

PEGDA 水凝胶的光固化成形工艺及其性能评价

朱林重¹, 连芩¹, 靳忠民^{1,2}, 张维杰¹, 李涤尘¹

(1. 西安交通大学机械制造系统工程国家重点实验室, 710054, 西安; 2. 利兹大学机械工程学院, LS2 9JT, 英国利兹)

摘要: 采用光固化成形技术制备三维结构软骨组织工程聚乙二醇双丙烯酸酯(PEGDA)水凝胶, 并对其成形工艺参数进行对比研究. 对聚乙二醇(400)双丙烯酸酯(PEG(400)DA)溶液光固化成形单条线及单层面的形貌尺寸进行测量, 研究 PEG(400)DA 体积分数、激光扫描速度以及扫描线间距等参数对测量结果影响. 对制备的 PEGDA 水凝胶成形尺寸、成分、吸水率、压缩弹性模量等进行评价, 结果表明: 随着曝光量以及 φ (PEG(400)DA) 的增加, 水凝胶单条线的固化厚度与固化宽度均增加; 随着激光扫描填充向量间距的增加, 水凝胶单层面的固化厚度减小; 随着 φ (PEG(400)DA) 的增加, 固化后的水凝胶吸水率降低, 压缩弹性模量增大. 采用 φ (PEG(400)DA) 为 30% 的溶液, 激光器功率为 0.1 W, 扫描速度为 1 800 mm/s, 填充向量间距为 0.15 mm, 能够制备出定制化膝关节水凝胶软骨支架, 其吸水率为 191.67%, 平均压缩弹性模量为 0.75 MPa, 满足软骨组织工程的需求.

关键词: 光固化成形; PEG(400)DA; 曝光量; 软骨组织工程

中图分类号: TB17; TH16 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-987X(2012)10-0121-06

Fabrication and Evaluation of PEGDA Hydrogel by Stereo-Lithography for Cartilage Tissue Engineering

ZHU Linzhong¹ LIAN Qin¹ JIN Zhongmin^{1,2} ZHANG Weijie¹ LI Dichen¹

(1. State Key Laboratory for Manufacturing Systems Engineering, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China;

2. School of Mechanical Engineering, University of Leeds, Leeds LS2 9JT, UK)

Abstract: The stereo-lithography technique for fabricating biocompatible polyethyleneglycol diacrylate (PEGDA) hydrogel with a controlled accurate architecture is developed for cartilage tissue engineering application, and the different laser scanning parameters for single-line hydrogel or 2-D layer hydrogel are comparatively investigated. The cure parameters of the single-line and 2-D layer of hydrogel scaffold are affected by PEG(400)DA content of the solution, the laser scanning speed and hatch space. Hydrogel scaffold properties, such as structure accuracy, composition, and water absorption and compression modulus are experimentally confirmed. The results showed that: Cure depth and width increase positively with the energy dosage of laser and the PEG(400)DA content of solution; Cure depth scales inversely with the hatch space; Water absorption decreases and the compression modulus increases as the PEG(400)DA content of solution varies from 30% to 60%. The optimal laser process parameters include: 0.1 W laser power, 1 800 mm/s laser scanning speed, 0.15 mm hatch space and 30% content of φ (PEG(400)DA) solution, customized hydrogel scaffold of knee cartilage was obtained with 191.67% water absorption rate and 0.75 MPa average compression modulus. The stereo-lithographic PEGDA hydrogel technique perfectly meets the requirements for cartilage tissue engineering.

Keywords: stereo-lithography; PEG(400)DA; energy dosage; cartilage tissue engineering

水凝胶类物质由于具有良好的吸水性、黏弹性以及与人体的力学性能,近些年来广泛地运用于组织工程等领域^[1-4],水凝胶作为组织工程支架,能够起到细胞载体的作用,允许营养物质的交换与代谢产物的排出,同时能够起到力学支撑作用。

水凝胶可分为天然材料与人工材料。天然材料(如胶原、壳聚糖、明胶等)虽然具有与人体组织相同或相近的化学成分,但由于非共价键交联,植入后在组织环境中存在着不稳定性^[5]。人工材料如聚氧化乙烯(PEO)、聚丙烯酸-2-羟乙酯(PHEA)、聚乙二醇 400 双丙烯酸酯(PEG(400)DA)^[6-7]等,具有生物相容性,通过化学交联,植入后在体内更加稳定,近年来在软骨组织工程的研究中得到广泛运用。文献[8]对光固化制备 PEO 与 PEGDM 水凝胶进行了研究,制备了二维水凝胶,对其机械与生物学性能进行了评价。

目前,将快速成形技术(RP)运用于制备具有可控结构水凝胶支架是软骨组织工程领域研究的一个热点。Kim 等人^[9]采用三维生物打印机制备了聚己内酯(PCL)支架,该种支架表面粗糙,有利于细胞贴壁;Boland 等人^[10]采用喷墨打印法结合 CaCl_2 交联制备了藻酸盐水凝胶支架;Landers 等人^[11]采用喷墨打印法喷涂三维水溶性聚合物,并采用含糖溶液固化支架。然而,受限于材料之间的交联方式以及黏结形式,采用喷粉或喷墨方式制造的三维支架强度低,结构保持性差。相比于上述几种快速成形技术以及传统的原位交联法^[12]、冻干法^[13]、盐析法^[14]等技术,光固化技术是第一种商业化固体自由成形技术(SFF)。该技术可以通过层与层之间的交联叠加,制备出与软骨外轮廓相匹配的水凝胶支架,能够定制化支架的内部多孔或管道结构,力学强度较好,结构保持性优良,此外还能够将细胞封装于水凝胶基体中^[15]。聚乙二醇二丙烯酸酯(PEGDA)在生物领域具有广泛的应用,能够利用光固化快速成形技术(SL)制备出具有生物相容性、亲水性以及结构可控等优点的水凝胶支架。文献[7]采用二维光固化和手工补液的方式制备了三维 PEGDA 水凝胶支架,但这种制作方式存在着成形精度低、结构不易控制等缺点。

三维水凝胶支架的制备是一个线一面一体的过程,其中线一线、面一面叠加决定了支架的三维成形性。本文采用水基 PEG(400)DA 溶液制备三维 PEGDA 水凝胶支架,通过实验研究了激光工艺参数、溶液体积分数等对水凝胶单条线、单层固化面成

形性的影响,并对制备的三维水凝胶支架进行材料成分、形貌、溶胀率以及力学性能等评价,制备出符合软骨组织工程支架需求的三维 PEGDA 水凝胶支架。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

材料:PEG(400)DA(上海宝曼生物科技有限公司),引发剂 I-1173(2-羟基-甲基苯基丙烷-1-酮,陕西化玻器械有限公司),化学纯试剂(无水乙醇、戊二醛等)。

设备:SPS150B 光固化快速成形机(陕西恒通智能机器有限公司),S-3000N 型扫描电子显微镜(Hitachi,日本),Ti-s 尼康荧光显微镜(Nikon,日本),Vetex70 时间分辨红外光谱仪(Bruker,德国),PLD 微机控制电液伺服生物力学试验机(西安力创材料检测技术有限公司)。

1.2 PEGDA 水凝胶光固化成形工艺

(1)PEG(400)DA 溶液的配备:量取一定体积的 PEG(400)DA 单体溶于去离子水中,按体积分数 30%、40%、50%、60% 配制 4 种组分的 PEG(400)DA 单体溶液,每组加入体积分数为 0.5% 的光引发剂 I-1173,磁力搅拌 10 min。

(2)PEGDA 水凝胶成形:将 CAD 模型处理后导入光固化快速成形系统,保持激光器功率为 0.1 W,激光扫描速度率分别为 100、150、200、250、300、350 mm/s,制备 PEGDA 水凝胶单层线;保持激光器功率为 0.1 W,扫描速率分别为 500、1 000、1 500、2 000、2 500、3 000 mm/s,激光填充向量间距分别为 0.10、0.15、0.20、0.25 mm,制备 PEGDA 水凝胶单层面。对单条线以及单层面尺寸参数进行测量,每组参数样本数为 5。优化参数后,制备三维水凝胶实体,置于去离子水中,每 24 h 更换 1 次,共 7 次,去除剩余的 PEG(400)DA 单体溶液。

1.3 PEGDA 水凝胶性能检测

(1)结构精度。采用光学显微镜对单条线、单层面水凝胶进行轮廓观察与测量。对水凝胶进行脱水及喷金处理后,采用扫描电镜观察其层间成形情况。

(2)成分检测。将水凝胶冷冻干燥研磨成粉末状样品,溴化钾压片处理,采用红外光谱仪对其进行材料成分分析,并与原始成分对比。

(3)吸水率测定。将不同成分的水凝胶冷冻干燥后,称量干态质量(m_d),将其置于去离子水中,每隔 10 s 取出,称量湿态质量(m_w),直至水凝胶质量不

再显著增加为止. 水凝胶吸水率为 $[(m_w - m_d)/m_d] \times 100\%$.

(4)力学性能测试. 每个组分水凝胶制备 10 mm×10 mm×15 mm 的方块形试样(样本数 $n=5$), 对其进行静态压缩力学测定, 静态压缩加载速率为 0.5 mm/min, 温度为室温.

2 水凝胶成形工艺与性能检测结果

2.1 PEGDA 水凝胶光固化工艺参数研究

2.1.1 水凝胶二维单条线固化 二维单条线水凝胶的截面形貌如图 1 所示, 截面厚度与宽度尺寸测量结果如图 2 所示. 随着 $\varphi(\text{PEG}(400) \text{ DA})$ 的增加, 单线成形厚度与宽度基本呈现递增趋势, 当扫描速度小于 200 mm/s 时, 单线成形的厚度大于成形宽度, 而当扫描速度大于 200 mm/s 时, 成形宽度反而大于成形厚度. 以单线厚度尺寸作为纵坐标, 激光曝光量的自然对数作为横坐标, 绘制的曲线拟合后为直线(见图 3), 其中直线的截距为 PEG(400) DA 单体溶液的临界曝光量, 斜率为溶液的穿透深度(见表 1). 图 3 表明, 溶液的临界曝光量与穿透深度随着 $\varphi(\text{PEG}(400) \text{ DA})$ 的增加而增加.

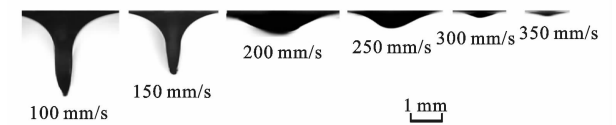
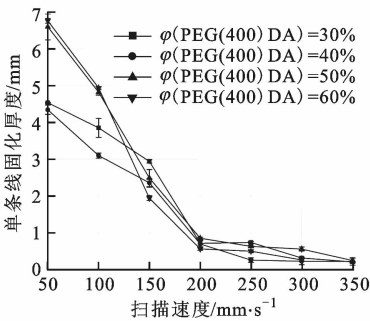


图 1 PEGDA 水凝胶单条线截面形貌(光学显微镜)

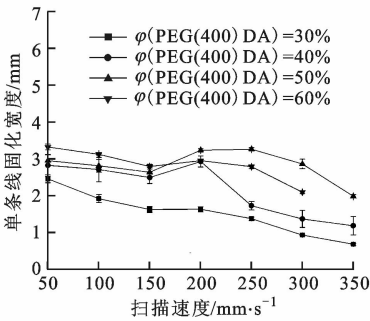
表 1 PEG(400) DA 溶液的临界曝光量与穿透深度的拟合数据

$\varphi(\text{PEG}(400) \text{ DA})/\%$	临界曝光量/ $\text{J} \cdot \text{cm}^{-2}$	穿透深度/mm
30	0.301	5.87
40	0.316	7.34
50	0.325	5.93
60	0.347	9.28

2.1.2 水凝胶二维单层面固化 水凝胶单条线的二维交叠形成单层面, 其交叠示意如图 4 所示. 由于激光的二次曝光, 在两条线交叠区域, 水凝胶厚度会在原有的基础上有所增加(点格区域). 当填充向量间距从 0.1 mm 增加到 0.25 mm, 其固化厚度随扫描速度的变化如图 5 所示. 在相同扫描速度下, 单层固化厚度随着填充向量间距的增加而降低; 当单层固化厚度相同时, 扫描速度同样随着填充向量间距的增加而降低. 在光学显微镜下, 二维单层水凝胶的平面形貌从交叠变成疏松状(见图 6).



(a) 固化厚度与扫描速度关系



(b) 固化宽度与扫描速度关系

图 2 水凝胶单条线成形尺寸与激光扫描速度的关系

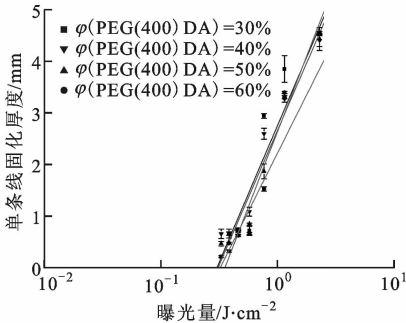


图 3 PEG(400) DA 曝光量与单条线固化厚度的关系

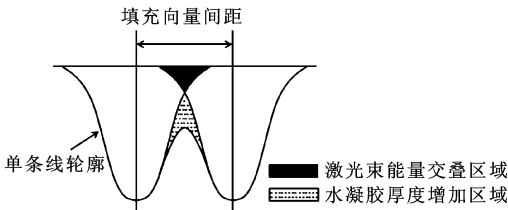


图 4 单层面成形原理图

2.2 PEGDA 水凝胶性能检测

2.2.1 结构形貌观测 采用光学显微镜对二维水凝胶的形貌进行观察, 结果如图 7 所示. 图 7 中宽度设计为 1.5 mm, 固化后其宽度为 (1.52 ± 0.01) mm. 相对于设计尺寸, 二维水凝胶轮廓有所增大. 分析认为, PEGDA 水凝胶固化分为填充扫描与轮廓扫描, 填充扫描完成后形成的水凝胶对随后进行的轮廓扫描激光束有一定的反射作用, 造成轮廓尺

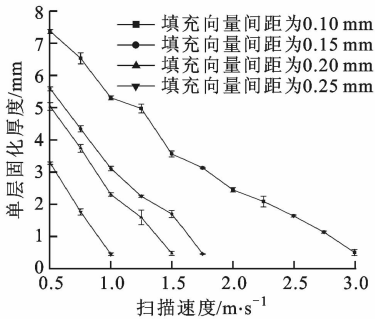


图 5 单层固化厚度与填充向量间距的关系

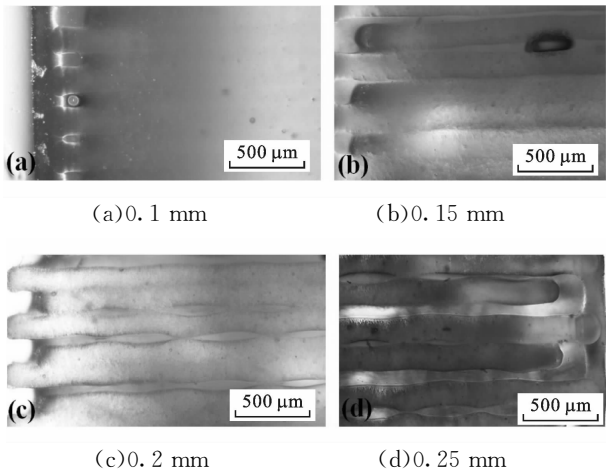


图 6 单层水凝胶二维平面轮廓(光学显微镜)

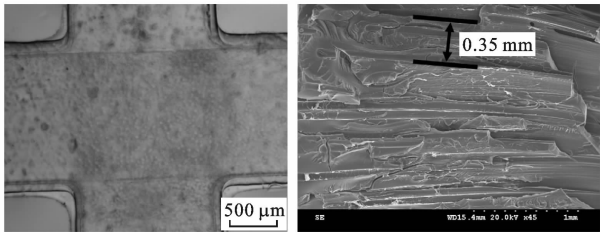
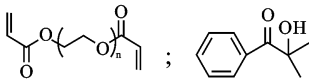


图 7 二维 PEGDA 水凝胶 图 8 PEGDA 水凝胶层结构(光学显微镜) 叠加断面(扫描电镜)

寸偏大. 三维水凝胶支架层间微观扫描电镜图像见图 8,其层间距设置为 0.35 mm,层间结合紧密.

2.2.2 成分检测 PEG (400) DA 单体与光引发剂 I-1173 的化学式为



红外光谱成分分析结果见图 9,结果表明光引发剂 I-1173 中 $3\,500\text{ cm}^{-1}$ 处的 —OH 接到 PEGDA 水凝胶上, $2\,900\sim 2\,800\text{ cm}^{-1}$ 为 PEGDA 水凝胶中的 CH_3 、 CH_2 的伸缩振动吸收峰,其中等强度的弯曲振动吸收峰出现在 $1\,460\text{ cm}^{-1}$ 处, $1\,750\text{ cm}^{-1}$ 为 $\text{C}=\text{O}$ 双键的强吸收峰.

2.2.3 溶胀率测定 对溶液体积分数为 30%、

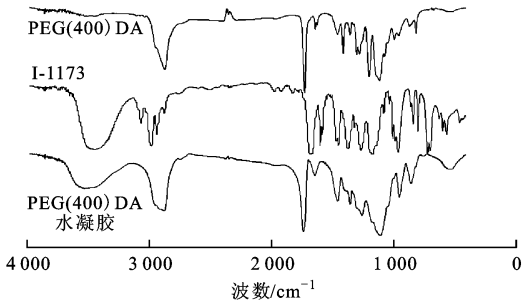


图 9 红外光谱成分分析结果

40%、50%、60% 的 PEGDA 水凝胶的吸水率分别进行测定,结果见图 10. 结果表明,随着溶液中 PEG (400) DA 体积分数的增加,水凝胶的初始吸水溶胀速率降低,在 15~20 s 后均达到溶胀平衡;同时,水凝胶的吸水率也呈现递减的趋势,见表 2. 当 $\varphi(\text{PEG (400) DA})$ 为 30% 时,制备的水凝胶在各组中具有较高的吸水率,为 191.67%.

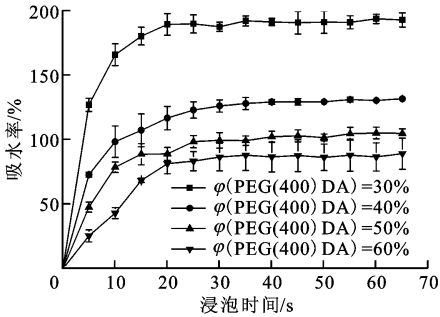


图 10 PEGDA 水凝胶吸水率曲线

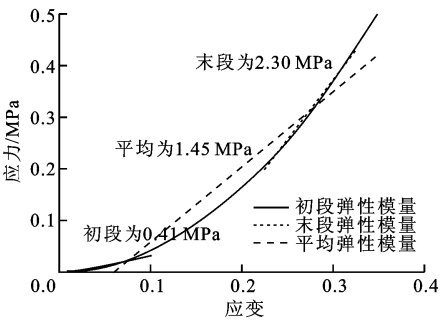
表 2 PEGDA 水凝胶吸水率($n=5$)

$\varphi(\text{PEG (400) DA})/\%$	吸水率/ $\%$
30	191.67 ± 3.67
40	130.62 ± 0.68
50	105.31 ± 2.71
60	87.02 ± 10.35

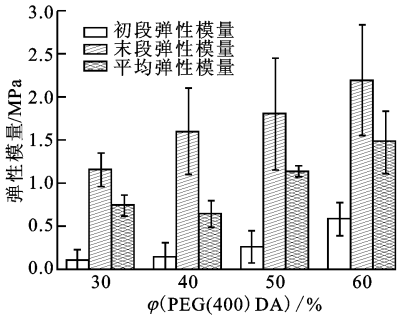
2.2.4 力学性能测试 对溶液体积分数为 0%、40%、50%、60% 的 PEGDA 水凝胶进行压缩实验,并计算试样整体压缩应变(试样沿压缩方向变形量与原始标距长度的比值)为 0.1(初段)、0.3(末段)时的弹性模量,以及整体平均弹性模量,其结果如图 11 所示. 随着溶液中 PEG (400) DA 的成分增加,固化后水凝胶的初段、末段以及平均弹性模量均呈现增加趋势.

2.3 PEGDA 水凝胶的成形

根据 PEGDA 吸水性与力学测试数据发现, $\varphi(\text{PEGDA})$ 为 30% 水凝胶的吸水性与弹性模量适中,故采用 $\varphi(\text{PEG (400) DA})$ 为 30% 的溶液制备人



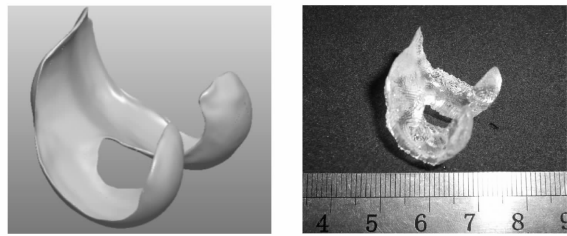
(a) PEGDA 水凝胶压缩力学特性



(b) 弹性模量

图 11 不同成分 PEGDA 水凝胶的弹性模量

体膝关节软骨水凝胶实体(见图 12)。图 12a 为 0.25 倍人体膝关节软骨模型,图 12b 为制备的水凝胶模型。模型加工时间为 15 min,分层间结合良好,外形结构完整、无塌陷,成形性满足要求。



(a) 自然膝关节软骨模型 (b) 水凝胶膝关节软骨模型

图 12 自然膝关节与 PEGDA 水凝胶制备模型的对比

3 讨论

采用光固化快速成形技术制备 PEGDA 水凝胶,主要是利用 PEG (400) DA/I-1173 溶液,在 355 nm 波长的激光束作用下产生交联反应,形成具有生物相容性的聚合物胶体。

三维水凝胶支架的成形精度取决于线-线、面-面之间的成形情况。图 1 为 $\varphi(\text{PEG} (400) \text{ DA})$ 为 30% 时单线固化截面形貌,当激光扫描速度超过 200 mm/s 时,单线固化宽度大于其固化厚度。光固化截面轮廓的曲线方程式

$$\frac{2y^2}{W_0^2} + \frac{z}{D_p} = \ln \left\{ (2/\pi)^{1/2} \left[\frac{P}{W_0 V E_c} \right] \right\} = A \quad (1)$$

式中: E_c 为溶液临界曝光量,实验测得的数据为 0.301 J/cm^2 ; P 为激光器功率,本实验中为 0.1 W ; W_0 为 $1/e^2$ 高斯半宽度(通常为 0.127 mm); V 为激光扫描速度; D_p 为溶液的穿透深度,实验拟合的数据为 5.875 mm ;固化宽度、厚度分别为

$$y \Big|_{z=0} = W_0 (A/2^{2/1}); \quad z \Big|_{y=0} = D_p A \quad (2)$$

当固化厚度大于固化宽度,即 $2y > z$ 时,可推导出

$$V > (2/\pi)^{1/2} \frac{P}{W_0 E_c \exp(2W_0^2/D_p^2)} = 208.5 \text{ mm/s} \quad (3)$$

即当扫描速度超过 208.5 mm/s 时,结果与实验相吻合。

支架的三维成形精度与激光的扫描参数以及光敏溶液的体积分数相关^[16],若曝光量过大,层与层之间的黏接产生过固化,降低支架的三维成形精度;曝光量过小,导致线与线之间、层与层之间黏接不牢,支架容易产生脱落。本研究结果(见图 5、图 6)也证实了这一点:激光扫描的其他工艺参数不变,当填充间距增加,单位面积的曝光量降低,将导致单层水凝胶线与线之间黏接产生间隙。在相同单层成形厚度的情况下,较高的扫描速率有利于提高制作效率。由图 5 可知, $\varphi(\text{PEG} (400) \text{ DA})$ 为 30% 时,在 0.15 mm 的填充间距下,1 800 mm/s 的扫描速度能够获得 0.45 mm 的单层厚度。为了保证水凝胶层间结合牢固,层间距设置为 0.35 mm(见图 8),层间结合情况良好。

单条线的二维交叠形成单层,单层面叠加形成水凝胶三维实体。单线二维交叠过于紧密会导致面的致密,容易产生翘曲变形等现象;过于疏松又会导致面的网格化,不利于实体的成形,造成水凝胶强度较低,容易产生塌陷等缺点。利用本研究的优化工艺参数所制备的水凝胶支架结构精度分析(见图 7)表明,其成形尺寸相对于设计尺寸无明显变化,轮廓的细微变形主要为激光器对其进行轮廓扫描产生的光线反射所致。水凝胶的吸水率是评价材料特性的一个重要指标,较高的吸水率有利于细胞在其表面和内部的贴壁与生长、增殖。研究结果(见图 10、图 11)表明, $\varphi(\text{PEG} (400) \text{ DA})$ 为 30% 制备出的水凝胶具有较高的吸水率与吸水速率,同时其平均弹性模量为 0.75 MPa,与自然软骨相近(0.4~14 MPa)^[17],能够为细胞的提供良好的生长环境。

综上所述,在 $\varphi(\text{PEG} (400) \text{ DA})$ 为 30%、激光器功率为 0.1 W、填充间距为 0.15 mm、扫描速度为 1 800 mm/s 时,获得的水凝胶支架结构成形性好,

且吸水率、弹性模量等满足软骨组织工程的要求。

4 结 论

(1)通过光固化成形尺寸的工艺参数研究,确定了加工工艺参数与固化 PEGDA 溶液配方,并以 $\varphi(\text{PEG}(400)\text{DA})$ 为 30% 的溶液,直接光固化成形了定制化膝关节 PEGDA 水凝胶。

(2)对制备的水凝胶的吸水率、力学强度等方面的检测结果表明,PEGDA 水凝胶吸水率为 191.67%,弹性模量为 0.75 MPa,满足软骨组织工程的需求。

参考文献:

- [1] GEEVER L M, MINGUEZ C M, DEVINE D M, et al. The synthesis, swelling behavior and rheological properties of chemically crosslinked thermosensitive copolymers based on N-isopropylacrylamide [J]. *Journal of Materials Science*, 2007, 42(12): 4136-4148.
- [2] DEVINE D M, HIGGINBOTHAM C L. The synthesis of a physically crosslinked NVP based hydrogel [J]. *Polymer*, 2003, 44(26): 7851-7860.
- [3] PEPPAS N A, BURES P, LEOBANDUNG W, et al. Hydrogels in pharmaceutical formulations [J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2000, 50(1): 27-46.
- [4] RAVICHANDRAN P, SHANTHA K L, RAO K P. Preparation, swelling characteristics and evaluation of hydrogels for stomach specific drug delivery [J]. *Int J Pharm*, 1997, 154(1): 89-94.
- [5] SUN Shaohua, CAO Hui, SU Haijia, et al. Preparation and characterization of a novel injectable in situ cross-linked hydrogel [J]. *Polymer Bulletin*, 2009, 62(5): 699-711.
- [6] ARCAUTE K, MANN B, WICKER R. Stereolithography of spatially controlled multi-material bioactive poly (ethylene glycol) scaffolds [J]. *Acta Biomaterialia*, 2010, 6(3): 1047-1054.
- [7] ARCAUTE K, MANN B K, WICKER R B. Stereolithography of three-dimensional bioactive poly (ethylene glycol) constructs with encapsulated cells [J]. *Annals of Biomedical Engineering*, 2006, 34(9): 1429-1441.
- [8] DHARIWALA B, HUNT E, BOLAND T. Rapid prototyping of tissue-engineering constructs, using photopolymerizable hydrogels and stereolithography [J]. *Tissue Engineering*, 2004, 10(9/10): 1316-1322.
- [9] KIM G H, SON J G. 3D polycaprolactone (pcl) scaffold with hierarchical structure fabricated by a piezoelectric transducer (pzt)-assisted bioplotter [J]. *Appl Phys: A Materials Science Processing*, 2009, 94: 781-785.
- [10] BOLAND T, TAO X, DAMON B J, et al. Drop-on-demand printing of cells and materials for designer tissue constructs [J]. *Materials Science & Engineering: C Biomimetic and Supramolecular Systems* 2007, 27: 372-376.
- [11] LANDERS R, MULHAUPT R. Desktop manufacturing of complex objects, proto-types and biomedical scaffolds by means of computer-assisted design combined with computer-guided 3D plotting of polymers and reactive oligomers [J]. *Macromol Mater Eng*, 2000, 282: 17-21.
- [12] TAN Guoxin, WANG Yingjun, LI Jun, et al. Synthesis and characterization of injectable photocrosslinking poly (ethylene glycol) diacrylate based hydrogels [J]. *Polymer Bulletin*, 2008, 61(1): 91-98.
- [13] 郝星, 贺健康, 高琨, 等. 蚕丝蛋白/明胶多孔肝组织支架的制备及性能研究 [J]. *西安交通大学学报*, 2011, 45(11): 121-126.
- HAO Xing, HE Jiankang, GAO Kun, et al. Preparation and properties of silk fibroin/gelatin porous scaffolds for liver tissue engineering [J]. *Journal of Xi'an Jiaotong University*, 2011, 45(11): 121-126.
- [14] NAZAROV R, JIN H J, KAPLAN D L. Porous 3-D scaffolds from regenerated silk fibroin [J]. *Biomacromolecules*, 2004, 5(3): 718-726.
- [15] LEE Seung-Jae, KANG Taeyun, RHIE Jong-Won, et al. Development of three-dimensional hybrid scaffold using chondrocyte-encapsulated alginate hydrogel [J]. *Sensors and Materials*, 2007, 19(8): 445-451.
- [16] JACOBS P F. Fundamental processes: rapid prototyping and manufacturing: fundamentals of stereolithography [M]. Michigan, USA: Society of Manufacturing Engineers, 1992: 79-110.
- [17] HOLLISTER S J, LIAO E E, MOFFITT E N, et al. Defining design targets for tissue engineering scaffolds; fundamentals of tissue engineering and regenerative medicine [M]. Berlin, Germany: Springer, 2009: 521-537.

(编辑 杜秀杰)