

# 生物磷制备羟基磷灰石工艺研究\*

李爱玲 邱东†

(中国科学院化学研究所, 100190, 北京)

**摘要** 探索了以生物来源的植酸为磷源,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  为钙源的羟基磷灰石制备路线, 发现采用固液混合球磨结合煅烧可成功制得羟基磷灰石. 结果表明, 最佳煅烧温度为  $1\ 100\ ^\circ\text{C}$ , 球磨时间为 2 h, 在此条件下制得的羟基磷灰石具有较高的纯度, 可替代目前市售产品.

**关键词** 羟基磷灰石; 植酸; 氢氧化钙

**中图分类号** TQ174

**DOI:** 10.12202/j.0476-0301.2022095

## 0 引言

随着社会人口老龄化进程的加剧以及人们对身体健康期望的提升, 生物材料的重要性益发凸显. 手术、创伤等造成的临床骨缺损治疗, 需要大量能够填充缺损部位并促进骨长入的骨修复材料. 自体骨是临床骨修复材料的金标准, 但其易引起其他部位病痛及感染<sup>[1]</sup>; 同种异体骨易引入感染源, 且来源有限; 异种异体骨如牛、羊、猪或鱼骨的结构和组成类似于人骨, 经过高温煅烧去蛋白、破坏病原体可以得到类骨羟基磷灰石, 但这些骨的矿物组成含有微量元素如 Na、Zn、Mg、K、Ba、Ni、Hg、Pb、Si、F 等, 难以得到当量的羟基磷灰石, 而且微量元素具有潜在的毒性, 存在伦理学问题, 从而限制了其临床使用<sup>[2]</sup>. 因此, 有必要开发用于临床的生物合成骨修复材料.

羟基磷灰石( $\text{HA}$ ,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ )是一种当量合成生物材料, 化学组成类似于人骨、硬组织(如牙齿等)的矿化成分<sup>[3-7]</sup>, 具有良好的生物相容性, 目前已经商品化并在临床上广泛用于骨科和牙科修复等领域<sup>[8-12]</sup>, 是一种重要且用量大的生物材料.

羟基磷灰石目前主要通过固相法、共沉淀法、微乳液法、水热法和溶胶凝胶法等制备<sup>[13-18]</sup>. 其中: 所用钙源主要为钙化合物, 如硝酸钙、氢氧化钙和氯化钙等; 磷源主要为无机磷, 如磷酸氢钙、磷酸钙、磷酸氢铵、五氧化二磷、磷酸等, 均来自于天然磷矿. 天然磷矿难以避免伴生有毒元素, 必须要经过复杂的处理程序以确保终端材料符合植入人体的要求, 给质控和

成本都带来了很大压力, 同时处理过程中也有环保(如氨的去除)问题需要综合考虑. 另一方面, 目前全球也存在磷矿资源衰竭的问题, 有报道称我国磷矿储量仅能够维持国内产业再使用  $70\ \text{a}$ <sup>[9]</sup>, 所以必须寻找并研究可再生磷源在生物医用材料领域的应用.

生物来源的磷如植酸(肌醇六磷酸), 是一种天然存在的生物磷化合物, 主要存在于植物体内, 如水稻、玉米、大豆等籽实中, 是玉米淀粉生产行业的副产物, 目前广泛用于动物饲料中, 安全无毒, 具有可再生性. 植酸含有 6 个磷酸基团, 具有类似磷酸的酸性, 但比磷酸显示出更强的络合能力. 其作为磷源生产羟基磷灰石, 可以从源头上避免上述有毒元素污染的问题, 有望使羟基磷灰石的制备链条更加安全可控.

## 1 实验

**1.1 材料与仪器** 实验材料(分析纯): 50% 植酸水溶液、氢氧化钙等.

实验仪器: 行星式球磨机(XQM)、同步热分析仪(TA Q600)、X-射线衍射仪(XRD, D/MAX 2500)、电感耦合等离子发射光谱(ICP, PerkinElmer)、扫描电子显微镜(S6700)、扫描电子显微镜同步能谱仪(Hitachi 4800)等.

### 1.2 制备和表征羟基磷灰石

**1.2.1 制备方法** 以植酸( $\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$ )溶液和氢氧化钙( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ )为原材料, 采用固液混合球磨方法合成羟基磷灰石( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ). 先按照  $n(\text{Ca}):n(\text{P})=1.67$  称取氢氧化钙和植酸溶液, 分别将其放于球磨罐

\* 中国科学院 STS 区域重点资助项目(KFJ-STQZYX-084); 国家自然科学基金资助项目(51603210)

† 通信作者: 邱东(1977—), 男, 博士, 研究员, 博士生导师. 北京师范大学化学系 1999 届本科毕业生. 研究方向: 有机无机复合生物医用材料. E-mail: dqiu@iccas.ac.cn

收稿日期: 2022-04-21

中, 球磨混合 2 h, 放入 180 °C 烘箱中烘干, 然后分别在 600、800、1000、1100、1200、1300 °C 煅烧 2、3、5 或 8 h(图 1)。

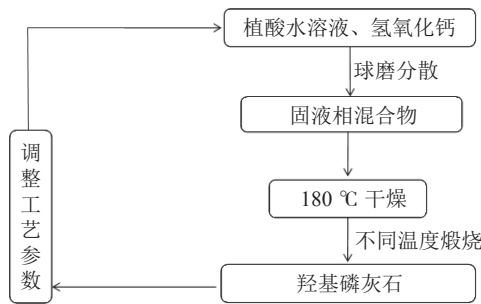
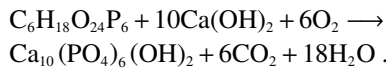


图 1 羟基磷灰石的工艺流程

相应的化学反应方程式为



**1.2.2 表征材料 热重分析(TGA-DTA):** 将样品放于氧化铝坩埚中, 对其进行热重测试, 空气气氛、气流量为  $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 扫描范围为  $50 \sim 1200 \text{ }^\circ\text{C}$ , 升温速率为  $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

**X-射线衍射(XRD):** 将样品在研钵中磨细, 对其进行 XRD 测试,  $\text{Cu K}\alpha$  辐射 ( $\lambda = 0.154 \text{ nm}$ ), 工作条件为 40 kV 和 200 mA,  $2\theta$  为  $5^\circ \sim 70^\circ$ , 步长为  $0.02^\circ$ 。

**扫描电镜(SEM):** 将样品用导电胶粘到样品台上, 用扫描电镜仪(SCD500)对其进行喷金处理, 通过 SEM(S6700)对合成的羟基磷灰石表面形貌进行分析, 工作电压为 5 kV。

## 2 结果与讨论

**2.1 确定煅烧温度** 由于影响羟基磷灰石(HA)晶相的主要因素是烧结温度, 本文对 180 °C 处理后羟基磷灰石样品进行了 TGA-DTA 分析(图 2)。

初步判断样品的最终煅烧温度。从图 2 可以看

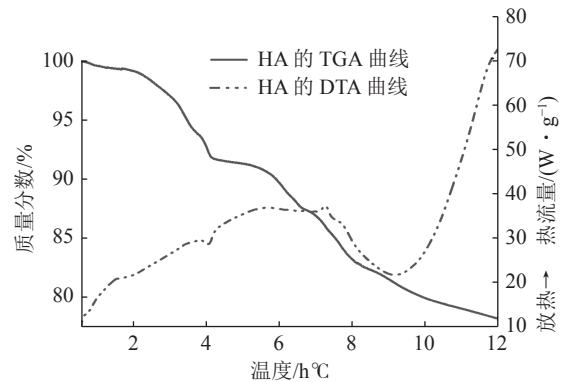


图 2 180 °C 处理的 HA 在空气中的 TGA-DTA 曲线

出, 样品主要有 4 个失重阶段: 1)  $200 \sim 420 \text{ }^\circ\text{C}$ , 失质量率  $\approx 8.1\%$ , 整体表现为一个较宽而弱的吸热峰, 可能是材料中水分的继续脱除, 但在  $\approx 395 \text{ }^\circ\text{C}$  附近有个较窄的吸热峰, 可能与有机成分的分解有关; 2)  $420 \sim 660 \text{ }^\circ\text{C}$ , 失质量率约  $4.3\%$ , 伴随很宽的吸热峰, 可能和羟基的缩合脱水有关; 3)  $660 \sim 830 \text{ }^\circ\text{C}$ , 失质量率约  $4.6\%$ , 伴随一个明显的放热峰 ( $\approx 721 \text{ }^\circ\text{C}$ ), 可能与物质结晶相关; 4)  $830 \sim 1000 \text{ }^\circ\text{C}$ , 失质量率约  $5.0\%$ , 其中 DTA 有一个大的吸热峰, 可能是物质的熔融过程。故此, 进一步研究选用 600、800、1000 和 1100 °C 作为煅烧温度, 考查物相演化过程。

**2.2 温度对 HA 晶相的影响** XRD 已被广泛用来做材料的晶相分析<sup>[20-22]</sup>, 本文通过 XRD 对经过不同温度处理的产物的晶相进行了表征(图 3)。

从图 3-a 可以看出: 经 600 °C 处理后, 样品主要以无定形和结晶态混合存在, 随着处理温度的升高, 其结晶态比例逐渐升高; 经过 800 °C 处理后开始呈现出较好的结晶态。通过对羟基磷灰石标准谱峰的主峰位置 ( $\approx 32^\circ$ ) 进行放大分析, 如图 3-b 所示: 600 °C 煅烧后的样品没有与标准谱峰相对应的衍射峰; 800 °C 煅烧后的样品开始出现与标准谱峰相对应的衍射峰 ( $\approx 31.7^\circ$ 、 $32.2^\circ$ ), 但相对衍射强度比较弱, 同时在  $\approx$

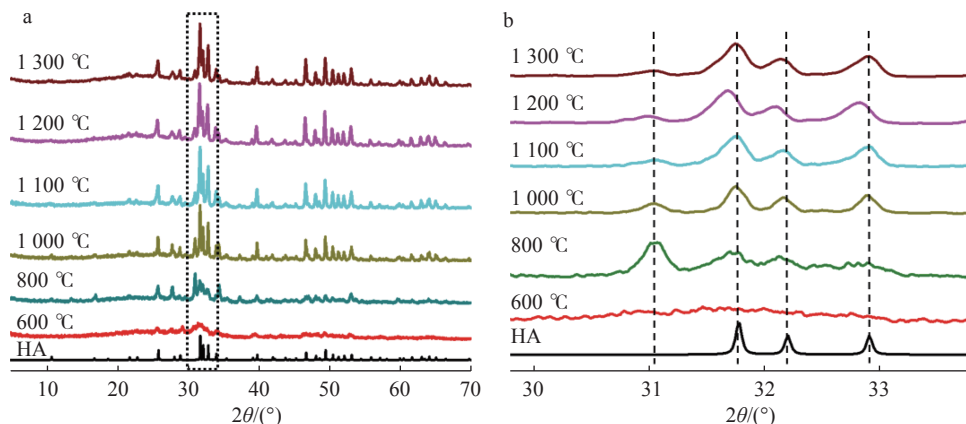


图 3 不同温度(600、800、1000、1100、1200 和 1300 °C)煅烧 2 h 所得产物的 XRD(b 为 a 29.8°~33.8°区间的放大)

31°处出现了与标准谱峰不符的衍射峰; 1 000 °C 煅烧后的样品有更多的与标准谱峰相同的衍射峰出现(≈ 31.7°、32.2°、32.9°), 且强度有所增加, 而≈ 31.0°处的衍射峰变弱; 1 100 °C 煅烧后的样品与标准谱峰相同衍射峰的相对强度更强, 在≈ 31°处的衍射峰变得更弱(接近噪声峰). 为了进一步验证 1 100 °C 是否为羟基磷灰石产品(HA)煅烧的最佳温度, 升高煅烧温度至

1 200 和 1 300 °C, 结果其在≈ 31°处衍射峰强基本无变化, 说明氢氧化钙与植酸反应产物在 1 100 °C 已基本转变为稳定相态的羟基磷灰石.

已有研究表明 HA 经过高温煅烧后的表面形貌为颗粒半球形状态<sup>[23-24]</sup>. 为了进一步对材料的微观结构进行研究, 本文对不同温度(600、800、1 000 和 1 100 °C)下煅烧得到的产物表面形貌进行了观察(图 4).

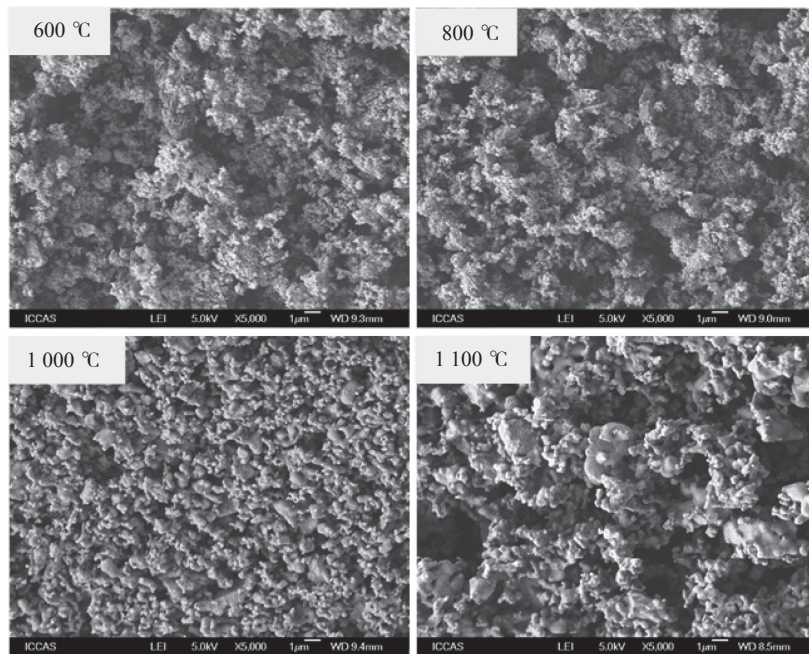


图 4 不同温度(600、800、1 000 和 1 100 °C)下煅烧所得 HA 样品的 SEM

从图 4 可以看出: 1 000 °C 处理后的样品表面开始有典型的半球形羟基磷灰石形成; 1 100 °C 处理后的样品表面具有更大的半球形羟基磷灰石形成, 说明材料在 1 100 °C 处理后形成了更多的羟基磷灰石. 通过对 1 100 °C 处理后的产品进行 ICP 测试, 发现其  $n(\text{Ca}):n(\text{P})=1.67$ , 证实了羟基磷灰石的形成. 这与图 3 的 XRD 结果相吻合, 进一步证实了羟基磷灰石的形成.

从经不同温度煅烧后的样品的光学照片可以清晰看出: 随着温度的升高, 样品颜色由 600 °C 的黑色逐渐变浅, 在 1 000 °C 颜色接近米白色, 然后变化不大, 说明其中绝大多数的有机成分在 1 000 °C 可能已基本去除. 为了进一步验证这一变化, 对不同温度(800、1 000 和 1 100 °C)煅烧的颜色较白样品进行 EDS 能谱分析(图 5). 从图 5 可以看出, 与 800 °C 煅烧样品相比, 1 000 °C 煅烧后样品中碳的含量显著减少, 在 1 100 °C 煅烧后碳的含量几乎无法看出, 说明绝大多数的有机成分在 1 000 °C 被除去, 而在 1 100 °C 煅烧样品中则基本去除完全.

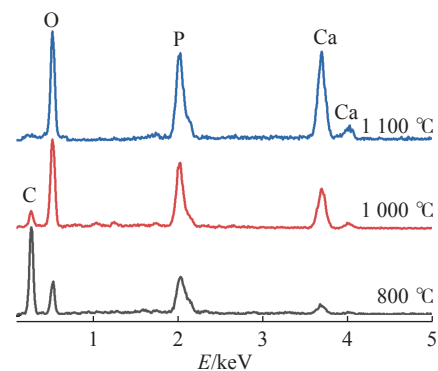


图 5 不同温度煅烧 HA 样品的 EDS

**2.3 煅烧、球磨时间对 HA 晶相的影响** 由于目前文献报道 HA 的煅烧最高温度为 1 000 °C<sup>[25]</sup>, 本文进一步考察了在 1 000 °C 时延长煅烧时间是否能够促进 HA 的形成(图 6).

从图 6 可以看出, 通过延长 1 000 °C 煅烧时间(3、5 和 8 h), 其与 1 000 °C 煅烧 2 h 相比, ≈ 31°位置的衍射峰仍然存在, 无明显的变化, 说明延长对羟基磷灰石晶相的影响并不大, 在 1 000 °C 煅烧并不能形成与羟基磷灰石完全相同的结构. 进一步证明

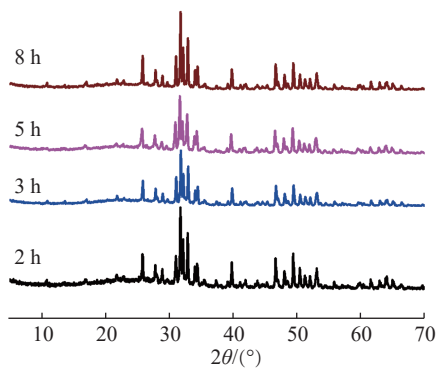


图6 1000 °C 煅烧不同时间(2、3、5和8 h) HA 样品的 XRD

在植酸和氢氧化钙反应体系中晶相的变化主要受控于煅烧温度。

由于产品制备工艺过程中的关键环节是使样品球磨分散混合均匀,选用球磨机可接受的长期稳定使用的球磨速度  $100 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  (球磨最大转速的 1/2) 和上述筛选出的煅烧温度 (1 100 °C), 考察不同球磨时间 (1、2 和 4 h) 对羟基磷灰石最终产品晶相的影响 (图 7)。

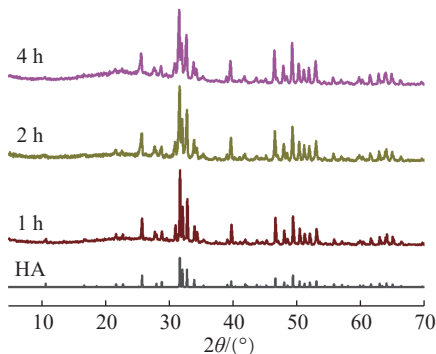


图7 不同球磨时间(1、2和4 h)下经 1 100 °C 煅烧所得 HA 的 XRD

从图7可以看出,与标准HA的XRD谱图相比,在球磨分散混合时间为1 h时,  $\approx 31^\circ$  位置存在一定的衍射峰;随着球磨混合时间的延长(2 h),其相应位置的衍射峰变弱,继续延长时间(4 h),衍射峰整体无明显变化,与羟基磷灰石晶相结构类似,说明随着球磨混合时间的延长,有利于产品混合更为均匀,使其晶相更好地向羟基磷灰石转变,其中最佳的球磨混合时间为2 h,在这一条件下产品混合均匀性达到稳定。

通过该结果,在植酸和氢氧化钙作为原料制备羟基磷灰石这一工艺过程中,对其影响的主要因素为煅烧温度和球磨时间。在1000 °C下延长煅烧时间,发现其对产品的晶相影响不大。在更高煅烧温度(1 100 °C)下,延长球磨时间有利于形成晶相纯度更高的羟基磷灰石,但在球磨2 h时基本达到稳定。所以,本文所述羟基磷灰石生产工艺的最佳煅烧温度为1 100 °C,球

磨混合分散时间为2 h。这一工艺过程的煅烧温度要高于目前文献资料报道的  $\approx 1\,000 \text{ }^\circ\text{C}$  [25], 这可能是由于其中引入的植酸分子中存在有机成分,其氧化分解会延缓部分钙磷氧原子的键合,升高温度可以使物质充分地熔融反应,从而促进结晶度更高的羟基磷灰石形成。总体来说,尽管煅烧温度有所升高(升高了约100 °C),但其整体工艺过程简单、操作方便、原料生物安全性高,有利于批量化生产高品质的羟基磷灰石,利大于弊。

### 3 结语

利用生物来源植酸为磷源,采用固液混合球磨方法与煅烧结合的方法成功制备了羟基磷灰石,通过XRD和SEM研究表明,新工艺制备羟基磷灰石的最佳煅烧温度为1 100 °C,球磨混合分散时间为2 h。本文中羟基磷灰石的制备工艺流程简单、操作方便,通过直接煅烧即可形成羟基磷灰石,易于批量化生产,有望用作市场现有医用级羟基磷灰石的替代品。

**致谢:** 感谢中国科学院化学研究所分析测试中心平台的支持与帮助。

### 4 参考文献

- [1] OLIVEIRA H L, ROSA W L O D, CUEVAS-SUÁREZ C E, et al. Histological evaluation of bone repair with hydroxyapatite: a systematic review[J]. *Calcified Tissue International*, 2017, 101(4): 341
- [2] AKRAM M, AHMED R, SHAKIR I, et al. Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources[J]. *Journal of Materials Science*, 2014, 49(4): 1461
- [3] BAUMANN H, BETHGE K, BILGER G, et al. Thin hydroxyapatite surface layers on titanium produced by ion implantation[J]. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 2002, 196(3/4): 286
- [4] OKTAR F N. Microstructure and mechanical properties of sintered enamel hydroxyapatite[J]. *Ceramics International*, 2007, 33(7): 1309
- [5] SONG J, LIU Y, ZHANG Y, et al. Mechanical properties of hydroxyapatite ceramics sintered from powders with different morphologies[J]. *Materials Science and Engineering A: Structural Materials Properties Microstructure and Processing*, 2011, 528(16/17): 5421
- [6] YANG C, GUO Y K, ZHANG M. Thermal decomposition and mechanical properties of hydroxyapatite ceramic[J]. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2010, 20(2): 254
- [7] MOBASHERPOUR I, HESHJIN M S, KAZEMZADEH

- A, et al. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method[J]. *Journal of Alloys and Compounds*, 2007, 430(1/2): 330
- [8] TSCOPPE P, ZANDIM D L, MARTUS P, et al. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes[J]. *Journal of Dentistry*, 2011, 39(6): 430
- [9] MENENDEZ-PROUPIN E, CERVANTES-RODRIGUEZ S, OSORIO-PULGAR R, et al. Computer simulation of elastic constants of hydroxyapatite and fluorapatite[J]. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2011, 4(7): 1011
- [10] ALVES N M, LEONOR I B, AZEVEDO H S, et al. Designing biomaterials based on biomineralization of bone[J]. *Journal of Materials Chemistry*, 2010, 20(15): 2911
- [11] MA J, WANG J L, AI X, et al. Biomimetic self-assembly of apatite hybrid materials: from a single molecular template to bi-/multi-molecular templates[J]. *Biotechnology Advances*, 2014, 32(4): 744
- [12] 焦燕, 吕宇鹏, 王爱娟, 等. 特殊形态羟基磷灰石的制备及研究进展[J]. *生物骨科材料与临床研究*, 2009, 6(2): 47
- [13] 韩姗姗, 何文, 闫顺璞, 等. 羟基磷灰石材料制备的研究概况[J]. *山东轻工业学院学报(自然科学版)*, 2009, 23(4): 4
- [14] 艾飞, 郑逸, 鞠远. 用生物资源制备纳米羟基磷灰石的研究进展[J]. *明胶科学与技术*, 2014, 34(1): 14
- [15] LEVENTOURI T. Synthetic and biological hydroxyapatites: crystal structure questions[J]. *Biomaterials*, 2006, 27(18): 3339
- [16] ROVERI N, FALINI G, SIDOTI M C. Biologically inspired growth of hydroxyapatite nanocrystals inside self-assembled collagen fibers[J]. *Materials Science and Engineering C*, 2003, 23(3): 441
- [17] 毛萱, 吴佩珠. 六偏磷酸钠对纳米羟基磷灰石水中分散行为的影响[J]. *材料科学与工程学报*, 2004, 22(5): 726
- [18] PADMANABHAN S K, BALAKRISHNAN A, CHU M C, et al. Sol-gel synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorods[J]. *Particuology*, 2009, 7(6): 466
- [19] 胡慧蓉, 郭安, 王海龙. 我国磷资源利用现状与可持续利用的建议[J]. *磷肥与复肥*, 2007, 22(2): 1
- [20] LI A L, REN H H, CUI Y, et al. Detailed structure of a new bioactive glass composition for the design of bone repair materials[J]. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 2017, 475: 10
- [21] LI A L, YANG L, REN H H, et al. In vitro evaluation of a novel pH neutral calcium phosphosilicate bioactive glass that does not require preconditioning prior to use[J]. *International Journal of Applied Glass Science*, 2017, 8(4): 403
- [22] CUI Y, ZHU T J, LI A L, et al. Porous particle-reinforced bioactive gelatin scaffold for large segmental bone defect repairing[J]. *ACS Applied Material & Interfaces*, 2018, 10(8): 6956
- [23] PRAKASAM M, LOCS J, SALMA-ANCANE K, et al. Fabrication, properties and applications of dense hydroxyapatite: a review[J]. *Journal of Functional Biomaterials*, 2015, 6(4): 1099
- [24] PU'AD N A S M, KOSHY P, ABDULLAH H Z, et al. Syntheses of hydroxyapatite from natural sources[J]. *Heliyon*, 2019, 5(5): e01588
- [25] 高月侠, 冉均国, 苟立, 等. 制备生物活性羟基磷灰石陶瓷粉末的新工艺[J]. *材料科学与工艺*, 2004, 12(2): 156

## Preparation of hydroxyapatite from biological phosphorus

LI Ailing QIU Dong

( Beijing National Laboratory for Molecular Sciences, State Key Laboratory of Polymer Physics and Chemistry, CAS Research/Education Center for Excellence in Molecular Sciences, Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, 100190, Beijing, China)

**Abstract** Hydroxyapatite was prepared using biogenic phytic acid as phosphorus precursor and calcium hydroxide as calcium precursor. Hydroxyapatite was prepared by solid-liquid mixed ball milling combined with calcination. Optimum calcination temperature was 1 100 °C, ball milling time was 2 h. Hydroxyapatite so prepared yielded high purity, and is a potential substitute for existing commercial supplies.

**Keywords** hydroxyapatite; phytic acid; calcium hydroxide

【责任编辑: 陆有忠】