

固态发泡组织工程支架材料的热重法特性分析

陈建忠, 郭各朴, 张永昊, 马青玉

(南京师范大学物理科学与技术学院, 江苏 南京 210046)

[摘要] 根据组织工程支架材料的特点和要求, 设计了 CO_2 固态发泡实验系统, 对生物可降解聚合物聚乳酸 (PLA) 进行不同实验参数下的发泡制作, 获得具有不同孔径大小的 PLA 支架泡沫材料; 然后用热重分析法对 PLA 支架材料进行热稳定性的测量和对比, 结果表明饱和压力越大, PLA 支架泡孔密度越大, 泡孔孔径越小, 其分解温度就越低, 37°C 常温降解时间却越长. 因此通过适当选取制作条件可以有效控制材料的特性来满足不同组织支架应用的需要.

[关键词] 组织工程支架, 聚乳酸, 固态发泡法, 热重分析

[中图分类号] R318.08 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2010)04-0048-05

Thermal Gravimetric Analysis for Solid-State Foamed Tissue Engineering Scaffold

Chen Jianzhong Guo Gepu Zhang Yonghao Ma Qingyu

(School of Physics and Technology, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

Abstract Based on the characteristic demands of tissue engineering scaffold, a solid-state foaming system was designed to perform the microcellular foam fabrication for the biodegradable material PLA and several PLA foams with different pore sizes fabricated at various parameters. The thermogravimetry was applied to analyze the thermal stability and the onset temperature of the fabricated PLA foams, and the raw PLA material was also investigated for comparison. It is proved that the bigger pore size and higher cell density of the PLA foam can be obtained with lower onset temperature and longer degradation time at body temperature of 37°C . So the stable property can be effectively controlled with appropriate fabrication condition to adapt the requirement for various applications of tissue engineering scaffold.

Key words tissue engineering scaffold, PLA, solid-state foaming, TGA

组织工程^[1]就是应用生命科学与工程学的原理与技术, 研究和开发用于修复、维护、促进人体组织或器官的功能损伤和形态恢复的生物替代物. 组织工程支架^[2-3]材料是能植入生物体内, 能与组织活体细胞相结合并能被降解和吸收的三维多孔立体结构, 它是组织工程的最基本构架.

理想的组织工程支架材料要具有一般生物材料的无毒和稳定的特性外, 还必须具有良好的生物相容性及组织相容性以及可控的生物降解吸收速率, 同时要具有一定的孔密度及合适的孔径大小, 能为细胞生长、养分交换和代谢产物的流通提供足够的空间^[4]. 聚乳酸 (PLA)^[5]是以乳酸为主要原料聚合得到的聚合物, 可以用农产品为原料进行发酵生产和合成, 具有良好的机械性能及物理特性; 它在人体内代谢的最终产物是 CO_2 和 H_2O , 中间产物乳酸也是体内正常糖代谢的产物, 显示出优异的可生物降解吸收性, 同时 PLA 的热稳定性好, 因此 PLA 是美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的可用于人体的聚合物材料之一.

目前多孔支架材料制作的方法有相分离法^[7]、溶液浇铸-粒子析出技术^[8-9]、纤维粘接法 (非编织网孔法) 及超临界气体发泡法^[10]等. 相分离和溶液浇铸-粒子析出技术需要使用大量有机溶剂, 残存在聚合物中的有机溶剂会破坏细胞及组织的生物活性, 降低生物支架材料的生物兼容性. 纤维粘接法需要较高温

收稿日期: 2010-05-20

基金项目: 国家自然科学基金 (10974098)、江苏省科技厅自然科学基金 (BK2009407)、教育部博士点基金 (20093207120003).

通讯联系人: 马青玉, 博士, 副教授, 研究方向: 生物医学工程和生物医学电子技术. E-mail: maqingyu@njnu.edu.cn

度, 高温也会破坏生物分子的活性. 超临界气体发泡法需要高压气体, 通过迅速降温降压使泡孔生长, 该方法有着固有的不稳定性, 难于控制发泡结果. 近年来发展起来的气体固态发泡技术是一种物理发泡过程, 不使用任何有机溶剂, 发泡过程简单, 参数易于控制, 发泡结果稳定; 制作的 PLA 组织支架材料的物理和化学特性稳定, 能够应用于组织工程支架的制作^[12].

组织工程支架材料需要有合适的孔密度及泡孔大小, 它们决定了材料的机械特性和组织生长特性. 热重分析法 (TGA)^[13 14] 是在程序控制温度下借助热天平以获得物质的质量与温度关系的一种技术, 它能准确测量物质的质量变化及变化^[15] 的速率, 在分析化学、高分子聚合物、人工合成材料等方面得到广泛应用. 由于具有不同泡孔密度和孔径大小的组织支架泡沫材料中 CO_2 和 PLA 的成分比例不同, 同时也决定了材料的物理和化学特性, 因此通过热重分析可以实现组织支架材料的泡孔孔径和热稳定性以及降解时间的分析.

本研究设计一套 CO_2 固态发泡实验系统, 对 PLA 材料进行微孔组织支架发泡, 获得具有良好泡孔分布的组织工程支架材料, 并通过热重分析实验对不同泡孔孔径的 PLA 发泡材料进行不同升温速度下的热稳定性分析.

1 材料制备

1.1 PLA 固态发泡实验

本研究所设计的固态发泡实验系统分为两部分, CO_2 饱和加压装置如图 1(a)所示, 高纯度 CO_2 饱和气体(南京特种气体有限公司)从高压气罐中流到压力容器中, 并达到饱和, 通过放气阀调节压力容器中 CO_2 的压力, 对 PLA 材料进行饱和和加压; 恒温发泡装置如图 1(b)所示, 将饱和加压后的 PLA 材料放入到恒温水浴中进行发泡, 当水温超过玻璃化转化温度时, PLA 材料就会膨胀而形成多孔组织支架材料.

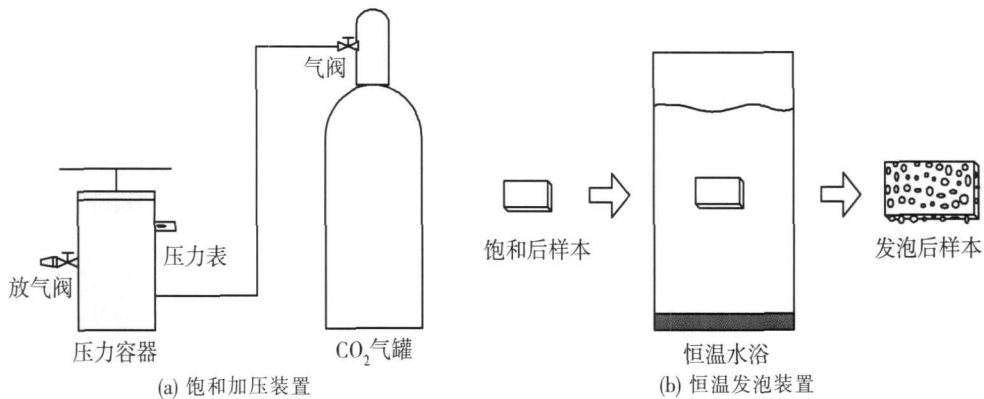


图 1 CO_2 固态发泡实验系统框图

Fig.1 Block diagram of the CO_2 solid-state foaming system

本实验所使用的左旋 PLA 原料从深圳市易生新材料有限公司购买, 密度 1.25 g/cm^3 , 玻璃化转变温度 $60^\circ\text{C} \sim 65^\circ\text{C}$, 熔化温度 $175^\circ\text{C} \sim 185^\circ\text{C}$. 原料片材厚度 0.4 mm , 颗粒状原料圆柱形, 直径 2.5 mm , 高度 3 mm .

实验过程如下: (1)在室温下, 将聚乳酸样本放在 CO_2 压力容器中饱和加压, 压力容器内的压强可通过压力表(最小刻度为 0.1 MPa)指示进行调整; (2)将经过一定时间饱和加压后的样本取出, 在常温常压下解吸附使内外的发泡核达到平衡; (3)将样本放入恒温水浴锅中进行一定时间的发泡, 获得具有良好孔隙率的组织工程支架多孔材料. 由于 PLA 发泡材料的孔密度和泡孔大小取决于 CO_2 的饱和压力、加压时间、发泡温度以及发泡时间等因素, 因此需要合理选择不同的发泡条件进行 PLA 支架材料的制作. 本实验将 PLA 片材裁剪成 $20 \text{ mm} \times 20 \text{ mm}$ 的薄片 40 片, 并准备 40 粒 PLA 颗粒材料, 将它们均匀分为 4 组, 在如表 1 所示条件下进行对比发泡实验.

1.2 实验结果

图 2(a)照片给出了颗粒状 PLA 原材料和发泡后的照片(从左到右分别为原材料, 饱和压力分别为 2 3 4 MPa 时制造的泡沫, 它们的直径分别为 7.6 4.5 mm , 高度分别为 7.5 7.5 mm), 可见原来无色透明的

PLA 原材料经过固态发泡后变成多孔不透明的泡沫,其体积分别增加了 19.6 13.4 5.4 倍.为了准确分析 PLA 泡沫特性,用显微镜对上述条件下制作的泡沫进行图片拍摄,测量到的平均泡孔孔径如表 1 所示.

表 1 不同实验条件下 PLA 支架泡沫的平均泡孔孔径

Table 1 Averaged cell sizes of the PLA foams for various fabrication parameters						
序号	饱和压力 /MPa	加压时间 /h	解吸附时间 /min	发泡温度 /℃	发泡时间 /s	泡孔孔径 /μm
1	2	48	20	100	15	350
2	3	37	20	100	15	60
3	4	23	20	100	15	35
4	4.7	10	20	100	15	30

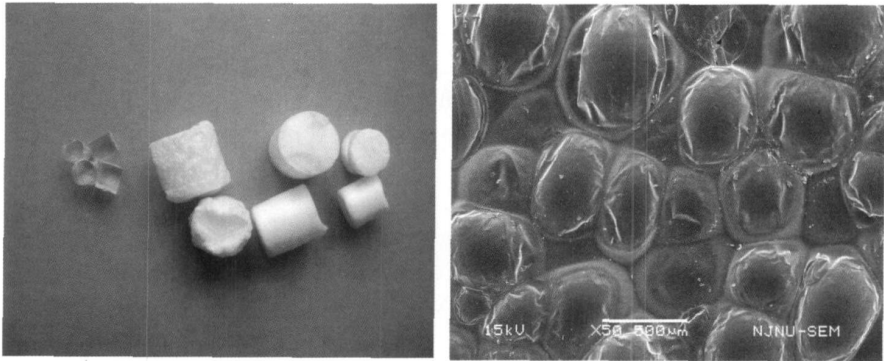


图 2 (a) PLA 颗粒原材料与发泡后的照片;(b) PLA 组织支架材料扫描电子显微镜(SEM)照片

Fig.2 (a) Photograph of the PLA granular material and the processed foams; (b) SEM image of the foam surface

实验制作和测量表明, PLA 组织支架材料的平均泡孔孔径和 CO₂ 的饱和压力、加压时间以及发泡温度都有直接的关系,它符合均相发泡的基本规则.在低饱和压力、高发泡温度和长加压时间下,泡孔孔径越大;但是当加压时间足够长,发泡核达趋向饱和时,其泡孔孔径趋向于一个稳定值.其中饱和压力对材料特性起着决定性作用,在高压下,CO₂ 在 PLA 分子空隙间形成更多的发泡核,经发泡后得到高泡孔密度、小泡孔孔径的致密泡沫材料.实验泡沫的泡孔孔径范围较宽,从几到几百 μm,可以为不同类型的组织器官细胞的生长提供合适大小的支架结构.图 2(b)给出了 2MPa 饱和压力、85℃发泡温度下制造的 PLA 组织支架材料泡沫的扫描电子显微镜照片,它的平均孔径为 300 μm.

2 PLA 泡沫的热重分析

2.1 热重分析实验

本研究选取实验制作的 PLA 组织支架泡沫进行泡孔孔径和相变温度以及热稳定的热重分析,实验使用 Peakin Elmer 公司制造的 Pyris 1 TGA 型热重分析仪,使用陶瓷坩埚,试样质量最小为 (1.00 ±0.10) mg 扫描温度范围: 30℃ ~ 500℃,使用高纯 N₂ 吹扫.

实验分 2 组进行,程序控制升温速率分别为 20℃ /min 和 40℃ /min,每组分别选取 PLA 原材料和饱和压力分别为 2.3 和 4MPa 条件下制作的 PLA 泡沫进行 4 次热重实验,为了验证实验的重复性,每个实验均进行 3 次.

2.2 热重分析测量结果

图 3(a)和 (b)分别给出了 PLA 原材料和泡沫在升温速度为 20℃ /min 和 40℃ /min 时的热重曲线.可见在 300℃ 至 400℃ 的范围内存在一个迅速的失重过程,PLA 迅速分解,没有出现二次分解过程,在完全分解后完全气化为 CO₂ 和 H₂O,没有留下任何的残留物,这一特性证明 PLA 完全适合制作组织支架材料,具有良好的生物可降解性和吸收性.在同一升温速度下,PLA 原材料的分解温度最高,随着饱和压力的增加,泡孔密度增加,泡孔孔径减小,分解温度逐渐降低,同时从开始分解到完全分解的分解时间变长.

不同升温速度下的热重曲线形状相似,变化趋势一致,即在不同的升温条件下试样的热分解顺序没有变化,说明在 PLA 原料和支架材料具有相近的降解特性;但是随着升温速度的提高,它们的分解温度相应提高, TG 曲线向高温方向移动.

通过 TG 曲线的分析可以得到,不同制作条件下所得到的 PLA 泡沫具有不同的热稳定性. PLA 原材料

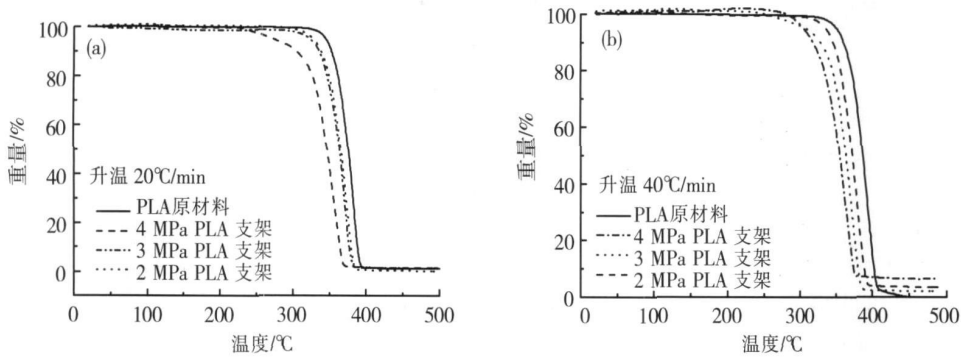


图3 PLA 原材料和不同饱和压力下制作支架材料的热重曲线

Fig.3 TG curves of the PLA raw material and the foams fabricated at different saturation pressures

由于没有发泡, 其中分子键的连接程度最高, 因此其稳定性最好; 经过高压气体的饱和加压, CO_2 分子进入到 PLA 分子的自由空间内, 饱和压力越大, PLA 中的发泡核就越多, 形成的泡孔就越多, 泡壁的厚度下降, PLA 分子键连接程度降低, 高温热稳定性降低, 分解温度降低。

虽然高温失重对于 PLA 支架的应用影响较小, 但是利用降解动力学理论可以对 TG 曲线进行降解时间的估计, 通过计算得到 37°C 温度下, 饱和压力为 2.3、4 和 4.7 MPa 的 PLA 支架材料和原材料失重 5% 的降解时间分别为 2.5E1Q、9.2E1Q、1.3E11、1.5E11 和 6.5E12 min, 可见 PLA 原材料和支架材料的分解时间有着很大的差别, 其时间差距达到 200 倍以上, 可见人体温度情况下小泡孔孔径和高泡孔密度支架具有较长的降解时间。由于本 TG 实验的降解时间估计是在 N_2 环境下, PLA 支架材料的降解时间较长, 但是在人体酸碱、湿度、氧气以及生物酶的作用下, 不同孔径大小的支架材料降解速度会相应加快, 完全降解时间可以控制在几个月到几年之间。因此 PLA 支架材料分解吸收的时间差异可以为材料的设计提供理论和实验基础。

在组织支架的设计中, 不同的组织和细胞生长需要不同孔径大小的材料, 同时需要不同的生物降解速度。在实际应用中, 过小的泡孔孔径会阻碍细胞的生长和支架材料的吸收, 但过大的孔径会降低支架材料的机械强度, 影响其结构的稳定性; 同时过长的降解时间也会减低支架材料的分解速度, 延长支架材料在人体中被分解吸收的时间。因此在支架材料设计和制作中需要合理选择支架材料的孔径和稳定性来满足不同组织支架的要求, 达到组织生长速度和材料降解速度的合理匹配。通过上述的组织工程支架材料的制作和热重分析可知, 能够通过合理控制支架材料的实验制作条件 (饱和压力, 发泡温度等) 来获得具有不同孔径分布的 PLA 泡沫材料, 并通过热稳定性分析来实现组织支架降解时间的估计。

3 结论

本文针对传统组织工程支架材料中有机溶剂残留问题, 采用 CO_2 饱和加压和恒温发泡的固态发泡技术, 对生物可降解材料 PLA 进行了不同条件下的组织支架材料的发泡制作, 获得具有不同泡孔密度和孔径分布的 PLA 泡沫, 实验测量得到它们具有较宽的孔径范围 (几 μm 到几百 μm), 能够满足不同组织细胞生长的要求。同时应用热重法对 PLA 泡沫进行了热分析, 并和 PLA 原材料进行对比, 实验结果表明, PLA 材料经过发泡后, 其热稳定性下降, 分解温度降低; 随着饱和压力的降低, PLA 支架泡沫材料的泡孔孔径增大, 泡孔数量降低, 其分解温度提高, 而在常温下的降解时间延长。本论文的研究结果可以为不同类型组织工程支架材料制造和泡孔孔径的精确控制以及支架材料的降解特性检测提供新的方法。

[参考文献]

- [1] Thomson R C, Wake M C, Yaszemski M I et al. Biodegradable polymer scaffolds to regenerate organs[J]. Advances in Polymer Science, 1995, 122: 245-274.
- [2] Yoon S N, Tae G P. Biodegradable polymeric microcellular foams by modified thermally induced phase separation method[J]. Biomaterials, 1999, 20(19): 1783-1790.
- [3] Mikos A G, Tenenoff J S. Formation of highly porous biodegradable scaffolds for tissue engineering[J]. Journal of Biotechnology, 2000, 3(2): 114-119.

- [4] Tenenoff J S, Mikos A G. Review: Tissue engineering for regeneration of articular cartilage[J]. Biomaterials, 2000, 21 (5): 431-440.
- [5] Dunright R E, Gubler P R, Henton D E. Polylactic acid technology[J]. Advanced Materials, 2000, 12(23): 1841-1846.
- [6] Mikos A G, Sarakinos G, Leite S M, et al. Laminated three-dimensional biodegradable foams for use in tissue engineering[J]. Biomaterials, 1993, 14(5): 323-330.
- [7] Lo H, Kadiyali S, Guggino S E, et al. Poly(L-lactic acid) foams with cell seeding and controlled-release capacity[J]. Journal of Biomedical Materials Research, 1996, 30(4): 475-484.
- [8] Mikos A G, Bao Y, Cima L G, et al. Preparation of poly(glycolic acid) bonded fiber structures for cell attachment and transplantation[J]. Journal of Biomedical Materials Research, 1993, 27(2): 183-189.
- [9] Lo H, Ponticelli M S, Leong K W. Fabrication of controlled release biodegradable foams by phase separation[J]. Tissue Engineering, 1995, 23(1): 15-28.
- [10] Wang X X, Kumar V, Li W. Low density subcritical CO₂-blown solid-state PLA foams[J]. Cellular Polymers, 2007, 26 (1): 11-35.
- [11] 张润, 邓政兴, 李立华, 等. 用超临界 CO₂ 法制备聚乳酸三维多孔支架材料[J]. 材料研究学报, 2003, 17(6): 665-672.
- [12] Wang X X, Li W, Kumar V. A method for solvent free fabrication of porous polymer using solid-state foaming and ultrasound for tissue engineering applications[J]. Biomaterials, 2006, 27(10): 1924-1929.
- [13] Zou H T, Yi C H, Wang L X, et al. Thermal degradation of poly(lactic acid) measured by thermogravimetry coupled to fourier transform infrared spectroscopy[J]. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2009, 97(3): 929-935.
- [14] 冯晓健, 王伟, 赵敏. 聚乳酸头孢唑啉钠微球的制备及其释药性能[J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2008, 31(3): 76-80.
- [15] 傅忠君, 郑化, 于鲁汕. 差热分析在聚乳酸纤维染色中的应用[J]. 山东理工大学学报: 自然科学版, 2008, 22(2): 31-36.

[责任编辑: 顾晓天]

(上接第 47 页)

参考文献

- [1] Joumet C, Maser W K, Bemier P, et al. Large scale production of single walled carbon nanotubes by the electric arc technique[J]. Nature, 1977, 388: 756-758.
- [2] Thess A, Lee R, Nikochev P, et al. Crystalline ropes of metallic carbon nanotubes[J]. Science, 1996, 273(5274): 483-487.
- [3] Tans S J, Devoret M H, Dai H J, et al. Individual single-walled carbon nanotubes as quantum wires: quantum conductance of carbon nanotubes[J]. Nature, 1997, 386: 474-477.
- [4] Xu C H, Wang C Z, Chan C T, et al. A transferable tight-binding potential for carbon[J]. J Phys Condens Matter, 1992, 4: 6047-6054.
- [5] Pettifor D G. New many-body potential for the bond order[J]. Phys Rev Lett, 1989, 63: 2480-2483.
- [6] Masato A. Rapidly convergent bond order expansion for atomistic simulations[J]. Phys Rev Lett, 1993, 71: 3842.
- [7] Horsfield A, Bratkovsky A M. O(N) tight-binding methods with finite electronic temperature[J]. Phys Rev B, 1996, 53: 15381-15385.
- [8] Sutton A P. Electronic Structure of materials[J]. Oxford: Oxford University Press, 1993.
- [9] Pettifor D G, Aoki M. Bonding and structure of intermetallics: a new bond order potential[J]. Philos Trans R Soc London Ser A, 1991, 334: 439-449.
- [10] Horsfield A P, Bratkovsky A M, Feam D G, et al. Bond-order potentials: theory and implementation[J]. Phys Rev B, 1996, 53: 12694-12696.
- [11] Horsfield A P, Bratkovsky A M, Pettifor D G, et al. Bond-order potential and cluster recursion for the description of chemical bonds: efficient real-space methods for tight-binding molecular dynamics[J]. Phys Rev B, 1996, 53: 1656-1658.
- [12] Che R, Peng L M, Zhang S, et al. Formation energetics of *n*-member rings at the end of small zigzag carbon nanotubes[J]. Chem Phys Lett, 2002, 358: 103-109.
- [13] Che R, Peng L M, Zhang S, et al. Energetics of high temperature dimer desorption and reconstruction at the end of small zigzag carbon nanotubes[J]. Chem Phys Lett, 2003, 368: 20-26.

[责任编辑: 顾晓天]