

文章编号: 1671-0444(2018)01-0038-07

柠檬酸原位交联胶原超细纤维膜的制备及其性能

赵林双^{a, b}, 赵新哲^{a, b}, 高晶^{a, b}, 王璐^{a, b}

(东华大学 a. 纺织学院; b. 纺织面料技术教育部重点实验室, 上海 201620)

摘要:胶原超细纤维膜在外用敷料、人工皮肤等医用领域具有潜在的应用前景,为解决其结构不稳定、遇水易溶解等问题,采用柠檬酸对胶原进行原位交联,再进行静电纺丝制得超细纤维膜,并对纤维膜形貌、水溶解性、化学结构、交联性和细胞毒性等进行测试与评价。结果表明,质量分数为10%的柠檬酸原位交联的牛肌腱胶原超细纤维膜,其交联度可达30%,水溶解性能明显降低,化学结构无明显变化,无生物毒性,可用于生物医用领域。

关键词:胶原;静电纺;柠檬酸原位交联;性能表征

中图分类号: TS 176⁺.9 文献标志码: A

Preparation and Properties of Microfiber Membrane of Collagen In-situ Crosslinked by Citric Acid

ZHAO Linshuang^{a, b}, ZHAO Xinzhe^{a, b}, GAO Jing^{a, b}, WANG Lu^{a, b}

(a. College of Textiles; b. Key Laboratory of Textile Science & Technology, Ministry of Education, Donghua University, Shanghai 201620, China)

Abstract: The microfiber membrane of collagen has potential applications in medical fields, such as wound dressing, artificial skin. In order to solve problems of the collagen structures lacking of stability and easy dissolving in water, the citric acid was used to make in-situ crosslink with collagen, and then the superfine fiber membrane was obtained through electrospinning. The morphology, water solubility, chemical structure, degree of cross-linking and cytotoxicity of fiber membranes were tested and analysed. The results show that the degree of crosslinking of bovine tendon collagen membrane in-situ crosslinked with 10% citric acid is up to 30%. The water solubility of collagen membrane is obviously reduced, while the chemical structure of the collagen membrane before and after crosslinking has no evident change. All the crosslinked samples are non-biotoxicity, indicating that the crosslinked collagen membranes can be used in biomedical field.

Key words: collagen; electrospinning; citric acid in-situ crosslinking; characterization

牛肌腱胶原是动物结缔组织中的主要成分,含有4种蛋白分子,分别为 γ 、 β 、 α_1 和 α_2 蛋白分子。4种蛋白分子量依次为461、268、171、117 kDa。

此种胶原具有良好的生物相容性、可生物降解性以及生物活性^[1]。其可以通过静电纺丝的方法来制备具有微纳米结构的纤维膜,这种微细结构使纤维

收稿日期: 2016-10-31

基金项目: 上海市科技成果转化资助项目(14441901600); 江苏省科技支撑资助项目(BE2014036)

作者简介: 赵林双(1990—),女,山东聊城人,硕士研究生,研究方向为胶原静电纺丝, E-mail: zlsz341215@163.com

高晶(联系人),女,副教授, E-mail: gao2001jing@dhu.edu.cn

膜具有吸水导湿、贴合覆盖、抗粘连等特性,再加之胶原具有可止血、无免疫原、可生物降解等优点,在外用敷料、人工皮肤等生物医用领域具有潜在的应用和巨大的发展空间。但胶原直接静电纺所获得的纤维膜的力学性能和水稳定性较差^[2-3],其形态难以在后道应用中维持,阻碍了胶原超细纤维膜的进一步应用,因此,必须对胶原进行物理或化学改性才能使用。交联就是一种改性方式。

牛肌腱胶原的交联分为物理交联和化学交联^[4]。物理交联主要是利用热、光等物理反应使胶原分子之间氢键增强^[3],从而改善胶原的物理性能。物理交联一般不会产生不利于生物体的物质。化学交联主要是利用化学交联剂使胶原分子内的功能基团发生反应,或者使胶原分子与交联剂的功能基团发生反应,根据化学交联剂的不同而产生不同的物质^[5]。一般情况下,化学交联剂的氧化性能极强,交联效果显著,并且交联较为持久,但化学交联具有一定程度的生物毒性。文献^[6]采用一种新型胶原交联剂,即 β -环糊精二醛交联胶原,用以提高胶原的变性温度、体外酶降解性能和压缩模量。文献^[7]采用1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐/*N*-羟基琥珀酰亚胺(EDC/NHS)对胶原进行交联,以改善胶原的热稳定性、形态稳定性和抗酶降解性。文献^[8]采用京尼平交联来增强胶原支架的交联度、抗伤口收缩能力以及降低生物毒性。这些新型交联剂的应用都可以确保胶原获得一定的交联效果,但仍然存在细胞毒性的隐患。文献^[9]利用柠檬酸(CA)对胶原基人造眼角膜进行交联,以改善胶原膜的水稳定性、强力以及体外酶降解性,在保证无生物毒性的情况下改善了人造眼角膜的理化性能。

本文旨在采用一种简便处理并对生物体无毒性的交联方式,用以改善牛肌腱胶原静电纺纤维膜的物理性能,促进其在生物医用领域的应用。柠檬酸作为一种三羧基小分子酸被广泛应用于食品、生物与医学领域,其能够与胶原中的羟基反应生成酯键,反应产生的物质对生物体无毒,并且能有效增强胶原静电纺超细纤维膜的力学性能和耐水溶解性能等^[10-11]。本文采用牛肌腱胶原与一定比例的柠檬酸充分混合进行原位交联后,在一定电压、温湿度、推注速度下进行静电纺丝,得到胶原超细纤维膜。

1 试验

1.1 试剂与仪器

牛肌腱胶原,分子量为416~117 kDa,上海其胜生物制药有限公司;六氟异丙醇(HFIP),纯度>90%,梯希爱上海化成工业发展有限公司;聚环氧乙烷(PEO),分子量为90万kDa,百灵威科技有限公司;冰乙酸,分析纯,上海凌峰化学试剂有限公司;柠檬酸、丙三醇、生物用磷酸盐缓冲液(PBS, pH=7.4),均为分析纯,上海化学试剂有限公司;2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS),分析纯, Sigma 试剂有限公司。

北京瑞利公司的WQF-510型傅里叶变换红外光谱仪,日立公司的TM3000型扫描电子显微镜,上海奥析科学仪器有限公司的UV1800型紫外分光光度计,桐乡灵伸电器厂的BS210S型电子天平,上海新纤仪器有限公司的XQ-2型单纤维强伸度仪。

1.2 样品制备

1.2.1 静电纺丝溶液的配制

牛肌腱胶原静电纺丝溶液的质量浓度为0.1 g/mL,胶原与助纺剂聚环氧乙烷(质量比为9:1)溶于强挥发溶剂六氟异丙醇(HFIP)与乙酸(AA)(体积比为1:1)混合溶液中,混合均匀并离心后加入柠檬酸作为交联剂、次亚磷酸钠(SHP)作为催化剂,以及一定比例的丙三醇作为延展剂,将溶液搅拌均匀后进行静电纺丝。其中,柠檬酸的质量分别设定为胶原质量的5%和10%,柠檬酸、次亚磷酸钠、丙三醇三者质量比为10:5:3。

1.2.2 牛肌腱胶原静电纺纤维膜的制备与交联

本文分别配制1[#]、2[#]、3[#]纺丝用胶原溶液。其中,1[#]代表未加交联剂的胶原溶液;2[#]代表加入交联剂的胶原溶液,且胶原、柠檬酸、次亚磷酸钠和丙三醇的质量比为200:10:5:3;3[#]代表加入交联剂的胶原溶液,且胶原、柠檬酸、次亚磷酸钠和丙三醇的质量比为100:10:5:3。胶原与PEO的总质量浓度为0.1 g/mL,电压为16 kV,推注速度为0.5 mL/h,接收距离为20 cm,温度为40℃,相对湿度为30%。3种溶液纺制时间均为6 h,得到胶原静电纺超细纤维膜。将纺制的胶原超细纤维膜置于58℃下反应2 h,以充分排除纤维膜中残留的六氟异丙醇。

交联反应是胶原大分子链末端的活性—H、柠檬酸、丙三醇三者一定条件下反应,生成酯类大分子缩聚反应,其反应式如图1所示^[11]。反应式中 $P_i-XH(i=1, 2, \dots)$ 代表胶原大分子链,这些大分

子链可能相同,也可能不同。—XH 是含有一H 的—OH 或者—NH₂。other segments 代表类似于

缩聚反应的其他链段,当链段与链段链接在一起时会形成一种网状结构。

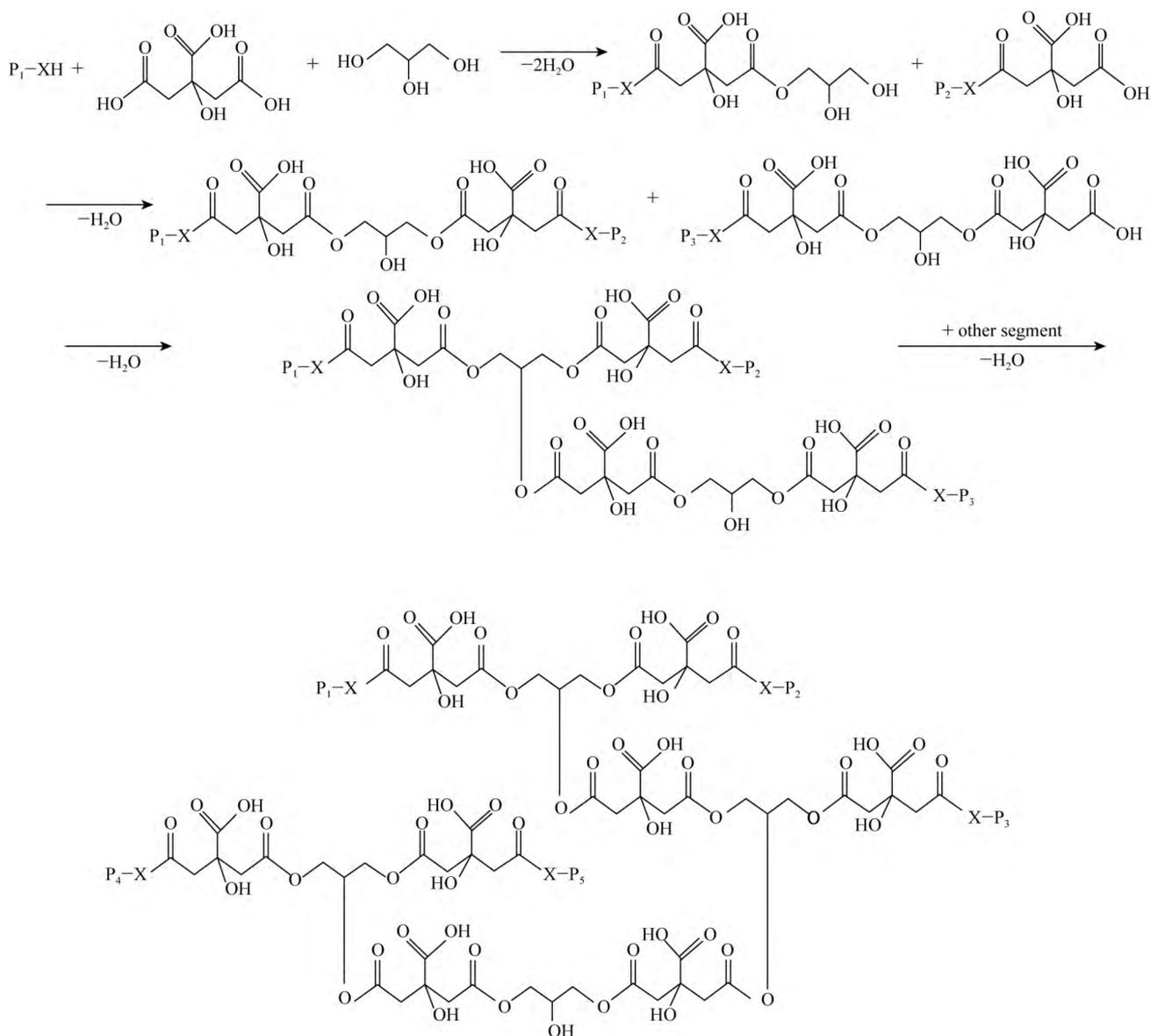


图 1 柠檬酸交联胶原的化学反应式

Fig. 1 Cross-linking reaction of citric acid to collagen

1.3 测试与表征

1.3.1 SEM 测试

将制备得到的胶原超细纤维膜裁剪成 5 mm × 5 mm 样本,喷金后置于扫描电子显微镜下进行拍摄。选取 100 根不同纤维测得其直径,利用 Origin 软件对不同样本进行纤维直径分析,得到其二维表面影像及其直径分布差异,从而可以对比不同交联剂含量对纤维成型性的影响。

1.3.2 吸水性与水溶解性能

将未交联的胶原静电纺纤维膜、柠檬酸原位交

联的胶原静电纺纤维膜分别称量 10 次,取平均质量记为 m ;纤维膜样品浸入 PBS 溶液中分别经 0.25、0.5、1、2、4、8、12、24、48、72 和 96 h 后称量,将最大质量记为 m_{\max} ,将浸泡 96 h 后的纤维膜经冷冻干燥后称量,记为 m_z 。胶原静电纺纤维膜的吸水率 (Q)和溶解率 (S)的计算式分别为

$$Q = \frac{m_{\max} - m}{m} \times 100\% \quad (1)$$

$$S = \frac{m - m_z}{m} \times 100\% \quad (2)$$

1.3.3 交联度测试

取一定质量的胶原静电纺纤维膜(交联纤维膜质量记为 m_i ,未交联纤维膜质量记为 m_0)将其放置在 1.0 mL 质量浓度为 0.04 g/mL 的 NaHCO_3 水溶液中浸泡 30 min,再加入 1.0 mL 质量浓度为 0.005 g/mL 的 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)溶液后加热至 40 °C,放置 2 h 后,加入 3 mL 浓度为 6 mol/L 的 HCl 溶液,60 °C 保温反应,90 min 后向溶液中加入 5 mL 的去离子水,定容至 10 mL。使用紫外分光光度计(光波长为 420 nm)测试其吸光度,交联度(W_i)计算式为

$$W_i = \left[1 - \frac{P_i/m_i}{P_0/m_0} \right] \times 100\% \quad (3)$$

式中: P_i 为交联样品的吸光度值, $i=1,2,\dots$; P_0 为未交联样品的吸光度值。

1.3.4 红外光谱测试

取胶原静电纺纤维膜置于傅里叶变换红外光谱仪下方,施加压力为 40 N,扫描样品膜,得到不同波长下的衍射峰波谱图。

1.3.5 细胞毒性测试

由于 3[#] 胶原静电纺纤维膜所加入交联剂比例较高,其交联程度较大,因此取其进行细胞毒性试验。

纤维膜浸提液和对照样配置。按照 GB/T 16886.5—2003 将 3[#] 胶原静电纺纤维膜用无血清 1 640 培养基 37 °C 下浸提 24 h,将浸提液用无菌滤膜过滤,分别配制成浸提液含量为 100%、75%、50% 和 25% 的血清培养基浸提液,备用。设置阳性对照为 5% 的二甲基亚砜(DMSO)溶液,阴性对照为 0.2 g/mL 聚乙烯(PE)浸提液,空白对照为含 10% 胎牛血清的 1640 培养基。

细胞悬浮液配置。将 L929 细胞用胰酶消化后,用生理盐水完全吹打下来,在转速为 1 000 r/min 下离心 10 min,去除生理盐水得到细胞沉淀。再用含 10% 胎牛血清的 1640 培养基将细胞吹散重悬至 3 mL,稀释细胞浓度至 2×10^3 个/mL。

测试样。用排枪在 96 孔板上每孔加入 90 μL 细胞悬浮液,于 37 °C、5% CO_2 培养箱中培养 24 h,再用移液枪去除培养基,每孔再加入 90 μL 待测液(不同孔加入的待测液分别为 100% 浸提液、75% 浸提液、50% 浸提液、25% 浸提液、阴性对照、阳性对照、空白对照)和 10 μL 的胎牛血清,于 37 °C、5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后,每孔加入 10 μL 细胞毒性检测剂(CCK-8),震荡均匀后,每隔 1 h 用酶标仪在 450 nm 处测吸光度,测量 4 次,取平均值,得到 S_i

值(6 种非空白对照样)和 S_B 值(空白对照样)。

测试样本底试样。用排枪在 96 孔板每孔未加细胞悬浮液而加入 90 μL 含 10% 胎牛血清的 1640 培养基,再分别加入 90 μL 100% 浸提液、75% 浸提液、50% 浸提液、25% 浸提液、阴性对照、阳性对照、空白对照,之后在每孔中加入 10 μL 的胎牛血清,于 37 °C、5% CO_2 培养箱中培养 24 h 后,每孔加入 10 μL 细胞毒性检测剂(CCK-8),震荡均匀后,每隔 1 h 用酶标仪在 450 nm 处测吸光度,测量 4 次,取平均值,得到 S_{i0} 值(6 种非空白对照样)和 S_D 值(空白对照样)。细胞相对增殖率(R)的计算式为

$$R = \frac{S_i - S_{i0}}{S_B - S_D} \times 100\% \quad (4)$$

式中: S_i 为测试样吸光度值; S_{i0} 为测试样本底试样吸光度值; S_B 为空白对照样吸光度值; S_D 为空白对照样本底试样吸光度值。

根据 GB/T 16886.5—2003 细胞毒性评级标准(表 1)来判定细胞毒性级别,试验过程中设置的阳性对照不得高于 3 级,阴性对照不得低于 1 级。

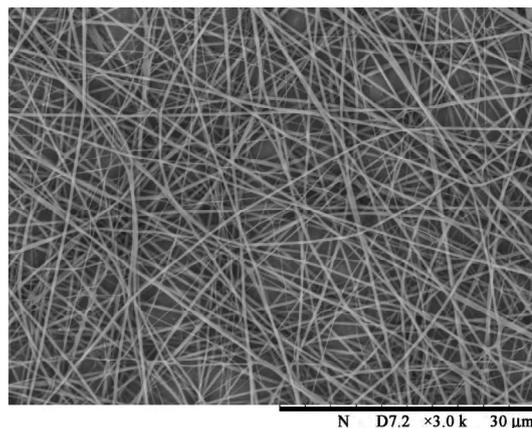
表 1 细胞毒性评级标准

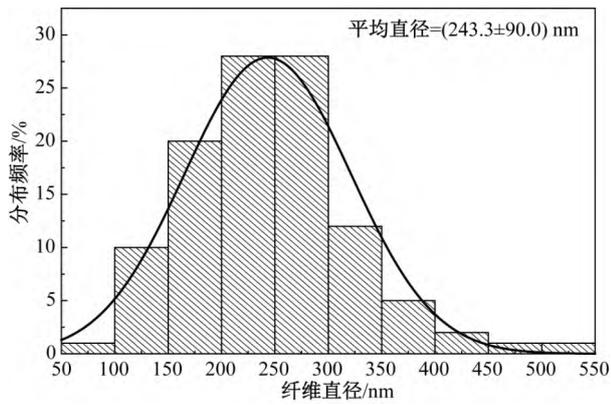
$R/\%$	≥ 100	75~99	50~74	25~49	1~24
级别	0	1	2	3	4
判定	合格	合格	待判定	不合格	不合格

2 结果分析与讨论

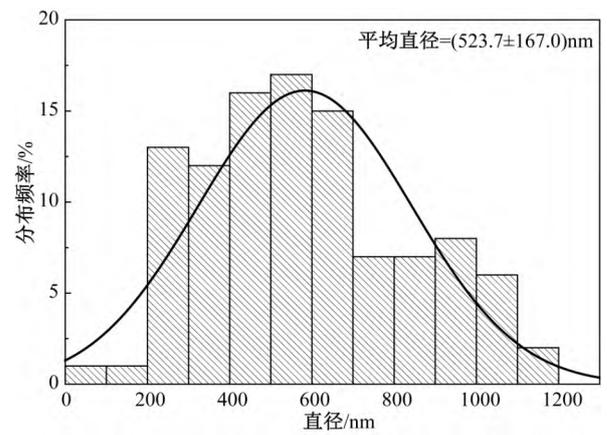
2.1 纤维微观形貌分析

将纺丝制得的 3 种胶原超细纤维膜进行扫描电子显微镜观察,并进行纤维直径分析,结果如图 2 所示。从图 2 可以看出,加入柠檬酸交联剂后,纤维直径明显增大,并且随着柠檬酸含量的增加,胶原静电纺纤维直径有增大趋势。





(a) 1#



(c) 3#

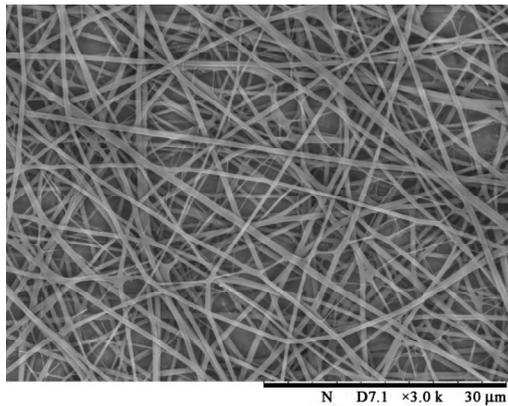
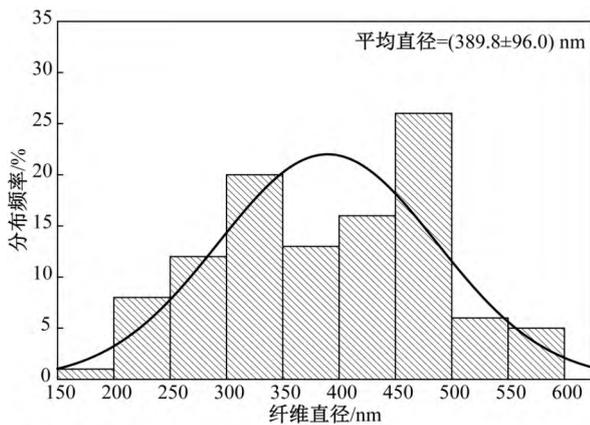
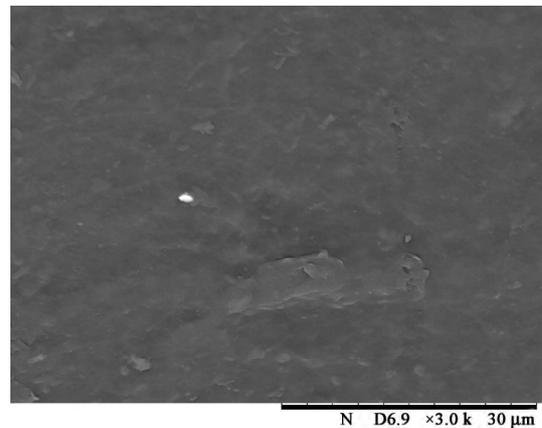


图 2 胶原静电纺超细纤维膜的 SEM 图和纤维直径分布图
Fig. 2 SEM and fiber diameter distribution of electrospinning microfiber membrane of collagen

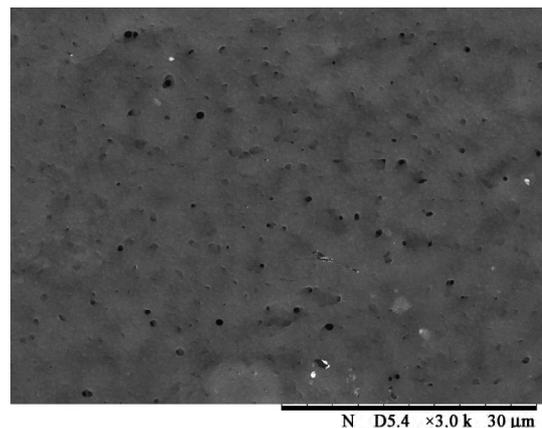
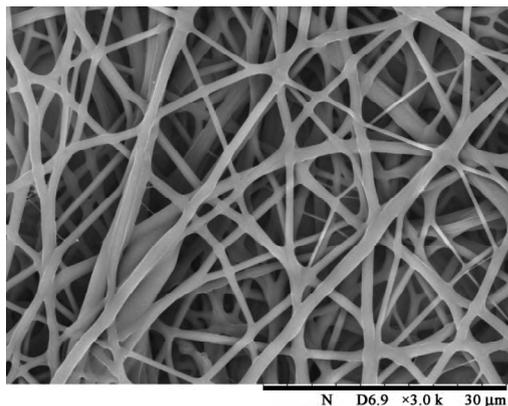
将 3 种胶原超细纤维膜样品分别置于 PBS 溶液中浸泡 48 h,再经冷冻干燥后进行 SEM 测试,得到胶原超细纤维膜的微观结构图像如图 3 所示。由图 3 可知:1# 纤维膜完全溶胀,纤维形态消失;2# 纤维膜的纤维形态不明显且存在孔洞;3# 纤维膜的



(b) 2#



(a) 1#



(b) 2#

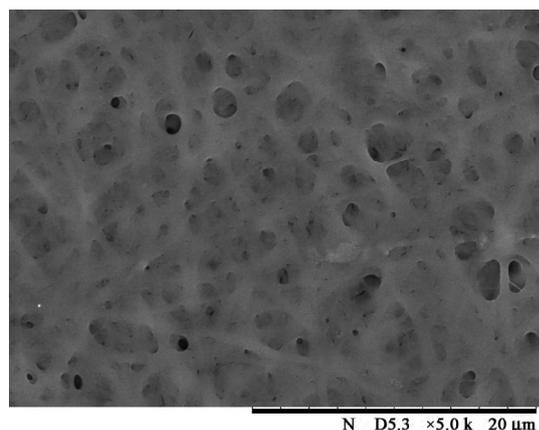
(c) 3[#]

图 3 胶原超细纤维膜在 PBS 中浸泡 48 h 冷冻干燥后的 SEM 图

Fig. 3 SEM images of freeze-drying collagen microfibrillar membranes after immersed in PBS for 48 h

纤维形态保持较好,纤维之间存在孔洞。这主要是由于未交联的胶原遇水后,胶原大分子中的氨基与水分子结合破坏纤维结构,而胶原经柠檬酸交联后,柠檬酸作为中间链接点形成胶原-柠檬酸-胶原的三维网状结构使分子作用力增强,能够抵抗部分水分子的氢键破坏,因此,可以基本保持纤维的原有形态,但表面仍有部分粘连现象。

2.2 水溶解性能测试分析

在室温条件下,将胶原超细纤维膜浸于 PBS 溶液中,经一定时间后取出,用滤纸吸去纤维膜表面残余的 PBS,再置于天平中称取质量,可得到其质量分数(相对于纤维膜浸泡前的质量)随时间变化的曲线图如图 4 所示。从图 4 可以看出,随着纤维膜浸于

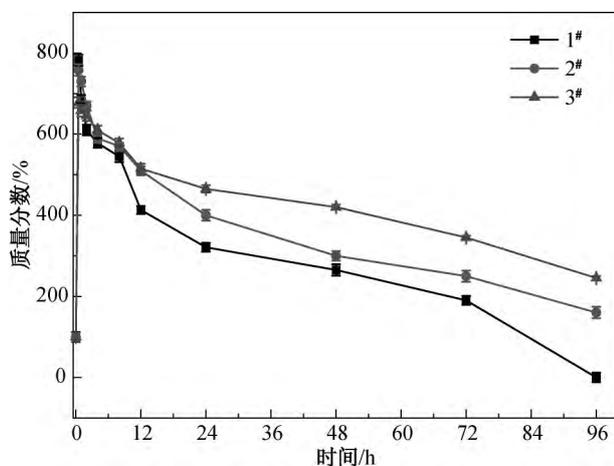


图 4 胶原超细纤维膜在 PBS 中浸入时间与质量分数的关系

Fig. 4 Relationship between immersion time and mass fraction of collagen microfibrillar membranes in PBS

PBS 中时间的延长,其质量分数表现为先增加后降低,这主要是由于纤维膜先吸水再溶解而致。3 种胶原超细纤维膜的吸水率和溶解率如表 2 所示。由表 2 可以看出:2[#] 纤维膜吸水率与 1[#] 纤维膜相当,3[#] 纤维膜的吸水率明显低于 1[#] 和 2[#] 纤维膜;溶解率随着交联剂加入量的增加而明显降低,胶原经充分交联后其膜在 PBS 中的溶解性能明显下降^[12]。

表 2 纤维膜的吸水率与溶解率

Table 2 Water absorption and dissolution of collagen fiber membranes

样品编号	Q/%	S/%
1 [#]	758.0±11.0	100.0±8.8
2 [#]	782.0±13.5	76.3±9.7
3 [#]	678.0±10.9	48.3±5.1

2.3 交联度测试分析

经测试可知,1[#]、2[#]、3[#] 胶原超细纤维膜的交联度分别为 0、13.5% 和 30.1%。由此可见,随着交联剂含量的增大,其与胶原的交联程度明显增加。胶原交联度根据交联剂类型、交联方法以及胶原类型不同而存在较大差异。胶原经戊二醛交联和 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐/N-羟基琥珀酰亚胺(EDC/NHS)化学交联后的交联度分别约为 55% 和 35%,而其经热交联和紫外交联后的交联度分别约为 20% 和 10%。其中,戊二醛交联由于交联效果明显而使用最多,但至今对于戊二醛交联的毒性问题仍存在质疑。柠檬酸原位交联与 EDC/NHS 交联在交联度上可达到同样的效果,但 EDC/NHS 在交联过程中需要用水去除残余交联剂,一定程度上影响了纤维的形貌,而柠檬酸原位交联工艺相对简单,后道工序不需要水处理。而与物理交联相比,柠檬酸交联在交联程度上具有优势。

2.4 红外光谱分析

3 种胶原超细纤维膜的傅里叶变换红外光谱如图 5 所示。由图 5 可知,3 298 cm^{-1} 处为 N—H 键特征峰,随着柠檬酸含量的增加,该特征峰减弱。这可能是由于柠檬酸和蛋白质分子中的氨基发生反应,减少了蛋白质分子中氨基基团的含量。1 652 cm^{-1} 处为酰胺 I 的特征峰,由蛋白质多肽骨架的 C=O 键伸缩振动引起,为蛋白质二级结构特征峰。1 558 cm^{-1} 处的吸收峰由酰胺 II 的 N—H 键弯曲振动产生,交联后该特征峰也有所减弱,说明酰胺 II 的 N—H 键也与柠檬酸发生了部分反应。1 239 cm^{-1} 处为 C—N 键的收缩振动峰,交联后该振动峰减弱,说明柠檬酸的加入在一定程度上影响了胶原的氢键结构。

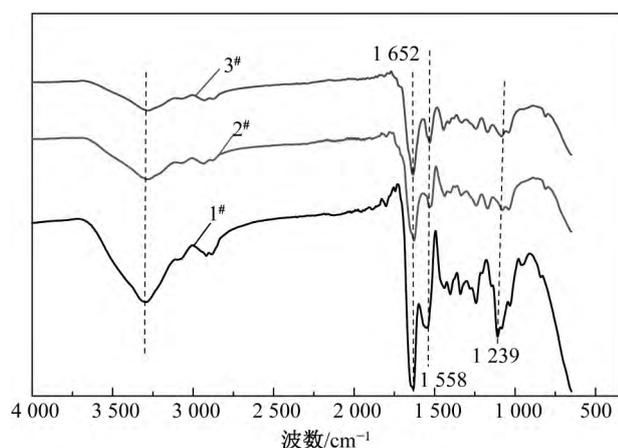


图 5 胶原超细纤维膜的傅里叶变换红外光谱分析图

Fig. 5 FTIR spectra of collagen microfibrillar membranes

表 3 3# 胶原超细纤维膜的 L929 细胞毒性分析

Table 3 Toxicity analysis of sample 3# to L929 cells

试样	对照样		纤维膜浸提液			
	阳性对照	阴性对照	100%	75%	50%	25%
R/%	21.45±2.31	95.12±11.44	60.32±12.26	75.34±8.23	78.67±10.08	80.89±12.25

3 结 语

本文采用柠檬酸原位交联胶原,经静电纺丝成功制备牛肌腱胶原超细纤维膜,并对柠檬酸原位交联胶原超细纤维膜进行性能测试。结果表明:随着柠檬酸含量的增加,超细纤维直径逐渐增大;质量分数为 10% 柠檬酸原位交联胶原超细纤维直径为 $(523.7 \pm 167.0) \text{ nm}$,在 PBS 中浸入 48 h 后,纤维形貌可以基本保持;柠檬酸交联胶原超细纤维膜的吸水性和溶解性较未交联样品有显著降低;对高浓度(10%)交联剂细胞毒性测试后可知,柠檬酸原位交联胶原超细纤维膜没有明显生物细胞毒性,交联度可以达到 30.1%。相比物理交联,柠檬酸原位交联在交联程度有较大优势,与 EDC/NHS 化学交联的交联度相当,且工艺更为简单,无毒,成本低廉。因此,采用柠檬酸对胶原进行原位交联再通过静电纺丝制备超细纤维膜在生物医用领域具有可行性。

参 考 文 献

- [1] SUNDARARAGHAVAN H G, MONTEIRO G A, FIRESTEIN B L, et al. Neurite growth in 3D collagen gels with gradients of mechanical properties[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2009, 102(2):632-43.
- [2] MATTHEWS J A, BOLAND E D, WENK G E, et al. Electrospinning of collagen type II: A feasibility Study[J].

2.5 细胞毒性分析

3# 胶原超细纤维膜细胞毒性测试结果如表 3 所示。由表 3 可知,阴性对照样能够提供良好的细胞增殖环境,而阳性对照样具有明显的细胞毒性,抑制细胞生长。3# 胶原超细纤维膜在 100% 浸提液时细胞增殖率为 $(60.32 \pm 12.26)\%$,根据 GB/T 16886.5—2003 判断其不属于不合格状态;当浸提液浓度低于 75% 时,细胞增殖率符合 GB/T 16886.5—2003 规定的合格状态。因此,可以判断,经质量分数为 10% 柠檬酸原位交联的胶原超细纤维膜在处理伤口和接触体液过程中无毒。

Acoustics Speech & Signal Processing Newsletter IEEE, 2003, 18(2):125-134.

- [3] RHO K S, JEONG L, LEE G, et al. Electrospinning of collagen nanofibers: Effects on the behavior of normal human keratinocytes and early-stage wound healing[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(8):1452-1461.
- [4] SISSIN K, CHU Z, FARACHCARSON M C, et al. Evaluation of cross-linking methods for electrospun gelatin on cell growth and viability[J]. *Biomacromolecules*, 2009, 10(7):1675-80.
- [5] CHEN L, ZHU C, FAN D, et al. A human-like collagen/chitosan electrospun nanofibrous scaffold from aqueous solution: Electrospun mechanism and biocompatibility [J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2011, 99(3):395-409.
- [6] 蔡洁. 新型交联剂的合成及交联改性胶原的研究[D]. 广州:华南理工大学材料科学与工程学院, 2014.
- [7] 王迎军, 杨春蓉, 汪凌云. EDC/NHS 交联对胶原物理化学性能的影响[J]. *华南理工大学学报(自然科学版)*, 2007, 35(12):66-70.
- [8] 封占增. 京尼平、戊二醛或 EDC/NHS 的交联对构建胶原/壳聚糖真皮支架的作用[D]. 杭州:浙江大学医学院, 2014.
- [9] ZHAO X, LIU Y, LI W, et al. Collagen based film with well epithelial and stromal regeneration as corneal repair materials: Improving mechanical property by crosslinking with citric acid [J]. *Materials Science & Engineering C*, 2015, 55:201-208.
- [10] JIANG Q, YANG Y. Water-stable electrospun zein fibers for potential drug delivery [J]. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 2011, 22(10):1393-1408.

(下转第 73 页)

- 织学报, 1986, 7(12): 709-712.
- [6] 郝全兰. 抽气式转杯纺纱机排杂的研究[J]. 天津纺织工学院学报, 1994, 13(4): 94-98.
- [7] 肖丰, 尚亚力. 新型纺纱与花式纱线[M]. 北京: 中国纺织出版社, 2008: 17.
- [8] LIN H T, ZENG Y C, WANG J. Computational simulation of air flow in the rotor spinning unit [J]. Textile Research Journal, 2015, 86(2): 115-126.
- [9] KONG L X, PLATFOOT R A. Two-dimensional simulation of air flow in the transfer channel of open-end rotor spinning machines [J]. Textile Research Journal, 1996, 66(10): 641-650.
- [10] 张奇, 汪军, 曾泳春. 转杯纺杯内气流流动的二维数值模拟[J]. 纺织学报, 2013, 34(2): 51-54.
- [11] HAIDER A, LEVENSPIEL O. Drag coefficient and terminal velocity of spherical and nonspherical particles [J]. Powder Technology, 1989, 58(1): 63-70.

(责任编辑:徐惠华)

(上接第 44 页)

- [11] JIANG Q, REDDY N, ZHANG S, et al. Water-stable electrospun collagen fibers from a non-toxic solvent and crosslinking system [J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2013, 101A(5):1237-1247.
- [12] 汪海波, 梁艳萍, 李云雁, 等. 交联方法对草鱼皮胶原蛋白海绵性能的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(1):132-140.

(责任编辑:徐惠华)