。从表 1 中可以看出,当定伸长设置为 2 mm 时,复合丝线质量无变化;当定伸长设置为 4 mm 时,复合丝线反复拉伸 400 次及以上后会有轻微质量损失。这表明复合丝线中水凝胶的结合牢度较好。在拉伸弹性范围内,复合丝线无明显质量损失;定伸长位移增大,失重率增大;反复拉伸次数增加,失重率增大。

2.6 复合丝线体外矿化分析

为了探究 PLA/CS/Gel 复合丝线的体外生物活性,将纯 PLA 长丝和 CS/Gel 体积比为 5:5 的复



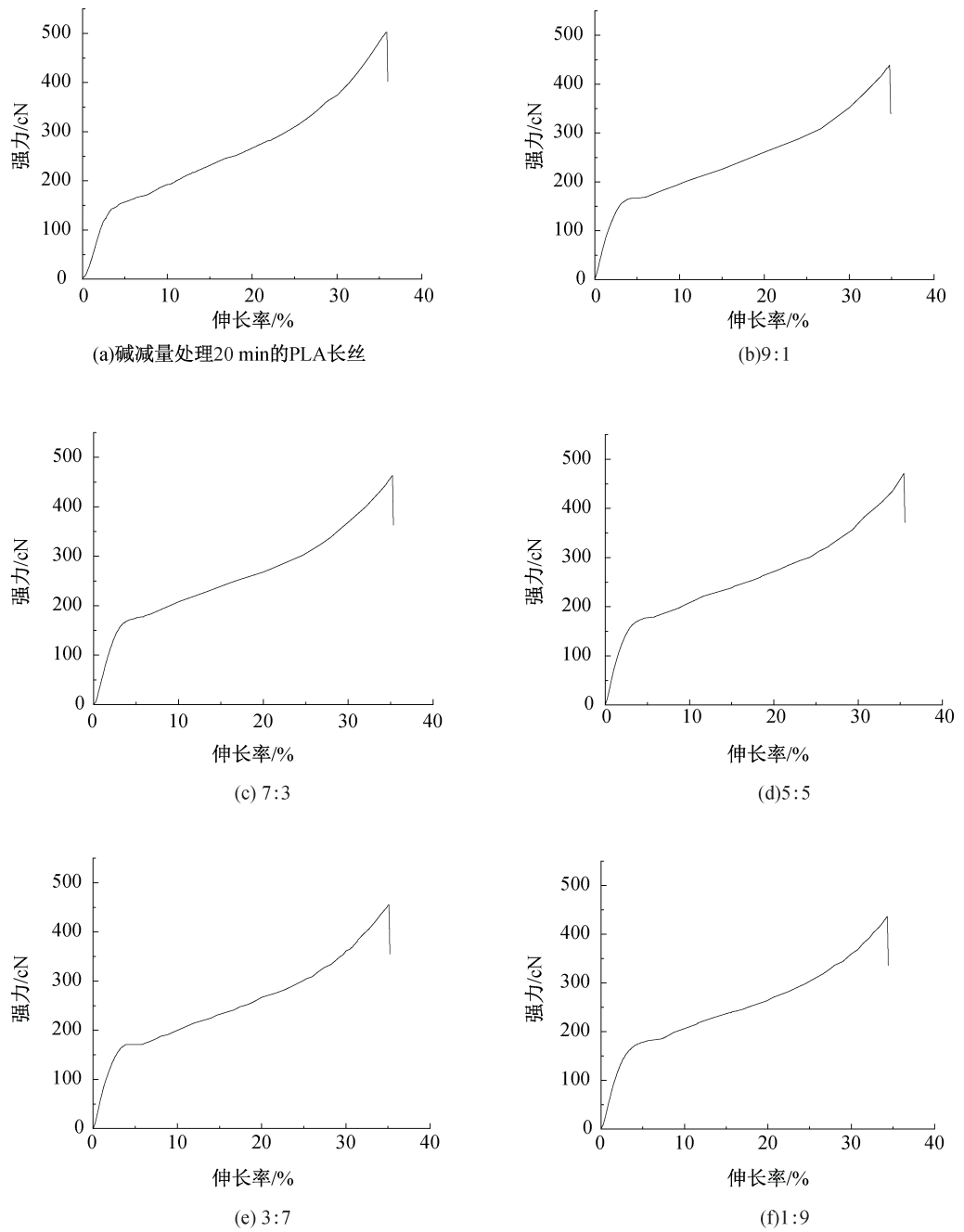


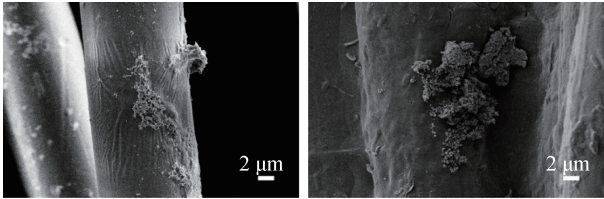
图 6 碱减量处理 20 min 的 PLA 长丝和不同 CS/Gel 体积比下制备所得复合丝线的拉伸曲线

表 1 CS/Gel 体积比为 5:5 下制备所得复合丝线反复拉伸 2 mm 和 4 mm 后的质量情况

定伸长/mm	反复拉伸次数/次	原始质量/g	反复拉伸后质量/g	质量损失百分比/%
2	100	0.0470	0.0470	0
	200	0.0474	0.0474	0
	300	0.0474	0.0474	0
	400	0.0479	0.0479	0
	500	0.0468	0.0468	0
4	100	0.0471	0.0471	0
	200	0.0464	0.0464	0
	300	0.0468	0.0468	0
	400	0.0482	0.0480	0.4
	500	0.0476	0.0473	0.6

合丝线进行 SBF 浸泡处理。复合丝线浸泡 SBF 后的 SEM 图如图 7 所示。由图 7 可知,浸泡 SBF 后纯 PLA 长丝和复合丝线表面均生成晶状物,且复合丝线上的含量多于纯 PLA 长丝,EDS 结果证明表面生成的物质是羟基磷灰石。纯 PLA 长丝和 CS/Gel 体积比为 5:5 的复合丝线浸泡 SBF 后的 EDS 图如图 8 所示。从图 8 中可以看到,丝线上存在 Ca、P 元素且复合丝线含量多于纯 PLA 长丝,复合丝线

的 Ca/P 比为 1.39,纯 PLA 长丝的 Ca/P 比为 1.37。



(a)纯PLA长丝 (b)复合丝线  
图 7 纯 PLA 长丝和 CS/Gel 体积比为 5:5 下制备所得复合丝线浸泡 SBF 后的 SEM 图像

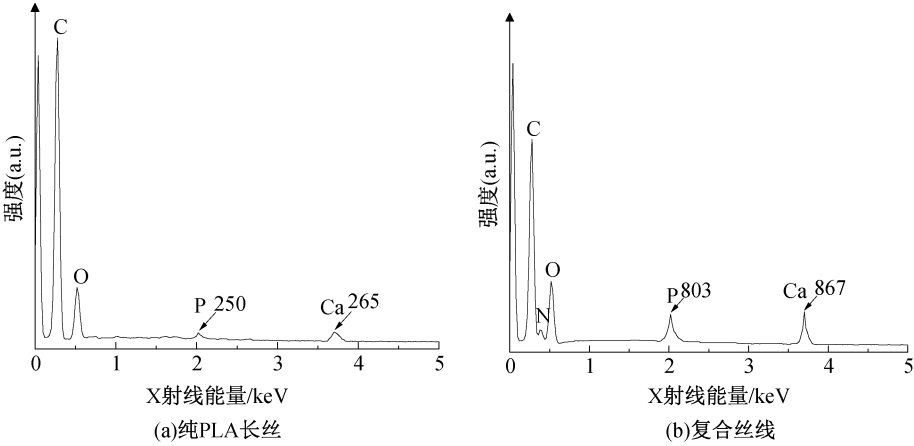


图 8 纯 PLA 长丝和 CS/Gel 体积比为 5:5 下制备所得复合丝线浸泡 SBF 后的 EDS 图

3 结 论

本文将 PLA 长丝浸没于 CS/Gel 水凝胶溶液中,均匀拉出后获得了涂覆水凝胶的复合丝线。复合丝线展现出良好的吸水性能、力学性能和生物活性,在组织工程支架材料方面具有一定的应用前景。所得主要结论如下:

a)CS/Gel 水凝胶均匀涂覆在 PLA 长丝表面,且部分渗入内部;PLA/CS/Gel 复合丝线表面呈现三维多孔结构。

b)PLA 长丝表面经过碱减量刻蚀后力学性能降低,所得的复合丝线力学性能也有所降低,但由于 PLA 长丝表面粗糙及水凝胶的涂覆,复合丝线吸水性能提高。

c)在复合丝线拉伸弹性范围内,经过反复拉伸后复合丝线无明显质量损失,但定伸长位移或反复拉伸次数增大会使失重率增大;反复拉伸试验表明 CS/Gel 水凝胶与 PLA 长丝具有较好的结合牢度。

d)通过浸泡模拟体液处理后,复合丝线表面晶状物的形成能力明显优于纯 PLA 长丝;EDS 证明复合丝线上存在 Ca、P 元素,表面生成的物质是羟基磷灰石,其生物活性被明显提高。

参考文献:

[1] 李佳芮,李江华,蔡超,等. 基于海洋多糖水凝胶的组织工程材料研究应用进展[J]. 中国海洋药物, 2021, 40 (1): 79-89.

[2] Zhu W, Ma X Y, Gou M L, et al. 3D printing of functional biomaterials for tissue engineering [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2016, 40: 103-112.

[3] Thariga S, Subashini R, Pavithra S, et al. In vitro evaluation of biodegradable nHAP-Chitosan-Gelatin-based scaffold for tissue engineering application[J]. IET Nanobiotechnology, 2019, 13(3): 301-306.

[4] Chen F M, Liu X H. Advancing biomaterials of human origin for tissue engineering[J]. Progress in Polymer Science, 2016, 53: 86-168.

[5] Berthiaume F, Maguire T J, Yarmush M L. Tissue engineering and regenerative medicine: History, progress, and challenges [J]. Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, 2011, 2: 403-430.

[6] Hassanzadeh P, Atyabi F, Dinarvand R. Tissue engineering: Still facing a long way ahead[J]. Journal of Controlled Release, 2018, 279: 181-197.

[7] Jana S, Levengood S K L, Zhang M Q. Anisotropic materials for skeletal-muscle-tissue engineering [J]. Advanced Materials, 2016, 28(48): 10588-10612.

- [8] Asadi N, Alizadeh E, Salehi R, et al. Nanocomposite hydrogels for cartilage tissue engineering: A review[J]. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 2018, 46(3): 465-471.
- [9] Wei W, Ma Y Z, Yao X D, et al. Advanced hydrogels for the repair of cartilage defects and regeneration[J]. Bioactive Materials, 2021, 6(4): 998-1011.
- [10] 刘玉, 徐国平, 祝佳琼. PLA/PVA/SA 复合纱线的制备与表征[J]. 浙江理工大学学报(自然科学版), 2019, 41(6): 723-729.
- [11] Huang Q, Zou Y, Arno M C, et al. Hydrogel scaffolds for differentiation of adipose-derived stem cells [J]. Chemical Society Reviews, 2017, 46(20): 6255-6275.
- [12] Sharma S, Tiwari S. A review on biomacromolecular hydrogel classification and its applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 737-747.
- [13] Khan S A, Shah L A, Shah M, et al. Engineering of 3D polymer network hydrogels for biomedical applications: a review[J]. Polymer Bulletin, 2021: 1-21.
- [14] 梁飞, 谢贤鑫, 杨盟. 多功能壳聚糖水凝胶医用材料的功能性研究[J]. 化工新型材料, 2021, 49(2): 240-243.
- [15] Shariatnia Z. Carboxymethyl chitosan: Properties and biomedical applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 1406-1419.
- [16] Georgopoulou A, Papadogiannis F, Batsali A, et al. Chitosan/gelatin scaffolds support bone regeneration [J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2018, 29(5): 1-13.
- [17] Ahmadi S, Hivechi A, Bahrami S H, et al. Cinnamon extract loaded electrospun chitosan/gelatin membrane with antibacterial activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 173: 580-590.
- [18] Altuntas S, Dhaliwal H K, Bassous N J, et al. Nanopillared chitosan/gelatin films: A biomimetic approach for improved osteogenesis [J]. ACS Biomaterials Science & Engineering, 2019, 5(9): 4311-4322.
- [19] Chen P, Liu L Y, Pan J Q, et al. Biomimetic composite scaffold of hydroxyapatite/gelatin-chitosan core-shell nanofibers for bone tissue engineering[J]. Materials Science and Engineering: C, 2019, 97: 325-335.
- [20] Re F, Sartore L, Moulisova V, et al. 3D gelatin-chitosan hybrid hydrogels combined with human platelet lysate highly support human mesenchymal stem cell proliferation and osteogenic differentiation [J]. Journal of Tissue Engineering, 2019, 10: 2041731419845852.
- [21] Radhika Rajasree S R, Gobalakrishnan M, Aranganathan L, et al. Fabrication and characterization of chitosan based collagen/ gelatin composite scaffolds from big eye snapper *Priacanthus hamrur* skin for antimicrobial and anti oxidant applications[J]. Materials Science and Engineering: C, 2020, 107: 110270.
- [22] Singhvi M S, Zinjarde S S, Gokhale D V. Polylactic acid: Synthesis and biomedical applications[J]. Journal of Applied Microbiology, 2019, 127(6): 1612-1626.
- [23] Li G, Zhao M H, Xu F, et al. Synthesis and biological application of polylactic acid[J]. Molecules, 2020, 25(21): 5023.
- [24] Haghbin M, Esmailzadeh J, Kahrobaee S. Freeze dried biodegradable polycaprolactone/chitosan/gelatin porous scaffolds for bone substitute applications[J]. Macromolecular Research, 2020, 28(1): 1232-1240.

(责任编辑:刘国金)