

文章编号: 1004 - 0609(2004) 09 - 1604 - 05

有机功能团及矿化液离子对羟基磷灰石晶体生长的影响^①

黄苏萍, 黄伯云, 周科朝, 李志友

(中南大学 粉末冶金国家重点实验室, 长沙 410083)

摘 要: 通过 X 射线衍射(XRD)、扫描电镜(SEM)等分析手段研究了不同有机功能团和无机离子对矿化相的形核、晶体结构、形貌和结晶学定向生长的调控作用及机理。结果表明: 1) 自组装有机膜能加速 HAP 晶体的形核速率, 且有机膜功能团的种类及结构对 HAP 晶体的形核与取向生长起决定作用。功能团为 $-\text{NH}_2$ 的有机膜所诱导的晶体为定向生长且规则排列的纳米片状 HAP 晶体; $-\text{SO}_3^-$ 所诱导的晶体以辐射方式生长, 晶体的排列有一定规律; 在十二烷基磷酸酯有机膜存在下, 所诱导的晶体也呈片状, 但晶体的排列和结晶学取向无一定规则。2) 矿化液中无机离子对 HAP 晶体的生长和形貌有显著影响。 Cl^- 离子通过与 HAP 晶体中的 OH^- 离子进行交换, 并参与 HAP 晶体的结晶, 从而改变 HAP 晶体的结晶习性, 使生成的 HAP 呈片状; Mg^{2+} 离子通过争夺有机膜上的形核位点和占据 HAP 晶体表面的生长点或进入 HAP 晶体间隙, 降低 HAP 晶体的形核速率, 并细化晶粒; SO_4^{2-} 离子通过在 HAP 表面吸附, 使 HAP 晶体尺寸细化, 且呈团簇状生长。

关键词: 生物矿化; 自组装有机膜; 羟基磷灰石; 晶体生长

中图分类号: O 781; Q 692

文献标识码: A

Effect of organic groups and inorganic ions on crystallization of hydroxyapatite

HUANG Su-ping, HUANG Bai-yun, ZHOU Ke-chao, LI Zhi-you

(State Key Laboratory for Powder Metallurgy,

Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: In order to further understand the formation mechanism of natural bone and to prepare better biomimetic biomaterials with high performance, three kinds of self-assemble organic films with different head groups and three kinds of inorganic ions existing in the body fluid, were used to study the growth behavior of HAP crystal by X-ray diffraction(XRD), scanning electron microscopy(SEM). The results show that, 1) the presence of organic films can accelerate the HAP crystal nucleation, but different organic film can induce HAP crystal with different growth style and crystal morphology. The HAP induced by the film with $-\text{NH}_2$ head groups is the nanoscale platelet crystal with regular orientation and order array. On the film with $-\text{SO}_3^-$ head groups, radiated growth style of HAP crystal is mediated. While the HAP crystal induced by the film with $-\text{PO}_4^{3-}$ head groups has neither regular orientation nor order growth style. 2) The inorganic ions of the calcification solution play great roles in controlling HAP crystal growth rate and morphology. Platelet-shape HAP crystal is always formed in the presence of Cl^- ions by exchanging site with OH^- ions. Mg^{2+} ions can inhibit the HAP crystal nucleation and growth rate due to Mg^{2+} taking up the nucleation site of organic film or the growth site of HAP surface, while in the presence of SO_4^{2-} ions, HAP crystal grows with the style of cluster shape and its size is very little due to SO_4^{2-} ions absorbing on the surface of HAP crystal.

Key words: biomineralization; self-assembled organic film; hydroxyapatite; crystal growth

① 基金项目: 国家 863 计划资助项目[2003AA302210]; 教育部跨世纪人才基金资助项目[教技函[2002]8 号]; 湖南省杰出中青年专家科技专项计划资助项目[02JJYB008], 中南大学学位论文创新选题立项资助项目[030615]
收稿日期: 2003 - 12 - 01; 修订日期: 2004 - 02 - 11 作者简介: 黄苏萍(1974 -), 女, 博士.
通讯作者: 黄苏萍, 博士; 电话: 0731 - 8836264; 传真: 0731 - 8710855; E-mail: xiaoqihsp@263.net

人体骨中羟基磷灰石主要以纳米片状晶体的形式存在, 其结晶学 c 轴平行于胶原纤维方向定向生长^[1-2]。这种结构是一种理想的等强度优化结构, 具有优良的生物力学性能。因此, 模仿人体骨中 HAP 晶体生长过程, 有望制备出优质的 HAP 生物复合材料。人体骨中 HAP 晶体的规则取向和有序排列依赖于有机基质对晶体的调制作用, 即通过有机基质的极性功能团与无机离子在界面上的相互作用, 从分子水平控制晶体的形核、生长和结晶学取向^[3-10]。深入理解有机基质对 HAP 晶体生长与形貌的调制作用, 有利于揭示人体骨中 HAP 晶体的生长机理, 从而为制备优质 HAP 生物仿生复合材料提供理论依据。基于自组装有机单分子膜诱导晶体生长过程, 不仅操作简单, 而且可从分子水平上原位了解晶体的取向生长。因此, 本文中作者采用自组装有机膜作为模板, 通过生物矿化方法, 研究十六胺等几种有机膜及矿化液中阴阳离子对 HAP 晶体结构、形核、形貌和结晶学定向生长的调控作用, 并分析其调制机理。

1 实验

1.1 HAP 生物矿化

将 d 15 mm × 1 mm 的纯 Ti 片依次用丙酮、乙醇和蒸馏水超声清洗后, 70 ℃下在 1 mol/L NaOH 溶液中浸泡 24 h, 再用蒸馏水清洗。将清洗后的 Ti 片分为两组, 一组直接浸入矿化液中进行生物矿化, 另一组在 Ti 片上覆盖一层有机膜, 其制备过程为: 将一定量的十六胺、十二烷基硫酸酯、十二烷基磷酸酯溶于氯仿中, 通过自组装方法使其在 Ti 片上形成一层有机膜, 再将覆盖有有机膜的钛片浸入矿化液中进行生物矿化, 矿化液离子浓度如表 1 所示。矿化 2 h 后, 将 Ti 片取出, 并在 100 ℃下干

燥 2 d 后, 进行检测。

1.2 表征

将矿化后的 Ti 片经喷金后, 直接在 JSM-5600LV 扫描电镜 (SEM) 下进行形貌观察。并通过 D98 X 射线分析矿化相晶体结构。XRD 分析所用样品是将 Ti 片上的晶体粉末刮下所得。

2 结果与讨论

2.1 有机单分子膜对羟基磷灰石晶体生长与形貌的影响

2.1.1 晶体成分

图 1 所示为矿化相的 X 射线衍射图。结果表明: 无有机膜时, 生成的晶体主要为羟基磷灰石 HAP 和磷酸八钙 OCP 的混合物(图 1(a)); 而在有机膜存在的情况下, 所得晶体为纯的羟基磷灰石(图 1(b), (c) 和(d))。Klein 等^[11]的研究表明, 羟基磷灰石在 $pH > 4.2$ 的溶液中是一种最稳定的钙磷酸盐。在一般情况下, 只有在碱性条件下通过高温煅烧才能得到纯的稳定的羟基磷灰石 HAP^[12-14]。在中性或弱酸性溶液中, 通过化学方法合成纯的结晶良好的 HAP 晶体较困难^[13, 15]。而在本实验中, 这 3 种有机膜在 $pH = 7.4$ 的情况下就能诱导出纯的结晶良好的 HAP 晶体, 说明它们有很强的诱导 HAP 晶体形核和生长的能力。

2.1.2 晶体形貌

图 2 所示为 3 种有机膜存在下生成的晶体的 SEM 形貌。实验表明: 在有机膜存在条件下, 晶体形核和晶体生长速率均很快, 2 h 后就有大量的晶体生成, 但生成的晶体形貌和结晶学取向相差很大。在十六胺有机膜存在下, 生成的晶体为宽 25 μm , 厚大约 50 nm 的片状 HAP 晶体, HAP 晶体

表 1 矿化液中各离子的浓度
Table 1 Ion concentration in calcified solution

Sample	Organic film	$c(Ca^{2+}) /$ (mmol·L ⁻¹)	$c(H_2PO_4^-) /$ (mmol·L ⁻¹)	$c(Mg^{2+}) /$ (mmol·L ⁻¹)	$c(Cl^-) /$ (mmol·L ⁻¹)	$c(SO_4^{2-}) /$ (mmol·L ⁻¹)
1 [#]	Hexadecylamine	5	2.994	—	—	—
2 [#]	Dodecylvitriolic ester	5	2.994	—	—	—
3 [#]	Dodecylphosphatic ester	5	2.994	—	—	—
4 [#]	Hexadecylamine	5	2.994	1.5	—	—
5 [#]	Hexadecylamine	5	2.994	—	1.5	—
6 [#]	Hexadecylamine	5	2.994	—	—	1.5

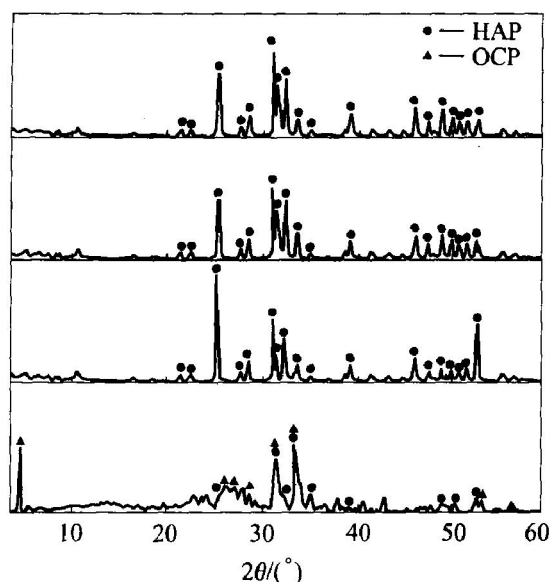


图 1 矿化相的 X 射线衍射图

Fig. 1 XRD patterns of calcified phases

- (a) —Without organic film;
 (b) —Hexadecylamine organic film;
 (c) —Dodecylvitriolic ester film;
 (d) —Dodecylphosphatic ester film

排列规则, 且均垂直有机膜定向生长(图 2(a))。在十二烷基硫酸酯有机膜存在下, 生成的晶体以辐射方式生长, 晶体的排列有一定规律(图 2(b))。在十二烷基磷酸酯有机膜存在下, 所诱导的晶体也呈片状, 但晶体的排列和结晶学取向无一定规则(图 2(c))。由图 2 可知, 有机膜的功能团种类和结构对 HAP 晶体形核和生长存在显著影响。

2.2 矿化液阴、阳离子对羟基磷灰石晶体生长与形貌的影响

图 3 所示为不同阴、阳离子存在下, 生成的 HAP 晶体的 SEM 形貌。由图 3 可知, Cl^- 离子存在下, 生成的 HAP 呈片状; Mg^{2+} 离子存在下, HAP 晶体形核和生长速度非常慢, 只有少量晶体生成, 且晶粒尺寸很小; 而 SO_4^{2-} 离子存在条件下, 不仅晶体尺寸得到细化, 而且 HAP 晶体呈团簇状生长。

3 讨论

3.1 有机/无机界面分子识别机理

生物矿化的基本特征在于无机晶体在有机基质调制下成核与生长的有序性, 它主要通过有机基质与无机离子在界面处的有效分子识别来实现。有机



图 2 不同有机膜存在下形成的 HAP 晶体的 SEM 形貌

Fig. 2 SEM morphologies of HAP crystal grown on different organic films

- (a) —Hexadecylamine film;
 (b) —Dodecylvitriolic ester film;
 (c) —Dodecylphosphatic ester film

基质规则的预结构不仅为矿物沉积提供了结构骨架, 而且为各种官能团与界面处无机离子相互作用提供适宜场所, 从而从分子水平上直接控制矿物的形核和生长。

有机/无机界面的高容量是控制成核的关键。在本实验中, 中性条件下 3 种有机膜上的功能团均带电, 这些带电的功能团作为形核位点, 会吸引溶液中的无机离子在其周围聚集, 使其超过形成临界晶核所需的数目, 从而能促进 HAP 晶体的形核。

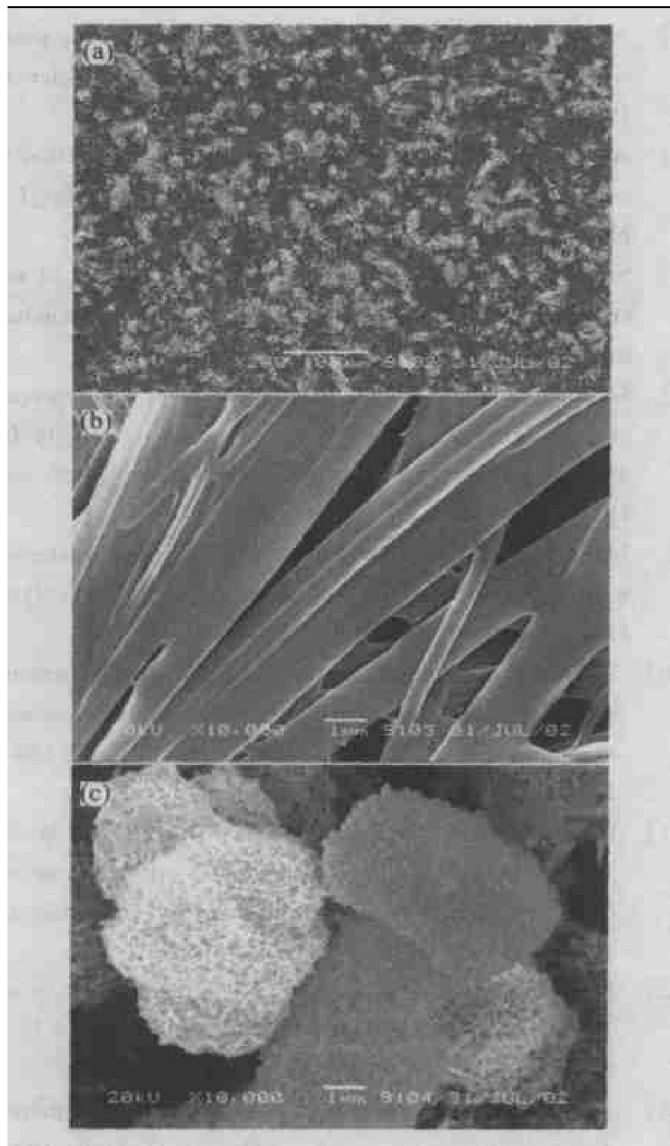


图 3 矿化液中不同阴、阳离子存在时生成的羟基磷灰石晶体的 SEM 形貌

Fig. 3 SEM morphologies of HAP crystal in different inorganic ions
(a) $-\text{Mg}^{2+}$; (b) $-\text{Cl}^-$; (c) $-\text{SO}_4^{2-}$

因此 3 种有机膜的存在均加速 HAP 晶体的形核。

另一方面, 生物矿化过程中, 有机/无机界面上无机晶体的有效识别和取向生长, 通常是通过有机/无机界面上的分子之间存在的结构与立体化学互补来实现, 即当晶体晶面中的离子晶格与界面上排列的功能团之间存在几何匹配关系, 则此晶面被有机膜所识别, 从而使该晶面在有机膜上择优取向形核。十六胺自组装有机膜上的 $-\text{NH}_3^+$ 功能团具有规则的结构, 其极性、电荷密度和结构与 HAP 晶体(0001)面的离子晶格结构及所产生的静电场具有非常好的匹配关系, 导致成键亲和降低, 从而使 HAP 晶体的(0001)面在十六胺有机膜上择优取向生长^[16]。而另外两种有机膜与 HAP 晶体之间也许不

存在这种匹配关系, 因此诱导生成的 HAP 晶体杂乱无章, 无一定取向。

3.2 无机离子调控 HAP 晶体生长机理

无机离子对 HAP 晶体在有机膜下形核、生长和形貌有显著影响。在本实验中, Mg^{2+} 的存在降低 HAP 晶体形核速率, 细化晶粒尺寸, 这主要与体系中 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 离子本身的生化特性有关, 主要表现在两个方面: 1) 有机膜对盐调制析出的关键在于有机膜上周期性的官能团能吸附溶液中的离子, 并形成一定的周期结构, 从而有利于 HAP 的形核和长大。 Mg^{2+} 离子和 Ca^{2+} 离子电荷数相同, 离子半径相近, 它们之间必然存在相互竞争, 争夺有机膜上的形核位点, 当有机膜上的形核位点被 Mg^{2+} 离子占据时, 有机膜对 HAP 晶体的调制作用就会受到阻碍, 导致 HAP 晶体的形核数减少, 形核速度变缓。2) HAP 晶体中 Ca^{2+} 与阴离子存在两种结构, 一种是 Ca^{2+} 与 6 个 P-O_4 四面体中 9 个顶角上的 O^{2-} 相联结, Ca^{2+} 的配位数为 9, 这种 9 配位构成一种络阴离子(Ca_I 位), 另一种是由阴离子 OH^- 与上下两层 6 个 Ca^{2+} 构成 OH-Ca_6 阳离子八面体, 它与上下两层 6 个络阴离子 $\text{CaP}_3\text{O}_{24}$ 相联构成绕 c 轴呈 6 次对称分布的六边环(Ca_II 位)。HAP 晶体中的 Ca^{2+} 很容易与溶液中的一价或二价阳离子发生交换, 从而改变 HAP 晶体的生长习性。在本实验中, Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 离子共存, Mg^{2+} 离子的电荷和尺寸同 Ca^{2+} 离子相似, Mg^{2+} 离子很容易进入 HAP 晶体的间隙中或占据 HAP 晶体表面的生长点, 从而阻止 HAP 晶体的生长。但 Mg^{2+} 离子究竟是占据了 HAP 晶体中 Ca_I 位置还是 Ca_II 位置, 目前尚不清楚, 还有待于进一步研究。

HAP 晶体中的 OH^- 很容易与溶液的一价或二价阴离子发生交换, 在这些离子中, 电荷与尺寸同构晶离子相似的, 很容易与晶体的构晶离子 OH^- 交换; 电荷与尺寸同构晶离子不匹配的, 也能与表面中的构晶离子交换, 被 HAP 晶体吸附, 这种吸附和交换能改变 HAP 晶体的生长习性。 Cl^- 离子存在条件下生成的 HAP 呈片状, 这主要是由于 Cl^- 离子与 OH^- 离子的电荷与尺寸相似, 很容易与晶体的构晶离子 OH^- 发生交换, 参与 HAP 晶体的结晶, 从而改变 HAP 上各晶面的生长习性, 导致 HAP 晶体皆呈片状生长。 SO_4^{2-} 离子的电荷与尺寸同构晶离子 OH^- 不匹配, 但能与 HAP 表面中的构晶离子 OH^- 交换并吸附, 从而使 HAP 晶体尺寸细化, HAP 晶体

呈团簇状生长。

4 结论

1) 有机膜的存在使有机/水溶液界面存在大量电荷,达到局域过饱和浓度,促进羟基磷灰石晶体快速形核;但不同有机膜诱导下生成的HAP晶体形貌不同。十六胺自组装有机膜上的 $-NH_3^+$ 功能团的极性、规则结构和电荷密度与HAP晶体(0001)面的离子晶格结构及所产生的静电场具有非常好的匹配关系,因此生成的HAP晶体的(0001)面在十六胺有机膜上择优取向生长。在十二烷基硫酸酯有机膜存在条件下,生成的晶体以辐射方式生长,晶体的排列有一定规律。在十二烷基磷酸酯有机膜存在条件下,所诱导的晶体也呈片状,但晶体的排列和结晶学取向无一定规则。因为后两种有机膜与HAP晶体之间不存在匹配关系,因此诱导生成的HAP晶体杂乱无章,无一定取向。

2) 在十六胺有机膜存在条件下,矿化液中不同阴、阳离子的存在对HAP晶体形貌影响显著。 Cl^- 离子的存在使生成的磷酸钙盐呈片状生长, Mg^{2+} 离子的存在会降低磷酸钙盐晶体的生长速度,而 SO_4^{2-} 离子的存在则使HAP晶体呈团簇状生长。

3) Mg^{2+} 离子进入HAP晶体的间隙中或占据HAP晶体表面的生长点,从而阻止HAP晶体的生长。在 Cl^- 离子存在条件下,生成的磷酸钙盐呈片状,这主要与 Cl^- 离子参与HAP晶体结晶有关。 SO_4^{2-} 离子吸附在HAP晶体表面,从而使HAP晶体尺寸细化,且HAP晶体呈团簇状生长。

REFERENCES

- [1] Weiner S, Wagner H D. The material bone: structure — mechanical function relations[J]. *Annu Res Mater Sci*, 1998, 28: 271 - 298.
- [2] Mann S. Molecular recognition in biomineralization[J]. *Nature*, 1988, 332(10): 119 - 124.
- [3] Archibald D D, Qadri S B, Gaber B P. Modified calcium deposition due to ultrathin organic films on silicon substrates[J]. *Langmuir*, 1996, 12: 538 - 546.
- [4] Didymus J M, Mann S, Benton W J, et al. Interaction of Poly(α , β -aspartate) with octadecylamine monolayers: adsorption behavior and effects on $CaCO_3$ crystallization[J]. *Langmuir*, 1995, 11(8): 3130 - 3136.
- [5] Aksay I A, Trau M, Mann S, et al. Biomimetic pathway for assembling inorganic thin films[J]. *Science*, 1996, 273(16): 892 - 896.
- [6] Archibald D D, Mann S. Template mineralization of self-assembled anisotropic lipid microstructures[J]. *Nature*, 1993, 364(29): 430 - 433.
- [7] Stapp S I, Braun P V. Molecular manipulation of microstructures: biomaterials, ceramic, and semiconductors[J]. *Science*, 1997, 277(29): 1242 - 1248.
- [8] Sandra R, Apley W H, English D S, et al. Selection of peptides with semiconductor binding specificity for directed nanocrystal assembly[J]. *Nature*, 2000, 405(8): 665 - 668.
- [9] Mann S, Qzin G A. Synthesis of inorganic materials with complex form[J]. *Nature*, 1996, 382(25): 313 - 318.
- [10] Firouzi A, Kumar D, Bull L M, et al. Cooperative organization of inorganic surfactant and biomimetic assemblies[J]. *Science*, 1995, 267(24): 1138 - 1143.
- [11] Klein C P A T, de Blicke Hogerworst J M A, Wolke J G C, et al. studies of solubility of different calcium phosphate ceramic particles in vitro[J]. *Biomaterials*, 1990, 11: 509 - 512.
- [12] Ebrabimpour E, Johnson M, Richardson C F, et al. The characterization of HA precipitation[J]. *J Colloid Interface Sci*, 1993, 139: 158 - 163.
- [13] Lazic S. Microcrystalline hydroxyapatite formation from alkaline solutions[J]. *J Crystal Growth*, 1995, 147: 147 - 154.
- [14] Tas A C, Korkusuz F, Timucin M, et al. An investigation of the chemical synthesis and high-temperature sintering behaviour of Calcium hydroxyapatite (HA) and tricalcium phosphate (TCP) bioceramic[J]. *J Mater Sci: Mater Med*, 1997, 8: 91 - 96.
- [15] Madsen H E L, Thodvadarsen G. Precipitation of calcium phosphate from moderately acid solutions[J]. *J Crystal Growth*, 1984, 66: 369 - 376.
- [16] HUANG Sh-ping, ZHOU Ke-chao, LIU Yong, et al. Controlled crystallization of hydroxyapatite under hexadecylamine self-assembled monolayer[J]. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2003, 13(3): 595 - 599.

(编辑 杨 兵)