

双连续微乳模板合成羟基磷灰石仿生物骨材料的研究

卢文庆^{*1} 王鹏飞¹ 焦程敏¹ 曹剑瑜² 程青²

(¹南京师范大学江苏省生物医药功能材料工程研究中心, 南京 210097)

(²南京大学固体微结构物理国家重点实验室, 南京 210093)

为制备具有与天然生物骨磷灰石结构相似的羟基磷灰石(hydroxyapatites 简称 HAP 或 HA)材料,依据生物矿化的原理,通过以十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)作为表面活性剂,正己醇为助表面活性剂,十六烷为油相和水作出的拟三元相图,找到体系所形成的双连续微乳液作为模板,控制矿化材料的成核和生长,并用 SEM,TEM,XRD,IR 等手段对合成的样品进行了形貌和结构的表征,并将其与共沉淀法制备的 HAP 在模拟体液中的溶解性进行了比较。结果表明:得到的矿化产物是具有棒状的六方晶体组成羟基磷灰石矿化材料,其结构参数 $a_0=0.920$, $c_0=0.688$,与天然生物骨材料较相似,抗体液溶解性比共沉淀法制备的优越。

关键词: 生物矿化 双连续微乳液 羟基磷灰石 仿生材料
分类号: O614.23*1

近年来,对生物矿化^[1]作用的研究已引起人们的广泛关注,生物矿化是指在生物体内合成矿物的过程,是在一种动态平衡的条件下,由细胞分泌的有机物对无机物的形成起模板作用,使其具有一定的形状、尺寸、取向和结构^[2,3]。仿生合成则是模仿生物矿化中无机物在有机物的调制下形成无机材料的过程,也称作模板合成^[4,5]。表面活性剂是目前仿生合成中用到的最重要的一类模板,在适当的条件下,它能自组装成胶束(或反胶束)、微乳、囊泡和 LB 膜等多种自组装体,诱导无机材料的生长。目前,已经利用仿生合成的方法制备了纳米微粒、薄膜、涂层、多孔材料和一些具有与天然生物矿物相似的具有复杂形貌的无机材料^[6]。

为制备具有与天然生物骨磷灰石结构相似的磷酸钙盐,通过在阳离子表面活性剂(CTAB)、正己醇、十六烷和水的拟三元体系中用滴定清点和浊点的方法找出其微乳区,并测其电导找出双连续相,并在其中制备了具有棒状多孔结构的羟基磷灰石,用扫描电镜(SEM)、透射电镜(TEM)、X 粉末衍射(XRD)、和红外(FT-IR)以及电子能谱(EDS)对其进行了表征。

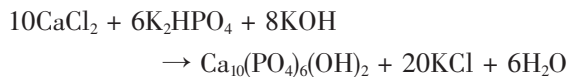
1 实验部分

1.1 矿化液的制备

精确称量 2.780 g 无水 CaCl_2 定容在 50 mL 容量瓶中,得 $0.500 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CaCl_2 贮备液;称量 5.661 g K_2HPO_4 定容于 50 mL 容量瓶中,得 $0.500 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 K_2HPO_4 贮备液;称量 1.432 g KOH 定容于 50 mL 容量瓶中,得 $0.500 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 KOH 贮备液。

按 Ca/P 的物质的量之比约大于 1.67 量取 CaCl_2 和 K_2HPO_4 的贮备液,并用 KOH 调节 pH 值为 7.4 左右,即可得到亚稳态的羟基磷灰石过饱和矿化液。

其反应式为:



1.2 拟三元微乳体系中微乳区和双连续相的确定

利用浊点法确定拟三元体系的微乳区。在 25 °C 恒温条件下,按不同的质量比,配制一系列的(CTAB(表面活性剂)+正己醇(助表面活性剂))(w:w=1:1)/十六烷混合物,向混合物中滴加二次蒸馏水,记下体系由浊变清和由清变浊时水的用量,找出体系的微乳区,再利用微乳区中各个相之间电导率变化的不

收稿日期:2004-04-05。收修改稿日期:2004-06-01。

南京大学固体微结构国家重点实验室资助项目(No.M031810)。

* 通讯联系人。E-mail:luwenqing@njnu.edu.cn

第一作者:卢文庆,男,51 岁,教授;研究方向:无机材料化学。

同,找出微乳区中双连续相的位置,确定反应体系的组成。最后在双连续区选定一个点的组成作为合成反应的模板。

1.3 微乳液调控矿化液矿化

将矿化液、十六烷、表面活性剂和助表面活性剂按相图中双连续区域中选定点的比例混合,在 25 ℃ 下搅拌一段时间后形成微乳,将微乳液迅速放入温度为 -21 ℃ 的低温恒温槽中冷冻 1~2 h 后,在温度为 5~8 ℃ 的条件下静置反应 15~20 d,反应结束后,升温到 25 ℃,以 12 000 r·min⁻¹ 高速离心 25 min,分离固相。将固体在常温下真空干燥得到含微量表面活性剂的羟基磷灰石固体样品。再经 750 ℃ 下煅烧后可得到不含表面活性剂的较纯的羟基磷灰石固体样品。

1.4 矿化产物的表征

对样品的形貌结构分析,分别采用 Hitachi-S-450 型扫描电子显微镜和日本日立 Hitachi JEM-200CX 透射电子显微镜;对样品的组成分析分别采用日本 D/MAX-RC 型 X 射线衍射仪 (Cu 靶 K α 线) 进行 X 射线衍射分析和美国 Nicolet 公司 Nexus670 型 FT-IR 分光光度计测定红外吸收光谱。

1.5 矿化产物在模拟体液中的溶解性

取一定量的样品浸入模拟体液 (Simulate body fluid, SBF) 中,测定试样在其中的溶解度。SBF 溶液按表 1 配制, pH=7.4, 用紫外光照射以防止细菌繁殖,每隔一定时间用钙指示剂滴定法测定介质中 Ca²⁺ 的浓度,介质的 pH 值保持在 7.4 左右。

2 结果与讨论

2.1 体系中微乳区和双连续区域的确定

图 1 是经实验得到的拟三元相图,其中 A 区域是利用向表面活性剂、助表面活性剂、油的混合物中滴加水,找出体系变清和变浊时水的用量的方法找到的 (CTAB+C₆H₁₁OH) (w:w=1:1)/C₁₆H₃₄/H₂O 拟三元体系的微乳区。

油、水、表面活性剂和助表面活性剂组成的微乳体系在微结构方面存在 W/O 型和 O/W 型,而介于它们之间的结构可能是双连续相,也可能是溶致液

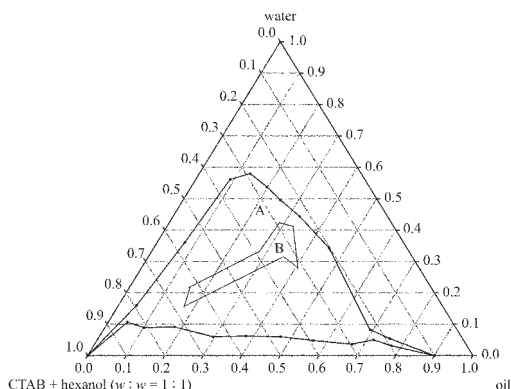


图 1 (CTAB+正己醇)/十六烷/水的拟三元相图(25 ℃)

Fig.1 Phase diagram of micell for (CTAB+hexanol)/Hexadecane/water system (25 ℃)

晶相,这主要取决于助表面活性剂的碳链长短^[7,8]。区别双连续相和溶致液晶相可用电导率变化规律的不同加以区别,同时微乳区域内的三相也能用电导率变化规律的不同加以区分^[9]。

图 1 中 B 区域就是通过微乳区内三相 O/W、双连续、W/O 各自的电导率变化规律的不同,找出的该微乳体系内的双连续区域。

2.2 试样的微观形态分析

图 2 给出了双连续微乳液模板法制得的 HAP 样品的 SEM 形貌。(a)为表面活性剂/助表面活性剂 (w:w=1:1):水:油质量比为 1.00:1.05:1.05 时,并且是反应后分离出的固体直接干燥所得产物,由图可见,产物是连通的网状结构,并且是由一些针状晶体组成;而(b)是经过 750 ℃ 煅烧以后样品的 SEM 照片,可以看到结构有一些变化,晶体上有很多孔,说明表面活性剂经煅烧后脱除, HAP 为多孔结构。

实验利用的是双连续微乳液作为微反应器,在实验过程中,微乳液在 25 ℃ 搅拌一段时间后迅速放入低温中深度冷却,使其冻结并保持微乳结构,然后在 5~8 ℃ 静置反应。此时水相为液态,而凝固点为 17~18 ℃ 的十六烷仍然为固态,表面活性剂和助表面活性剂在两相的界面处,这些在两相界面紧密、规则排列的两性分子可以有效的降低体系能量,增加体系的稳定性。由 SEM 图可知,制得的样品是一些与连通的水的管道结构相似的,具有网状结构的针

表 1 模拟体液的组成

Table 1 Composition of SBF

salt species	NaCl	KCl	CaCl ₂	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄	NaHCO ₃	Na ₂ HPO ₄
C(salt) / (g·L ⁻¹)	6.51	0.35	0.28	0.16	0.29	1.40	1.85

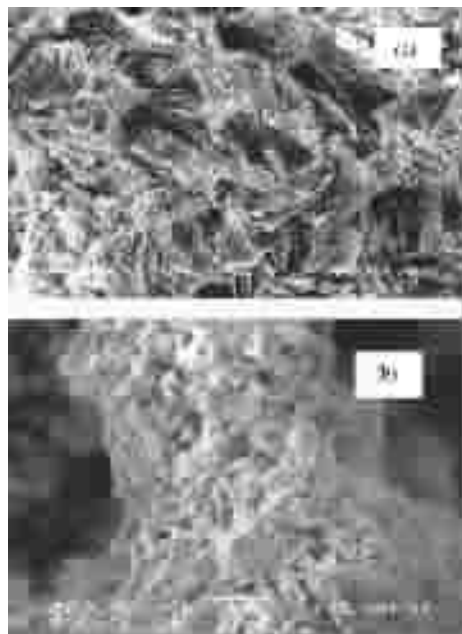


图 2 双连续模板合成的 HAP 的 SEM 照片

Fig.2 SEM micrographs for HAP prepared by using bicontinuous microemulsion as the template

(a) graphs for HAP after drying at 100 °C

(b) graphs for HAP after calcination at 750 °C

状晶体。

从图中可以看出未经煅烧的样品其尺寸为微米级,而不是微乳体系常控制的纳米级,这是因为在反应的开始阶段,矿化微粒在双连续相中的随着互连的水通道生长,直径(约 1 nm)也与水的通道一致,但随着微粒在管道中生长过程的继续,也会延伸到水和表面活性剂的界面,这便会引起体系微结构的二级变化^[10],所以晶体生长不再局限于水通道最初的空间,而是在微结构中通过动力学变化对它重新定形,所以得到样品的尺寸大于初始双连续微乳相中水通道的尺寸。

对这种二级变化的一种解释可能是生长的晶体与表面活性剂之间保持一个水合层,这个水合层使表面活性剂向着晶体生长的格点存在一个净的迁移;另一种可能的机理是尽管宏观上油相整体分子是冻结的,但与表面活性剂尾部相联系的油分子保持着某种移动性,因此,晶体的生长不只是局限于最初形成的水的通道中。

图 3a 为样品煅烧后的 TEM 照片,b 为共沉淀法制备的 HAP 的 TEM 照片,由图可以看出,用双连续微乳液模板法制备出的样品经煅烧脱去吸附在上面的表面活性剂后具有比较均匀的棒状结构,棒的

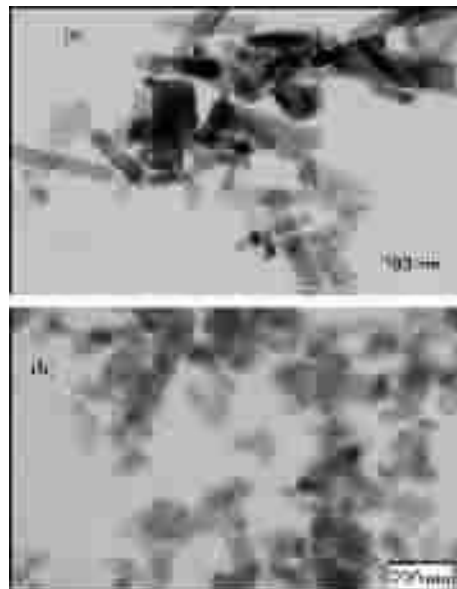


图 3 两种方法合成的 HAP 的 TEM 照片

Fig.3 (a) TEM micrographs for HAP prepared by using bicontinuous microemulsion as the template,

(b) TEM micrographs for HAP prepared by co-precipitation

直径尺寸在 100 nm 以内;而共沉淀法制备出的羟基磷灰石晶体结构,尺寸均不均匀。

2.3 试样的 XRD 和 FT-IR 结构表征

样品的 XRD 图谱(图 4b)与天然生物骨的无机成份的 XRD 是基本一致的,由于试样经过 750 °C 的煅烧,衍射峰窄而强,说明晶体的结晶程度较高。经指标化后,可计算出共沉淀法制备的 HAP 的晶胞参数为 $a_0=0.964$, $c_0=0.675$,而模板法制备的 HAP 晶胞

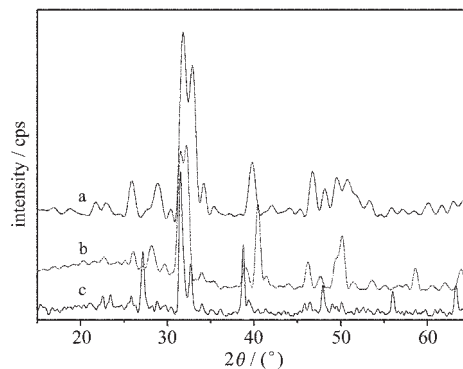


图 4 两种方法合成的 HAP 和天然生物骨的 XRD

Fig.4 XRD patterns for HAP

a. nature-bone materials

b. HAP prepared by co-precipitation

c. HAP prepared by using bicontinuous microemulsion as the template after calcination at 750 °C

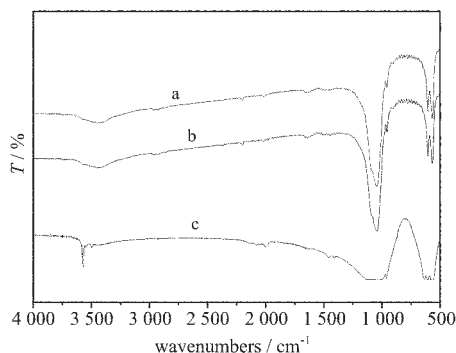


图 5 两种方法合成的 HAP 和天然生物骨的 FT-IR

Fig.5 FT-IR patterns for HAP

- a. nature-bone materials
b. HAP prepared by co-precipitation
c. HAP prepared by using bicontinuous microemulsion as the template after calcination at 750 °C

参数为 $a_0=0.920$, $c_0=0.688$, 天然生物骨无机成份的晶胞参数为 $a_0=0.943$, $c_0=0.6883$, 由此可见模板法制备的 HAP 的结构特征与天然生物骨磷灰石^[11]更相似。而由所得到样品的 IR 谱图(图 5)可见在 560 cm^{-1} , 600 cm^{-1} , 1030 cm^{-1} 有 $\text{HAP}[\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6]$ 的特征吸收峰, 与天然生物骨中无机成份的红外吸收峰一致。

从 XRD 和 IR 的分析表明, 经在 $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的温度下煅烧后产物主要由棒状 HAP 晶体组成, 并且试样的纯度高, 几乎不含有其它可区分的杂质。

EDS(电子能谱)的分析表明, 在煅烧前产物中的 Ca/P 的比例为 2:1, 经煅烧后 Ca/P 的比例为 1.66, 可进一步证实反应产物为 HAP。

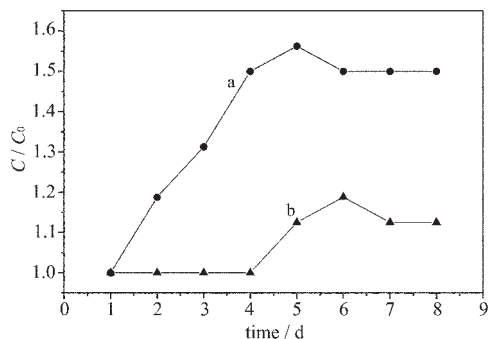


图 6 HAP 在 SBF 溶液中的溶解性

Fig.6 Dissolution of HAP sphere in SBF

- a. sample prepared by co-precipitation
b. sample prepared by bicontinuous microemulsion template method

2.4 试样在模拟体液中的溶解性

HAP 陶瓷材料的溶解性与其结晶度, 密度及 pH 值等因素有关, 实验测定了用双连续微乳液模板法和共沉淀法制备的 HAP 试样在 SBF 溶液中的溶解能力, 结果如图 6 所示, 可以看出, 用双连续微乳液模板法制备出的 HAP 在 SBF 中的溶解性随着时间的延长要比利用共沉淀法制备的 HAP 溶解性低。即利用双连续微乳液模板法制备的 HAP 在模拟身体环境中抗体液的溶解能力明显比用共沉淀法制备的 HAP 高。说明利用该方法法制备的 HAP 不仅是从结构上模拟了天然生物骨磷灰石, 抗模拟体液溶解性也比共沉淀法制备出的样品强。

3 结 论

(1) 利用滴定清点、浊点的方法可以确定 CTAB/ $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{OH}-\text{C}_{16}\text{H}_{34}-\text{H}_2\text{O}$ 体系的微乳区并应用微乳体系中电导率变化的规律可以区分微乳区内的各相。

(2) 通过仿生合成的方法, 利用双连续微乳液作为模板可以合成具有棒状多孔结构晶体组成的羟基磷灰石样品。

(3) 合成出的羟基磷灰石属六方晶系 晶胞参数为: $a_0=0.920$, $c_0=0.688$, 与天然生物骨结构相似。利用该方法制备出的羟基磷灰石样品的抗模拟体液溶解能力较之共沉淀方法制备的样品性能优越。

参 考 文 献

- [1] Mann S., Geoffrey A. Ozin *Nature*, **1996**, **382**, 313.
- [2] Mann S. *Nature*, **1993**, **365**, 499.
- [3] Mann S. *J. Mater. Chem.*, **1995**, **5**, 935.
- [4] Dominic W., Jeremy D., Hopwood., Mann S. *Nature*, **1994**, **264**, 576.
- [5] Mann S. *Biomimetic Materials Chemistry*, VCH Publishers: New York, **1996**.
- [6] MAO Chuan-Bin(毛传斌), LI Heng-De(李恒德), CUI Fu-Zhai(崔福斋) et al. *Huaxue Jinzhan(Journal of Progress in Chemistry)*, **1998**, **10**, 246.
- [7] Scriven L. E. *Nature*, **1976**, **263**, 123.
- [8] Zana R., Yiv S. *J. Colloid Inter Sci.*, **1980**, **80**, 208.
- [9] Mark E. D. *Nature*, **1993**, **364**, 391.
- [10] Heywood B., Mann S. *Adv. Mater.*, **1994**, **6**, 9.
- [11] Newesely H. *Appl Geochem.*, **1989**, **4**, 233.
- [12] LIU Xin-An(刘信安), LI Wei(李 伟), WANG Li-Ao(王里奥) *Yingyong Huaxue(Chinese Journal of Applied Chemistry)*, **2003**, **20**, 223.

Study on Preparation of Bionic HAP Material by Bicontinuous Microemulsion Template Method

LU Wen-Qing^{*,1} WANG Peng-Fei¹ JIAO Cheng-Min¹ CAO Jian-Yu² CHENG Qing²

(¹*Jiangsu Reserch Center of Bio-medical Functional Material Engineering, NanJing Normal University, Nanjing 210097*)

(²*National Laboratory of Solid State Microstructure, Nanjing University, Nanjing 210093*)

Hydroxyapatites with nature-bone materials' structure were synthesized, based on biomineralization principles by a bicontinuous microemulsion template method. The microemulsion template was made up of CTAB, hexanol, hexadecane and water in molar ratio of 1.00:1.05:1.05. The mineralization of materials' nucleation and growth was controlled by this template. The framework and structure were characterized by means of SEM, TEM, XRD and IR. A comparison was made between the samples and the one prepared by co-precipitation on dissolving ability in simulate body fluid. The results show : the products were stick monomer hydroxyapatites and their structure parameter were $a_0=0.920$, $c_0=0.688$, in agreement with that of the nature-bone materials, and their properties were better than the one made by co-precipitation.

Keywords: **biomineralization** **bicontinuous microemulsion** **hydroxyapatites**
 biomimetic materials