



羟基磷灰石纳米线形成过程

刘昌毅, 李炜祥, 朱 政, 孔祥东

(浙江理工大学, a.材料科学与工程学院; b.浙江-毛里求斯(浙理)生物医用材料与组织工程联合研究中心, 杭州 310018)

摘 要: 羟基磷灰石(Hydroxyapatite, HAp)是人体骨骼、牙齿的主要无机成分,其性能与其结构、形貌密切相关。利用油酸钙为原料制备羟基磷灰石纳米线(Hydroxyapatite nanowires, HANWs),分析高温高压水热条件下 HANWs 的生长过程,并采用 SEM、FTIR、XRD 及 TG 表征方法对中间产物进行形貌、物相及热稳定性表征。结果表明:随着反应时间延长,反应产物形貌由初始颗粒状逐渐向线性转变,且分散性和均匀性逐渐提高,磷酸钙纳米线相由无定形磷酸钙(Amorphous calcium phosphate, ACP)逐渐向 HAp 转变,由于排斥性体积效应所形成的纳米线平行排列转变为结晶度较高的材料。

关键词: 羟基磷灰石纳米线;水热法;时间变量;形成过程

中图分类号: R318.08

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2022)01-0009-07

Formation process of hydroxyapatite nanowires

LIU Changyi, LI Weixiang, ZHU Zheng, KONG Xiangdong

(a. School of Materials Science & Engineering; b. Zhejiang-Mauritius (Zhejiang) Biomedical Materials and Tissue Engineering Joint Research Center, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract: Hydroxyapatite (HAp) is the main inorganic component of human bones and teeth. Its properties are closely related to its structure and morphology. In this study, hydroxyapatite nanowires (HANWs) were prepared by using calcium oleate as the raw material, and the growth process of HANWs under high temperature and high pressure hydrothermal conditions was studied. In addition, the morphology, phase and thermal stability of the intermediates were characterized by SEM, FTIR, XRD and TG. The results show that with the increase of reaction time, the morphology of the product gradually changed from the initial granular shape to linear shape, and the dispersion and uniformity gradually improved. The phase of calcium phosphate nanowires gradually changed from amorphous calcium phosphate (ACP) to HAp, and the nanowires formed due to the repulsive volume effect changed into materials with higher crystallinity.

Key words: hydroxyapatite nanowires; hydrothermal method; time variable; formation process

0 引 言

羟基磷灰石(Hydroxyapatite, HAp),作为人体主要无机组成材料,具有良好的生物相容性^[1]。目前已发展多种 HAp 制备方法,主要包括湿化学法、

干化学法、微波辅助法^[2]和超声波法^[3],其中湿化学法反应条件温和^[4]。水热法是湿化学法的一种,其制备的 HAp 具有结晶性好、产物纯度高、粒径均匀等优点^[5]。Manafi 等^[6]以 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 为原料,通过水热法合成磷酸钙,制

收稿日期:2020-05-26 网络出版日期:2021-04-28

基金项目:国家自然科学基金项目(51672250);浙江省重点研发计划(2019C04020)

作者简介:刘昌毅(1994-),男,辽宁营口人,硕士研究生,主要从事生物材料方面的研究。

通信作者:孔祥东, E-mail: kxd01@126.com

备了直径为 25~50 nm、长度为(120±30) nm 的棒状 HAp; Zhang 等^[7]改变 Ca^{2+} 浓度和溶液 pH 值等参数,在溶液 Ca/P 为 1.67~2、pH 值 2~3 的水热法反应条件下,获得了平均长度为 96~140 μm 、长径比为 96~136 的均匀晶须状 HAp; Xiong 等^[8]利用水热法制备纳米银(AgNP)修饰的羟基磷灰石纳米线(Hydroxyapatite nanowires, HANWs),并以其为原料制备了高柔韧且具有抗菌活性的纸张。崔正阳等^[9]利用水热法合成羟基磷灰石/碲化镉荧光探针,使其探针成为一种检测铜离子浓度的理想材料。

HAp 的形貌与功能密切关联,球状、多孔或中空形貌的 HAp 在细胞靶向治疗中可实现对药物的可控释放^[10]。线性或棒状等具有一维结构的 HAp,具有较强的吸附性能,在吸附材料领域有潜在应用^[11]。例如:Lu 等^[12]报道了以油酸钙为前驱体制备超长 HAp 纳米线的方法,制备的 HAp 具有高柔韧性、长度达 100 μm 以上;以其为原料制备的耐火纸可耐 1000 $^{\circ}\text{C}$ 以上高温,并具有疏水性能^[13]、抗菌性^[8]、生物活性^[14]。Yang 等^[15]利用水热法合成的超细 HAp 纳米线与聚丙烯酸钠(Sodium polyacrylate, PAAS)混合,以高度有序的 HANWs 材料为“硬砖”、PAAS 为“砂浆”,得到了仿生类珍珠层结构。Han 等^[16]研制出一种双面组织诱导再生膜,膜的一侧是有助于骨细胞增殖、再生的 HANWs,另一侧是具有疏水性能的 PLA 膜,该膜可在防止上皮细胞增生的同时,促进骨组织再生。

HANWs 的应用广泛,但是目前对 HANWs 生长过程尚未有系统的研究报道。因此,本文通过调控反应时间,分析 HAp 纳米线制备过程,通过 SEM、FTIR、XRD 和 TG 等表征方法对其中间产物的形貌、结晶性等理化性质进行分析,分析 HANWs 形成过程并探讨其形成机制。

1 实验部分

1.1 试剂与材料

油酸和氯化钙,购自 Aladdin 生化科技公司;无水乙醇、氢氧化钠和磷酸二氢钠二水合物,购自上海泰坦科技股份有限公司;所用试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

S-4800 型场发射扫描电镜(日本 Hitachi 公司)、Nicolet 5700 型傅里叶变换红外光谱分析仪(美国 Thermo 公司)、ARL-XTRA 型 X 射线衍射仪(美国热高公司)、Pyris Diamond 1 热重分析仪(美国 Perkin Elmer 公司)和电热恒温鼓风干燥机

(上海索浦仪器有限公司)。

1.3 制备羟基磷灰石纳米线

使用恒流泵分别将 10 mL 0.0125 mol/L NaOH 溶液、0.0020 mol/L CaCl_2 溶液和 0.0010 mol/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶液,依次滴入由 8 mL 油酸与 9 mL 无水乙醇组成的混合液相中,滴加结束后均以 600 r/min 的速度搅拌 10 min,使其完全混合均匀,制备油酸钙前驱体。将油酸钙前驱体倒入 100 mL 聚四氟乙烯内胆中,旋拧紧反应釜后放入 180 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中进行不同时间(0 min、15 min、30 min、1 h、2 h、6 h、12 h 和 24 h)的反应。结束后待其冷却至室温,用去离子水和乙醇对沉淀物洗涤 3 次。清洗后将产物放入 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中 24 h 烘干以备^[17]。

1.4 材料表征

采用场发射扫描电镜(SEM)表征经过不同时间所得 HAp 物质形貌特点,扫描电压为 15 kV。通过傅里叶红外光谱分析仪(FTIR)对各阶段产物进行定性分析,扫描范围 4000~400 cm^{-1} 。利用 X 射线衍射仪(XRD)对产物的晶型与结晶状态进行评价,扫描角度 $2\theta = 10^{\circ} \sim 70^{\circ}$,扫描速度 5($^{\circ}$)/min。通过热重分析仪(TG)观察材料中各组成部分在高温下的分解情况,温度范围为 30~600 $^{\circ}\text{C}$,温度上升速率设定为 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 。

2 结果与分析

2.1 不同反应时间所得 HANWs 的形貌分析

图 1 为水热反应前产物与在烘箱内反应不同时间后产物形貌图。图 1 表明,随反应时间延长 HANWs 的形成经历了从颗粒状到线性与管状共存状态,在 24 h 时转变为线性形貌的过程。图 1(a)为反应前驱体油酸钙的 SEM 照片,呈现出类似山脊形貌,形成 HAp 生长晶核。图 1(b)显示出各原料在放入烘箱前搅拌所得材料为颗粒状形貌,出现团聚现象。图 1(c)~(e)表明,当反应时间为 0、15 min 和 30 min 时,材料形貌为不规则团聚颗粒状,但颗粒排布方式开始呈现线性堆积排列,其中反应时间为 15 min 和 30 min 时,材料放大 10000 倍的表面形貌照片如图 2(a)~(b)所示。团聚现象较为严重的原因是油酸尚未充分分解导致溶液中黏性较大。反应 1 h 所得到的 HANWs(见图 1(f))的分散性相对较差,团聚明显,但线性形貌初步形成,表明 HAp 在 30~60 min 内经历了溶解再结晶过程。反应 2 h,形成线性形貌不同的管状结构,长度约为 15~25 μm (见图 1(g))。继续反应到 6 h 时,管状形貌 HAp 数量有所

增加,且管状 HAp 的长度也随之增加,约为 $30 \sim 40 \mu\text{m}$ 之间(见图 1(h))。反应 12 h(见图 1(i))后,管状 HAp 长度范围在 $35 \sim 50 \mu\text{m}$ 之间,有少许中空形貌管状结构存在,且 6 h 与 12 h HANWs 的分散性较好,没有出现大面积的黏连聚集。当反应时间延长至

24 h,管状结构基本消失,线性形貌良好,纳米线有明显大量弯曲现象(见图 1(j)),表明此时 HANWs 具有良好的柔韧性,纳米线之间相互交织成多孔网状结构,相比于 1 h 所纳米线产物,24 h 时纳米线的柔韧性得到较大提高,材料具有高的比表面积^[17]。

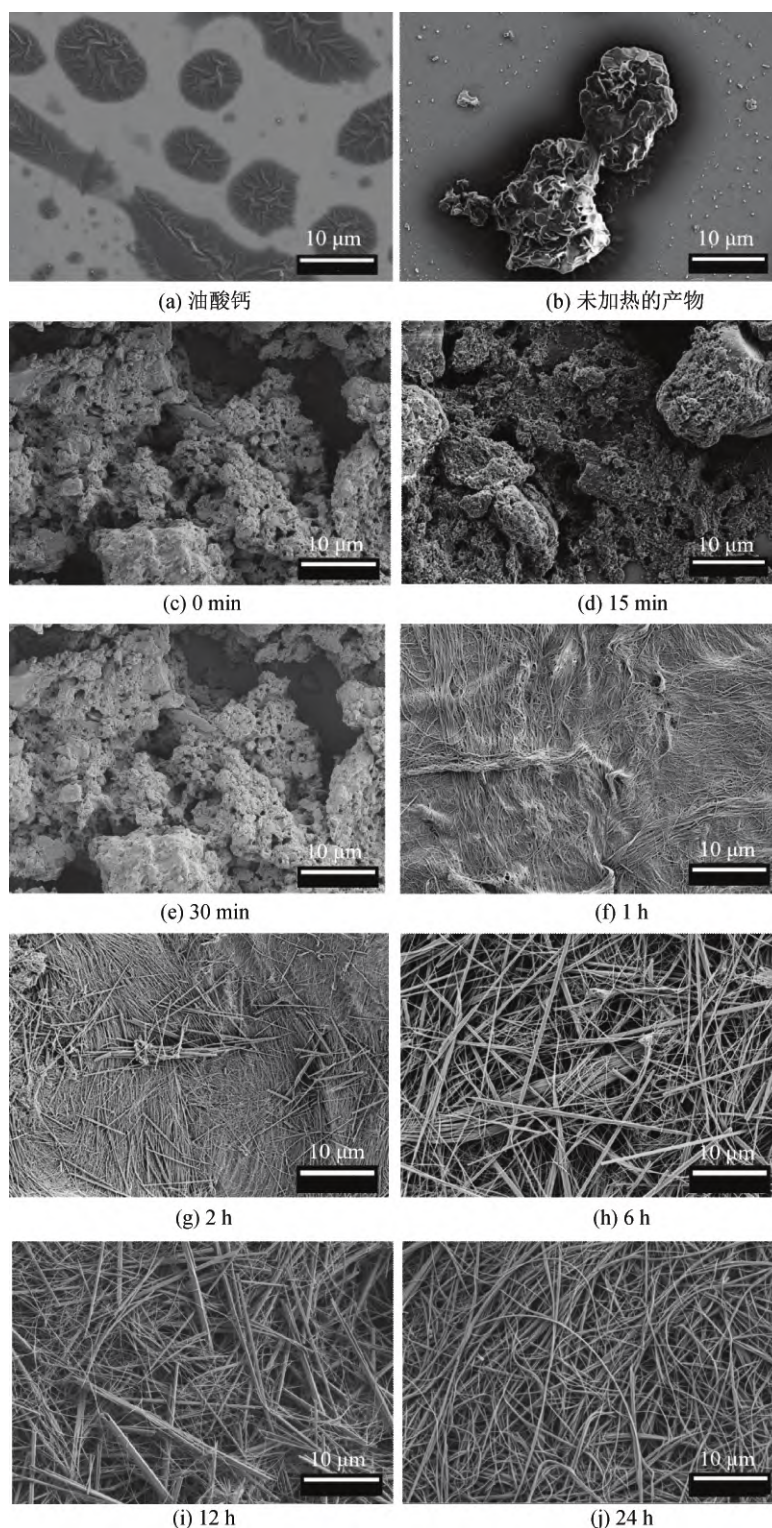


图 1 放入烘箱前及经过不同水热反应时间所得 HANWs 的 SEM 图

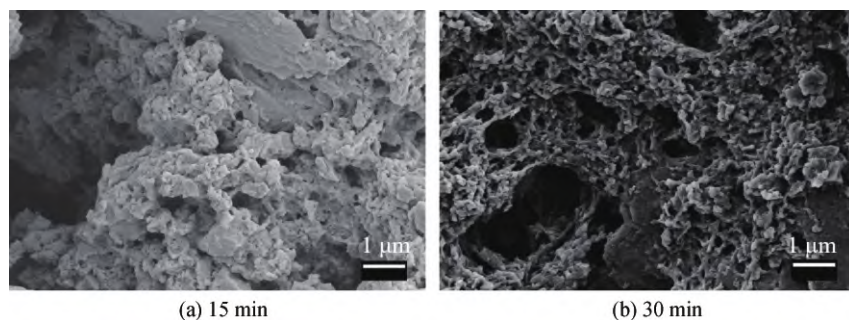


图2 不同处理时间 HANWs 聚集体表面形貌

2.2 不同反应时间所得 HANWs 的 FTIR 分析

对未加热及经过不同反应时间的产物进行 FTIR 测试,结果如图 3 所示。图 3 表明,在不同时间条件下制备的样品的红外光谱具有相似峰型。3571 cm^{-1} 处的吸收峰是 HAp 晶体中羟基伸缩振动的特征峰,550 cm^{-1} 位置随反应时间延长逐渐消失,并在 562 cm^{-1} 和 606 cm^{-1} 处形成 PO_4^{3-} 的弯曲振动峰,表明材料逐渐由无定型状态向结晶态转变(见图 3(a))。HANWs 的合成中存在一定量的油酸钠,经过乙醇洗涤但表面仍有少许油酸根离子,在 2922、2838 cm^{-1} 和 724 cm^{-1} 存在油酸中甲基($-\text{CH}_3$)和亚甲基($-\text{CH}_2-$)的不对称伸缩振动和对称伸缩振动。1565 cm^{-1} 是油酸与 Ca^{2+} 在碱性条件下形成,是 $-\text{COO}^-$ 基团的特征峰^[18],证明油酸分

子吸附在 HAp 表面;2922、2838 cm^{-1} 和 1565 cm^{-1} 处的峰再次证实油酸分子模板调控生成 HANWs 的作用。1456 cm^{-1} 和 890 cm^{-1} 是 CO_3^{2-} 的特征峰, CO_3^{2-} 是在形成 HAp 过程中常见的杂质,由于 HAp 在形成的过程中混入空气中 CO_2 。此外 1095、1028 cm^{-1} 和 962 cm^{-1} 处峰的出现对应于 PO_4^{3-} 的不对称伸缩振动和对称伸缩振动,606 cm^{-1} 和 562 cm^{-1} 处的峰是由于 PO_4^{3-} 的弯曲振动所产生。图 3(a) — (b) 显示,反应物在 550 cm^{-1} 处只有一个单独的 PO_4^{3-} 峰,本实验反应 0 min 后发现 550 cm^{-1} 处发生劈裂,形成 606 cm^{-1} 与 562 cm^{-1} 两处双峰,则表明为结晶磷酸钙晶体,说明磷酸钙由 ACP 转变为 HAp^[19]。综上 FTIR 结果初步判断,水热法形成的 HANWs 是由 ACP 在高温高压条件下转变而来。

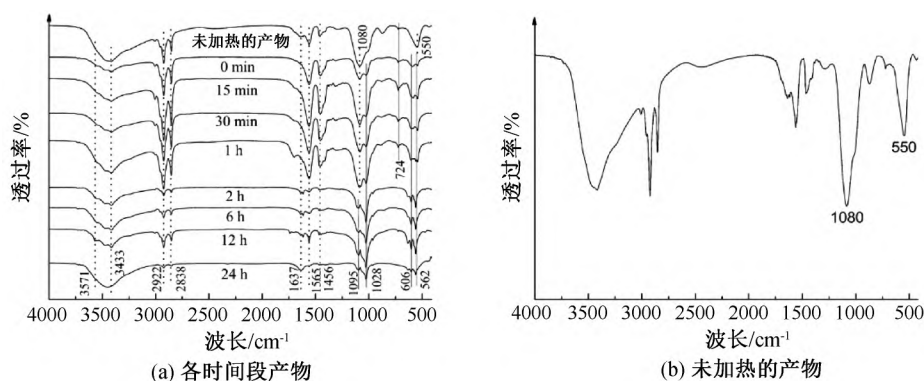


图3 未加热及经过不同反应时间所得 HANWs 的 FTIR 结果表征图

2.3 不同反应时间所得 HANWs 的 XRD 分析

图 4(a) 为 9 组不同反应时间得到的 HANWs 的 XRD 谱图,其中包括未放入烘箱内反应的产物 XRD 结果。图 4(a) 显示,在反应初期的 0、15 min 和 30 min 时的峰强度较小,HAp 的结晶性较低,但均观察到(002)晶面,说明此时 HAp 已朝向晶体晶胞内生长方向生长,表现出生长方向的各向异性^[20]。在其余各组结果中均找到 HAp 的(002)、(211)、(112)及(310)晶面的衍射峰,且特征峰强度逐渐增加,说明产物衍射峰强度随时间的延长而逐

渐得到提高,材料结晶性逐渐增加。在 2θ 为 30° 无明显衍射峰(见图 4(b)),此为 ACP 的 XRD 特征峰,与红外的结果一致,可以确定加热前的产物为 ACP。

2.4 不同反应时间所得 HANWs 的 TG 分析

图 5 是各组生成物 TG 测试结果。由图 5 可知,70~110 $^\circ\text{C}$ 出现的曲线下滑是由于反应体系中乙醇和水的挥发所致。200~430 $^\circ\text{C}$ 之间的下降,附着于纳米线材料表面的油酸分子的燃烧殆尽,油酸分子的数量大幅度减少;430 $^\circ\text{C}$ 之后出现的热损失

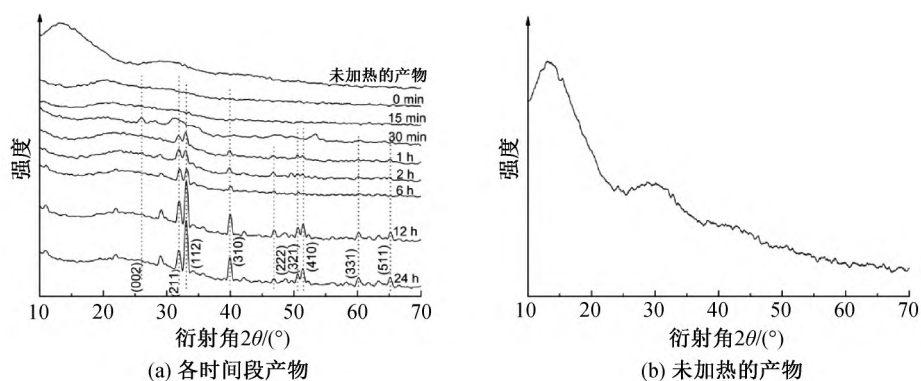
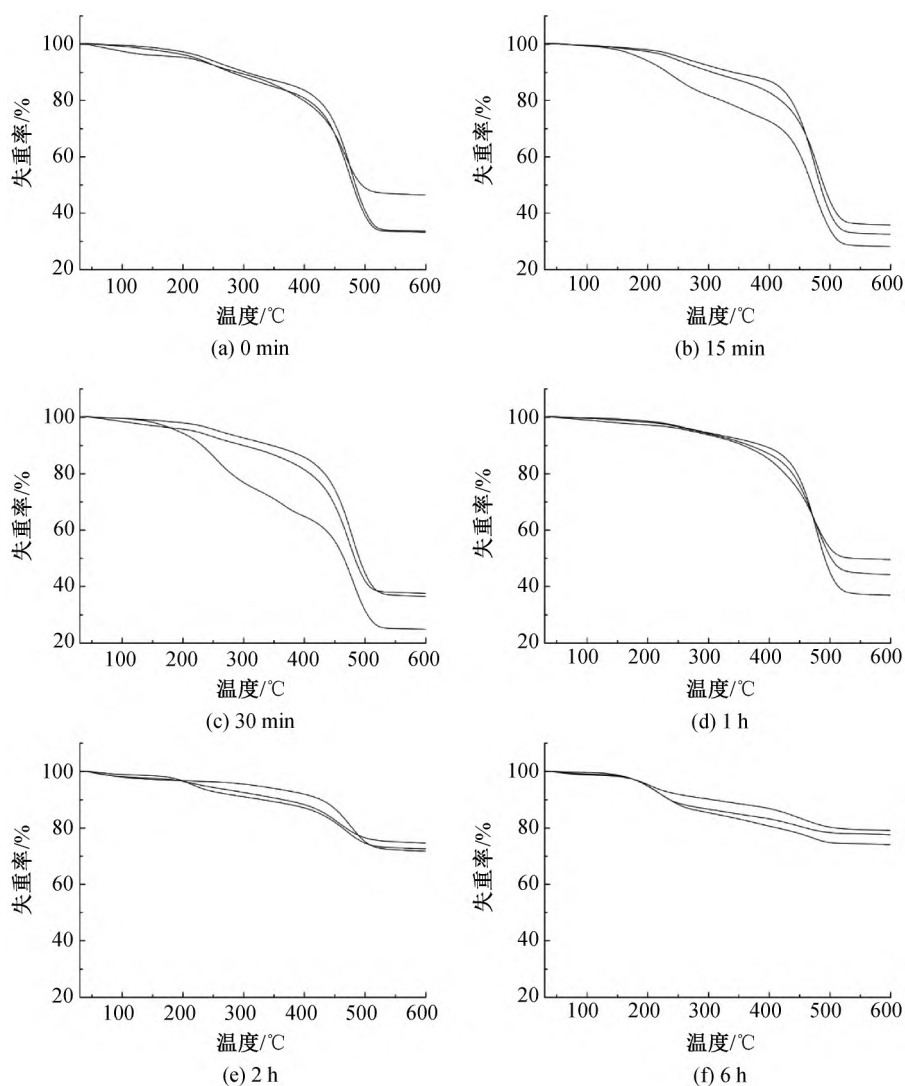


图 4 未加热及经过不同反应时间所得 HANWs 的 XRD 结果表征图

过程,可能是由于纳米线结晶性的提高或材料结构中羟基数量的缺失;在 480 °C 或者 500 °C 之后各反应时间磷灰石材料中的有机组分(油酸)已最大程度消耗,剩余材料即为磷灰石材料中的无机组分;在 0、15、30 min、1、2、6、12 h 和 24 h 所对应的热损失

百分率分别为 66.7%、61.7%、65.0%、55.7%、26.7%、23.0%、8.7%和 3.8%,随着反应时间的延长,材料中的无机成分也随着增多,由 0 min 的 33.3%增加到 24 h 的 96.2%,HANWs 材料的热稳定性逐步提高。



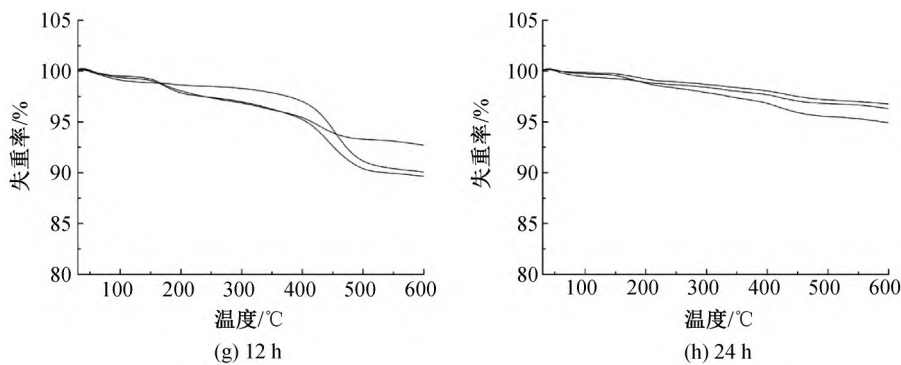


图5 不同反应时间产物的TG表征

2.5 水热法制备 HANWs 形成过程探讨

HAp 在水热反应合成过程中遵循溶解、扩散、转移及结晶的反应过程^[21]。水热法合成 HAp 的结晶在微观反应中是一种有序化进程,宏观上表现为分子从分散状态到聚集状态的形态转变。微观上表现为材料结构变化,即短程有序非晶态到长程有序的静态的转变^[22]。

有机试剂通过选择性吸附在特定表面上,不仅改变了材料的表面性质,而且决定了反应物在纳米晶体上的动态转移与反应过程^[23]。本文中有有机试剂油酸作为软模板和配体指导一维晶体的生长,并产生高度各向异性的纳米结构^[15]。体系内只存在由油酸-乙醇-NaOH 溶液组成的液相,通过将 NaOH 溶液与油酸混合,使其在原位生成油酸钠及游离的油酸根离子。带有负电的油酸根离子通过静电相互作用力与吸附在 HAp(001)晶面的 Ca^{2+} 结合,形成油酸钙前驱体,其主要作用有以下两点: a) 为反应提供 Ca^{2+} , 调控 HAp 形核速率; b) 控制 HANWs 的形貌。随着 Ca^{2+} 与 PO_4^{3-} 的加入,游离的 PO_4^{3-} 与油酸钙通过离子交换使得磷酸盐固相材料渐渐产生,随着磷酸钙纳米晶的大量形成,使得纳米晶成为主要生长基元并同时按一定方向和晶面取向生长要求叠合生长成微晶^[24]。生长步入后期时,溶液浓度趋于稳定,饱和度下降,叠合生长结束并在水热高温高压的反应条件下,使支链逐渐加长,使得晶体生长向线性形貌转变。

油酸根离子与 Ca^{2+} 的结合会使反应体系在早期阶段快速形成晶核,初期形成 ACP 产物,其比表面积大,溶液内部存在着较大的过饱和度,为晶核的形成提供了驱动力^[21]。通过将油酸分子的极性亲水部分与 Ca^{2+} 结合,烷基链包裹在 HAp 纳米晶体的外表面,使纳米线拥有疏水外表面,因而在反应后期产物具有较好的分散能力,通过图 3 的 FTIR 结果图证明油酸分子与 HANWs 的结合结果。根据

Onsager 理论^[25],具有高长径比的一维晶体结构由于排斥性体积效应,倾向于自发地平行排列,形成临界浓度以上的局部有序结构。

3 结 论

本文运用水热法在高温高压的反应条件制备 HANWs,初步分析水热条件下 HANWs 的形成过程,获得以下主要结果:

a) 反应初期 Ca^{2+} 在由油酸、乙醇和 NaOH 组成的三元体系内通过化学反应形成油酸钙,油酸钙作为 HANWs 形成的前驱体为反应提供 Ca^{2+} 并控制 HAp 晶核形成速率, HAp 晶核通过油酸钙、 OH^- 和 PO_4^{3-} 之间的化学反应在水热条件下形成。

b) 在高温高压下随反应时间延长,溶液中出现团聚材料,并转变为线性与管状形貌共存最后转变为具有高长径比、高柔韧性及网络状结构的 HAp 纳米线。

c) 所得产物在反应前为 ACP,具有短程有序结构, HANWs 的结晶性随时间增加而提高,产物经历了从 ACP 到 HAp 的转变,结构趋于稳定。

d) HANWs 材料的热稳定性逐渐提高,所得产物的 HAp 含量由反应 0 min 时 33.3% 提升到 24 h 时 96.2%。

参考文献:

- [1] Farokhi M, Mottaghiab F, Samani S, et al. Silk fibroin/hydroxyapatite composites for bone tissue engineering[J]. Biotechnology Advances, 2017, 36(1): 68-91.
- [2] Kahana S S. Rapid formation of nanocrystalline apatite [J]. Journal of Crystal Growth, 2002, 237-239(1): 55-59.
- [3] Cao L Y, Zhang C B, Huang J F. Influence of temperature, $[\text{Ca}^{2+}]$, Ca/P ratio and ultrasonic power on the crystallinity and morphology of hydroxyapatite nanoparticles

- prepared with a novel ultrasonic precipitation method[J]. *Materials Letters*, 2005, 59(14/15):1902-1906.
- [4] Afshar A, Ghorbani M, Ehsani N, et al. Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite[J]. *Materials & Design*, 2003, 24(3):197-202.
- [5] Kc R B, Kim C K, Khil M S, et al. Synthesis of hydroxyapatite crystals using titanium oxide electrospun nanofibers[J]. *Materials Science and Engineering: C*, 2008, 28(1):70-74.
- [6] Manafi S, Rahimpour M R. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite nanorods via hydrothermal conditions [J]. *Chemical Engineering & Technology*, 2011, 34(6):972-976.
- [7] Zhang H, Darvell B W. Morphology and structural characteristics of hydroxyapatite whiskers; Effect of the initial Ca^{2+} concentration, Ca/P ratio and pH[J]. *Acta Biomaterialia*, 2011, 7(7):2960-2968.
- [8] Xiong Z C, Zhu Y J, Chen F F, et al. One-step synthesis of silver nanoparticle-decorated hydroxyapatite nanowires for the construction of highly flexible free-standing paper with high antibacterial activity [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2016, 22(32):11224-11231.
- [9] 崔正阳, 罗丹丹, 冯翠, 等. 碲化镉量子点掺杂的羟基磷灰石荧光探针制备及其在铜离子检测中的应用[J]. *浙江理工大学学报(自然科学版)*, 2019, 41(1):49-55.
- [10] Qi C, Zhu Y J, Lu B Q, et al. Hydroxyapatite nanosheet-assembled porous hollow microspheres: DNA-templated hydrothermal synthesis, drug delivery and protein adsorption [J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2012, 22(42):22642.
- [11] Lin K, Wu C, Chang J. Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape[J]. *Acta Biomaterialia*, 2014, 10(10):4071-4102.
- [12] Lu B Q, Zhu Y J, Chen F. Highly flexible and nonflammable inorganic hydroxyapatite paper [J]. *Chemistry-A European Journal*, 2014, 20(5):1242-1246.
- [13] Chen F F, Zhu Y J, Xiong Z C, et al. Highly flexible superhydrophobic and fire-resistant layered inorganic paper[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(50):34715-34724.
- [14] Sun T W, Zhu Y J, Chen F, et al. Ultralong hydroxyapatite nanowire/collagen biopaper with high flexibility, improved mechanical properties and excellent cellular attachment [J]. *Chemistry-An Asian Journal*, 2017, 12(6):655-664.
- [15] Yang R, Zhu Y, Chen F, et al. Bioinspired macroscopic ribbon fibers with a nacre-mimetic architecture based on highly ordered alignment of ultralong hydroxyapatite nanowires[J]. *American Chemical Society Nano*, 2018, 12(12):12284-12295.
- [16] Han J, Ma B, Liu H, et al. Hydroxyapatite nanowires modified polylactic acid membrane plays barrier/osteoinduction dual roles and promotes bone regeneration in a rat mandible defect model[J]. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2018, 106(12):3099-3110.
- [17] Yu H P, Zhu Y J, Lu B Q. Highly efficient and environmentally friendly microwave-assisted hydrothermal rapid synthesis of ultralong hydroxyapatite nanowires[J]. *Ceramics International*, 2018, 44(11):12352-12356.
- [18] Wang X, Zhuang J, Peng Q, et al. Liquid-solid-solution synthesis of biomedical hydroxyapatite nanorods [J]. *Advanced Materials*, 2006, 18(15):2031-2034.
- [19] Jiang S, Pan H, Chen Y, et al. Amorphous calcium phosphate phase-mediated crystal nucleation kinetics and pathway[J]. *Faraday Discussions*, 2015, 179:451-461.
- [20] 焦华, 赵康, 石蕊, 等. 羟基磷灰石纳米棒的水热制备及其晶体生长机理研究[J]. *材料工程*, 2020, 48(1):136-143.
- [21] 郭英, 李骅, 李乐. 水热条件下羟基磷灰石纳米晶形成机理[J]. *中国民航大学学报*, 2007, 25(4):26-30.
- [22] Uskokovic V, Tang S, Wu V. On grounds of the memory effect in amorphous and crystalline apatite: Kinetics of crystallization and biological response[J]. *American Chemical Society Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10(17):14491-14508.
- [23] Liu L, Huang J, Feng Y, et al. Synthesis and characterization of ultralong nanofibrillar and hydroxyapatite powder[J]. *Advanced Powder Technology*, 2015, 26(2):428-433.
- [24] Tang B, Yuan H, Cheng L, et al. Effects of gallic acid on the morphology and growth of hydroxyapatite crystals[J]. *Archives of Oral Biology*, 2015, 60(1):167-173.
- [25] Onsager L. The effects of shape on the interaction of colloidal particles[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1949, 51(4):627-659.

(责任编辑:唐志荣)