

·研究简报·

壳聚糖多孔支架电化学辅助沉积羟基磷灰石涂层研究*

黄志海¹ 李纪宏¹ 林萍华^{1,2} 董寅生^{1**} 郭超¹ 盛晓波¹ 储成林¹

(¹东南大学 材料科学与工程学院 南京 211189) (²河海大学 材料科学与工程学院 南京 210098)

摘要 采用电化学辅助技术控制阴、阳两极溶液中的钙、磷离子定向迁移,进入壳聚糖多孔支架内部发生反应并在孔隙表面沉积,制备了有机-无机复合多孔支架.应用 XRD、SEM、煅烧法、孔隙率测定和压缩实验对支架的组成、形貌、无机物沉积量、孔隙率以及压缩强度进行了表征.研究表明,处理后支架孔隙表面沉积了低结晶度的羟基磷灰石,低倍下沉积层均匀致密,在高的放大倍数下发现,沉积层中存在大量的微孔,沉积层表面存在着球状物,该球状物是由许多小片组成的.沉积 6 h 时沉积量为支架质量的 2.81%,支架孔隙率由 96.0% 减少到 89.8%.与纯壳聚糖支架相比,复合支架的压缩强度由 0.0550 MPa 提高到 0.0998 MPa.

关键词 壳聚糖,多孔支架,电化学辅助沉积,羟基磷灰石,涂层

壳聚糖具有良好的生物相容性和降解性,是优良的天然高分子生物材料,在皮肤、肝脏、神经、血管以及骨和软骨组织工程研究中常被用作支架材料^[1,2].壳聚糖单独使用强度较低,作为骨组织工程多孔支架时常与羟基磷灰石、磷酸三钙等无机材料复合,以获得更好的综合性能^[3-5].

在聚合物支架上沉积羟基磷灰石是一种重要的复合和改性方法,其中报道较多的是将支架在模拟体液中浸泡,应用这种处理,可以在支架上沉积羟基磷灰石^[6-9].但模拟体液浸泡所需沉积时间长,沉积过程仅依靠扩散进行,支架内部孔隙表面沉积较困难,不适合制作几何尺寸较大的支架,因此,相关研究都是采用膜片进行的.电化学沉积是一项广泛应用的技术,常用于在可作为电极的金属或导体表面沉积涂层^[10,11],一般是在水溶液中反应,也有报道加入聚合物电解质进行共沉积的^[12-14],但利用电场辅助作用在聚合物多孔支架内沉积羟基磷灰石涂层却鲜有研究报道.本研究根据电化学沉积基本原理,在电场辅助作用下使溶液中的钙、磷离子产生定向迁移,进入壳聚糖支架内部,并发生反应,沉积在孔隙表面,从而制备了壳聚糖/羟基磷灰石复合多孔支架.

1 实验材料及仪器

壳聚糖(脱乙酰度 $\geq 85\%$,浙江玉环海洋生物化学有限公司),戊二醛 25%水溶液(中国医药集团上海化学试剂公司,生化试剂),冰醋酸、氢氧化

钠、无水乙醇、磷酸钠、磷酸二氢钠、硝酸钙、无水乙酸钠、氯化钠(以上均为市售分析纯).

LD5-10 型医用离心机(北京京立离心机有限公司),电化学辅助反应沉积装置(自制),SXL1208 程控箱式电炉(上海精宏实验设备有限公司),XD-3A X 射线衍射仪(SHIMADZU,日本),Sirion 场发射扫描电子显微镜(FEI,荷兰),CMT4503 电子万能试验机(深圳新三思).

2 壳聚糖三维多孔支架的制备

将 1 g 壳聚糖粉末,用一定量醋酸溶液充分溶解,并加蒸馏水稀释成澄清溶液,然后滴加氢氧化钠溶液至碱性,使壳聚糖以水凝胶形式反相析出,离心收集壳聚糖水凝胶,加少量 0.25% 的戊二醛水溶液搅拌均匀后充模,于 4℃ 交联 1 h 后,浸入 -20℃ 预冷的无水乙醇中至样品冻实,最后取出用无水乙醇萃取 3 次,真空干燥得到三维的壳聚糖多孔支架(支架外观如图 1 所示).

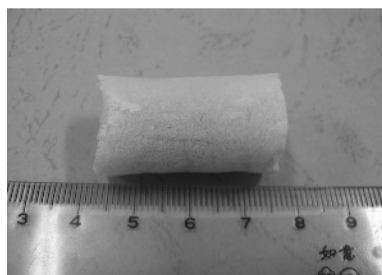


Fig. 1 Photo of 3D chitosan porous scaffold

* 2008-07-18 收稿, 2008-10-08 修稿;江苏省高新技术研究项目(项目号 BG2001033)和江苏省高等学校研究生创新计划(项目号 1112000029)资助;** 通讯联系人, E-mail: dongys@seu.edu.cn

3 电化学辅助沉积制备复合支架

图 2 为自制电化学辅助沉积装置示意图,装置由电化学反应槽、稳压电源、电极和导线组成(图 2a).沉积时,将多孔支架装入内径与其直径相同的两端开口圆筒中,然后平放于沉积室中垫块上,并用上压块压紧(图 2b).阳极室中溶液为 0.2 mol/L 硝酸钙和 0.1 mol/L 乙酸钠的混合溶液,阴极室中溶液为 0.04 mol/L 磷酸钠和 0.08 mol/L 磷酸二氢钠的混合溶液,沉积室内溶液为 0.2 mol/L 氯化钠溶液.实验中通过调节电压,控制电流稳定在 0.03 A,每隔 1 h 沿水平转动 180° 调换圆筒方向,以使支架内矿物沉积分布均匀,沉积反应时间为 6 h.沉积处理结束后取出支架,将其在碱液中浸泡处理 12 h,然后用去离子水清洗、干燥,得到复合支架^[15].

4 测试表征

使用 X 射线衍射仪对电化学辅助沉积前后支架的组成进行测定,条件为 CuK α , 40 kV, 30 mA, 衍射角范围为 5 ~ 80°.

对壳聚糖支架和电化学辅助沉积后的复合支

架喷金后,在扫描电镜下沿横断面观察它们的孔结构特征和沉积矿物形貌.

将支架加工成长径比为 2 的圆柱形试样,以压缩速率 5 mm/min 进行压缩,压缩变形量不超过试样总高的 25%,若支架发生断裂,则取断裂时的强度作为支架的压缩强度,若支架压缩变形量达 25% 时没有断裂,则取此时的强度为支架的压缩强度.每组测量 3 个试样,取平均值.

采用煅烧法测定电化学沉积支架的无机物含量,将待测试样放在预热过的洁净氧化铝坩埚中,于 900℃ 煅烧 3 h,残留物质量即为电化学沉积得到的无机物质量,称量煅烧前后的质量,计算多孔支架中沉积的无机物含量.

支架的孔隙率 P 按(1)式计算,

$$P = \{1 - [(G_1 + G_2 - G_3) / \rho] / V_1\} \times 100\% \quad (1)$$

式中 V_1 , 多孔支架的表观体积(mm^3); G_1 , 多孔支架的质量(g); G_2 , 盛满无水乙醇称量瓶质量(g); G_3 , 抽空支架浸入盛满无水乙醇称量瓶后的总质量(g); ρ , 20℃ 下无水乙醇的密度(g/mm^3).

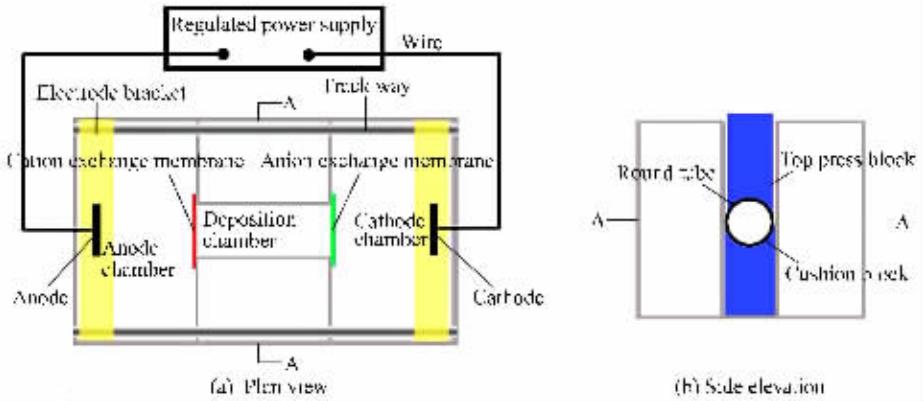


Fig. 2 Schematic of electrochemistry assisted deposition device

5 沉积相分析

图 3 为电化学辅助沉积前后支架组成的 XRD 图谱.沉积前支架的组成为纯的壳聚糖,壳聚糖是半结晶的聚合物,具有较宽化的结晶峰,由图可见 2θ 角为 20° 附近处的衍射峰是其最强的结晶峰.经过电化学辅助沉积后,支架的 XRD 图中出现了沉积物的衍射峰,通过比对 PDF 卡片可确定其为羟基磷灰石.从图中可以看到,沉积羟基磷灰石的(211)(112)(300)衍射峰宽化合并为一个峰,衍射峰的宽化重叠表明,在支架孔隙表面沉积得到的是低结晶度的羟基磷灰石.

6 多孔支架微观形貌

图 4(a)(b)为进行电化学辅助沉积前壳聚

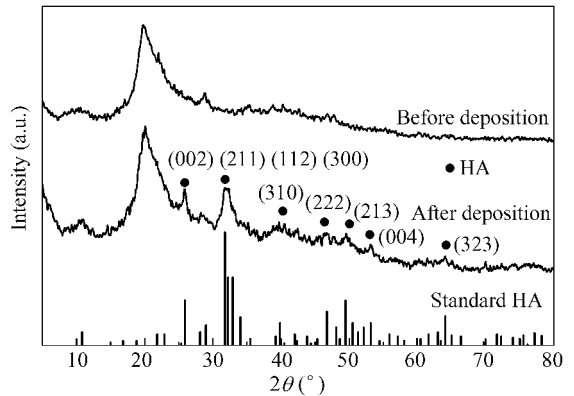


Fig. 3 XRD of the porous scaffolds before and after deposition

糖多孔支架的微观形貌. 由图 4(a) 可见, 支架具有高度连通的孔隙结构, 其中大孔孔径范围约在 $300 \sim 500 \mu\text{m}$, 并且大孔的孔壁上分布着大量孔径数十微米的小孔, 这样的结构有利于细胞营养和代谢物质的运输. 图 4(b) 是支架孔壁交汇处的断面照片, 可以看到所制备支架的壁厚约 $10 \sim 20 \mu\text{m}$, 孔壁较为平整光滑. 图 4(c)~4(f) 是电化学辅助沉积后复合支架的形貌, 可见经过处理的支架仍保留其原有通孔结构, 沉积的羟基磷灰石被覆在孔壁上面, 形成了较为致密的无机沉积层. 在

更高放大倍数下进一步观察羟基磷灰石沉积层的形貌和与基体的结合情况(图 4e、4f), 羟基磷灰石沉积层均匀地覆盖在壳聚糖支架表面, 与基体之间无界面剥离, 表明两者结合良好. 在沉积层上还分散着一些微球状羟基磷灰石颗粒, 应为沉积磷灰石进一步聚集长大的结果, 这些凸点增加了支架表面的粗糙程度, 有利于细胞的黏附. 从图 4(f) 则可更清楚地看到球状颗粒的形貌, 它们是由极小的片状羟基磷灰石构成的近球形团簇聚集体, 球体上存在大量的微孔.

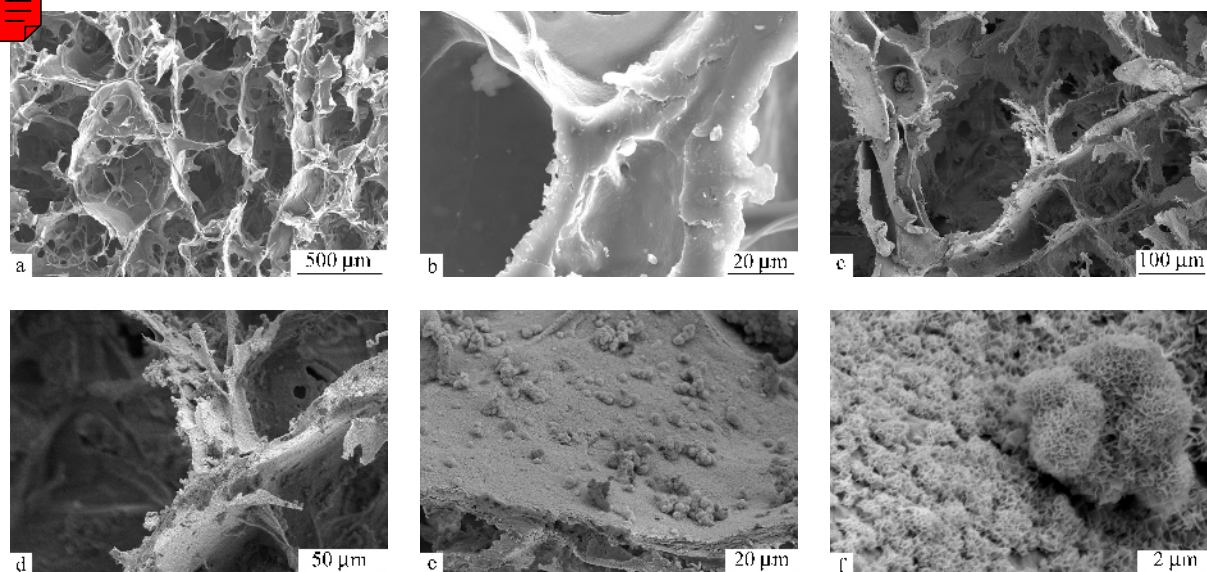


图 4 沉积前后支架性能比较

(a) and (b) are SEM photographs of the chitosan porous scaffold before deposition; (c) (d) (e) and (f) are SEM photographs of the chitosan porous scaffold after deposition.

7 沉积前后支架性能比较

电化学辅助沉积处理前后支架的性能列于表 1. 沉积处理后, 支架孔隙率仍在 90% 左右, 但较沉积前略有降低, 这一方面是由于支架内部沉积了一定量的羟基磷灰石涂层, 使孔壁有所增厚; 另一方面也与沉积支架在干燥过程中产生少量的收缩有关. 通过煅烧实验, 测得支架中沉积羟基磷灰石质量为支架总重的 2.81%. 支架压缩强度在沉积后增加了近 1 倍, 表明电化学辅助沉积对提高壳聚糖多孔支架压缩强度效果明显. 壳聚糖支架电化学辅助沉积后强度增加, 是由于沉积后的支架由单一有机支架变为有机-无机复合支架, 支架孔隙表面沉积的羟基磷灰石薄层包覆了壳聚糖材料, 支架变形时要先作用于不变形的磷灰石层, 而磷灰石的强度大大高于壳聚糖, 所以磷灰石薄层增加了支架的压缩强度. 在本实验中由于所沉积

的羟基磷灰石量较少, 处理后支架的强度也仅有 0.0998 MPa , 但是通过对工艺参数的调整, 如延长沉积时间、增加溶液浓度、提高电极电压等, 使沉积磷灰石量得到提高, 可能会使支架强度获得更大提高. 沉积处理后的支架在压缩过程中不发生断裂, 说明壳聚糖支架在沉积强化的同时仍保持了其原有的韧性.

Table 1 Properties comparison of the scaffolds before and after deposition

Property	Porosity(%)	Inorganic content(%)	Compressive strength(MPa)
Before deposition	96.0	0	0.0550 ± 0.004
After deposition	89.8	2.81	0.0998 ± 0.002

8 沉积反应原理

图 5 为进行电化学辅助沉积时, 装置中阴、阳离子迁移和反应的示意图. 装置中的阴(阳)离子

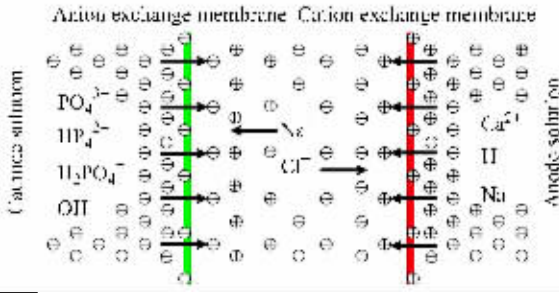
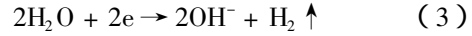
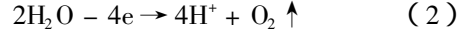


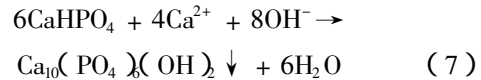
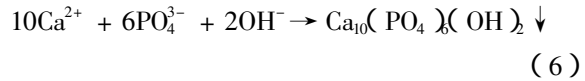
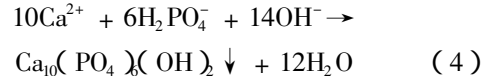
Fig. 5 Schematic of deposition reaction

交换膜具有只允许对应的阴(阳)离子通过,而阻隔带有相反电荷离子的作用,因此,当阴、阳极溶液中的离子在电场作用下迁移的时候,阴极溶液中只有磷酸根、磷酸氢根、磷酸二氢根和氢氧根可以通过阴离子交换膜进入到沉积室的溶液中,而阳极溶液中只有钙离子、钠离子和氢离子可以通过阳离子交换膜进入到沉积室的溶液中。沉积室溶液中加入氯化钠是为了提高溶液初始的导电性,以促进开始反应时离子的迁移。在电场作用下,阳极发生(2)式所示的氧化反应,产生氧气和氢离子,因为如果产生的氢离子过多,不但会使阳极溶液 pH 值降低,还可能大量通过阳膜进入反应池,影响沉积。所以,在阳极溶液中加入乙酸钠作为缓冲剂,来减缓阳极溶液 pH 的降低速度。研究表明,乙酸钠的加入能有效缓冲阳极 pH 值的变化,使其能较长时间稳定在 5~5.5 范围内。阴极发生如(3)式的还原反应,该反应将产生氢氧根离子,与阳极情况类似,若有过多的氢氧根离子通过阴膜进入沉积室,可能会形成较多的氢氧化钙沉淀,而不是想要获得的磷酸钙沉积。因此阴极溶液采用磷酸钠和磷酸二氢钠混合配制的缓冲溶液,以防止 pH 值升高过快,使 pH 值较长时间稳定在 7~8。反应室中的 pH 值介于阴、阳极溶液

pH 值之间,满足羟基磷灰石的沉积条件,并具有一定的 pH 梯度,在靠近阳极一端 pH 值低些,靠近阴极一端高些,因此,磷酸钙在支架内的沉积是不均匀的,需要隔一段时间调换一下支架的放置方向,使沉积更均匀。



当磷酸根(包括磷酸氢根和磷酸二氢根)、氢氧根和钙离子在电场作用下通过离子膜进入支架内部后,阴阳离子相遇将发生以(4)~(6)式为主的反应,生成羟基磷灰石、磷酸氢钙等磷酸钙盐。此外,支架内可能还会有一些未反应的残留离子,最终经过碱液浸泡处理后,在强碱性条件下磷酸氢钙转化为热力学最稳定的羟基磷灰石^[16](如(7)式)。



9 结论

采用电化学辅助沉积方法,可以在壳聚糖多孔支架孔隙内沉积羟基磷灰石涂层,所制复合支架的磷灰石层均匀致密且不破坏支架原有连通的孔结构,在保持支架原有较好韧性的基础上能一定程度地提高支架的强度。因此,用电化学辅助沉积的方法对聚合物多孔支架进行强化和改性具有可行性。

REFERENCES

- 1 Yao Ziang(姚子昂), Wu Haige(吴海歌), Xing Fuyou(邢福有), Han Baoqir(韩宝芹). China Biotechnology(中国生物工程杂志), 2003, 23(10): 32~36
- 2 Kim I Y, Seo S J, Moon H S, Yoo M K, Park I Y, Kim B C, Cho C S. Biotechnol Adv 2008, 26(1): 1~21
- 3 Zhang Y, Zhang M Q. J Non-Crys Solids 2001, 282(2-3): 159~164
- 4 Ang T H, Sultana F S A, Huttmacher D W, Wong Y S, Duh J Y H, Mo X M, Loh H T, Burdet E, Teoh S H. Mater Sci Eng :C, 2002, 20(1-2): 35~42
- 5 Habraken W J E M, Wolke J G C, Jansen J A. Adv Drug Deliv Rev 2007, 59(4~5): 234~248
- 6 Yang F, Wolke J G C, Jansen J A. Chem Eng J 2008, 137(1): 154~161
- 7 Masaru T, Keiko Y, Akinori T, Hiroshi S, Sadaaki Y, Masatsugu S. Colloid Surf A-Physicochem Eng Asp 2008, 313-314: 515~519
- 8 Zhang L J, Feng X S, Liu H G, Qian D J, Zhang L, Yu X L, Cui F Z. Mater Lett 2004, 58(5): 719~722
- 9 Kawashita M, Nakao M, Minoda M, Kim H M, Beppu T, Miyamoto T, Kokubo T, Nakamura T. Biomaterials 2003, 24(14): 2477~2484
- 10 Ye W, Wang X X. Mater Lett 2007, 61(19-20): 4062~4065
- 11 Zhang Y Y, Tao J, Pang Y C, Wang W, Wang T. Transactions of Nonferrous Metals Society of China 2006, 16(3): 633~637

- 12 Huang L Y ,Xu K W ,Lu J .J Mater Sci :Mater Med 2000 ,11 :667 ~ 673
- 13 Lu X ,Leng Y ,Zhang Q Y .Sur Coat Technol 2008 ,20(13) :3142 ~ 3147
- 14 Manara S ,Paolucci F ,Palazzo B ,Marcaccio M ,Foresti E ,Tosi G ,Sabbatini S ,Sabatino P ,Altankov G ,Roveri N .Inorg Chim Acta 2008 ,361(6) :1634 ~ 1645
- 15 Huang Z H ,Dong Y S ,Chu C L ,Lin P H .Mater Lett 2008 ,62(19) :3376 ~ 3378
- 16 Chen Fuping(陈福平) ,Hu Qiaoling(胡巧玲) ,Chen Liang(陈亮) ,Li Baoqiang(李宝强) ,Shen Jiacong(沈家骢) .Acta Polymerica Sinica(高分子学报) 2006 (6) :756 ~ 760

ELECTROCHEMISTRY ASSISTED DEPOSITING HYDROXYAPATITE COATING IN CHITOSAN POROUS SCAFFOLD

HUANG Zhihai¹ , LI Jihong¹ , LIN Pinghua^{1,2} , DONG Yinsheng¹ , GUO Chao¹ ,
SHENG Xiaobo¹ , CHU Chenglin¹

(¹ School of Materials Science and Engineering , Southeast University , Nanjing 211189)

(² School of Materials Science and Engineering , Hohai University , Nanjing 210098)

Abstract Natural biopolymer chitosan has been investigated widely for a variety of biomedical applications due to its excellent biocompatibility and biodegradability. The toughness of chitosan porous scaffolds is good ,but the strength is low. It is suggested that the coating treatment of hydroxyapatite will improve the strength and osteoconductivity of the scaffolds ,and maintain the toughness still. In this research ,the electrochemistry assisted deposition method was used to deposit hydroxyapatite on the pores ' surface of porous scaffolds. Calcium and phosphate ions in anode and cathode solutions moved directionally in the electric field ,reached the internal of scaffolds and reacted and deposited ,so the organic-inorganic composite scaffold was obtained. The composition , morphology ,inorganic deposition amount ,porosity and compressive strength were characterized by XRD ,SEM , calcination ,porosity measurement ,and compression experiment. It was shown that the hydroxyapatite coating with low crystallinity deposited on the pores ' surface of scaffolds. The coating was uniform and dense at low magnification ,but there was a great deal of micropores in the deposition layer at high magnification ,and some spheres on the layer composed of small hydroxyapatite lamellae. After being treated 6 h ,the deposition amount was 2.81% of total weight , and the porosity was decreased from 96.0% to 89.8% . The compressive strength of the treated scaffold was increased to 0.0998 MPa comparing with 0.0550 MPa of the chitosan scaffold.

Keywords Chitosan , Porous scaffold , Electrochemistry assisted deposition , Hydroxyapatite , Coating