

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2013.03.005 [http://www.crter.org]

潘朝晖, 赵玉祥, 张俊国, 王大伟. 明胶联合壳聚糖纤维对磷酸钙骨水泥力学性能的影响[J]. 中国组织工程研究, 2013, 17(3):407-411.

明胶联合壳聚糖纤维对磷酸钙骨水泥力学性能的影响*☆

潘朝晖, 赵玉祥, 张俊国, 王大伟

解放军第八十九医院全军创伤骨科研究所, 山东省潍坊市 261021

文章亮点:

- 1 明胶是胶原的变性衍生物, 同样也是生物降解、生物相容及非免疫原性材料。实验首次联合选用明胶和壳聚糖纤维作为磷酸钙骨水泥的增强剂, 以析因设计探讨两者增强的合适配比及其机制。
- 2 研究显示, 明胶可促进磷酸钙骨水泥的固化反应, 提高其力学强度。
- 3 扫描电子显微镜观察显示, 体积比为 10%或 30%时纤维可以较好分散并被磷酸钙骨水泥“湿化”。实验结果还发现添加明胶后, 可在磷酸钙骨水泥和明胶间可形成基质界面, 填充孔隙, 减小气孔对裂纹的影响, 提高强度。
- 4 实验初步研究显示明胶联合壳聚糖纤维可增强磷酸钙骨水泥, 但其合适比例及增强的机制仍有待探讨。

关键词:

生物材料; 组织工程骨材料; 壳聚糖; 纤维; 明胶; 磷酸钙骨水泥; 抗弯强度; 生物力学; 其他基金; 生物材料图片文章

摘要

背景: 已有多纤维被用于提高磷酸钙骨水泥的强度及抗断裂性能。

目的: 了解明胶联合壳聚糖纤维对磷酸钙骨水泥力学性能的影响, 寻找较为合适的配比。

方法: 采用 2×4 析因设计, 将质量比为 0(蒸馏水), 5%的明胶, 体积比为 0, 10%, 30%和 50%的壳聚糖纤维分别混入磷酸钙骨水泥, 检测复合物的抗弯曲强度, 扫描电子显微镜观察各组试样断口形态并进行电子能谱分析。

结果与结论: 各明胶组间抗弯强度差异有非常显著性意义($P < 0.001$); 各体积比纤维间抗弯强度差异有非常显著性意义($P < 0.001$), 其中 5%明胶和 30%壳聚糖纤维构成的复合物抗弯曲强度最大, 达 12.31 MPa。以蒸馏水为液相的磷酸钙骨水泥固化后, 表面可见不规则颗粒, 平均微孔直径小于 5 μm , 添加明胶后颗粒似乎黏在一起, 微孔直径与前者相似, 但是数目少于前者。磷酸钙骨水泥-5%明胶-30%纤维复合物的断口扫描可见拔出纤维的表面黏附有大量颗粒, 磷酸钙骨水泥-蒸馏水-30%纤维复合物拔出纤维表面的颗粒明显减少。表明明胶与壳聚糖纤维可提高磷酸钙骨水泥的抗弯曲强度, 5%明胶和 30%壳聚糖纤维为这种增强模式较为合适的比例。

Gelatin combined with chitosan fiber affects the mechanical properties of calcium phosphate cement

Pan Zhao-hui, Zhao Yu-xiang, Zhang Jun-guo, Wang Da-wei

Military Institute of Traumatic Orthopaedics, the 89th Hospital of Chinese PLA, Weifang 261021, Shandong Province, China

Abstract

BACKGROUND: A few of fibers have been used to reinforce the strength and fracture resistance of calcium phosphate cement.

潘朝晖☆, 男, 1971年生, 安徽省当涂市人, 汉族, 2003年解放军第四军医大学毕业, 博士, 副主任医师, 主要从事骨缺损修复研究。

panzhaohui89yy@yahoo.com.cn

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2013)03-00407-05

收稿日期: 2012-05-31

修回日期: 2012-07-23

(20120425028/GW·W)

Pan Zhao-hui☆, Doctor,
Associate chief physician,
Military Institute of Traumatic
Orthopaedics, the 89th Hospital
of Chinese PLA, Weifang
261021, Shandong Province,
China
panzhaohui89yy@
yahoo.com.cn

Supported by: the General
Program of Military Twelfth
Five-Year Plan, No.
CWS11J245*

Received: 2012-05-31
Accepted: 2012-07-23

OBJECTIVE: To investigate the influence of gelatin combined with chitosan fiber on the mechanical properties of calcium phosphate cement and to look for a more appropriate ratio.

METHODS: Comparisons and to look of chitosan fibers at volume fractions of 0, 10%, 30% and 50% together with distilled water or gelatin at mass fraction of 5% respectively in their effects on flexural strength of cement were performed. 2×4 factorial design was adopted. Flexural strength of cement composite fractures was detected, and fractured surface morphology was observed by scanning electron microscope. Energy dispersion analysis was also performed on particles of composites.

RESULTS AND CONCLUSION: A significant difference was found between the flexural strength of different gelatin groups and between the flexural strength of different volume fraction groups ($P < 0.001$). The maximal flexural strength was obtained when the calcium phosphate cement was reinforced with fiber at volume fraction of 30% and gelatin at mass fraction of 5%, which was 12.31 MPa. With distilled water as the liquid phase, there were irregular particles (mean pore diameter $< 5 \mu\text{m}$) on the surface of the solidified calcium phosphate cement. After gelatin adding, gelatin and particles seemed to stick together, and the mean pore diameter was similar to the above-mentioned, but the number was less than the former. A great amount of particles were seen at the fractured surface of calcium phosphate cement reinforced with fiber at volume fraction of 30% and gelatin at mass fraction of 5%, and the number of particles was decreased significantly at the fractured surface of calcium phosphate cement reinforced with distilled water and fiber at volume fraction of 30%. The mechanical property of calcium phosphate cement could be enhanced by using gelatin and chitosan fiber as two reinforcement agents, and gelatin at the mass fraction of 5% and chitosan fiber at the volume fraction of 30% might be a better ratio for this reinforcement mode.

Key Words: biomaterials; tissue-engineered bone materials; chitosan; fibers; gelatin; calcium phosphate cement; flexural strength; biomechanics; other grants-supported paper; biomaterial photographs-containing paper

Pan ZH, Zhao YX, Zhang JG, Wang DW. Gelatin combined with chitosan fiber affects the mechanical properties of calcium phosphate cement. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2013;17(3): 407-411.

0 引言

磷酸钙骨水泥具有良好的生物相容性、可降解性、骨传导性、可随意塑型、与周围骨组织紧密连接等多种优点^[1-3], 因此得到材料界及医学界的重视, 成为骨缺损修复材料研究和应用的一个热点。然而强度低、脆性大、无骨诱导性等不足使其目前限于腔隙性骨缺损的重建^[4-6]。研究发现通过减小颗粒直径, 提高固、液比例, 添加有机或聚合物材料等方法可在一定程度上改善磷酸钙骨水泥的力学性能^[7-10], 但效果都不是很理想。

人们对纤维增强作用的认识已经有相当长的时间, 许多种纤维被用于提高磷酸钙骨水泥的强度及抗断裂性能^[11-15]。为了降低成本、便于选择, 人们仍在探索其他可利用的材料, 尤其是具有生物活性, 价格较低, 便于从自然界获得的纤维。壳聚糖为自然界最丰富的多聚糖之一, 与骨及软骨中存在的各种氨基葡糖及透明质酸有某些相似的生物活性。具有较高力学特性的壳聚糖纤维已被用于许多生物医学领域^[16]。明胶是胶原的变性衍生物, 同样也是生物降解、生物相容及非免疫原性材料。研究显示明胶可促进磷酸钙骨水泥的固化反应, 提高其力学强度^[17]。

实验初步研究显示明胶联合壳聚糖纤维可增强磷酸钙骨水泥^[18], 但其合适比例以及增强的机制仍有待探讨。

1 材料和方法

设计: 材料学对比观察实验。

时间及地点: 于2011年5月至2012年1月在解放军第八十九医院全军骨科研究所实验室完成。

材料: 壳聚糖纤维购自青岛海生海洋生物材料有限公司, 脱乙酰度85%–90%。依次用

乙醇及蒸馏水洗涤, 置于37 °C干燥箱内干燥3 d。磷酸钙骨水泥购自上海瑞邦生物材料有限公司。明胶购自Sigma公司, 其他实验试剂均为分析纯。

实验方法:

磷酸钙骨水泥复合物的制备: 采用2×4析因设计, 明胶2个水平, 分别为0和5%, 纤维体积比4个水平, 分别为0, 10%, 30%和50%。水泥的粉液比为2。按文献[13]所述方法切割纤维, 制备26 mm×2 mm×2 mm试样。

复合物弯曲强度的测量: 37 °C相对湿度100%环境固化48 h, 脱模后表面以砂纸抛光, 25 °C相对湿度65%条件下放置24 h。微机控制电子万能试验机行标准三点弯曲试验, 跨距20 mm, 载头2 kN, 加载速度0.5 mm/min。

按公式强度= $3 F I / 2 b h^2$, F 为载荷位移曲线最高点处施加的力(N), I 为跨距(20 mm), b 为试样宽(2.0±0.1) mm, h 为试样的高(2.0±0.1) mm ($n=5$)。

扫描电子显微镜观察: 扫描电子显微镜分别观察弯曲强度测量后断裂的各复合物试样。加速电压20 kV。所有试样室温真空干燥, 表面喷金。

X射线电子能谱分析: 试样室温真空干燥, Philips DX-4型X射线能量色谱仪随机选取断裂面纤维表面黏附颗粒进行成分分析, 激发能5.0 keV($n=3$)。

主要观察指标: 复合物抗弯曲强度、断口形态分析及能谱分析。

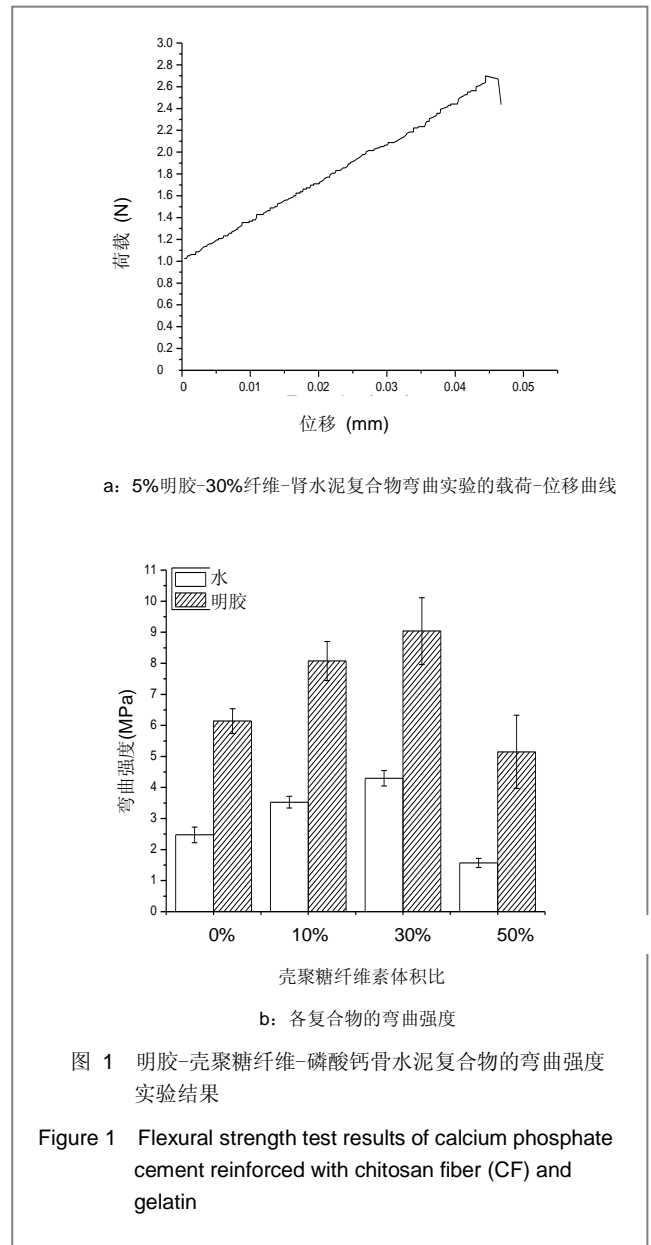
统计学分析: 所有数据以均数±标准误表示, 双因素方差分析和S-N-K检验分析水泥复合物的弯曲强度, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 磷酸钙骨水泥复合物的弯曲强度 ANOVA显示蒸馏水组与5%明胶组间差异有非常显著性意义($P < 0.001$); 各体积比纤维组间差异有非常显著性意义($P < 0.001$)。

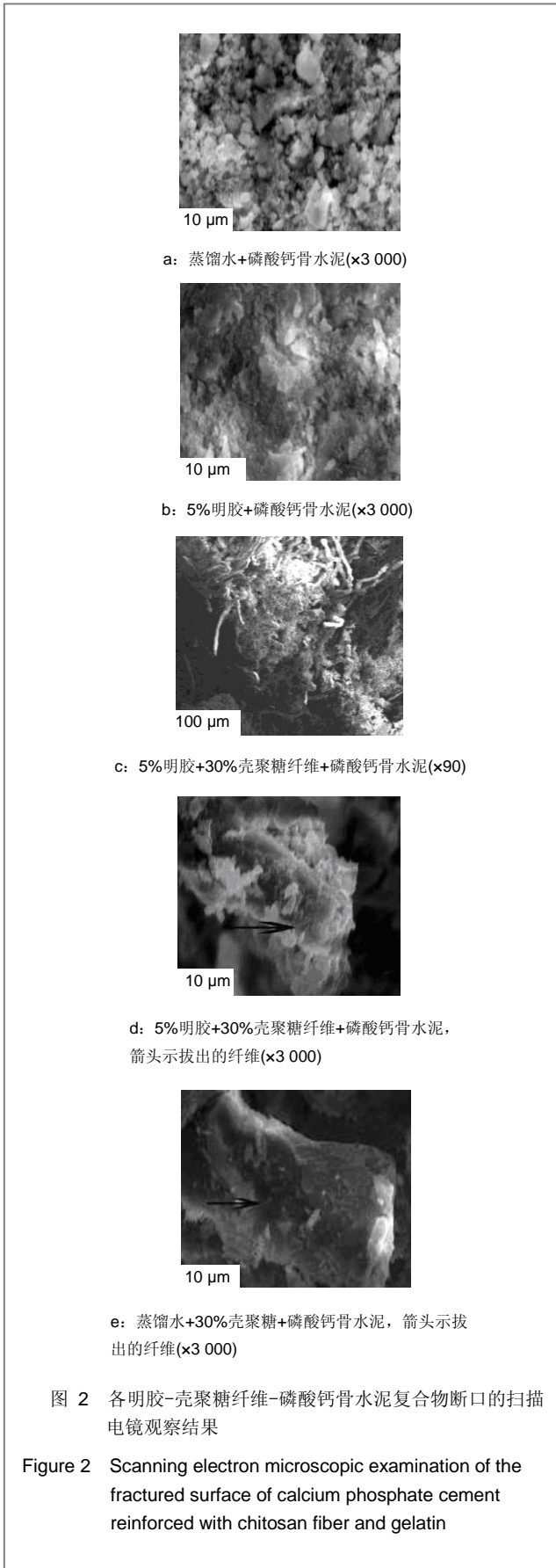
S-N-K检验组间比较, 显示0%组与50%组、10%组与30%组无差异, 但是两者不在同一均衡子集, 说明两者之间差异有显著性意义($P < 0.05$)。添加5%明胶, 强度增加; 纤维体积比从0%增至30%, 强度也增加。实验测得的最大弯曲强度为5%明胶和体积比为30%壳聚糖纤维构成的复合物, 最高强度达12.31 MPa。但当纤维体积比增加到50%后, 强度有

所降低, 见图1。



2.2 磷酸钙骨水泥复合物的形态分析 图2显示磷酸钙骨水泥复合物断口扫描电镜观察结果。

以蒸馏水为液相的磷酸钙骨水泥固化后, 表面可见不规则颗粒, 最大的直径约5 μm, 最小的不到1 μm, 平均微孔直径小于5 μm, 见图2a。添加明胶后颗粒似乎粘在一起, 微孔直径与前者相似, 但是数目少于前者, 见图2b。壳聚糖纤维体积比为10%或者30%时纤维可以较好分散并被磷酸钙骨水泥“湿化”, 见图2c。磷酸钙骨水泥-5%明胶-30%纤维复合物的断口扫描发现, 拔出纤维的表面黏附有大量的颗粒, 见图2d, 磷酸钙骨水泥-蒸馏水-30%纤维复合物拔出纤维表面的颗粒明显减少, 见图2e。



2.3 能谱分析 所测各组颗粒的钙磷比在1.50-1.67之间, 为磷酸钙骨水泥颗粒。

3 讨论

从断裂力学的角度看, 纤维增强能减小纹尖端的应力集中现象, 提高抗裂纹扩展的能力。添加纤维是提高磷酸钙骨水泥固化体强度的一种较为有效的方法^[11-15]。复合材料的增强系统决定其增强机制, 明胶、壳聚糖纤维和磷酸钙骨水泥复合材料的界面结合强度与复合材料的微结构、各材料间化学结合力及颗粒与聚合物间的机械绞锁等因素有关。

3.1 微结构的改变 在磷酸钙骨水泥这种脆性大的基质中, 基质承担着大部分载荷。基质除了将纤维聚在一起, 还有一个重要的功能就是传递载荷。当裂纹扩展到界面时, 由于界面间有适当的结合力, 裂纹会沿着纤维发生偏离, 从而有效延长裂缝在整个基质中扩展的时间, 只有提高外加应力才能使裂纹继续扩展, 裂纹因此受到阻碍, 或被钉扎而抑制进一步地延伸或向另一个方向转移消耗更多的能量, 达到增强的作用^[11]。复合材料要想达到预期的特性, 所载荷必须通过界面从基质有效传递到纤维^[15]。这就要求界面必须够大, 从而纤维和基质间有较强的黏附力。首先基质材料必须“湿化”纤维, “湿化”纤维就可以增加界面的表面积。扫描电子显微镜观察显示, 体积比为10%或30%时纤维可以较好分散并被磷酸钙骨水泥“湿化”。其次基质的孔隙率要小。磷酸钙骨水泥水合终产物为羟基磷灰石, 如果仅用水作液相, 未反应的水从水泥中游离以及掺入的空气均可产生孔隙, 所以强度较低。添加明胶后可在磷酸钙骨水泥和明胶间形成基质界面, 填充孔隙, 减小气孔对裂纹的影响, 提高强度。尽管纤维加入会带入空气, 降低复合物强度, 但是在纤维体积较少的情况下, 经过手工挤捏, 大部分空气会自行排出; 同时随着纤维体积比增加, 参与消除应力集中、阻止裂纹扩展的纤维增多, 强度会进一步提高。但当纤维体积比增加到50%后, 纤维分散较为困难, 掺入的空气骤然增多, 强度随之降低。

3.2 磷酸钙骨水泥颗粒和聚合物间的化学结合 明胶主链上高浓度的羧基及相当多的氨基可与钙、磷等矿物离子作用, 促进磷酸钙骨水泥固化反应, 提高其力学强度^[17]。明胶主链上的羧基还能和壳聚糖以氢键结合, 加入明胶后, 壳聚糖纤维的抗张强度也会提高, 证明了两者之间的相互作用^[19-20]。但如果以高浓度的明胶为骨水

泥的液相,又会阻止水泥粉末均匀扩散,使磷酸钙骨水泥丧失可塑性及黏结的性能。分析其原因可能仍然与明胶提供的活性基团过多有关,这些基团与其他活性基团相互作用,影响水泥的聚合。

3.3 磷酸钙骨水泥颗粒和聚合物之间的机械绞锁
扫描电子显微镜及能谱分析显示添加质量比5%的明胶和10%及30%体积比纤维的复合物断口有大量的磷酸钙骨水泥基质黏附于拔出纤维的表面,提示纤维和水泥颗粒间存在较高的结合能。这种不规则颗粒可以和周围颗粒形成绞锁,也是其增强的原因之一。

总之,明胶和壳聚糖纤维可作为增强剂以提高磷酸钙骨水泥的抗弯强度,质量比5%明胶和体积比30%壳聚糖纤维为这种增强模式较为合适的比例,其增强机制和微结构变化、化学结合及机械绞锁有关。

基金资助: 军队“十二五”面上课题资助项目(CWS11J245)。

作者贡献: 设计和实施为第一、三、四作者,第二作者进行评估,均受过相关培训。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

作者声明: 文章为原创作品,数据准确,内容不涉及泄密,无一稿两投,无抄袭,无内容剽窃,无作者署名争议,无与他人课题以及专利技术的争执,内容真实,文责自负。

4 参考文献

- [1] Larsson S. Calcium phosphates: What is the evidence? J Orthop Trauma. 2010;24:S41-S45.
- [2] Hu G,Xiao L,Fu H,et al. Study on injectable and degradable cement of calcium sulphate and calcium phosphate for bone repair.J Mater Sci Mater Med. 2010;21(2):627-634.
- [3] Okada M,Yano K,Namikawa T,et al.Bone Morphogenetic Protein-2 retained in synthetic polymer/ β -tricalcium phosphate composite promotes hypertrophy of a vascularized long bone graft in rabbits.Plast Reconstr Surg.2011;127(1):98-106.
- [4] Bajammal SS,Zlowodzki M,Lelwica A,et al. The use of calcium phosphate bone cement in fracture treatment.A meta-analysis of randomized trials. J Bone Joint Surg Am. 2008,90(6):1186-1196.
- [5] Yu B,Han K,Ma H,et al.Treatment of tibial plateau fractures with high strength injectable calcium sulphate. Int Orthop. 2009; 33(4):1127-1133.
- [6] Iida K,Sudo A,Ishiguro S. Clinical and radiological results of calcium phosphate cement-assisted balloon osteoplasty for Colles' fractures in osteoporotic senile female patients. J Orthop Sci.2010;15(2):204-209.
- [7] Yoshii T,Dumas JE,Okawa A, et al.Synthesis, characterization of calcium phosphate/polyurethane composites for weight-bearing implants. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2012;100(1):32-40.
- [8] Driessens FC, Boltong MG, de Maeyer EA,et al. The Ca/P range of nanoapatitic calcium phosphate cements. Biomaterials. 2002;23(19):4011-4017.
- [9] Li M, Liu X,Liu X,et al. Creation of macroporous calcium phosphate cements as bone substitutes by using genipin-crosslinked gelatin microspheres. J Mater Sci Mater Med.2009;20(4):925-934.
- [10] Makarov C,Gotman I,Jiang X,et al.In situ synthesis of calcium phosphate-polycaprolactone nanocomposites with high ceramic volume fractions. J Mater Sci Mater Med.2010;21(6):1771-1779.
- [11] Zhao P,Li H,Zhou CR,et al.Cailiao Kexue yu Gongcheng Xuebao. 2010;3(3):390-394.
赵澎,李红,周长忍,等.纤维增强磷酸钙骨水泥[J]. 材料科学与工程学报,2010,3(3):390-394.
- [12] Xu HH,Quinn JB,Takagi S,et al.Synergistic reinforcement of in situ hardening calcium phosphate composite scaffold for bone tissue engineering. Biomaterials.2004;25(6):1029-1037.
- [13] Dai HL,Li SP,He JH,et al.Wuji Cailiao Xuebao. 2004;19(5):1025-1030.
戴红莲,李世普,贺建华,等.碳纤维增强 α -TCP/TTCP骨水泥的研究[J].无机材料学报,2004,19(5):1025-1030.
- [14] Zhao P,Sun KN.Shengwu Guke Cailiao yu Linchuang Yanjiu. 2004;1(3):14-16.
赵萍,孙康宁.纤维增强磷酸钙骨水泥生物复合材料初探[J]. 生物骨科材料与临床研究,2004,1(3):14-16.
- [15] Shi XT, Xu LX, Shi ZL. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchung Kanxu. 2009;13(38):7474-7476
史雪婷,徐立新,石宗利.聚磷酸钙纤维增强 α -磷酸三钙/纳米羟基磷灰石骨水泥复合材料的力学性能[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(38):7474-7476.
- [16] Knaut JZ,Hudson SM,Creber KAM. Improved mechanical properties of chitosan fibers.J Appl Poly Sci.1999;72(10):1721-1732.
- [17] Bigi A,Bracci B,Panzavolta S. Effect of added gelatin on the properties of calcium phosphate cement. Biomaterials.2004; 25(14):2893-2899.
- [18] Pan ZH,Fan QY,Jiang PP,et al.Zhongguo Jiaoxing Waikexue. 2009;17(17):1334-1337.
潘朝晖,范清宇,蒋萍萍,等.壳聚糖纤维及明胶联合增强的磷酸钙骨水泥理化性能及生物相容性研究[J].中国矫形外科杂志,2009,17(17):1334-1337.
- [19] Xu HH,Quinn JB. Calcium phosphate cement containing resorbable fibers for short-term reinforcement and macroporosity. Biomaterials.2002;23(1):193-202.
- [20] Pan ZH,Jiang PP.Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2007;11(31):6169-6172.
潘朝晖,蒋萍萍.明胶改性壳聚糖纤维表征及其体内降解特点[J].中国组织工程研究与临床康复,2007,11(31):6169-6172.