

原位沉析法制备磁性氧化铁羟基磷灰石/壳聚糖棒材*

陈福平 胡巧玲** 陈 亮 李保强 沈家骢

(浙江大学高分子复合材料研究所 杭州 310027)

摘 要 首先通过化学沉淀法制备磁性氧化铁羟基磷灰石($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$),然后以壳聚糖(CS)为基体,利用原位沉析法将 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 与 CS 复合,制得磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 复合材料.经 XRD、粒径分布和 PPMS 测试,结果表明了 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 复合物的生成.系统研究了磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 棒材力学性能的影响因素,最终确定 Fe_3O_4 与 HA 质量比为 3:17,磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 与 CS 质量比为 9:91 时,棒材的力学性能最优,弯曲强度可达到 87.0 MPa,弯曲模量 1.57 GPa.

关键词 壳聚糖,原位沉淀法,磁性氧化铁羟基磷灰石,复合材料

壳聚糖具有良好的生物相容性,在生物体内可降解为氨基葡萄糖,不仅对人体无毒无害,且具有抗病毒、抗癌作用,还有促进伤口愈合等功效,这使得壳聚糖在医学领域有着广泛的应用^[1].羟基磷灰石是人体自然骨的主要成分(含 60% ~ 70%),具有极好的生物相容性和生物活性,在骨修复研究领域已有很多报道,并已证实 HA 种植体能诱导周围骨组织的生长,并促进与宿主骨形成牢固的化学结合^[2,3].目前 CS/HA 复合材料的制备主要有两大类,一是以 CS 为基体,适当引入 HA 改善复合材料的骨组织生长诱导性能^[4];二是以 HA 为基体,适当添加 CS 使复合材料的塑型变得容易^[5].

磁性生物材料是指具有可利用磁学性质的生物材料.磁性生物材料的研究主要集中在对磁性微球的研究,由于它在磁场的作用下有特殊的响应性使其在定向药物输送^[6],固定化酶^[7],磁疗^[8]等领域已有广泛的应用.磁性生物材料的磁性体主要是 Fe_3O_4 ,而磁性载体可选用不同的聚合物,如壳聚糖、胶原、聚乙烯等.对于磁性三维生物材料,武汉工业大学徐晓虹^[9]等制备出了抗折强度为 23.39 MPa 的磁性生物陶瓷,经生物体实验结果表明磁性生物陶瓷对外加磁场产生的响应确实能对新骨的形成起促进作用,且对动物体没有产生毒副作用,但材料的抗折强度离骨修复材料的要求还有差距.Vander Molen^[10]等认为磁场能影响

造骨细胞的生长.Baibekov^[11]等报道磁场对老鼠骨折的胫骨愈合具有促进作用.本文以 Fe_3O_4 为磁核,采用化学沉淀法制备出磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$,将所得的磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 与 CS 在超声作用下搅拌均匀获得均一溶液,然后采用本课题组建立的原位沉析法^[12]制备出磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 棒材,并对磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 进行 XRD 和粒径分布测试,同时对棒材的力学性能、断裂面形貌及磁性进行了表征.结果表明磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 在 CS 中分布均匀,材料的弯曲强度高达 87.0 MPa,弯曲模量 1.57 GPa,同时由于 Fe_3O_4 颗粒的存在,能对外加变化磁场产生响应,有望成为多功能的骨修复材料.

1 实验部分

1.1 原料

壳聚糖(医用级,青岛海汇生物工程有限公司, $M_n = 56.3 \times 10^4$,脱乙酰度 = 91%),凝固液(5 wt% NaOH 溶液),乙酸(CH_3COOH , 21.1 wt% HA 溶液) $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (上海山海工学团实验二厂,分析纯), $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (中国医药(集团)上海化学试剂公司,分析纯), $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (中国医药(集团)上海化学试剂公司,分析纯), KH_2PO_4 (湖州湖试化学试剂有限公司).

1.2 样品制备

按 Fe^{2+} 与 Fe^{3+} 的摩尔比为 1:2 量取适量两

* 2005-03-28 收稿,2005-04-19 修稿;国家自然科学基金(基金号 50173023)资助项目、国家自然科学基金重点(基金号 50333020)资助项目和浙江省科技计划(项目号 2003C1044)资助项目;** 通讯联系人, E-mail: huql@zju.edu.cn

种溶液倒入三口烧瓶中,快速滴加 2 mol/L 的 NaOH 溶液,调节溶液 pH 值大于 13,在室温下隔绝氧气匀速搅拌反应 0.5 h,然后将制得的 Fe_3O_4 在磁场的作用下用蒸馏水洗涤至中性,并在超声器中用乙酸(CH_3COOH , 2.1 wt% HA 溶液)配成 Fe_3O_4 悬浊液,慢慢滴加摩尔比为 5:3 的 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 和 KH_2PO_4 混合溶液,匀速搅拌 0.5 h.最后向混合溶液中慢慢滴加 2 mol/L 的 NaOH 溶液,保持溶液 pH 值大于 13,在 37℃ 下匀速搅拌反应 6 h,将制得的磁性 HA 复合物在磁场的作用下用蒸馏水洗涤至中性.将磁性 HA 复合物在超声器中用乙酸(CH_3COOH , 2.1 wt% HA 溶液)配成悬浊液,匀速搅拌 0.5 h.然后慢慢加入 CS 粉末匀速搅拌 3 h,同时滴加乙酸(CH_3COOH , 2.1 wt% HA 溶液)乙酸溶液,配置成 5% 的 CS 混合溶液,静置脱泡.取少量 5% 的纯 CS 溶液注入模具中,先形成一层内膜,然后再将模具注满 CS 混合溶液,放入凝固液中 1 min,然后取下模具,12 h 后将制得的磁性 HA/CS 凝胶棒放入蒸馏水中漂洗至中性,将所得的复合凝胶棒放入烘箱中 60℃ 下烘干.

1.3 X 射线衍射测试

采用 Rigaku D/Max-3B X-射线衍射分析仪($\text{CuK}\alpha$, 40 kV, 300 mA)对制备的样品进行分析(扫描速度 $5(^{\circ})/\text{s}$,扫描范围 $8 \sim 80^{\circ}$).

1.4 粒径分布测试

用 Zetasizer 3000 HS 对制得的 Fe_3O_4 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 复合物进行粒径分布测试,测试温度 298 K,水相.

1.5 磁性能测试

通过 PPMS-9 测试材料的磁性能,测试温度为 300 K.

1.6 力学性能测试

用深圳 Reger 微机控制万能材料试验机测定样品的力学性能,测试温度为 25℃,所有样品在测试前都在烘箱中 60℃ 下放置 4 h,以消除水分对力学性能的影响,所测样品长度为 70~80 mm,直径为 5~5.5 mm,每一组分的样品采用 5 根.弯曲强度用三点法测定,跨度 40 mm,加载速度 2 mm/min.弯曲强度、弯曲模量计算参照文献[13].

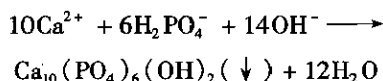
1.7 微相结构观察

采用日本 Hitachi S-590 扫描电子显微镜,对经力学性能测试后磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 棒材的纵向断面(经喷金处理后)的微相结构进行观察.

2 结果与讨论

2.1 Fe_3O_4 及 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 的制备

图 1 是本实验制备的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 复合物的 X 射线衍射图谱,通过与标准 X 射线衍射卡进行比较,表明在 2θ 为 26.04、32.09 和 39.6 是 HA 的 3 个特征峰,而在 35.64、46.7 和 63.07 的特征峰是 Fe_3O_4 所形成,说明可以通过这种方法制 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 复合物.采用共沉淀法制备 Fe_3O_4 ,它是按 $\text{Fe}^{2+} + 2\text{Fe}^{3+} + 8\text{OH}^- \longrightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4 (\downarrow) + 4\text{H}_2\text{O}$ 为原理进行的,反应需密封条件下进行的,防止氧气对 Fe^{2+} 的氧化.在已制得的 Fe_3O_4 悬浊液中先滴加 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 和 KH_2PO_4 混合溶液,搅拌均匀后慢慢滴加 OH^- 时, Fe_3O_4 颗粒表面会沉积一层磷酸钙盐,在强碱性条件下继续反应转化为 HA,反应原理是:



随着反应的进行,溶液的颜色由黑色转变成红褐色,将所得的复合物在磁场的作用下用去离子水洗涤至中性. Fe_3O_4 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ (其中 Fe_3O_4 质量百分比为 30%) 的粒径测试结果表明 Fe_3O_4 的平均粒径为 369 nm, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 的平均粒径为 1380 nm,粒度分布范围较窄,同时可以看出 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 复合物的平均粒径与 Fe_3O_4 的相比要大 1000 nm 左右,这是由于 HA 包覆在 Fe_3O_4 表面,以其为晶核进行生长的原因.图 2 是磁性 Fe_3O_4 包覆产物(其中 Fe_3O_4 质量百分比为 30%) 在 300 K 时的磁化曲线,磁性饱和磁化强度 M_s 为 9 emu/g,由此推算出产物中 Fe_3O_4 的 M_s 为 33.3 emu/g,比 Fe_3O_4

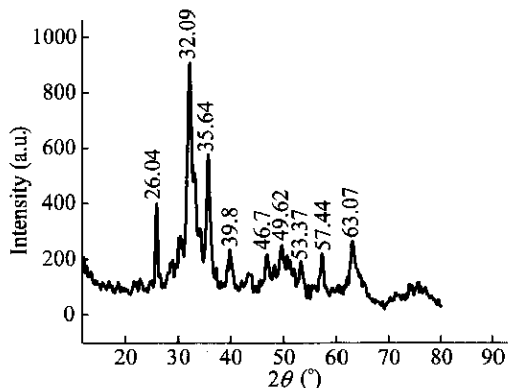


Fig. 1 X-ray diffraction profiles of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ (3:7) particles

单晶体的理论值 ($M_s = 92 \text{ emu/g}$) 要小, 这可能是由于 Fe_3O_4 颗粒表面与 HA 层间所形成的非磁性无序界面化合物的存在及 Fe_3O_4 颗粒的部分氧化产生的影响.

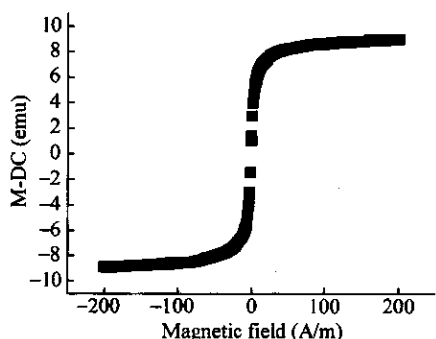
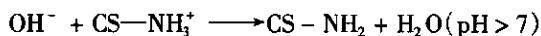


Fig. 2 Magnetization hysteresis loop for $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ (3:7) particles at 300 K

2.2 磁性 HA/CS 棒材的复成型机理

CS 在乙酸溶液中会发生质子化反应, 质子化的 CS 遇碱后又被析出:



根据这一原理, 首先在模具内壁浇涂一层壳聚糖的乙酸溶液, 然后在凝固液中析出 CS, 形成一层 CS 膜, 该膜具有选择透过性^[13], Na^+ 、 CH_3COO^- 、 OH^- 能自由渗透, 而 CS 大分子和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 大颗粒不能通过. 当向该模具中注入磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 前驱体溶液后, 模具中附着在预先形成的 CS 膜上的 OH^- 会渗透进入 CS 混合溶液中与质子化的 CS 发生中和反应引起 CS 的沉积, 同时分散在 CS 溶液中的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 也会沉积下来, 形成一层磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 膜. 当脱去模具后在凝固液中, 膜外的 OH^- 由于渗透压作用会继续往里渗透与质子化的 CS 反应, 引起 CS 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 的沉积, 形成另一圈层凝胶膜, 如此继续渗透、中和、沉积最终形成具有宏观圈层结构的圆柱型凝胶棒. 凝胶棒在干燥过程中, 随着自由水的蒸发, 凝胶层之间变得更加致密, 最终形成红褐色的磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 复合棒材.

2.3 磁性 HA/CS 棒材的力学性能

2.3.1 无机物比例对磁性 HA/CS 复合材料力学性能的影响 作为骨修复材料, 其力学性能是材料使用的关键因素之一. 胡巧玲^[13] 等报道纯壳

聚糖棒材的弯曲强度为 92.4 MPa, 弯曲模量为 4.1 GPa, 远远大于松质骨的弯曲强度要求 (20 MPa), 接近皮质骨弯曲强度 (大于 100 MPa). 关于 CS/HA 复合材料的力学性能研究的报道比较多, 随着 HA 的加入力学性能会较纯 CS 棒材的有所下降^[4]. 为了确定 Fe_3O_4 与 HA 比例对棒材力学性能的影响, 通过固定 CS (20.34 g) 的量和无机物 ($\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$, 3.59 g) 的总含量, 而改变 Fe_3O_4 与 HA 的比值制备了一系列样品, 并对它们进行了弯曲强度测试, 结果如表 1.

Table 1 Effect of the ratio of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ on bending strength and modulus of the hybrid rods

$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$	Bending strength (MPa)	Modulus (GPa)
1:0	104.7	2.48
3:7	48.6	1.30
3:9	54.9	1.14
3:12	68.1	1.26
3:17	83.5	1.45
3:27	81.1	1.89
0:1	62.0	1.87

从表 1 可以看出, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{CS}$ 复合材料的弯曲强度有 104.7 MPa, 与纯 CS 棒材相比, Fe_3O_4 起到了对 CS 棒材的增强作用. 随着 Fe_3O_4 的比例减少, 复合材料的弯曲强度从 48.6 MPa 增加到 83.5 MPa, 而 Fe_3O_4 含量的进一步减少又会导致复合材料的弯曲强度有所回落. 综合考虑磁性能和力学性能, 最终确定无机物质量比例为 3:17.

2.3.2 无机物含量对磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 复合材料力学性能的影响 为了确定无机物含量对棒材力学性能的影响, 通过固定 CS (20.34 g) 的量和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ (3:17) 的比例, 而改变无机物的总含量制备了一系列样品, 并对它们进行了弯曲强度测试, 结果如表 2, 从表 2 可以看出磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 棒材的力学性能与纯 CS 棒材的相比有了降低, 这是由于 CS 分子结构的特殊性, 能形成分子内和分子间氢键作用, 使得材料的力学性能有明显的提高^[15]. 而磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}$ 的引入, 插入到 CS 分子链之间, 使得这种作用力减弱, 在外力作用时会引发裂缝的产生从而导致复合材料力学性能的下降. 随着无机物含量的增加, 这种影响会随之提高, 使得复合材料的弯曲强度呈现降低的趋势, 而弯曲模量呈现出相反的趋势. 磁性 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{HA}/\text{CS}$ 复合材料的弯曲强度和 HA/CS 复合材料^[14] 相比提高了 20 MPa, 能很好的满足骨修复材料的力学

性能要求,从表 2 可以得出无机物和 CS 的合适比例为 9:91 时复合材料的力学性能最佳.

Table 2 Effect of the ratio of inorganic to organic material on bending strength and modulus of the hybrid rods

(Fe ₃ O ₄ /HA)/CS	Bending strength (MPa)	Modulus(GPa)
20:80	76.5	3.17
17:83	79.9	2.32
15:85	83.5	1.45
11:89	86.6	1.42
9:91	87.0	1.57
0:100	92.4	4.1

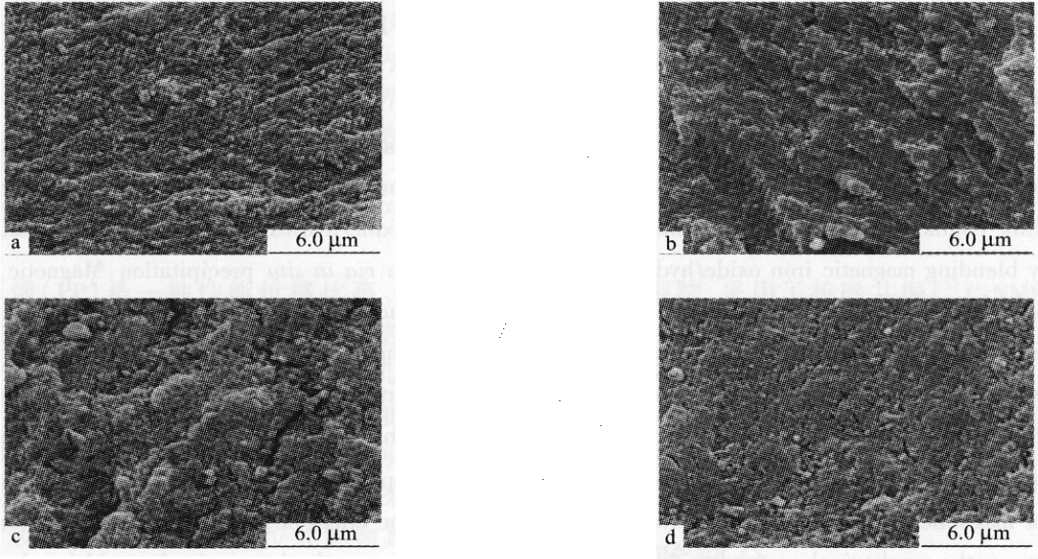


Fig. 3 SEM of fracture surfaces of magnetic Fe₃O₄/HA/CS composites containing various percent of magnetic HA
a) The 9% loaded sample; b) The 11% loaded sample; c) The 17% loaded sample; d) The 20% loaded sample

综上所述,采用在 Fe²⁺、Fe³⁺ 酸溶液中滴加 NaOH 的化学沉淀法,制备出磁性 Fe₃O₄ 颗粒,新生成的 Fe₃O₄ 颗粒在 Ca(NO₃)₂ 和 KH₂PO₄ 的混合溶液中缓慢碱化,可制得磁性 Fe₃O₄/HA 复合物.将磁性 Fe₃O₄/HA 和适量 CS 配成均匀溶液,利用

2.4 磁性 Fe₃O₄/HA/CS 棒材的形态结构

图 3 是磁性 Fe₃O₄/HA/CS 棒材断面的 SEM 照片,表明磁性 Fe₃O₄/HA 和 CS 之间形成了很好的包覆作用,没有明显的分相现象出现,这对维持复合材料的力学性能有帮助,同时在图 3 可以看到小裂缝的存在,正是这些裂缝使得复合材料的力学性能较纯 CS 棒有所下降.随着磁性 Fe₃O₄/HA 含量的增加,皱褶和小裂缝越来越多,这一现象与复合棒材的力学性能随磁性 HA 的增加而减小结论相吻合.

原位沉析法制备出了以 CS 为基体,磁性 Fe₃O₄/HA 为填料的磁性复合材料.通过棒材的力学性能测试可以得出,棒材的弯曲强度达到 87.0 MPa,高于自然骨 3~4 倍,能很好的满足骨修复对材料力学性能的要求.

REFERENCES

1 Khor E, Lim L Y. *Biomaterials*, 2003, 24: 2339 ~ 2349
2 Luan Chenguang(栾晨光), Yang Qingming(杨庆铭). *The Orthopedic Journal China*(中国矫形外科杂志), 2001, 8(4): 378 ~ 380
3 Murugan R, Ramakrishna S. *Biomaterials*, 2004, 25: 3829 ~ 3835
4 Ciapetti G, Ambrosio L, Savarino L, Granchi D, Cenni E, Baldini N, Pagani S, Guizzardi S, Causa F, Giunti A. *Biomaterials*, 2004, 24: 3815 ~ 3824
5 Yamaguchi I, Iizuka S, Osaka A, Monma H, Tanaka J. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2003, 214: 111 ~ 118
6 Gómez-Lopera S A, Plaza R C, Delgado A V. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2001, 240: 40 ~ 47
7 Ma M, Zhang Y, Yu W, Shen H Y, Zhang H Q, Ning G. *Colloids and Surfaces: A*, 2003, 212: 219 ~ 226
8 Adair R K. *Reports on progress in Physics*, 2000, 63: 415 ~ 454
9 Sun Shuzhen(孙淑珍), Xu Xiaohong(徐晓虹), Peng Chanqi(彭长琪), Wu Hua(吴华), Zhu Tongbo(朱通伯). *Journal of Wuhan University of Technology*(武汉工业大学学报), 1994, 16: 99 ~ 103

- 10 Vander Molen M A, Donahue H J, Rubin C T, Meleod K J. Bone, 2000, 27: 227 ~ 231
- 11 Baibekov I M, Khanapiyev U Kh. Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2001, 131: 399 ~ 402
- 12 Hu Q L, Li B Q, Wang M, Shen U. Biomaterials, 2004, 25: 779 ~ 785
- 13 Hu Qiaoling(胡巧玲), Qian Xiuzhen(钱秀珍), Li Baoqiang(李保强), Shen Jiacong(沈家骢). Chemical Journal of Chinese Universities(高等学校化学学报), 2003, 24(3): 528 ~ 531
- 14 Li Baoqiang(李保强), Hu Qiaoling(胡巧玲), Qian Xiuzhen(钱秀珍), Fang Zhengping(方征平), Shen Jiacong(沈家骢). Acta Polymerica Sinica(高分子学报), 2003, (6): 828 ~ 833
- 15 Wan A C A, Khor E, Hastings G W. Journal of Biomedical Material Research, 1997, 38: 235 ~ 241

PREPARATION OF MAGNETIC IRON OXIDE/HYDROXYAPATITE/CHITOSAN RODS BY *in situ* PRECIPITATION

CHEN Fuping, HU Qiaoling, CHEN Liang, LI Baoqiang, SHEN Jiacong

(Institute of Polymer Composites, Zhejiang University, Hangzhou 310027)

Abstract Chitosan (CS) is suggested for using in orthopedic applications to provide temporary mechanical support for the regeneration of bone cell ingrowth due to its good biocompatible, non-toxic, biodegradable, and inherent wound healing characteristics. In the present study magnetic iron oxide/hydroxyapatite (HA)/chitosan rods were prepared by blending magnetic iron oxide/hydroxyapatite with chitosan *via in situ* precipitation. Magnetic iron oxide/hydroxyapatite was obtained by co-precipitation method. X-ray diffraction (XRD), size distribution and magnetic measurements were performed to characterize the as-prepared magnetic iron oxide/hydroxyapatite, the results confirmed the formation of magnetic iron oxide/hydroxyapatite with particle size of around 1380 nm, and its saturated magnetic intensity (M_s) was about 33.3 emu. When the total inorganic and CS content kept constant, effect of the ratio of magnetic iron oxide and hydroxyapatite on the mechanical properties was investigated, the results showed that the best ratio of magnetic iron oxide and hydroxyapatite was 3:17, and the effect of the ratio of magnetic iron oxide/HA and chitosan on the mechanical properties was also investigated, 9:91 was the best ratio. It could be also concluded from the three point bending test that the mechanical properties improved as the inorganic content decreased. Bending strength and bending modulus of the magnetic iron oxide/HA/CS composite were 87.0 MPa and 1.57 GPa, respectively. The mechanical properties of magnetic iron oxide/HA/CS composites were stronger while compared to those of human bones, due to the special performances of magnetic iron oxide and hydroxyapatite, this composite could have potential use in bone repair domain. The microstructure studies of magnetic iron oxide/hydroxyapatite/chitosan rods were carried out by scanning electron microscopy (SEM), and SEM micrographs supported the results of the three point bending test.

Key words Chitosan, *in situ* Precipitation, Magnetic iron oxide/hydroxyapatite, Composite