

• 研究论文 •

CaO-P₂O₅-SiO₂ 系统溶胶-凝胶生物活性多孔材料 在 SBF 中的性能研究

张晓凯^{*a} 陈晓峰^b 王迎军^b 张梅梅^c

(^a 山东师范大学物理与电子科学学院 理化分析测试中心 济南 250014)

(^b 华南理工大学材料学院生物材料研究所 广州 510640)

(^c 山东轻工业学院材料科学与工程系 济南 250100)

摘要 利用溶胶-凝胶生物活性材料粉末二次烧结工艺, 制备了 CaO-P₂O₅-SiO₂ 系统溶胶-凝胶生物活性多孔材料, 并利用体外实验(*in vitro*)方法和 XRD, SEM 及 FTIR 技术研究了此烧结材料的显微形貌、晶相、生物活性和可降解性能。结果表明, 经 800 °C 烧结 5 min 后, 有少量硅磷酸钙[Ca₅(PO₄)₂SiO₄, 5CPS]析出, 在模拟体液(SBF)中浸泡, 随着时间的增长, 材料表面最初形成的无定形钙磷化合物矿化成碳酸羟基磷灰石(HCA)纳米团簇, 并逐渐相互融合形成 HCA 覆盖层; HCA 只在烧结体的玻璃相(SG 相)表面生成, 在 5CPS 微晶相表面未发现 HCA, 该材料在 37 °C 恒温的 SBF 溶液中具有较高的生物活性和可降解性能。

关键词 溶胶-凝胶技术; 生物活性; 模拟体液(SBF); 碳酸羟基磷灰石(HCA)

Performance Investigation of the Sol-gel Porous Biomaterial of the System CaO-P₂O₅-SiO₂ in SBF Solution

ZHANG, Xiao-Kai^{*a} CHEN, Xiao-Feng^b WANG, Ying-Jun^b ZHANG, Mei-Mei^c

(^a College of Physics and Electronics, Analysis and Testing Center, Shandong Normal University, Ji'nan 250014)

(^b Institute of Biomaterials, College of Materials Science and Engineering,
South China University of Technology, Guangzhou 510640)

(^c Department of Materials Science and Engineering, Shandong Institute of Light Industry, Ji'nan 250100)

Abstract The porous bioactive material was prepared through secondary sintering of the sol-gel derived glass powder in the system CaO-P₂O₅-SiO₂. The micro-morphologies, crystalline phases and bioactivity were investigated using *in vitro* test, XRD, SEM and FTIR techniques. It was indicated that a few Ca₅(PO₄)₂SiO₄ crystals (5CPS) were already formed in the porous material during sintering at 800 °C for 5 min. In the simulated body fluid (SBF), as the reaction progressed, the originally formed amorphous-phosphorus compound on the surface of glass were mineralized into hydroxy-carbonate-apatite (HCA) nanometer cluster, and interfused mutually until the HCA covering were formed. HCA crystallites were only formed on the glass phase, however not on the surface of 5CPS. This kind of material has the better bioactivity and biodegradability in SBF solution at the constant temperature 37 °C.

Keywords sol-gel technology; bioactivity; simulated body fluid (SBF); hydroxyl-carbonate-apatite (HCA)

* E-mail: minliyil@sohu.com

Received March 23, 2005; revised July 19, 2005; accepted August 29, 2005.

国家自然科学基金(Nos. 50472054, 50272021)资助项目.

溶胶-凝胶生物材料具有特殊的化学组成、纳米团粒结构和微孔,因而比表面积较大,生物活性比其它无机类生物材料更高^[1,2].此外,此类材料的优点还有纯度高、化学组成稳定、制备温度较低等,其应用价值相当高,是一类新型医用生物活性材料,可用于制备骨修复材料及骨组织工程支架^[3];在骨缺损修复中常用到具有一定强度和孔隙率的块状材料.本工作利用溶胶-凝胶生物活性材料粉末二次烧结工艺制备了 CaO-P₂O₅-SiO₂ 系统溶胶-凝胶生物活性块状多孔材料,并用体外实验 (*in vitro*)方法和 XRD, SEM, FTIR 研究了此烧结材料的显微形貌、晶相、生物活性及可降解性能.

1 实验

1.1 材料和方法

1.1.1 生物活性材料粉体的制备

以溶胶-凝胶工艺制得的 CaO-P₂O₅-SiO₂ 系统无机材料粉末为基本原料,添加一定的造孔剂(CaCO₃),经压制和烧结制成具有一定孔隙率的块状烧结合体.

制备溶胶-凝胶生物活性材料粉体的原料为正硅酸乙酯(TEOS, 天津化学试剂一厂, C.P.), 硝酸钙(广州化学试剂厂, A.R.)和磷酸三乙酯(TEP, 上海东懿化学试剂公司, C.P.), 盐酸(广州化学试剂厂, A.R.)作催化剂,所得产物的组成范围(mol%): SiO₂ 55~65, P₂O₅ 4~6, CaO 35~40.

按照各种制剂中分别引入的 SiO₂:P₂O₅:CaO 的摩尔百分比为 60:4:36,依次将上述试剂加入一定量的去离子水中后搅拌 1 h 制成均匀溶液,室温下陈化 72 h,直至形成凝胶;然后置于烘箱中在 70 和 150 °C 分别烘干 72 和 48 h.再放入箱式电阻炉于 700 °C 热处理 3 h,制得细颗粒溶胶-凝胶生物材料,再在玛瑙研钵中研磨后,取 <100 μm 的粉末作为多孔烧结合体的制备原料.

1.1.2 生物活性多孔材料的制备

取已制得的溶胶-凝胶材料粉体(粒度 <100 μm)作差热(DTA)和热失重分析(TG).DTA 曲线中 780 °C 附近的微小放热峰在 TG 曲线中未对应出现热失重,是玻璃析晶所致^[4].

根据上述分析,制定烧结方案:室温开始,按 3 °C/min 升至 280 °C,恒温 20 min,再以 20 °C/min 的

速度升温至 800 °C,恒温 5 min,随炉温降至室温,得到试样.采用 7 wt% 的聚乙烯醇作粘结剂,加入 20 wt% 造孔剂,与粒度小于 100 μm 溶胶-凝胶材料粉体均匀混合,用钢模压制成形,制成直径 10 mm 的圆片,于通风橱内自然干燥后即得所需样品.

1.1.3 生物活性及降解性能的体外实验方法

通过测定材料在模拟体液(SBF)中表面碳酸羟基磷灰石[Ca₅(PO₄)_{3-x}(CO₃)_xOH] (HCA)的生成速度和生成量来综合评价其生物活性.HCA 是人体骨组织的主要无机盐,也是骨修复材料植入体内后与宿主骨形成化学结合的关键物质.本实验中,调节 SBF 的 pH 值在 7.25~7.40,所含各种无机离子浓度与人体血浆基本相同^[5].(见表 1).

采用体外实验方法(*in vitro*),将圆片状试样用尼龙线悬挂于 37 °C 恒温静态 SBF 溶液中(样品表面积与溶液体积之比为 0.1 cm⁻¹),分别浸泡 0, 0.5, 1, 2, 4 及 8 d,利用 SEM (H-8010, 日本 Hitachi 公司)及 FTIR (AVATAR360, 美国 Nicolet 公司)技术研究反应不同时间样品表面形貌特征、产物及机理,以表征烧结合体的生物活性.

同时,利用诱导耦合等离子发射光谱法(inductive couple plasma, ICP)测定了浸泡溶液的 Ca²⁺浓度变化及浸泡不同时间材料的重量变化及浸泡溶液的 pH 值变化,以表征材料在体外生理环境中的降解性能.

2 结果与讨论

2.1 晶相分析

采用粉末 XRD (D/max-wA 型 X 射线衍射仪,日本理学电机公司),分析烧结合体的主晶相(图 1).

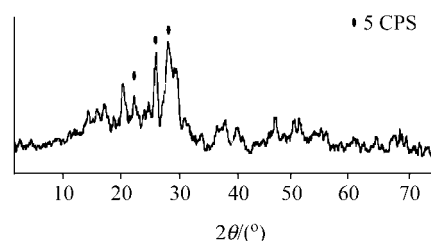


图 1 样品的 XRD 图谱
Figure 1 XRD pattern of sample

表 1 SBF 和人体血浆的各种无机离子浓度(10⁻³ mol·L⁻¹)

Table 1 Inorganic ion concentration of SBF and human blood plasma (10⁻³ mol·L⁻¹)

Ion	Na ⁺	K ⁺	Mg ⁺	Ca ⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Human blood plasma	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5
SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	4.2	1.0	0.5

样品的 XRD 图谱(图 1)表明,材料中有硅磷酸钙 [Ca₅(PO₄)₂SiO₄, 或 5CaO·P₂O₅·SiO₂, 5CPS]微晶析出。

2.2 在 SBF 中浸泡不同时间的表面形貌

图 2 为样品在 SBF 中反应前后 SEM 形貌. 由图 2 可知,经 800 °C 烧结 5 min 后,材料中析出较少的柱状硅磷酸钙 [Ca₅(PO₄)₂SiO₄ 或 5CaO·P₂O₅·SiO₂, (5CPS)], 样品结构主要以尺寸不一、无固定几何外形的玻璃颗粒为主,说明烧结程度较低(见图 2a). 样品在 SBF 中反应 0.5 d 后,其结构中玻璃颗粒表面有粒状产物隆起,粒径约为 2~3 μm (见图 2b). 反应 1 d 后,粒状产物数目增多且长大,粒径达 3~5 μm,有的区域这些产物进一步聚合成球形晶簇(见图 2c). 反应 2 d 后,球形产物增多并连成片(见图 2d). 反应 4 d 后,反应层增厚,厚度达 1 μm 以上,覆盖整个生物玻璃相表面(见图 2e). 反应 8 d 后,球形晶簇进一步长大并相互融合. 将反应 1 d 及 8 d 的样品表面生成产物刮下进行 XRD 分析,1 d (图 3a)反应产物为低结晶度的碳酸羟基磷灰石(HCA). 反应 8 d (图 3b)的样品表面 HCA 的结晶度高于反应 1 d 的样品。

图 4 结果表明,反应前样品表面(曲线 a)中 1239 和

469 cm⁻¹ 处的峰分别是由 P=O 伸缩振动和 Si—O—Si 弯曲振动所致^[6]; 峰形比较弥散反映了材料的无定形结构. 样品在 SBF 中反应 0.5 d 后(曲线 b), 1093 和 1030 cm⁻¹ 处的 2 个峰,分别是由 Si—O—Si 伸缩振动引起; 858 和 557 cm⁻¹ 处的峰分别由于 C—O 伸缩振动和无定形态 P—O 弯曲振动引起^[7]. 结合 SEM 照片(图 2b), 可知此时玻璃颗粒表面粒状产物为含 CO₃²⁻ 的无定形态钙磷化合物. 反应时间增长至 1 d (曲线 c), 出现峰形较好、强度较高的双峰(604 和 561 cm⁻¹). 此成对出现的峰与 1036 cm⁻¹ 处的高强度峰(P—O 伸缩振动)和 860 cm⁻¹ 处的弱峰(C—O 伸缩振动)三者结合可作为碳酸羟基磷灰石(HCA)晶体形成的特征峰^[8]. 可见此时出现的球形晶簇由 HCA 颗粒聚集而成; 原来 Si, O 含量较高的玻璃表面逐渐被含有 Ca, P, OH⁻, CO₃²⁻ 的 HCA 晶体所取代, 反映 Si—O 网络的 1093 和 460 cm⁻¹ 处峰强度的明显降低, 显示了矿化过程. 反应时间 2 d 后(曲线 d, e, f), FTIR 变化不十分显著, 结合 SEM 形貌图 2d, 2e 和 2f, 可知晶态 HCA 随时间延长融合成片, 形成较厚的覆盖层。

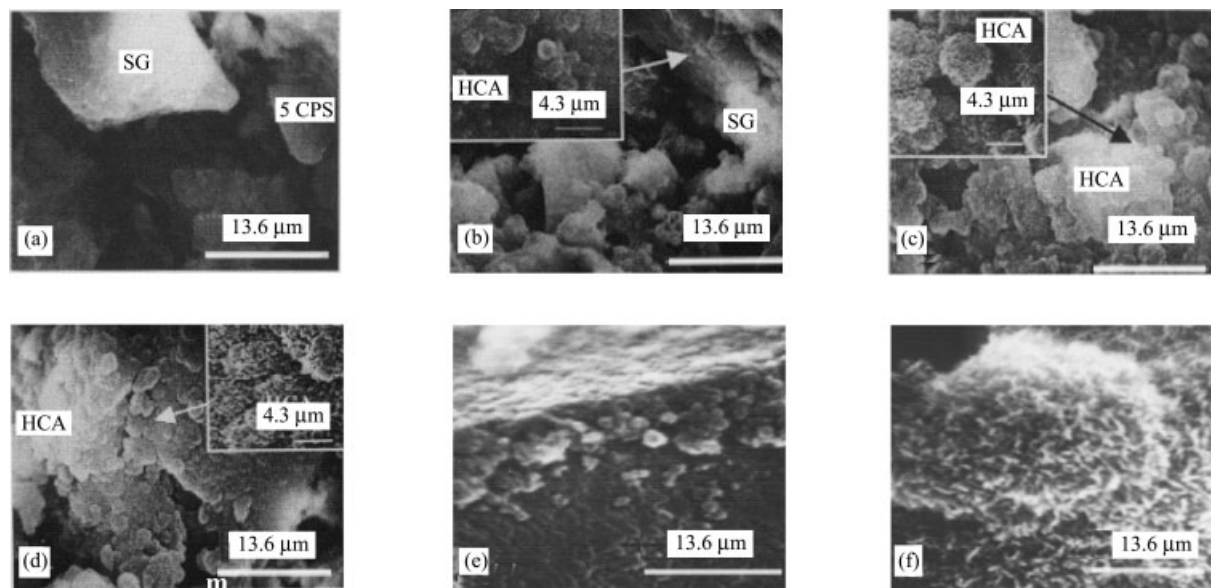


图 2 样品在 SBF 中反应不同时间的 SEM 形貌照片

Figure 2 SEM micrographs of samples reacted with SBF for different times

(a) 0 d; (b) 0.5 d; (c) 1 d; (d) 2 d; (e) 4 d and (f) 8 d

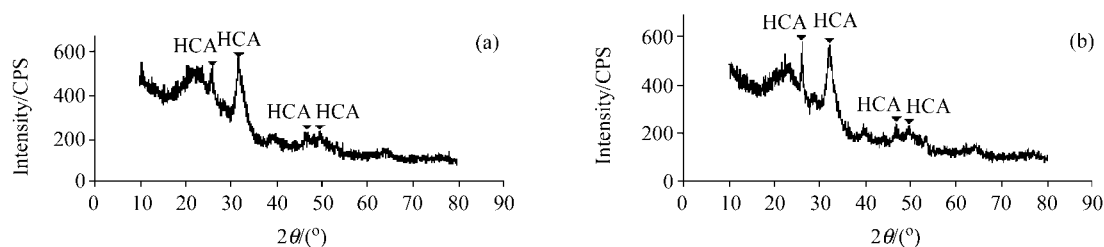


图 3 样品在 SBF 中反应 1 d (a) 和 8 d (b) 的 XRD 图谱

Figure 3 XRD patterns of samples reacted with SBF for 1 d (a) and 8 d (b), respectively

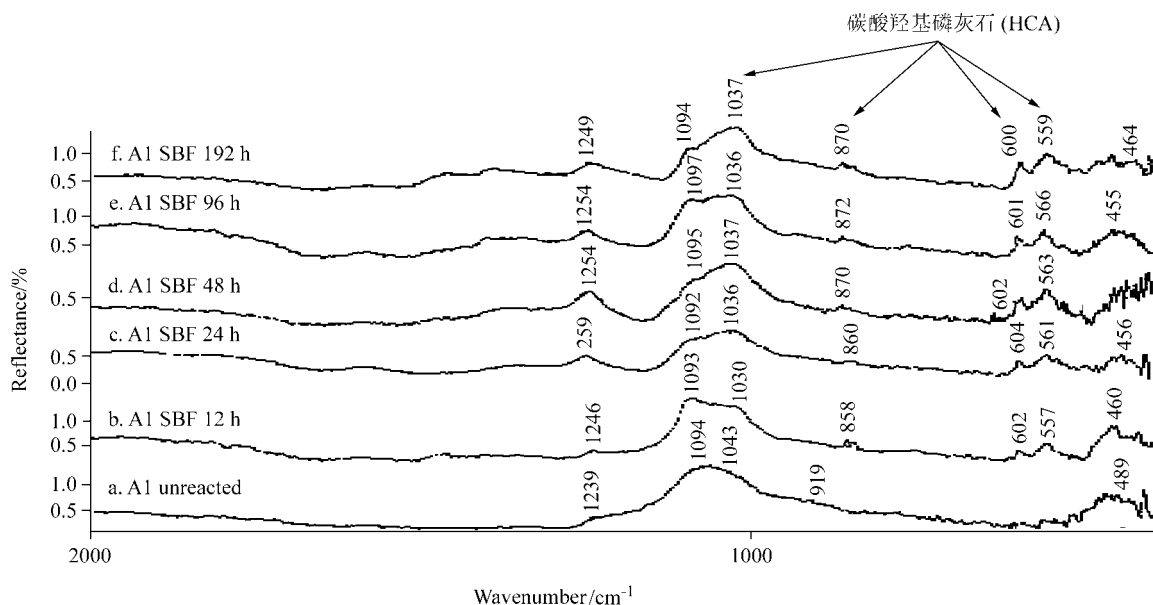


图4 样品在 SBF 中反应不同时间其表面的 FTIR 图谱
 Figure 4 FTIR spectra of sample reacted with SBF solution for different times
 (a) 0 d; (b) 0.5 d; (c) 1 d; (d) 2 d; (e) 4 d; (f) 8 d

采用 SEM 和 FTIR 技术测试, 可发现, HCA 仅在玻璃相(SG 相)表面生成, 在 5CPS 晶体表面始终未有 HCA 生成, 因此矿化形成的 HCA 层不能完全覆盖材料表面. 由此可见, 5CPS 对 HCA 的形成具有明显的抑制作用. 样品在 SBF 中(*in vitro*)测试结果显示样品具有较高的生物活性.

2.3 在 SBF 溶液中的降解性能及矿化机理

材料在 SBF 溶液中所发生的表面化学反应, 源于溶液中的 H_3O^+ 与玻璃表面的 Ca^{2+} 发生离子交换. Ca^{2+} 的滤出及 H_3O^+ 进入玻璃表面导致溶液中的 Ca^{2+} 浓度升高(图 5)及溶液中 OH^- 相对浓度增高, 从而使溶液的 pH 值增至 7.5~8.2(图 6). 同时, 由于 Ca^{2+} 进入溶液而使玻璃表面 SiO_2 相对含量增高. 伴随着 H_2O 对玻璃 Si-O-Si 网络的断键作用, 使玻璃表面很快生成结构疏松的含水硅酸凝胶层 [$\text{Si}(\text{OH})_4$ 或 $\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]. 此含水硅酸凝胶层可部分溶解进入溶液, 导致溶液的 Si 浓度增高. 同时, 水对玻璃中 P-O 网络的侵蚀也导致其网络断键, 使结构中的 P 元素以 H_2PO_4^- , HPO_4^{2-} 和 PO_4^{3-} 三种形式进入溶液, 溶液中的 P 总量也随之升高. 材料结构中 Ca, P 及 Si 元素溶解进入溶液, 引起材料的重量损失(图 7).

图 7 为材料在 SBF 溶液中的重量变化曲线. 其中重量变化按下式计算:

$$\Delta W_s = (W_D - W_0) / S$$

式中 ΔW_s 为试样圆片在 SBF 溶液中的单位面积的

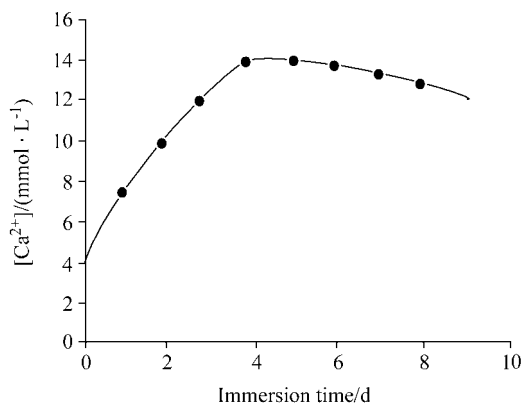


图5 SBF 浸泡液中的 Ca^{2+} 浓度随样品浸泡时间的变化
 Figure 5 Changes in concentration of Ca^{2+} in SBF solution with immersion time

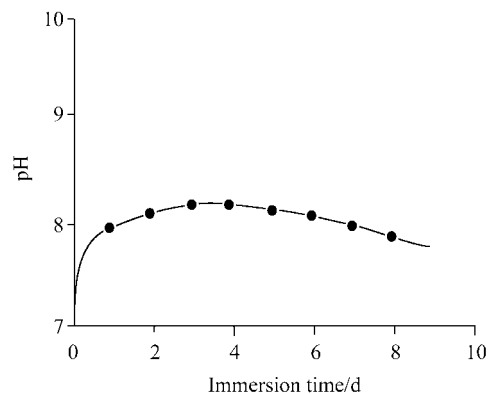


图6 SBF 浸泡液的 pH 值随样品浸泡时间的变化
 Figure 6 Changes in pH values of SBF solution with immersion time

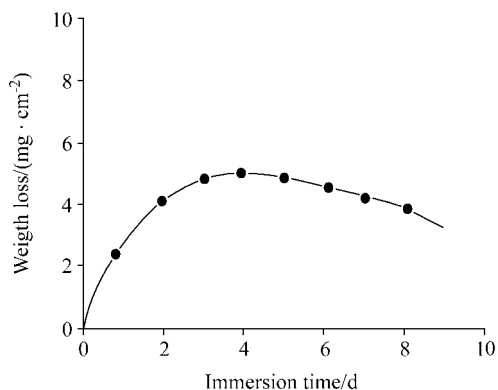


图7 样品在 SBF 溶液中的重量变化曲线

Figure 7 Curve of weight loss of sample in SBF

重量变化(mg/cm²); W_D 为浸泡不同时间的试样重量(mg); W_i 为试样未浸泡时的原始重量(mg); S 为圆片的表面积(cm²).

由图7可见, 样品在 SBF 溶液中的失重在反应3 d时接近最大值, 然后重量开始略有增加. 反应初期样品失重是由于材料表面 Ca²⁺ 与 SBF 溶液中的 H₃O⁺ 离子发生迅速的离子交换所致, 此离子交换反应以及水对玻璃 ≡Si—O—Si≡ 网络的直接破坏使玻璃表面形成的硅酸凝胶层对于诱导 HCA 析出具有重要意义, 是 HCA 的有利成核位. 由于此硅酸凝胶层含有大量的 ≡Si—OH 基团, OH⁻ 使材料表面形成较强的负电层, 该负电层对溶液中的 Ca²⁺ 有很强的吸引力, 使其富集于 OH⁻ 负电层附近. Ca²⁺ 对溶液中的 H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻ 和 PO₄³⁻ 又有很强的束缚作用, 从而导致含水钙磷化合物的析出, 此富 CaO-P₂O₅ 层覆盖在硅酸凝胶层之上. 通过 CO₃²⁻ 等离子的掺杂及富 CaO-P₂O₅ 层的脱水、聚合和晶化作用, 使该层最终矿化成为结晶态的类骨碳酸羟基磷灰石(HCA).

在诱导成核作用下, HCA 在 pH 值大于 7.4 的 SBF 溶液中的析出是一个自发过程. 一旦沉析过程发生, 固相将发生自发的自催化, 随着浸泡时间的延长以及其它离子的掺杂, 初期形成的钙磷化合物经过一系列组成、结构上的调整及转化, 最终矿化成为类骨的碳酸羟基磷灰石微晶(HCA), 这是一种热力学上的稳定相.

由于 HCA 的形成导致材料失重速度降低, 甚至重量有所增加. 由于硅酸凝胶层只形成于此烧结体中的玻璃颗粒表面, 结晶相(5CPS)表面不生成硅酸凝胶层, 亦不会诱导 HCA 的形成. 所以随着材料烧结温度及晶化程度提高, 材料在 SBF 溶液中形成的表面 ≡Si—OH 基

团数量会有所下降, 从而使 HCA 晶核形成数量减少.

由此可知, 样品反应后期重量增加是由于其表面形成了较多的 HCA.

3 结论

1. CaO-P₂O₅-SiO₂ 系统溶胶-凝胶生物材料经 800 °C 烧结 5 min 后, 可析出少量硅磷酸钙[Ca₅(PO₄)₂SiO₄, 5CPS]微晶.

2. 烧结的材料样品在 37 °C 的模拟体液(SBF)中恒温反应 12 h, 其样品表面可形成粒状(粒径约 2~3 μm)无定形态钙磷化合物. 随着反应时间的延长, 此钙磷化合物逐渐矿化成由纳米尺寸 HCA 微晶构成的直径约 3~5 μm 的球形 HCA 晶簇, 并融合成片, 形成类骨的 HCA 覆盖层.

3. 在 SBF 中浸泡, 无定形态钙磷化合物和晶态 HCA 只在烧结体的玻璃相(SG 相)表面生成, 在 5CPS 微晶相表面未发现 HCA 及其覆盖层. 可见 5CPS 微晶对 HCA 的形成起抑制作用; 且 5CPS 比例越低, 材料的生物活性越高.

4. 本文所研制的 CaO-P₂O₅-SiO₂ 系统溶胶-凝胶生物活性多孔材料在 37 °C 恒温的 SBF 溶液中具有较高的生物活性和可降解性能.

References

- 1 Hench, L. L. A. *Biomaterials* **1998**, *19*, 1419.
- 2 Greenspan, D. C.; Zhong, J.-P.; Chen, X.-F.; LaTorre, G. P. *J. Bioceramics* **1997**, *10*, 391.
- 3 Izquierdo-Barba, I.; Salinas, A. J.; Vallet-Reg, M. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *51*, 191.
- 4 Chen, X.-F.; Wang, Y.-J.; Zhao, N.-R.; Zheng, Y.-D.; Ye, J.-D.; Zhang, X.-K.; Zhang, M.-M. *J. Chin. Electron Microscopy Soc.* **2003**, (4), 304 (in Chinese). (陈晓峰, 王迎军, 赵娜如, 郑裕东, 叶建东, 张晓凯, 张梅梅, 电子显微学报, **2003**, (4), 304.)
- 5 Ohtsuki, C.; Kokubo, T.; Yamamuro, T. *J. Non-Cryst. Solids* **1992**, *84*, 143.
- 6 Renina, M.; Filgueiras, T.; Hench, L. L. *J. Biomed. Mater. Res.* **1993**, *27*, 1485.
- 7 Renina, M.; La Torre, G.; Hench, L. L. *J. Biomed. Mater. Res.* **1993**, *27*, 445.
- 8 Pereira, M. M.; Clark, A. E.; Hench, L. L. *J. Biomed. Mater. Res.* **1994**, *28*, 693.