

基于互穿网络技术构筑的氧化海藻酸钠/纤维素 纳米晶/聚丙烯酰胺-明胶双网络水凝胶与性能

陈秀琼^{1,2,3}, 廖雨青^{2,3}, 王洪财^{2,3}, 李东泽^{2,3}, 颜慧琼^{1,2,3*}, 林强^{1,2,3}

(1. 海南师范大学 热带药用植物化学教育部重点实验室, 海南 海口 571158; 2. 海口市天然高分子功能材料重点实验室, 海南 海口 571158; 3. 海南省水环境污染治理与资源化重点实验室, 海南 海口 571158)

摘要: 为了提高海藻酸盐水凝胶的生物应用性, 以氧化海藻酸钠 (OSA) 为原料, 采用互穿网络技术、纤维素纳米晶 (CNCs) 补强和明胶 (GT) 表面覆相相结合的方法构建了 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶 (其中, PAM 为聚丙烯酰胺)。通过 FTIR、TGA、XRD、SEM、溶胀性和降解性实验以及细胞相容性测试考察了 CNCs 含量对 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶结构和性能的影响。结果表明, CNCs 能够与基体中的聚合物产生相互作用力。随着 CNCs 含量的增加, OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的孔隙率下降, 力学性能提高, 其溶胀率随 CNCs 含量增加呈下降趋势 (下降幅度较小) 而生物降解率呈上升趋势, 说明 CNCs 能够在一定程度上调控复合水凝胶的物化性能。OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶展现出较好的细胞黏附、增殖和分化性能。当 CNCs 的含量为 0.5% 时 (以 OSA 溶液质量为基准, 下同), 人骨肉瘤 (MG63) 细胞增殖效果最佳, 而 CNCs 的含量为 1.5% 时, MG63 细胞分化效果最显著。

关键词: 海藻酸盐水凝胶; 互穿网络技术; 纤维素纳米晶; 复合水凝胶; 生物性能; 功能材料

中图分类号: TQ460.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2023) 06-1309-10

Construction and properties of oxidized sodium alginate/cellulose nanocrystal/polyacrylamide-gelatin double network hydrogels via interpenetrating network technology

CHEN Xiuqiong^{1,2,3}, LIAO Yuqing^{2,3}, WANG Hongcai^{2,3}, LI Dongze^{2,3},
YAN Huiqiong^{1,2,3*}, LIN Qiang^{1,2,3}

(1. Key Laboratory of Tropical Medicinal Plant Chemistry of Ministry of Education, Hainan Normal University, Haikou 571158, Hainan, China; 2. Key Laboratory of Natural Polymer Functional Material of Haikou City, Haikou 571158, Hainan, China; 3. Key Laboratory of Water Pollution Treatment and Resource Reuse of Hainan Province, Haikou 571158, Hainan, China)

Abstract: To improve the bio-applicability of alginate hydrogel, the composite hydrogels of oxidized sodium alginate (OSA)/cellulose nanocarrier (CNCs)/ polyacrylamide-gelatin (PAM-GT) were constructed from combination of interpenetrating network technology, CNCs reinforcement and GT surface deposition with OSA. The effects of CNCs dosage on the structure and properties of OSA/CNCs/PAM-GT composite hydrogels were analyzed by FTIR, TGA, XRD, SEM, swelling and degradability experiments as well as cytocompatibility tests. The results showed that CNCs could interact with the polymers in the matrix. As the dosage of CNCs increased, the composite hydrogel exhibited a decreased porosity, enhanced mechanical strength and biodegradability, and a slightly reduced swelling, indicating that CNCs could regulate the physicochemical properties of the composite hydrogels to a certain extent. Meanwhile, the composite

收稿日期: 2022-08-05; 定用日期: 2022-12-27; DOI: 10.13550/j.jxhg.20220731

基金项目: 国家自然科学基金 (51963009); 海南省自然科学基金 (220MS035); 海南省大学生创新训练计划项目; 海南师范大学大学生创新创业训练计划榕树基金项目 (hscy2022-14)

作者简介: 陈秀琼 (1989—), 女, 实验师, 博士生。联系人: 颜慧琼 (1986—), 男, 副教授, 硕士生导师, E-mail: yanhqedu@163.com。

hydrogels displayed good cell adhesion, proliferation and differentiation properties. When the dosage of CNCs was 0.5%(based on the mass of OSA solution, the same below), the composite hydrogel showed the best cell proliferation activity for MG63 cells, while displayed the most significant cell differentiation activity when the dosage of CNCs was 1.5%.

Key words: alginate hydrogels; interpenetrating network technology; cellulose nanocrystals; composite hydrogels; biological properties; functional materials

双网络水凝胶是由两个或者两个以上相互交联的网络缠绕在一起结合而成,网络与网络之间既能相互渗透又相互独立。最为常见的是基于互穿网络技术构筑的双网络水凝胶体系。一般情况下,一级网络具有更强的刚度性能,大多由一些天然的高分子形成,如海藻酸钠(SA)、透明质酸和壳聚糖等,而二级网络多采用延展性更佳合成聚合物,如聚丙烯酰胺(PAM)等,两个网络之间进行优势互补形成高强度和高韧性的水凝胶^[1-2]。

海藻酸盐是一种由 β -D-甘露糖醛酸(M段)和 α -L-古洛糖醛酸(G段)通过1,4-糖苷键以均聚(MM段或GG段)和交替序列(MG段或者GM段)所形成的线性水溶性多糖^[3]。由于海藻酸盐具有类似于天然细胞基质的组成成分,所以由海藻酸盐制备的水凝胶能够提供一个相对适宜的细胞微环境,能够促进和调节细胞的黏附、增殖、迁移和分化。而且,海藻酸盐来源广泛,具有温和的交联特性和无毒性等优点,使其被广泛地应用于组织工程和伤口敷料等医学领域^[4-5]。尽管海藻酸盐作为制备医用水凝胶材料已被广泛研究,但现有研究表明,该类水凝胶呈现出较弱的抗压强度,缺乏哺乳动物细胞黏附性并且降解速率缓慢而不可控,这些缺陷严重限制了其在生物学方面的应用^[6-7]。为了克服单一海藻酸盐水凝胶功能上的缺陷,人们通常会选择两种及两种以上的材料进行复合,制备出承载负荷力更强的水凝胶。这些杂化水凝胶或者复合水凝胶往往通过添加一些增强剂〔如纤维素纳米晶(CNCs)、二氧化硅纳米粒和二氧化钛纳米粒等〕来达到理想的机械性能,而且大量增强剂的使用往往会赋予复合材料一些独特而优异的性能^[8-9]。另外,通过高碘酸钠氧化的方法可改善海藻酸盐在哺乳动物体内降解缓慢而不可控的缺陷;采用具有细胞识别因子的生物大分子〔如胶原蛋白或明胶(GT)〕表面覆积的方法可提高海藻酸盐水凝胶的细胞黏附性和生物活性^[4,6]。

双网络水凝胶技术被认为是制备具有高机械性能复合水凝胶的最佳方法之一。与单一水凝胶相比,双网络水凝胶由于两个聚合物网络分子链相互渗透,从而表现出优异的断裂韧性和相当大的压缩应变能力。SUN等^[2]报道了一种基于互穿网络技术构

建的具有高度拉伸和韧性的SA/PAM水凝胶,其拉伸长度达到水凝胶原始长度的20倍,断裂能约为 9000 J/m^2 。CNCs是一种高度结晶的纳米颗粒,可以通过酸水解去除纤维素的无定形区域以得到具有棒状结构的晶体^[10]。由于CNCs具有高纵横比、纳米级的尺寸、良好的生物降解性和较强的机械性能而被认为是一种理想的生物增强剂。GAO等^[11]通过添加CNCs来增强明胶/生物活性玻璃纳米复合水凝胶的力学性能。结果表明,在纳米复合水凝胶中即使加入少量的CNCs,也可以大大提高明胶/生物活性玻璃纳米复合水凝胶的机械强度。HUANG等^[12]采用水溶性羧甲基壳聚糖和醛基纤维素纳米晶(DACNC)制备可注射水凝胶。棒状CNCs经高碘酸钠氧化改性后,其纵横比和比表面积都较大,因此,水凝胶内产生了许多活性结合点,从而使水凝胶能够达到快速自修复的效果。CNCs作为纳米级别的增韧填料,也使水凝胶的强度得到较大提升,并且使其在保持结构整体性的同时具有较高的溶液吸收能力(吸液量高达自身质量的350%)。

氧化海藻酸盐(OSA)水凝胶作为组织工程应用中的可生物降解材料,已经引起了广泛关注。与天然海藻酸盐相比,部分OSA具有更快的降解速率和更多的活性基团,如醛基和羟基。OSA/明胶在骨关节炎研究中备受关注。明胶的氨基可以和OSA的醛基发生席夫碱反应,这样能够进一步加强凝胶的交联作用,从而提高GT/OSA复合水凝胶的机械性能^[13]。由于明胶分子链上含有细胞能够识别的精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(Arg-Gly-Asp,AGA)多肽序列,可利用明胶氨基和OSA醛基的席夫碱反应以及两者分子间的氢键作用,在溶液体系下使明胶分子吸附于OSA水凝胶表面,从而增强其对细胞的黏附力^[14]。

为了解决海藻酸盐水凝胶在生物学应用中的功能缺陷问题,如较弱的抗压强度、缺乏哺乳动物细胞黏附性、降解速率缓慢而不可控,改善其生物应用性,本文依据本课题组已报道的方法^[15],以羟基磷灰石(HAP)/D-葡萄糖酸- δ -内酯(GDL)作为内源交联剂,拟采用互穿网络技术、CNCs补强和明胶表面覆积相结合的方法构建OSA/CNCs/PAM-GT复合水凝胶,以提高OSA水凝胶的力学性能和

生物相容性。这种从结构和性能的角度综合分析和解决海藻酸盐水凝胶在生物医学应用中的功能缺陷问题目前鲜见报道^[16]。鉴于互穿网络技术在构建复合材料中的优越特性, 本文以互穿网络方法构筑的 OSA/PAM 复合水凝胶作为基体, 通过 FTIR、TGA 和 XRD 测试、溶胀性和降解性实验以及细胞相容性实验重点考察 CNCs 含量对复合水凝胶结构和性能的影响。以期制备出能够适用于组织工程和伤口敷料领域的海藻酸盐复合水凝胶。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

理论氧化度为 10% 的 OSA ($M_w = 396214$) 和 CNCs 通过本课题组已报道的方法制备^[17-18]; 丙烯酰胺 (AM, AR)、A 型明胶 (生化级)、过硫酸铵 (APS, AR)、四甲基乙二胺 (TEMED, 质量分数 99%)、*N,N'*-亚甲基双丙烯酰胺 (MBAA, 质量分数 $\geq 99\%$)、HAP (生物医药级)、GDL (质量分数 99%)、戊二醛 (医药级)、溶菌酶 (纯度 ≥ 20000 U/mg)、阿拉丁试剂 (上海) 有限公司; 人骨瘤 MG63 细胞购自中国科学院细胞库; DMEM 高糖培养基、胎牛血清、胰蛋白酶 [质量分数 0.25% 胰蛋白酶-乙二胺四乙酸二钠 (trypsin-EDTA) 溶液]、青霉素、链霉素, HyClone 生物科技 (美国) 有限公司; 细胞增殖-毒性检测试剂盒 (Cell Counting Kit-8, CCK-8), 日本同仁化学研究所; 曲拉通 (Triton X-100)、碱性磷酸酶试剂盒 (ALP Assay Kit), 上海碧云天生物技术有限公司。

H1850 型台式离心机 (湘仪离心机仪器有限公司); Scientz-10ND 型真空冷冻干燥机 (宁波新芝生物科技股份有限公司); Nicolet-6700 型傅里叶变换红外光谱仪 (美国 Thermo Scientific 公司); S-3000N 型扫描电子显微镜 (日本 Hitachi 公司); WDW-1 型微机控制拉力试验机 (济南一诺世纪试验仪器有限公司); AutoPore IV 9500 型压汞仪 [Micromeritics (上海) 仪器有限公司]; 449F3 型热重分析仪 (德国 Netzsch 公司); XS/D8 Advance 型多晶 X 射线衍射仪 (德国 Bruker 公司); Axis Ultra XPS 型 X 射线光电子能谱分析仪 (英国 Kratos 公司); ELX800 型酶标仪 (美国 BioTek 公司)。

1.2 方法

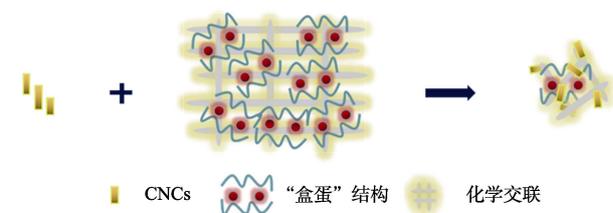
1.2.1 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的制备

OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的制备示意图见图 1。如图 1 所示, 将 CNCs 掺杂到 OSA 基体中制备 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶。分别称取一定量的 CNCs (0.5、1.0、1.5、2.0 g) 和 0.37 g HAP

加入到 100 mL 质量分数为 2% 的 OSA 溶液中, 剧烈搅拌 2 h。然后依次加入 4.00 g AM、0.04 g MBAA、0.04 g APS 和 36.40 μ L TEMED, 搅拌混合 20 min。进而将得到的混合液倒入烧杯中, 在磁力搅拌的作用下加入 1.29 g GDL, 搅拌 1.0 min 后将其迅速转移到 12 孔组织培养板中, 每孔 5 mL 混合液。室温静置交联 2 h 后, 再将其放入烘箱中于 65 $^{\circ}$ C 下化学交联 5 h。将得到的水凝胶于 -50 $^{\circ}$ C 条件下冷冻干燥 48 h 即得到 OSA/CNCs/PAM 复合水凝胶。将干燥后的 OSA/CNCs/PAM 复合水凝胶浸入质量分数为 1% 的明胶溶液中浸泡 2 min, 再将其置入质量分数为 2.5% 的戊二醛溶液中浸泡 12 h。用去离子水反复冲洗, 最后再将洗净的水凝胶在 -50 $^{\circ}$ C 条件下冷冻干燥 48 h 得到 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶。为了对比不同 CNCs 含量对复合水凝胶物化性能和生物性能的影响, 在制备 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶过程中将添加 CNCs 含量分别为 0、0.5%、1.0%、1.5% 和 2.0% 的复合水凝胶分别命名为 OSA/PAM-GT、OSA/0.5% CNCs/PAM-GT、OSA/1.0% CNCs/PAM-GT、OSA/1.5% CNCs/PAM-GT 和 OSA/2.0% CNCs/PAM-GT (统称为 OSA/CNCs/PAM-GT)。作为对比, SA/PAM-GT、OSA/PAM 和 OSA/PAM-GT 在没有添加 CNCs 情况下, 均通过上述方法制备。为了验证明胶分子在复合水凝胶上的包覆性, 通过 X 射线光电子能谱分析仪 (XPS) 对 OSA/CNCs/PAM 和 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶表面元素分布进行分析。明胶分子的包覆率可采用式 (1) 进行计算。

$$\text{GT 包覆率} / \% = \frac{m_{\text{OSA/CNCs/PAM-GT}} - m_{\text{OSA/CNCs/PAM}}}{m_{\text{OSA/CNCs/PAM-GT}}} \times 100 \quad (1)$$

式中: $m_{\text{OSA/CNCs/PAM-GT}}$ 为包覆明胶之后的 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的质量, g; $m_{\text{OSA/CNCs/PAM}}$ 为包覆明胶之前的 OSA/CNCs/PAM 复合水凝胶的质量, g。它们的质量均由电子分析天平称量获得。



注: “盒蛋”结构由海藻酸盐分子链络合钙离子所形成。

图 1 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的制备示意图
Fig. 1 Schematic diagram of the preparation of OSA/CNCs/PAM-GT composite hydrogel

1.2.2 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的结构表征和性能测试

通过 FTIR、XRD 和 TGA 对 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶组分间的相互作用进行检测和表征。在 FTIR 测试中,取少量样品与溴化钾放置于玛瑙研钵中进行研磨压片后,利用傅里叶变换红外光谱仪在波数 4000~400 cm^{-1} 处测定样品的红外谱图,分析其主要官能团的变化。XRD 测试是在 40 kV 和 100 mA 下,以扫描速率 0.025($^{\circ}$)/s 在 $2\theta=5^{\circ}\sim 60^{\circ}$ 扫描范围测定样品的晶体结构。在 TGA 测试中,以升温速率为 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 、温度范围在 30~800 $^{\circ}\text{C}$ 条件下对样品进行热稳定性测定,实验全程通 N_2 保护。

采用扫描电子显微镜和压汞仪对 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的形貌和孔隙结构进行表征。在 SEM 测试中,样品被切割成边长约为 2 mm 的立方体,喷金后对复合水凝胶的横截面形貌进行观测。利用压汞仪对多孔复合水凝胶材料的孔隙率进行测定。先将样品在 110 $^{\circ}\text{C}$ 条件下加热干燥去除物理吸附水,再将其放在样品盒内,调节压力使水银渗透到每个孔内,测试结果经微电脑程序处理后得出。OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的机械性能通过万能材料试验机进行测试。测试样品的底面直径为 18 mm,高为 10 mm。测试时,垂直于样品表面纵向压缩,压缩速率为 5 mm/min,当材料压碎或其应变大于 60% 时停止。对于获取的应力-应变曲线,每条曲线的线性最高点为该样品的压缩强度。

1.2.3 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的溶胀性与生物降解性测试

将复合水凝胶浸泡在 pH 7.4 PBS 溶液中放置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育 2 h 后取出,用滤纸轻轻擦拭材料表面后再进行称量,每组重复 3 次。每个时间间隔的样品的溶胀率用 SR (%) 来表示,具体计算方法见式 (2)。样品溶胀前后的质量分别记为 W_0 (g) 和 W_s (g)。

$$\text{SR} / \% = \frac{W_s - W_0}{W_0} \times 100 \quad (2)$$

准确称量 0.01 g 的溶菌酶放置在 50 mL 的烧杯中,用移液管移取 20 mL PBS 溶液 (pH 7.4, 0.1 mol/L),配制成包含 10000 U/mL 溶菌酶的 PBS 溶液。将称重的复合水凝胶 (质量记为 W_0 , g) 浸泡在此溶液中再放置到 37 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱中降解。分别在 7、14、21 d 时取出样品,用去离子水轻轻地清洗干净后将样品放在 110 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中烘至恒重后进行称重,记为 W_t (g)。通过测量样品的质量损失来评估复合水凝胶的生物降解率 (BR, %),具体的运算方式见公式 (3)。

$$\text{BR} / \% = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100 \quad (3)$$

1.2.4 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的细胞相容性测试

先将 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶用照射强度为 8 kGy 的钴 60 射线进行灭菌。以 24 孔组织培养板作为模具,将灭菌后的水凝胶 (0.10~0.22 g) 放置在 24 孔板中,并向其中加入 500 μL DMEM 细胞培养基静置 12 h。利用体外培养人骨瘤 MG63 细胞来评定样品的生物性能。MG63 细胞经过复苏和在表面皿上的贴壁生长,将培养到 3~4 代的 MG63 细胞以 5×10^4 个细胞/孔的密度接种到复合水凝胶材料上。同时,作为空白对照采用相同的方式将细胞接种到无材料的 24 孔板中。添加细胞培养液,使每孔培养基总量达到 500 μL 。最后将孔板放置到含体积分数为 5% CO_2 的培养箱中于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下培养。实验中所用到的培养基采用体积分数为 90% DMEM、体积分数为 9% 胎牛血清和体积分数为 1% 的双抗 (青霉素和链霉素,质量比为 1:1) 混合而成。实验过程中每 2 d 更换一次培养液。

细胞在材料上接种 2 d 后,将组织培养板中的培养基用移液枪吸出,用 PBS 溶液冲洗 3 次后再用质量分数为 2.5% 的戊二醛溶液交联固定 20 min。再用超纯水冲洗经戊二醛固定负载细胞的水凝胶材料,直至残留的戊二醛冲洗干净后于 -50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下冷冻干燥 48 h。随后利用扫描电子显微镜来观察细胞在复合水凝胶表面的黏附情况以及 MG63 细胞的形貌特征。

细胞在复合水凝胶材料上的活性采用 CCK-8 试剂盒来进行测定。更换 (采用移液枪先将培养板里的培养基吸掉,再补充等体积的新鲜培养基) 细胞在材料上增殖 2 d 的培养基后,加入 50 μL 的 CCK-8 试剂,再将其放置到 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 5% CO_2 的培养箱中培育 4 h。在 24 孔板中用移液枪吸取 100 μL 的溶液到 96 孔板中,摇匀后,利用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度 (OD)。利用碱性磷酸酶 (ALP) 试剂盒来检测细胞在材料上的分化情况。将培养了 7 d 细胞的复合水凝胶用 PBS 溶液清洗直至没有胎牛血清,即可定性为无培养基,加入质量分数为 0.1% 的 TritonX-100 溶液后放置于冰浴中裂解。取 50 μL 的上清液到 96 孔板中,再加入 50 μL ALP 显色试剂,用枪头吹打均匀。静置 30 min 后,加入 100 μL 的反应终止液 (由 ALP 试剂盒提供)。最后,利用酶标仪在 405 nm 处读取 OD 值来检测细胞的分化情况。同时,将细胞在 24 孔组织培养板中的增殖或分化情况作为空白对照。用相对 ALP 活性

来衡量水凝胶相对于空对照组的细胞分化情况。相对 ALP 活性用式 (4) 计算。

$$\text{相对ALP活性} = \frac{\text{细胞在材料上的ALP的OD}}{\text{细胞在组织培养板上的ALP的OD}} \quad (4)$$

2 结果与讨论

2.1 复合水凝胶的结构与性能分析

OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶与已报道的生物医药类水凝胶性能对比如表 1 所示。从表 1 可以看出, 本方法所制备的复合水凝胶展现出较高的孔隙率、较强的机械性能及适宜的溶胀和降解性能。这主要归因于互穿网络技术在构建复合材料中的优越特性以及 CNCs 的补强作用。

表 1 OSA/2.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶与现有报道的生物医药类水凝胶对比

Table 1 Comparison of OSA/2.0% CNCs/PAM-GT composite hydrogel with reported biomedical hydrogels

样品	孔隙率 /%	孔径 / μm	抗压强度 /MPa	24 h 溶胀率 /%	14 d 生物降解率 /%	参考文献
Alg/BCNs/COL	77	—	0.223	2960	27.2	[19]
Alg/BC-CS	—	70~200	0.265	2790	28.7	[20]
Alg/80% PAM-CS-GT	—	25~100	2.106	910	7.1	[15]
OSA/2.0% CNCs/PAM-GT	84.64	—	3.214	429	32.4	本文

注: Alg 为海藻酸盐; BCNs 为细菌纤维素纳米晶; COL 为胶原蛋白; BC 为细菌纤维素; CS 为壳聚糖; “—” 代表无数据。

通过 XPS 对 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶 GT 的包覆性进行了分析。表 2 为 OSA/1.0% CNCs/PAM 和 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的 XPS 元素分析结果。从表 2 可知, 未经明胶处理的 OSA/1.0% CNCs/PAM 复合水凝胶的 N 质量分数为 7.15%, 而经过表面修饰的 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的 N 质量分数可以达到 13.82%, 明显高于未包覆明胶的样品, 说明明胶通过席夫碱反应和氢键作用成功包覆在 OSA/1.0% CNCs/PAM 复合水凝胶的表面^[14]。通过对比明胶包覆前后复合水凝胶的质量差, 结合公式 (1) 可计算出 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的明胶包覆率为 0.82%。

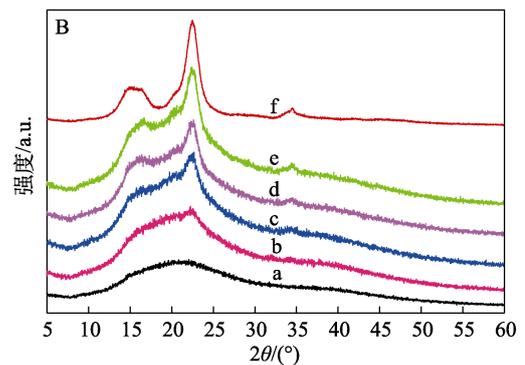
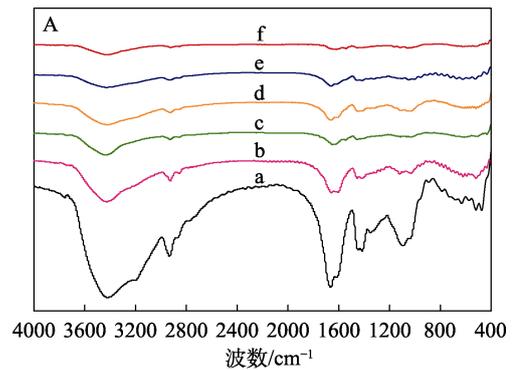
表 2 OSA/1.0% CNCs/PAM 和 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的 XPS 元素分析

Table 2 XPS element analysis of OSA/1.0% CNCs/PAM and OSA/1.0% CNCs/PAM-GT composite hydrogels

样品	质量分数/%			
	C	N	O	Ca
OSA/1.0% CNCs/PAM	72.42	7.15	18.66	0.42
OSA/1.0% CNCs/PAM-GT	63.57	13.82	22.70	0.51

通过 FTIR、XRD 和 TGA 对 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶组分间的相互作用进行了验证。

图 1A 为 OSA/PAM-GT、OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶和 CNCs 的 FTIR 谱图。从图 1A 可知, OSA/PAM-GT 在 1608.69、1420.56、1091.14 和 1032.83 cm^{-1} 处出现的吸收峰分别归属于 OSA 分子链上—COO—的不对称和对称伸缩振动吸收峰以及糖骨架上 C—O—C 的伸缩振动吸收峰^[21-22]。OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶和 CNCs 的 FTIR 谱图出峰位置大致相同。但是, 与 OSA/PAM-GT 复合水凝胶相比, 不同 CNCs 含量的 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶在 3419.88 cm^{-1} 处的—OH 伸缩振动吸收峰均发生了蓝移且峰的强度减弱, 这种现象的出现归因于 CNCs 填充到聚合物链内, 减少了 OSA 的分子内氢键作用, 增强了 OSA、CNCs 和 PAM 分子间的氢键相互作用^[22], 说明 CNCs 已经充分地嵌入到聚合物基质中, 产生了相互作用力。



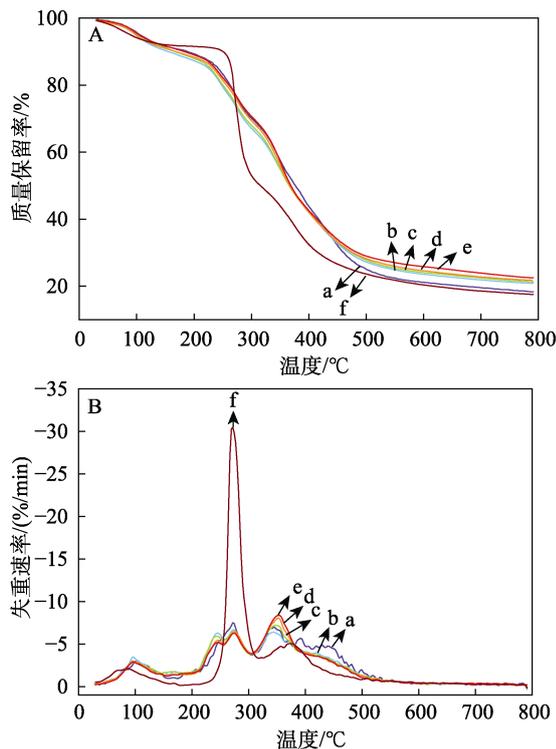
a—OSA/PAM-GT; b—OSA/0.5% CNCs/PAM-GT; c—OSA/1.0% CNCs/PAM-GT; d—OSA/1.5% CNCs/PAM-GT; e—OSA/2.0% CNCs/PAM-GT; f—CNCs

图 2 复合水凝胶的 FTIR 谱图 (A) 和 XRD 谱图 (B)
Fig. 2 FTIR spectra (A) and XRD patterns (B) of the composite hydrogels

图 1B 为 OSA/PAM-GT、OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶和 CNCs 的 XRD 谱图。由图 1B 可知, OSA/PAM-GT 复合水凝胶在 $2\theta=20.0^\circ$ 处出现了一个较宽的衍射峰, 这是其水合晶体衍射峰^[23]。而 CNCs 在 $2\theta=14.7^\circ$ 、 22.6° 和 34.5° 处的特征峰分别对应其 (110)、(200) 和 (004) 晶面^[20]。随着 CNCs 含量的增加,

OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶在 $2\theta=22.6^\circ$ 和 34.5° 处的峰强度逐渐增强,但相比于 CNCs,其特征峰的强度降低,说明 CNCs 能够较好地分散在聚合物基质中,产生新的相互作用力。同时由于 CNCs 被聚合物 OSA 和 PAM 包覆在内导致其自身的特征衍射峰强度减弱。

图 3A 为 OSA/PAM-GT、OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶和 CNCs 的 TGA 曲线。从图 3A 可知,相比 CNCs 和 OSA/PAM-GT 复合水凝胶,OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶具有更高的热稳定性能。这可能是因为聚合物链与 CNCs 之间存在相互作用力^[13]。并且在 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶中,随着 CNCs 含量的增加,尽管复合水凝胶的失重率逐渐降低,但是降低的幅度相对较小,说明 CNCs 作为增强剂能够使复合水凝胶的热稳定性提高,但是在一定范围内,复合水凝胶热稳定性并不会因为 CNCs 含量的增加而出现大幅度的提高。图 3B 是 OSA/PAM-GT、OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶和 CNCs 的 DTG 曲线。



a—OSA/PAM-GT; b—OSA/0.5% CNCs/PAM-GT; c—OSA/1.0% CNCs/PAM-GT; d—OSA/1.5% CNCs/PAM-GT; e—OSA/2.0% CNCs/PAM-GT; f—CNCs

图 3 复合水凝胶的 TGA 曲线 (A) 和 DTG 曲线 (B)
Fig. 3 TGA curves (A) and DTG curves (B) of the composite hydrogels

从图 3B 可以看出,所有材料的失重过程主要包括 3 个阶段:第一阶段的失重过程主要发生在 100°C 左右,归因于材料物理吸附水的脱除^[5];第二阶段在 $200\sim 300^\circ\text{C}$ 范围,材料的质量下降速率最快,

主要是发生了 OSA、CNCs 和明胶的热裂解以及 PAM 的部分裂解^[24];第三阶段在 $300\sim 500^\circ\text{C}$ 范围内,该阶段主要是 PAM 发生了进一步的热裂解。

通过扫描电子显微镜和万能材料试验机对复合水凝胶的孔隙结构形貌和抗压强度进行了测试。

图 4 为复合水凝胶在经过冷冻干燥后呈现出的孔隙结构形貌图;相关的孔隙率测试结果如表 3 所示。由图 4 和表 3 可知,通过互穿网络技术构筑的复合水凝胶均呈现出规整的 3D 形貌和多孔结构。

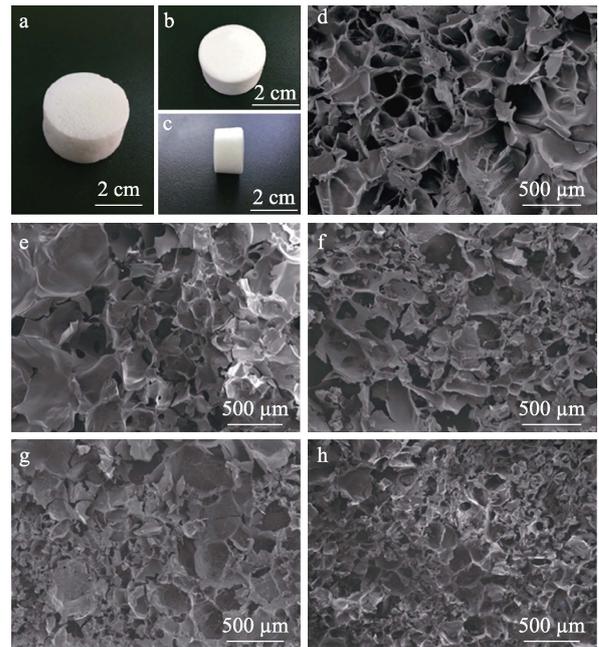


图 4 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的实物图(a、b、c);OSA/PAM-GT (d)、OSA/0.5% CNCs/PAM-GT (e)、OSA/1.0% CNCs/PAM-GT (f)、OSA/1.5% CNCs/PAM-GT (g) 和 OSA/2.0% CNCs/PAM-GT (h) 复合水凝胶的 SEM 图

Fig. 4 Physical photographs of OSA/1.0% CNCs/PAM-GT composite hydrogel (a, b, c); SEM images of OSA/PAM-GT (d), OSA/0.5% CNCs/PAM-GT (e), OSA/1.0% CNCs/PAM-GT (f), OSA/1.5% CNCs/PAM-GT (g) and OSA/2.0% CNCs/PAM-GT (h) composite hydrogels

表 3 不同 CNCs 含量的 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的孔隙率

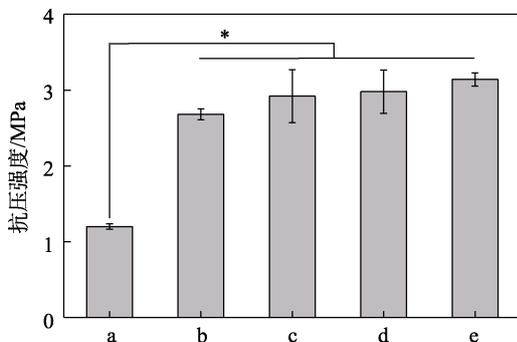
Table 3 Porosity of OSA/CNCs/PAM-GT composite hydrogels with different CNCs dosage

复合水凝胶材料	孔隙率/%
OSA/PAM-GT	88.4445
OSA/0.5% CNCs/PAM-GT	86.5506
OSA/1.0% CNCs/PAM-GT	86.0443
OSA/1.5% CNCs/PAM-GT	85.4119
OSA/2.0% CNCs/PAM-GT	84.6428

复合水凝胶的孔结构与细胞增殖的生物学特性密切相关,因为合适的孔径不仅可以支持细胞的生

长, 还可以实现代谢废物和营养物质的传递^[24]。但是, 由于 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶中 CNCs 添加量的不同, 它们在孔隙密度和孔径大小上呈现一定的差异。未添加 CNCs 的 OSA/PAM-GT 复合水凝胶相比于其他 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶具有较大尺寸的孔隙, 孔与孔之间的排布相对稀疏。而 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶则表现出较为密集的孔隙结构, 孔隙尺寸明显减小并且孔洞排列更加有序。这是因为添加的 CNCs 除了能够分散在复合水凝胶的表面还能够填充到水凝胶内部的空隙中, 导致孔隙率相对降低, 从而形成了排序更加规则、更紧密的孔隙结构。由于复合水凝胶材料孔隙结构变得更加规整, 因此其力学性能也会得到一定程度的提升。

复合水凝胶的孔隙结构也直接影响其力学性能, 决定了复合水凝胶在体内形态的维持和承受生理载荷的能力^[25]。图 5 为 OSA/PAM-GT 和 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的抗压强度。由图 5 可知, OSA/PAM-GT 复合水凝胶的抗压强度约为 1.20 MPa, 与其相比, 随着 CNCs 的加入, OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的抗压强度也在不断地增强, 分别增加了 135%、149%、154%和 167%。从统计学数据分析可知, OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶体系的力学性能显著高于 OSA/PAM-GT 复合水凝胶。这是因为 CNCs 能够嵌入 OSA/PAM 基体中, 形成排列更加紧密的网络结构, 并且 CNCs 能够与聚合物产生相互作用力, 从而提高了复合水凝胶材料的机械性能^[26]。然而, 随着体系中 CNCs 含量的增加导致聚合物 OSA 和 PAM 的含量下降, CNCs 在 OSA/PAM 基体中的分散效果减弱。因此, OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的机械性能虽然随着 CNCs 含量的增加呈上升趋势, 但是其后续增长速率缓慢。



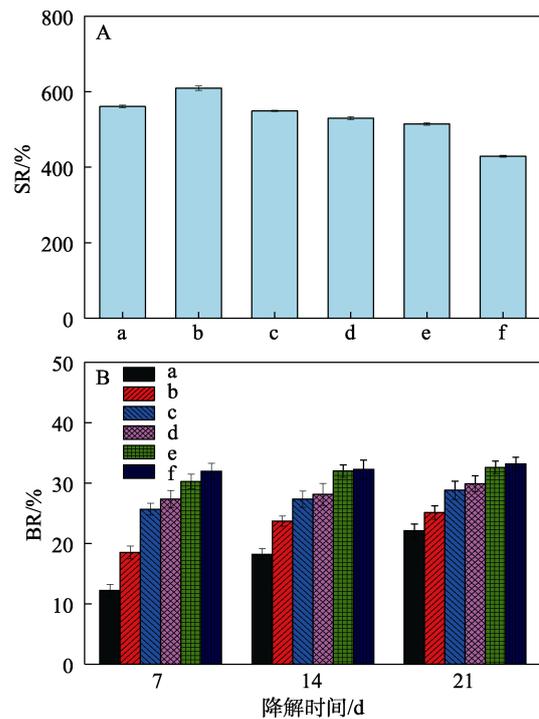
a—OSA/PAM-GT; b—OSA/0.5% CNCs/PAM-GT; c—OSA/1.0% CNCs/PAM-GT; d—OSA/1.5% CNCs/PAM-GT; e—OSA/2.0% CNCs/PAM-GT; *代表 $P < 0.05$, 表示有显著性差异

图 5 复合水凝胶的抗压强度

Fig. 5 Compressive strength of composite hydrogels

2.2 复合水凝胶的溶胀性和生物降解性分析

复合水凝胶的体外溶胀行为展现了其在生理条件下对培养基的摄取能力^[27]。适当的溶胀性不仅可以保持复合水凝胶的机械完整性, 还可以加速营养物质和代谢废物的传递, 促进细胞黏附和渗透生长^[24]。图 6A 为 SA/PAM-GT、OSA/PAM-GT 和 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的溶胀率。由图 6A 可知, 在所有复合水凝胶中, OSA/PAM-GT 的溶胀率最高, 能够达到 $609.50\% \pm 5.92\%$ 。相比于 OSA, SA 在 HAP/GDL 体系的交联作用下, 水凝胶结构更加紧密, 因此 SA/PAM-GT 的溶胀率低于 OSA/PAM-GT。另外, CNCs 的引入明显地降低了复合水凝胶的溶胀率, 并随着 CNCs 含量的增加 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的溶胀率依次降低。这主要是由于纳米 CNCs 良好的胶体性能使其能够均匀地分散在 OSA/PAM 基质中, 导致复合水凝胶材料的结构变得更加紧密, 在一定程度上阻碍了水分的渗入。



a—SA/PAM-GT; b—OSA/PAM-GT; c—OSA/0.5% CNCs/PAM-GT; d—OSA/1.0% CNCs/PAM-GT; e—OSA/1.5% CNCs/PAM-GT; f—OSA/2.0% CNCs/PAM-GT

图 6 复合水凝胶的 SR (A) 和 BR (B)

Fig. 6 SR (A) and BR (B) of the composite hydrogels

图 6B 为 SA/PAM-GT、OSA/PAM-GT 和 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的生物降解率。从图 6B 可看出, 随着降解时间的推移, 复合水凝胶的生物降解率逐渐升高。通过对比 SA/PAM-GT 和 OSA/PAM-GT 发现, SA/PAM-GT 的生物降解率明显低于 OSA/PAM-GT, 说明经高碘酸钠氧化处理后有效地提高了 SA/PAM-GT 的降解速率。同时, 添加 CNCs

的复合水凝胶生物降解率均高于 OSA/PAM-GT 复合水凝胶。这可能是由于 CNCs 的加入促进了复合水凝胶的降解。而且随着 CNCs 含量的增加, OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶降解率逐渐升高。该结果表明, CNCs 的加入使得复合水凝胶的亲水性增加, 随着时间的延长, 复合水凝胶表面部分 CNCs 发生脱落, 使其生物降解率逐步提高。这是由于采用硫酸水解微晶纤维素和过氧化氢氧化处理制得的 CNCs 具有较好的胶体性能^[20], 其在复合水凝胶中发挥了一定的阻隔作用, 削弱了 OSA 与 PAM 以及 OSA 与 PAM 分子间的氢键作用, 促进了酶促降解反应, 造成 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶生物降解率升高^[15]。而且通过后续实验发现, OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶完全水解大概需要 3 个月。因此, 可以通过调控 CNCs 的含量来调控复合水凝胶的溶胀率和生物降解率。

2.3 复合水凝胶的体外细胞相容性分析

为了验证 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的细胞相容性, 并评价 CNCs 对细胞黏附、增殖和分化的影响, 将 MG63 人成骨肉瘤细胞接种到复合水凝胶上进行培养。图 7 显示了 MG63 细胞在复合水凝胶上的黏附情况。

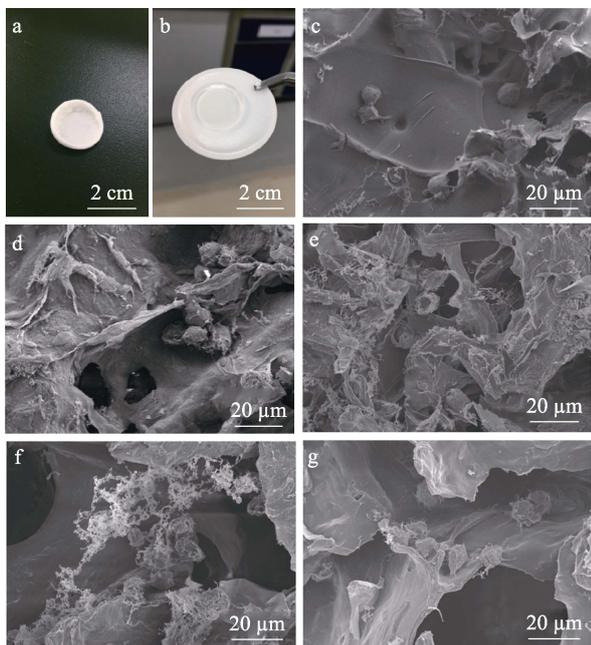


图 7 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的实物图 (a, b); MG63 细胞接种到 OSA/PAM-GT (c)、OSA/0.5% CNCs/PAM-GT (d)、OSA/1.0% CNCs/PAM-GT (e)、OSA/1.5% CNCs/PAM-GT (f) 和 OSA/2.0% CNCs/PAM-GT (g) 复合水凝胶上生长 2 d 后的 SEM 图
Fig. 7 Photographs of OSA/CNCs/PAM-GT composite hydrogels (a, b); SEM images of MG63 cells cultured on OSA/PAM-GT (c), OSA/0.5% CNCs/PAM-GT (d), OSA/1.0% CNCs/PAM-GT (e), OSA/1.5% CNCs/PAM-GT (f) and OSA/2.0% CNCs/PAM-GT (g) composite hydrogels for 2 d

图 8 为 MG63 细胞接种到 OSA/PAM、OSA/PAM-GT 和 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶上的生长形态图。

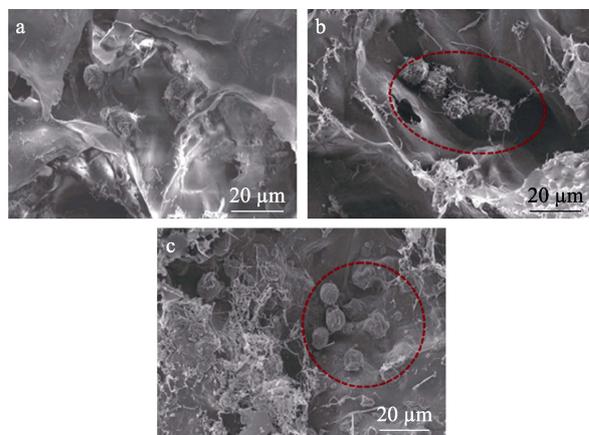
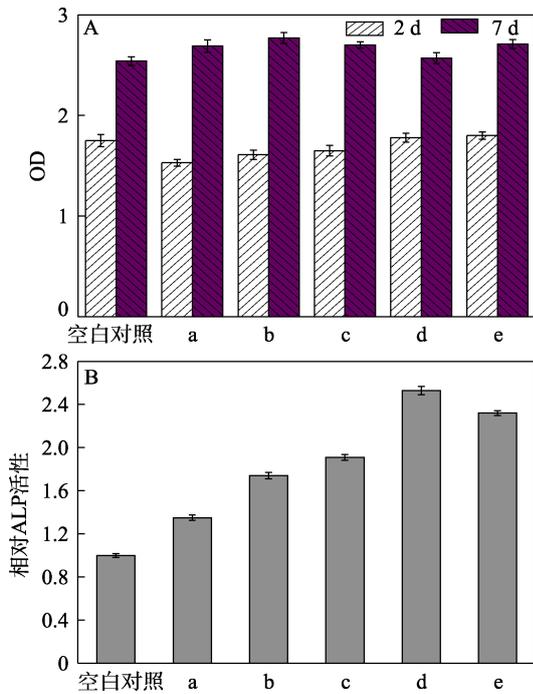


图 8 MG63 细胞接种到 OSA/PAM (a)、OSA/PAM-GT (b) 和 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT (c) 上生长 2 d 后的 SEM 图
Fig. 8 SEM images of MG63 cells cultured on OSA/PAM (a), OSA/PAM-GT (b) and OSA/1.0% CNCs/PAM-GT (c) for 2 d

由图 7 可知, MG63 细胞多呈带丝的球状形态, 易于结团黏附在复合水凝胶材料表面或内孔, 说明 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶材料良好的孔隙结构能够为细胞增殖提供 3D 生长空间。这主要得益于 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶可以完全模拟天然细胞外基质。从图 8 可以看出, 相比于 OSA/PAM, OSA/PAM-GT 和 OSA/1.0% CNCs/PAM-GT 的表面黏附了更多的细胞, 这进一步说明复合水凝胶材料表面的明胶含有能够促进细胞黏附的 AGA 序列, 促进了细胞在材料上的黏附和增殖^[28-29]。

图 9A 展示了 MG63 细胞在 OSA/PAM-GT 和 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶上的增殖情况。由图 9A 可知, 无论是 OSA/PAM-GT 还是 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶, 细胞培养 2 d 后所测得的 OD 均低于空白对照组。然而, 在培养第 7 d 时, 两者的细胞增殖活力都有大幅度的提高。特别是 CNCs 含量为 0.5% 的 OSA/0.5% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的 OD 高于空白对照组且细胞的增殖效果最为显著, 说明掺杂 CNCs 在一定程度上有效促进了细胞在复合水凝胶上的增殖。这是因为, CNCs 的表面带负电荷, 提供了更多的结合位点促进其与蛋白质结合, 从而提高了材料的生物活性^[26,30]。然而, 过量的 CNCs 会导致复合水凝胶材料的孔隙率降低, 细胞的生长空间受限, 细胞的增殖率下降^[24]。因此, 只有适量的 CNCs 才能够有效地促进细胞的生长。图 9B 为 MG63 细胞在 OSA/PAM-GT 和 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶上的分化情况。由图 9B 可知,

对比空白对照, OSA/CNCs/PAM-GT 体系的相对 ALP 活性更高, 说明 CNCs 的掺入能够提高细胞的分化能力。其中, 当 CNCs 的含量为 1.5% 时, 细胞的分化效果最好。之后再增加 CNCs 含量, 细胞的相对 ALP 活性下降, 这可能是由于随着 CNCs 含量的增大, 导致复合水凝胶材料的孔隙率变小, 从而影响了细胞的分化。



a—OSA/PAM-GT; b—OSA/0.5% CNCs/PAM-GT; c—OSA/1.0% CNCs/PAM-GT; d—OSA/1.5% CNCs/PAM-GT; e—OSA/2.0% CNCs/PAM-GT

图 9 MG63 细胞在复合水凝胶上分别培养 2 和 7 d 的增殖情况 (A); MG63 细胞在复合水凝胶上培养 7 d 的分化情况 (B)

Fig. 9 Cell proliferation viability of MG63 cells cultured on the composite hydrogels for 2 and 7 d (A); Cell differentiation of MG63 cells cultured on the composite hydrogels for 7 d (B)

3 结论

针对海藻酸盐水凝胶在生物医学应用领域的功能缺陷, 通过双网络水凝胶技术结合 CNCs 补强和明胶表面覆积的方法构建了 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶。考察了 CNCs 含量对复合水凝胶微观形态、孔隙结构、力学性能、溶胀性、生物降解性和生物相容性的影响。结果表明, CNCs 能够与基体中的聚合物 OSA 和 PAM 产生相互作用力。并且随着 CNCs 含量的增加, OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶的孔隙率由 88.4445% (OSA/PAM-GT 复合水凝胶) 逐步下降至 84.6428% (OSA/2.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶), 抗压强度相比于 OSA/PAM-GT 复合水凝胶稳

步提高了 167% (OSA/2.0% CNCs/PAM-GT 复合水凝胶)。而且它们的溶胀率随 CNCs 含量增加呈下降趋势而生物降解性呈上升趋势, 但是它们的变化幅度较小, 说明 CNCs 能够在一定程度上调控复合水凝胶的物化性能。细胞相容性实验结果表明, MG63 细胞能够黏附在 OSA/CNCs/PAM-GT 复合水凝胶上, 同时能够进行细胞增殖和分化。当 CNCs 的含量为 0.5% 时, 细胞增殖效果最佳, 而 CNCs 的含量为 1.5% 时, 细胞分化效果最显著。以上结果说明, 将 CNCs 掺杂到 OSA/PAM 互穿网络基体中能够有效地提高 OSA/CNCs/PAM-GT 生物性能, 从而使其能够适用于组织工程和伤口敷料领域。

参考文献:

- [1] DARNELL M, SUN J, MEHTA M, *et al.* Performance and biocompatibility of extremely tough alginate/polyacrylamide hydrogels[J]. *Biomaterials*, 2013, 34: 8042-8048.
- [2] SUN J, ZHAO X, ILLEPERUMA W, *et al.* Highly stretchable and tough hydrogels[J]. *Nature*, 2012, 489: 133-136.
- [3] PAWAR S N, EDGAR K J. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications[J]. *Biomaterials*, 2012, 33: 3279-3305.
- [4] VENKATESAN J, BHATNAGAR I, MANIVASAGAN P, *et al.* Alginate composites for bone tissue engineering: A review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72: 269-281.
- [5] CHEN X Q (陈秀琼), FENG M X (冯美西), LI Z Y (李正月), *et al.* Preparation of alginate derivatives via UGI reaction and their drug-loaded microcapsules for drug delivery[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(3): 585-592.
- [6] LEE K Y, MOONEY D J. Hydrogels for tissue engineering[J]. *Chemical Review*, 2001, 101:1869-1879.
- [7] IONITA M, PANDELE M A, IOVU H. Sodium alginate/graphene oxide composite films with enhanced thermal and mechanical properties[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 94:339-344.
- [8] YANG C H, WANG M X, HAIDER H, *et al.* Strengthening alginate/polyacrylamide hydrogels using various multivalent cations[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2013, 5: 10418-10422.
- [9] SHAH N, UL-ISLAM M, KHATTAK W A, *et al.* Overview of bacterial cellulose composites: A multipurpose advanced material[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 98: 1585-1598.
- [10] HABIBI Y, LICIA L A, ROJAS O J. Cellulose nanocrystals: Chemistry, self-assembly, and applications[J]. *Chemical Review*, 2010, 110(6): 3479-3500.
- [11] GAO W W, SUN L Y, ZHANG Z T, *et al.* Cellulose nanocrystals reinforced gelatin/bioactive glass nanocomposite scaffolds for potential application in bone regeneration[J]. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 2020, 31(8): 984-998.
- [12] HUANG W, WANG Y, HUANG Z, *et al.* On-demand dissolvable self-healing hydrogel based on carboxymethyl chitosan and cellulose nanocrystal for deep partial thickness burn wound healing[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(48): 41076-41088.
- [13] REAKASAME S, BOCCACCINI A R. Oxidized alginate-based hydrogels for tissue engineering applications: A review [J]. *Biomacromolecules*, 2018, 19(1): 3-21.
- [14] SU K, WANG C M. Recent advances in the use of gelatin in biomedical research[J]. *Biotechnology Letters*, 2015, 37: 2139-2145.
- [15] CHEN X Q, YAN H Q, BAO C L, *et al.* Fabrication and evaluation of homogeneous alginate/polyacrylamide-chitosan-gelatin composite hydrogel scaffolds based on the interpenetrating networks for tissue engineering[J]. *Polymer Engineering & Science*, 2022, 62: 116-128.
- [16] LEE K Y, MOONEY D J. Alginate: Properties and biomedical applications[J]. *Polymer Engineering & Science*, 2012, 37: 106-126.
- [17] WANG H C, CHEN X Q, WEN Y S, *et al.* A study on the correlation between the oxidation degree of oxidized sodium alginate on its degradability and gelation[J]. *Polymers*, 2022, 14: 1679.
- [18] BAO C L, CHEN X Q, LIU C, *et al.* Extraction of cellulose nanocrystals from microcrystalline cellulose for the stabilization of cetyltrimethylammonium bromide-enhanced Pickering emulsions[J].

- Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2021, 608: 125442.
- [19] YAN H Q, HUANG D G, CHEN X Q, *et al.* A novel and homogeneous scaffold material: Preparation and evaluation of alginate/bacterialcellulose nanocrystals/collagen composite hydrogel for tissue engineering[J]. *Polymer Bulletin*, 2018, 75: 985-1000.
- [20] ZHU Q M, CHEN X Q, LIU Z W, *et al.* Development of alginate-chitosan composite scaffold incorporation of bacterial cellulose for bone tissue engineering[J]. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2021: 2007384.
- [21] YAN H Q, CHEN X Q, FENG M X, *et al.* Entrapment of bacterial cellulose nanocrystals stabilized Pickering emulsions droplets in alginate beads for hydrophobic drug delivery[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2019, 177: 112-120.
- [22] ISLAM M S, KARIM M R. Fabrication and characterization of poly(vinyl alcohol)/alginate blend nanofibers by electrospinning method[J]. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2010, 366:135-140.
- [23] DUTTA S D, HEXIU J, PATEL D K, *et al.* 3D-printed bioactive and biodegradable hydrogel scaffolds of alginate/gelatin/cellulose nanocrystals for tissue engineering[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 167: 644-658.
- [24] VALENTE J F A, VALENTE T A M, ALVES P, *et al.* Alginate based scaffolds for bone tissue engineering[J]. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 2012, 32: 2596-2603.
- [25] TURCO G, MARSICH E, BELLOMO F, *et al.* Alginate/hydroxyapatite biocomposite for bone ingrowth: A trabecular structure with high and isotropic connectivity[J]. *Biomacromolecules*, 2009, 10(6): 1575-1583.
- [26] MONTANHEIRO T L, MONTAGNA L S, PATRILEA V, *et al.* Evaluation of cellulose nanocrystal addition on morphology, compression modulus and cytotoxicity of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) scaffolds[J]. *Journal of Materials Science*, 2019, 54(9): 7198-7210.
- [27] SOWJANYA J A, SINGH J, MOHITA T, *et al.* Biocomposite scaffolds containing chitosan/alginate/nano-silica for bone tissue engineering[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 109: 294-300.
- [28] BERNSTEIN-LEVI O, OCHBAUM G, BITTON R. The effect of covalently linked RGD peptide on the conformation of polysaccharides in aqueous solutions[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2016, 137: 214-220.
- [29] TCHOBANIAN A, OOSTERWYCK H V, FARDIM P. Polysaccharides for tissue engineering: Current landscape and future prospects[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 205: 601-625.
- [30] MONTANHEIRO T L, MONTAGNA L S, DE FARIAS M A, *et al.* Cytotoxicity and physico-chemical evaluation of acetylated and pegylated cellulose nanocrystals[J]. *Journal of Nanoparticle Research*, 2018, 20(8): 1-12.

(上接第 1271 页)

- [33] WANG W, UMAIR M M, QIU J, *et al.* Electromagnetic and solar energy conversion and storage based on Fe₃O₄-functionalised graphene/phase change material nanocomposites[J]. *Energy Conversion and Management*, 2019, 196: 1299-1305.
- [34] IBRAHIM Y, MESLAM M, EID K. A review of MXenes as emergent materials for dye removal from wastewater[J]. *Separation and Purification Technology*, 2022, 282: 120083.
- [35] AGHAMOHAMMADI H, ESLAMI-FARSANI R, CASTILLO-MARTINEZ. Recent trends in the development of MXenes and MXene-based composites as anode materials for Li-ion batteries[J]. *Journal of Energy Storage*, 2021, 47: 103572.
- [36] YAO Y, ZHAO J, YANG X. Recent advance in electromagnetic shielding of MXenes[J]. *Chinese Chemical Letters*, 2021, 32 (2): 620-634.
- [37] PEI Y, ZHANG X, HUI Z. Ti₃C₂T₂ MXene for sensing applications: Recent progress, design principles, and future perspectives[J]. *ACS Nano*, 2021, 15 (3): 3996-4017.
- [38] QU K, HUANG K, XU Z. Recent progress in the design and fabrication of MXene-based membranes[J]. *Frontiers of Chemical Science and Engineering*, 2021, 15 (4): 820-836.
- [39] HONG L F, GUO R T, YUAN Y, *et al.* Recent progress of two-dimensional MXenes in photocatalytic applications: A review[J]. *Materials Today Energy*, 2020, 18: 100521.
- [40] JAFFARI Z H, ABUABDOU S M A, NG D Q, *et al.* Insight into two-dimensional MXenes for environmental applications: Recent progress, challenges, and prospects[J]. *FlatChem*, 2021, 28: 100256.
- [41] MEHRALI M, TAHAN L S, MEHRALI M, *et al.* Preparation of nitrogen-doped graphene/palmitic acid shape stabilized composite phase change material with remarkable thermal properties for thermal energy storage[J]. *Applied Energy*, 2014, 135: 339-349.
- [42] LI S Y (李仕友), HU J Y (胡俊毅), HE J Q (贺俊钦), *et al.* Preparation of MXene/SA gel microspheres and its adsorption performance for U(VI)[J]. *Acta Materiae Compositae Sinica (复合材料学报)*, 2022, 39(10): 4868-4878.
- [43] LI C, YU H, SONG Y, *et al.* Synthesis and characterization of PEG/ZSM-5 composite phase change materials for latent heat storage[J]. *Renewable Energy*, 2018, 121: 45-52.
- [44] ARMAROLI N, BALZANI V, EID K, *et al.* The future of energy supply: Challenges and opportunities[J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2007, 46:52-66.
- [45] CAO Y F, FAN D L, LIN S H, *et al.* Branched alkylated polynorbomene and 3D flower-like MoS₂ nanospheres reinforced phase change composites with high thermal energy storage capacity and photothermal conversion efficiency[J]. *Renewable Energy*, 2021, 179: 687-695.
- [46] DU X, QIU J, DENG Z, *et al.* Flame-retardant and solid-solid phase change composites based on dopamine-decorated BP nano-sheets/polyurethane for efficient solar-to-thermal energy storage[J]. *Renewable Energy*, 2021, 164: 1-10.

(上接第 1286 页)

- [12] HUA J J (华继军), NI J N (倪加旒), GAO C H (高传花), *et al.* Synthesis and properties of water-dispersed silicone-polyurethane block copolymers[J]. *Polymer Materials Science and Engineering (高分子材料科学与工程)*, 2009, 25(2): 28-30.
- [13] HONG C Y (洪成宇), ZHANG H (张浩), LIU T Y (刘堂宇), *et al.* Influence of castor oil content on properties of halogen-free flame retardant waterborne polyurethane[J]. *Polyurethane Industry (聚氨酯工业)*, 2020, 35(3): 16-19.
- [14] DUAN Q Y (段启勇), PAN F (潘飞), ZENG X M (曾县明), *et al.* Castor oil/silane double modified waterborne polyurethane adhesive[J]. *China Adhesive (中国胶粘剂)*, 2011, 20(6): 10-13.
- [15] REN L F (任龙芳), MA X D (马向东), QIANG T T (强涛涛). Preparation and characterization of castor oil modified waterborne polyurethane[J]. *Chinese Leather (中国皮革)*, 2019, 48(5): 42-48.
- [16] LIANG F F (梁飞飞), WANG Z Y (王振亚), WANG Z H (王忠辉), *et al.* Study on the relationship between the resilience of water-based polyurethane and the wear resistance of coatings[J]. *Leather Science and Engineering (皮革科学与工程)*, 2018, 28 (6): 5-11.
- [17] FEI G Q (费贵强), WANG J (王俊), WANG H H (王海花), *et al.* Preparation and properties of waterborne polyurethane acrylate/graphene oxide anticorrosion coatings[J]. *Polymer Materials Science and Engineering (高分子材料科学与工程)*, 2016, 32(4): 173-178.
- [18] HUA Y, LI X, MA L, *et al.* Self-healing mineralization and enhanced anti-corrosive performance of polyurethane CaCO₃ composite film via β -CD induction[J]. *Materials & Design*, 2019, 177: 107856.
- [19] ZHANG X R, MA R N, DU A, *et al.* Corrosion resistance of organic coating based on polyhedral oligomeric silsesquioxane-functionalized graphene oxide[J]. *Applied Surface Science*, 2019, 484(AUG.1): 814-824.
- [20] WANG X Y, CUI Y N, WANG Y N, *et al.* Preparation and characteristics of crosslinked fluorinated acrylate modified waterborne polyurethane for metal protection coating[J]. *Progress in Organic Coatings*, 2021, 158: 106371.