

明胶中 α 组分含量对明胶/羟基磷灰石 复合材料力学性能的影响*

滕淑华 史京京 王 颖 彭必先 陈丽娟**

(中国科学院理化技术研究所 北京 100101)

摘 要 选用 α 组分含量分别为 20.5%, 41% 和 50% 的 A、B、C 3 种明胶作为原料, 采用同时加入法制备了明胶/羟基磷灰石(HAP)复合材料. 通过对于态复合物膜拉伸性能的测试和对比, 发现, 明胶 α 组分含量的变化对复合材料的弹性模量影响较大, 而对拉伸强度和断裂伸长率的影响则相对较小, 但总的来说, 三者均随 α 组分含量的增加而增大. 其中, α 组分含量最高的复合物 C 的拉伸强度为 86.40 MPa, 弹性模量为 2682.35 MPa, 断裂伸长率为 8.65%. 另外, 对复合物 C 基本性质的表征结果表明, 该材料具有类似于自然骨的组成和结构性质, 因此有望成为一种具有优异力学性能的骨替代材料.

关键词 明胶, α 组分含量, 明胶/HAP 复合材料, 力学性能

胶原(明胶)/羟基磷灰石(HAP)复合材料是近几十年里迅速发展起来的一种较理想的骨缺损修复材料^[1,2]. 该材料不仅在组成和结构方面与人骨组织的一致, 而且具有良好的生物相容性、骨传导性等生物学特性^[3]. 然而, 与自然骨相比, 制备的胶原(明胶)/HAP 复合材料力学性能比较差^[4], 这一缺点已较大地限制了其在临床上的应用, 使得该材料目前只能用于低负荷骨组织的修复. 因此, 研究和改善材料的力学性能, 以制备具有优异力学相容性的胶原(明胶)/HAP 复合材料已成为当今国际生物材料研究中的前沿性课题.

拉伸强度是材料的一个基本的力学性能参数. Clarke 等^[5]通过在胶原/HAP 复合物的制备过程中加入磷酸丝氨酸(*o*-phosphoserine, Ser P)来提高材料的拉伸强度. Bigi 等^[6]通过测定不同矿物相含量的明胶/HAP 复合物的力学性能发现, 随着 HAP 含量的增加, 复合物膜的拉伸强度和弹性模量值也相应地增大, 断裂伸长率则减小. 然而, 关于复合物中有机相(胶原或明胶)的结构性质对复合物拉伸性能的影响, 鲜见文献报道. 这主要是因为, 在制备复合物时, 人们通常是将 I 型胶原在酸性条件下溶解^[7], 或者随意购买一种商品明胶^[6]后, 即与羟基磷灰石反应生成复合物, 以致于忽略了胶原溶解前后结构的不同, 或明胶分子本身结构的不同对复合物性质造成的影响, 而这一点对

于研制具有良好力学相容性的骨替代材料是十分重要的.

明胶是胶原降解的产物. 对明胶来说, 胶冻强度(Bloom 值)是衡量其物理力学性能最重要的指标. 研究表明^[8], 在酸溶胶原的组分(α_1 、 α_2 、 β 、 γ 等)中, α 组分含量对胶冻强度的贡献最大, 随着 α 组分含量的增加, 胶冻强度也随之增大^[9]. 本文利用明胶这一特性, 选用 3 种不同 α 组分含量的明胶作为原料来制备明胶/HAP 的复合材料, 通过对这些复合材料力学性能的测试和对比, 初步探讨了明胶中的 α 组分含量与明胶/HAP 复合物的力学性能之间的关系, 从而量化地揭示了明胶/HAP 复合物中有机相的结构对材料性质的影响规律.

1 实验部分

1.1 原材料

明胶 A, 工业级, 碱法骨胶, 本实验室提供; 明胶 B 和明胶 C, 照相级, 惰性去离子胶, Deutsche Gelatine-Fabriken Stoess & Co. GMBM, 德国; 无水 CaCl_2 、 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和 NaOH 均为分析纯, 北京化学试剂公司.

1.2 明胶组分的定量测定^[10]

通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳法(SDS-PAGE)对明胶分子的各个组分进行有效

的分离,然后利用凝胶成像系统紫外分析仪得到明胶的分子量分布扫描图,由图谱计算出 α 组分的相对含量。

1.3 明胶/羟基磷灰石复合材料的制备

按照明胶与羟基磷灰石为 6:1 (W/W) 的比例,配制等体积的 CaCl_2 溶液和明胶/ Na_2HPO_4 的混合溶液.在连续搅拌下,将两份溶液通过蠕动泵同时加入到反应容器中,流速为 6 mL/min.用 0.25 mol/L 的 NaOH 调节反应溶液的 pH 为 8.00 ± 0.05 ,温度控制在 $(38.0 \pm 1)^\circ\text{C}$.将反应结束后的沉淀连同溶液进行冷冻干燥,所得样品用于力学性能的测试.在制备复合物 C 时,取反应结束后的一部分浆液进行水洗、离心、干燥和基本性质的表征。

1.4 拉伸试样的制备

将冷冻干燥后得到的样品配成 10% (W/W) 的浆液,浇注于不锈钢模具中成膜.对成膜后的复合物进行水洗除盐和定向干燥.干燥装置如图 1 所示,先将片基(中间层)的中间部分裁去后,固定在聚四氟乙烯板上(下层).然后,把湿的复合物膜(上层)的边缘部分放在片基上,中间部分实际上是贴在下层的聚四氟乙烯板上的.这种方法既可避免复合物膜在干燥过程中发生卷曲、变形的现象,又能很容易地将干燥后的膜完整地取出.从复合物膜上裁取一定形状和尺寸的试样,经过 24 h 的恒温恒湿处理后进行力学性能的测试。

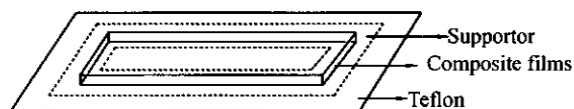


Fig. 1 The preparation of dry composite films

1.5 复合物力学性能的测试

按国家标准 GB/T1040-1992,用 DXLL-10000 电子拉力实验机对明胶/HAP 复合物的拉伸强度 (T)、弹性模量 (Y) 及断裂伸长率 (E) 等力学性能进行测试.拉伸试样的尺寸为 10 mm $\times$ 60 mm,厚度约为 0.24 ~ 0.4 mm,拉伸时实验机夹头的速度为 5 mm/min。

1.6 复合物性质的表征

用红外光谱技术 (IR, Perkin Elmer 983G, KBr 压片) 进行复合材料结构和基团分析;利用 X-射线衍射 (XRD, D/max-2400) 进行物相分析;利用透射电镜 (TEM, JEM-200cx) 进行复合材料晶体形貌

的分析。

2 结果与讨论

2.1 明胶原料的选择

图 2 中出现了不同光密度的 3 种明胶的 α_1 和 α_2 电泳谱带,以光密度对各组分的迁移率作图,可以得到明胶的分子量分布图(图 3)及明胶中各组分的相对含量.从理论上讲, α_1 和 α_2 的含量之和 (α 组分含量) 占明胶总含量的 60% ~ 70% 时,才称得上是高质量的明胶.然而,由于 α 组分含量与骨胶原的来源、制备方法及工艺条件紧密相关,因此通过胶原降解所制得的明胶,其 α 组分的相对含量可以在 10% ~ 70% 区域内变化^[9,11].本文通过对明胶的分子量分布和 Bloom 值的检测,得到 α 组分含量为 20.5%、41% 和 50% 的 A、B、C 3 种明胶,它们的 Bloom 值依次为 120、250 和 270 g.选用这 3 种 α 组分含量相差较大的明胶作为制备明胶/HAP 复合材料的原料,并探查 A、B、C 明胶的 α 组分含量与复合物力学性质之间的相关性,对于研究和改善复合物的力学性能是有意义的。

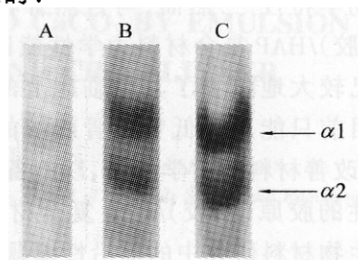


Fig. 2 α component of three gelatins

2.2 不同 α 组分含量的明胶对明胶/HAP 复合物力学性质的影响

图 4 是相同实验条件下得到的 3 种明胶/HAP 复合物拉伸时的应力-应变曲线.图中分为 3 个区域,初始线性区、屈服区和塑性区,这与自然骨所表现的塑性拉伸曲线较类似^[12].3 条曲线的起始阶段近似一段直线,表明应力与应变成正比,由曲线初始段的斜率可求得复合材料的弹性模量值.在线性区,复合材料处于弹性变形状态,当载荷消除后,材料恢复到原来的形状,不会因拉伸而受到损伤.如继续增加拉伸力,复合材料的应力-应变曲线不再是直线,材料内部开始出现微细结构的破坏,这一区域称为屈服区.继续加载至塑性区时,材料将发生永久性的结构变化,不再恢复其原来的形状.当应力达到材料的断裂点时,材料最

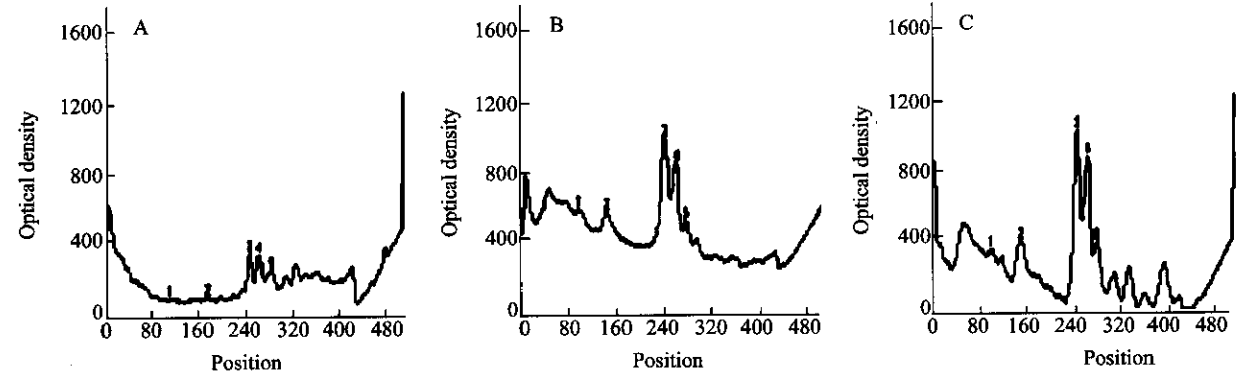


Fig.3 The SDS-PAGE scanning chromatograms of molecular weight distribution of three gelatins

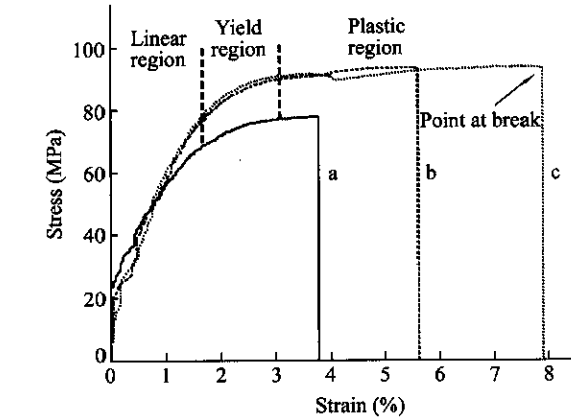


Fig.4 The stress-strain curves of three composites
a) Composite A; b) Composite B; c) Composite C

终会被拉断。

表 1 列出的数据是 5 次重复实验所得到的复合物力学性能的平均值(括号内标明 5 次测量值的标准偏差)。由这些数据可见,明胶/HAP 复合材料的拉伸性能与明胶的 α 组分含量密切相关。 α 组分含量增加时,复合物的拉伸强度、弹性模量和断裂伸长率均相应增加。这一变化规律从表 2 中

可以得到进一步的论证,当 α 组分含量的增加量变为 1.4 倍,即 $(\alpha_c - \alpha_A)/(\alpha_B - \alpha_A)$ 时,相应的拉伸强度和断裂伸长率均为原来的 1.6 倍,弹性模量则增为 4.3 倍。可见 α 组分含量的增加对弹性模量的影响较大,而对拉伸强度和断裂伸长率值的影响则相对较小,但后两者与 α 组分含量的增加幅度几乎是相同的。另外,通过实验分析我们认为,若要制得力学性能较高的明胶/HAP 复合物,明胶原料的 α 组分(分子量约为 10 万)含量至少应达到 40% 以上。因为 α 组分含量越少,明胶中含低于 10 万分子量的组分越多。而低分子量组分含量的偏高会直接导致明胶的力学性能下降^[13]。这一现象正如在照相行业,明胶的 α 组分含量对卤化银乳剂涂层的物理力学性能起着重要作用。在制药行业,如果空壳胶囊中 10 万分子量组分的含量低,会导致灌装药物时胶囊承受机械拉力的能力降低,胶囊易破损,灌装能力减弱等现象^[14]。同样,在制备明胶/HAP 复合物时,明胶原料的 α 组分含量也是影响复合物力学性能的关键性因素之一。综上所述,要提高复合物力学性能以制备较

Table 1 The mechanical properties of three gelatin/HAP composites^a

Type of composites	α content (%)	Tensile strength (MPa)	Young's modulus (MPa)	Elongation at break (%)
Composite A	20.5	73.21 (9.02)	2612.43 (306.75)	3.01 (1.82)
Composite B	41	81.45 (15.05)	2628.62 (486.40)	6.55 (1.20)
Composite C	50	86.40 (7.73)	2682.35 (259.18)	8.65 (3.57)

^a The standard deviations from 5 measurements are shown in parentheses.

Table 2 Comparison of the mechanical properties of the composites

Type of composites	Difference of α content (%)	Comparison of mechanical properties of composites		
		Tensile	Young's	Elongation
		strength (MPa)	Modulus (MPa)	at break (%)
Composite (B-A)	41 - 20.5 = 20.5	8.24	16.19	3.54
Composite (C-A)	50 - 20.5 = 29.5	13.19	69.92	5.64
Composite (C-B)	50 - 41 = 9	4.95	53.71	2.1

理想的骨替代材料时,首先需考虑选用 α 组分含量高的明胶;其次要改进制备明胶/HAP 复合材料的工艺条件,包括冷冻干燥、成膜、除盐及干燥等一系列处理方法.这样制得的明胶/HAP 复合材料,其力学性能比湿态下纯明胶的大大提高^[15].另外,与自然骨相比,该材料的力学性能优于人体松质骨(拉伸强度和弹性模量分别为 10~20 MPa 和 0.05~1 GPa),且拉伸强度值也已超过了人体密质骨(拉伸强度和弹性模量值分别为 55~146 MPa 为 10~22 GPa)的下限^[16].

2.3 复合物 C 结构性质的表征

由图 5 可见,明胶/HAP 复合物的 IR 光谱图与骨的几乎完全吻合,复合物中各基团的特征吸收峰列于表 3.由图 5 和表 3 相对应,可以看出,复合物中既有矿物相 HAP 的特征吸收峰,又出现了明胶的特征吸收峰(酰胺 I 和酰胺 II).另外,在 1454 cm^{-1} 处还出现较为明显的 CO_3^{2-} 吸收峰,说明生成的矿物相为碳酸磷灰石.这些结果表明,复合物 C 在成分及组成上与自然骨基本一致.

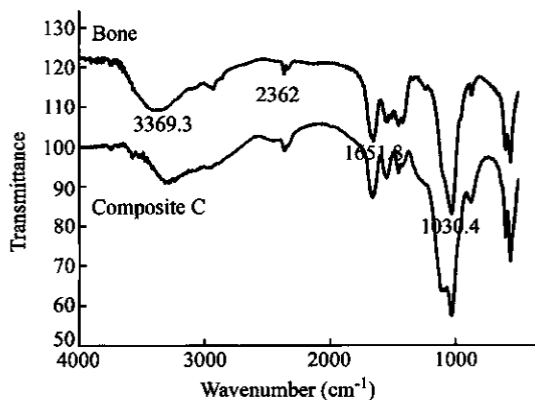


Fig. 5 IR spectra of bones and composite C

Table 3 Absorption bands of composite C

Groups	Absorption bands (cm^{-1})
Gelatin	1240, 1339, 1550, 1651
PO_4^{3-}	570, 602, 962, 1030, 1088
$\text{OH}^- (\text{H}_2\text{O})$	3570, 3700~2500
CO_3^{2-}	873, 1454, 1420

由图 6 的 XRD 谱图可见,复合物 C 中无机相为 HAP,但与市售 HAP 相比,各衍射峰明显变宽,峰强度减弱.表明复合物中矿物相的结晶度较低,晶粒细小,这一性质也与自然骨类似^[17].复合物的 TEM 结果(图 7)显示,生成的晶体为针状的,尺

寸较均匀,粒径约为 $50\text{ nm} \times 200\text{ nm}$.晶体在明胶中分散较好,是因为复合物中高含量的明胶起到了保护胶体的作用,使 HAP 晶体能够很好地分散在明胶介质中.晶体在复合物中的分散性也会影响到复合物的力学性能,有关晶体的分散性、形态以及粒度分布等对复合物力学性质的影响还有待于进一步的研究.

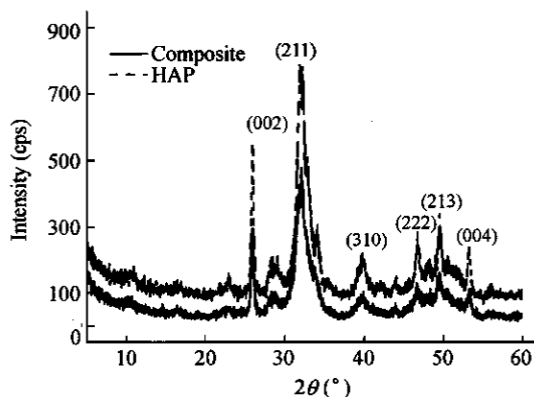


Fig. 6 The XRD spectra of HAP and composite C

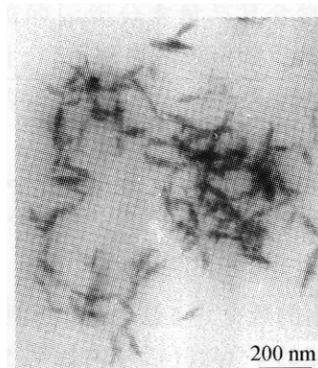


Fig. 7 TEM image of composite C

综上所述,明胶/HAP 复合物的拉伸性能与明胶原料的 α 组分含量之间密切相关,随着 α 组分含量的增加,复合物的拉伸强度、弹性模量和断裂伸长率均有不同程度的增加.本文通过选用不同 α 组分含量的明胶来制备明胶/HAP 复合材料,结合冷冻干燥、成膜、除盐及定向干燥等一系列的处理方法,制得了力学性能优于人体松质骨的类骨材料,从而为研制具有优异力学性能的骨修复材料提供了一条新的途径.

致谢 复合物力学性能的测试工作是在中科院理化技术研究所工程塑料国家研究中心的袁捷和冯宇鹏两位老师的帮助下完成的,在此表示感谢.

REFERENCES

- 1 Myung C C, Ko C C, William H D. *Biomaterials*, 2003, 24: 2853 ~ 2862
- 2 Bradt J H, Michael M, Angelika T, Wolfgang P. *Chem Mater*, 1999, 11: 2694 ~ 2701
- 3 Soichiro I, Masanori K, Kazuo T, Katsuyoshi N, Yoshihisa K, Junzo T, Kenichi S. *J Biomed Mater Res (Appl Biomater)*, 2002, 63: 507 ~ 515
- 4 Shen Xuhui(沈序辉), Song Chenlu(宋晨路), Shen Ge(沈鸽), Weng Wenjian(翁文剑), Han Gaorong(韩高荣). *Materials Science & Engineering (材料科学与工程)*, 1999, 17(4): 85 ~ 90
- 5 Clarke K I, Crawes S E, Wong A T-C, Triffitt J T, Francis M J O, Czernuszka J T. *J Mater Sci: Mater Med*, 1993, 4: 107 ~ 110
- 6 Bigi A, Panzavolta S, Roveri N. *Biomaterials*, 1998, 19: 739 ~ 744
- 7 Roveri N, Falini G, Sidoti M C, Tampieri A, Landi E, Sandri M, Parma B. *Mater Sci Eng C*, 2003, 23: 441 ~ 446
- 8 Peng B X. *J Imaging Sci Techn*, 1992, 36(6): 544 ~ 549
- 9 Shi Jingjing(史京京), Chen Lijuan(陈丽娟), Wang Ying(王颖), Peng Bixian(彭必先), Qin Yanling(秦燕玲), Tian Zhongtian(田中田), Wang Wenjun(王文俊), Wang Jun(王军). *Photographic Science and Photochemistry(感光科学与光化学)*, 2002, 20(6): 462 ~ 466
- 10 Chen Lijuan(陈丽娟), Wang Tong(王彤), Peng Bixian(彭必先). *Photographic Science and Photochemistry(感光科学与光化学)*, 1993, 11(4): 325 ~ 334
- 11 Wang Ying(王颖), Chen Lijuan(陈丽娟), Peng Bixian(彭必先). *Photographic Science and Photochemistry(感光科学与光化学)*, 2001, 19(1): 35 ~ 38
- 12 Feng Yuanzhen(冯元桢). *Biomechanics(生物力学)*. Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 1983. 240
- 13 Ohno T. *J Soc Photogr Sci Technol Japan*, 1984, 47(4): 237 ~ 247
- 14 Li Yunlong(李云龙). *The Science and Technology of Gelatin(明胶科学与技术)*, 2000, 20(2): 98 ~ 99
- 15 Liu Genqi(刘根起), Zhao Xiaopeng(赵晓鹏), Tang Tao(唐韬). *Acta Polymerica Sinica(高分子学报)*, 2003, (3): 398 ~ 402
- 16 Lawson A C, Czernuszka J T. *Pro Instn Mech Engrs: Part H*, 1998, 212: 413 ~ 425
- 17 Wang R Z, Cui F Z, Lu H B, Wen H B, Ma C L, Li H D. *J Mater Sci Lett*, 1995, 14: 490 ~ 492

EFFECTS OF α COMPONENT CONTENT OF GELATINS ON MECHANICAL PROPERTIES OF GELATIN/HYDROXYAPATITE COMPOSITES

TENG Shuhua, SHI Jingjing, WANG Ying, PENG Bixian, CHEN Lijuan

(Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

Abstract Three gelatins with α component content 20.5%, 41% and 50%, respectively, were used as raw materials for the preparation of gelatin/hydroxyapatite composites by simultaneous titration method, and then the tensile properties for dry films of the three composites, including tensile strength, Young's modulus and elongation at break, were measured and compared. The results showed that all of the three tensile parameters increased with increasing the α component content of gelatins. Among them, the Young's modulus of composites was more sensitive to the α component content of gelatins. The mechanical properties of composite C with the highest α component content were shown as follows: 86.40 MPa of tensile strength, 2682.35 MPa of Young's modulus and 8.65% of elongation at break. In addition, the characterization results of basic properties of composite C revealed that this material had the composition and structure similar to those of natural bones, and therefore was promising to be a good candidate for bone substitute materials.

Key words Gelatin, α component content, Gelatin/hydroxyapatite composites, Mechanical properties