复合材料学报
Acta Materiae Compositae Sinica
第 26 卷 第 4 期 8 月 2009 年
Vol. 26 No. 4 August 2009

文章编号：1000-3851(2009)04-0053-06

反应 pH 值对原位水热沉积法制备纳米羟基磷灰石/壳聚糖复合材料的影响

卢晓英，王秀红，刘 治，翁 杰*

（西南交通大学 材料科学与工程学院 材料先进技术教育部重点实验室，成都 610031）

摘 要： 为避免羟基磷灰石(HA)在壳聚糖(CS)基体中分子出现分布不均的现象，在结合原位沉析法和水热法二者优点的基础上，发展了原位水热沉析法来制备 HA/CS 复合材料，并深入研究不同的反应 pH 值对该复合材料的影响。研究表明，在不同反应 pH 值下制备的复合材料，均由 CS 晶体和低结晶度的纳米 HA 晶体所组成，2 种晶体均出现沿 *c* 轴方向上的择优生长。随着反应 pH 值的增大，复合材料中 HA 和 CS 分子的结晶度均增大，HA 晶体尺寸增大，CS 分子排列有序化程度增高，且二者之间发生较强的化学键合作用。当反应 pH 值增大到 12 时，复合材料中纳米 HA 的晶体尺寸约为 27.63 nm，且均匀地分布在 CS 分子中；CS 分子为高结晶度的 α 晶型，且分子排列规整，有序化程度高；存在于 HA 与 CS 分子间的化学键合作用最强。

关键词： 复合材料；羟基磷灰石；壳聚糖；原位水热沉积法

中图分类号： R318；TB332 **文献标志码：** A

Effect of pH value on the nano-hydroxyapatite /chitosan composites via in-situ hydrothermal precipitation

LU Xiaoying, WANG Xiuhong, LIU Zhi, WENG Jie*

(Key Lab of Advanced Technologies of Materials (Ministry of Education), School of Materials Science & Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

Abstract: In order to solve the distribution of hydroxyapatite (HA) in the chitosan (CS) matrix, a novel route of in-situ hydrothermal precipitation was developed to fabricate the nano-HA/CS composites, based on the combination of the advantages of in-situ precipitation and hydrothermal synthesis. The effect of pH value on the structure of the HA/CS composites was studied. All the results show that the as-prepared composites are composed of CS crystals and nano-HA with lower crystallinity, and the growth of CS crystals and HA crystallites is towards the preferred orientation along the *c*-axis in the crystal structure. Moreover, there is an increase of the crystallinity of CS and HA with the increase of pH value in the composites. It was noticed that the crystallite size of HA and the degree of the ordered arrangement of CS molecules are increased with raising the pH value in the composites. The pH value of 12 is favorable to the formation of the α-CS crystals with higher crystallinity and nano-HA crystallites in these composites. When the composites were prepared at the pH value of 12, there is a more ordered arrangement in the α-CS crystals and the good interaction behavior is found between CS molecules and HA crystallites in the composites.

Keywords: composites; hydroxyapatite; chitosan; in-situ hydrothermal precipitation

人体硬组织(如骨和牙齿)是一种由无机物和有机物所组成的复合材料，其中无机物主要为纳米级的钙磷盐。因此，从仿生学的角度出发，研究具有“结构仿生”的硬组织材料是当今生物医学材料发展的重要方向[1-2]。羟基磷灰石(Hydroxyapatite，简称 HA)由于化学成分与硬组织中无机物相似，其良好的生物相容性和成骨活性，使其在硬组织替换与修复领域中得到广泛的应用。但因其脆性较大，成型较难，很难满足临床上不同修复区域的要求。这一难题可以通过将 HA 与具有良好生物相容性的有机物相复合，提高材料的可塑性得到解决[3]。壳聚糖(Chitosan，简称 CS)是一种天然可降解的生

收稿日期： 2008-09-10；**收修改稿日期：** 2008-12-03
基金项目： 教育部高校创新工程重大项目培育资金项目(704039)；国家自然科学基金(30870630)；西交青年教师科研起步项目(2007Q006)
通讯作者： 翁 杰，教授，主要从事生物材料的研究 E-mail：jweng@swjtu.cn

物多糖，具有良好的生物相容性、天然药物活性、突出的抗菌消炎特性和良好的成型性，因此，将HA与CS复合，制备HA/CS复合材料的研究，成为近年来生物材料的研究热点之一[4-5]。

对于HA/CS复合材料，目前研究较多的是通过机械或化学方法，将HA均匀地整合于CS基体中[6-7]，使之表现出不同于HA和CS 2种前躯体的性状。要极大地改善HA/CS复合材料的不同性状，关键依赖于该复合材料的结构，尤其是基体材料CS分子的结构。而目前对于HA/CS复合材料的研究，更多关注的是无机相HA的结构，而对有机相CS分子的结构研究较少。本文中从结构仿生的角度出发，为避免HA在基体材料CS分子中出现分布不均的现象，在结合原位沉析法和水热法二者优点的基础上，发展了原位水热沉析法来制备HA/CS复合材料，并深入研究不同的反应pH值对该复合材料结构的影响，尤其是对基体材料CS分子结构的影响，这将有利于深入理解该HA/CS复合材料的性能，且为该复合材料的临床医学应用奠定一定的基础。

1　实　验

1.1　样品的制备

CS：食品级(脱乙酰度≥90%，黏度≥0.1 Pa•s)，由大连鑫蝶公司提供；$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$、KH_2PO_4、乙酸和NaOH：成都科龙化工；所有试剂均为分析纯。

分别以$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$和KH_2PO_4为制备HA的Ca盐和P盐的前驱物。将一定浓度的Ca盐、P盐的乙酸溶液($m_{Ca}/m_P=1.67$)在强烈搅拌的作用下，与CS乙酸溶液($V_{CS}=5\%$)相混合，直至形成均匀淡黄色溶液，其中Ca盐/P盐/CS的量取比例以生成的HA/CS的质量比为20/100为基准。量取适量的混合溶液倒入简易反应釜中，以1∶2的体积比量取不同pH值的NaOH溶液轻轻倒入反应釜中。盖紧反应釜，置于优化温度100℃的烘箱中保持8 h[8]，使之反应充分。然后取出样品，用去离子水多次冲洗样品，直至溶液pH值为中性，然后置于40℃的烘箱中进行干燥，这样就得到形状较为规则的HA/CS圆柱体。与此同时，采用相同的工艺制备了未进行水热处理的原位沉积的HA/CS圆柱体作为对比样品。

1.2　样品的表征

样品表面经喷金处理后，置于扫描电子显微镜下(SEM，Quanta200，美国)观察其形貌。为表征该材料的化学成分，采用X射线衍射分析仪(XRD，X'Pert ProMPD，荷兰)和傅里叶红外光谱仪(FTIR，Nicolet 550，美国)来分析。为表征该复合材料中无机成分与有机成分的含量，采用热重分析仪(TG，Netzsch STA 449C，德国)进行分析。

2　结果与讨论

2.1　实验结果

图1为在不同反应pH值条件下所制备的HA/CS复合材料的XRD图谱。由图1可知，不同反应pH值对样品中的CS和HA的生长均有较大的影响。从HA的三强主基衍射峰来看(约32°，对应HA的(211)、(112)、(300)晶面)，当反应pH值较低时，样品中HA的衍射峰出现较宽的络合峰。随着反应pH值的升高，该衍射峰的衍射强度增加，峰形变得尖锐，说明反应pH值在一定程度上的升高，有利于复合材料中HA晶体尺寸的增加[11]。但与标准HA的衍射峰相比，复合材料中HA的三强主基衍射峰仍然出现明显的衍射峰宽化现象，说明样品中HA的晶体尺寸较小，结晶度较低。并且样品中26°的衍射峰(对应HA的(002)晶面)相对于HA的其他衍射峰来说，该衍射峰变得异常突出，说明样品中HA(002)晶面即c轴方向有优先生长的趋势。此外，从CS的特征衍射峰来看

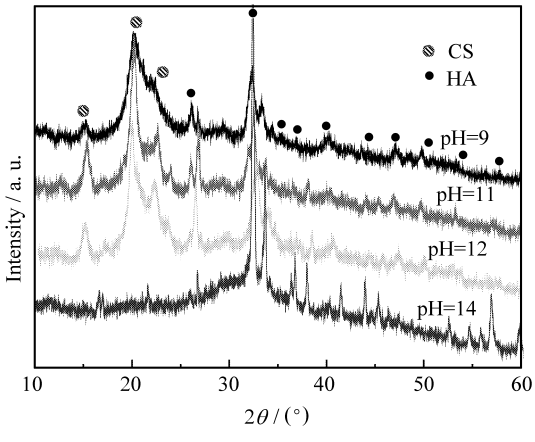


图1　不同反应pH值下制备的HA/CS(20/100)复合材料的XRD图谱

Fig. 1　XRD patterns of the HA/CS(20/100)composites prepared at different pH values

(约 20°)，随着反应 pH 值的不断升高，其衍射峰由较大的络合峰逐渐变得尖锐，说明 CS 分子由无定形逐渐变成高结晶度的 α 晶型[19]。尤其是当反应 pH 值为 11 和 12 时，样品中该衍射峰变得非常尖锐，且在 $2\theta=15°$处的衍射峰(对应 CS 分子(002)晶面)变得异常突出，说明在此反应 pH 值下，CS 分子的晶体尺寸较大，结晶度较高，且(002)晶面即 c 轴方向上出现优先生长[9]。样品中 CS 分子结晶度的提高，反映了复合材料中 CS 分子的规整度较高，分子排列的有序化程度较高[10]。

不同反应 pH 值下所制备的 HA/CS 复合材料中，HA 的晶体大小以(002)晶面的衍射峰为对象，结合 Scherrer 公式来计算[11]。其计算结果如表 1 所示。结果发现，在不同反应 pH 值下所得的 HA/CS 复合材料中，HA 的晶体尺寸均小于 100 nm。并且，随着反应 pH 值的增大，HA 的晶体尺寸也在增大。当反应 pH 值增大到 11 和 12 时，HA 的晶体尺寸与人体硬组织中磷灰石的晶体尺寸非常接近[12]。当反应 pH 值增大到 14 时，HA 的晶体尺寸已远远超过人体硬组织中磷灰石的晶体尺寸。

图 2 为在不同反应 pH 值下所得复合材料的 FTIR 图谱。其中图谱中各吸收峰所对应的相应基团的关系见表 2。结合表 2 可知，复合材料中除出现 HA 的 PO_4^{3-} 和 OH^- 的吸收峰外，还出现 CS 分子各基团(包括 β-糖苷键)的特征吸收峰。对比各曲线可知，复合材料中吸收峰变化较大的分别是羟基、氨基、酰胺键和磷酸基等基团的吸收峰。随着反应 pH 值的增大，位于 3276～3697 cm^{-1} 处的吸收峰(叠加—OH 和—NH_2 的伸缩振动峰)变得较尖锐，并移向高频位置，说明 CS 分子中—OH 和—NH_2 已发生衍生化，分别与 HA 的功能基团(如 Ca^{2+})发生较强的化学作用[9]。位于 1478～1435 cm^{-1} 处叠加—OH 和 P═O 的吸收峰，随着反应 pH 值的增大，吸收峰变得尖锐，吸收强度增大，并向高频位置移动。将其与 PO_4^{3-} 在 940～1120 cm^{-1} 和 540～655 cm^{-1} 处吸收峰所发生的相似变化相结合，说明复合材料中 CS 分子的—OH 与 HA 的 PO_4^{3-} 之间形成较强的氢键作用。此外，位于 1665～1695 cm^{-1} 的酰胺Ⅰ的吸收峰，移向高频位置时发生蓝移现象；位于 1591～1599 cm^{-1} 的酰胺Ⅱ键的吸收峰，移向低频位置时发生红移现象，并且吸收峰的相对强度发生明显变化。这样的变化是由于复合材料中 CS 分子的酰胺键与 HA 中的 Ca^{2+} 发生明显的螯合作用所致。结合以上各吸收峰所发生的变化，可以

表 1　不同反应 pH 值下的 HA/CS 复合材料中 HA 的晶体大小

Table 1　Crystal size of HA in the HA/CS composites prepared at 100℃ and different pH values

Sample	FWHM* at(002) plane/(°)	Crystal size/nm
pH=9	0.8160	10.02
pH=11	0.3264	25.07
pH=12	0.2959	27.63
pH=14	0.1224	65.96

* Full width at half-maximum peak.

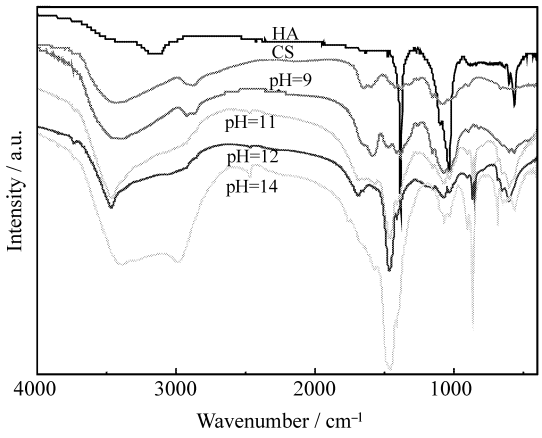


图 2　不同反应 pH 值下制备的 HA/CS 复合材料、纯 HA 和 CS 的 FTIR 图谱

Fig. 2　FTIR spectra of HA , CS and the HA/CS composites prepared at 100℃ and different pH values

表 2　复合材料的 FTIR 图谱中各吸收峰的所属关系

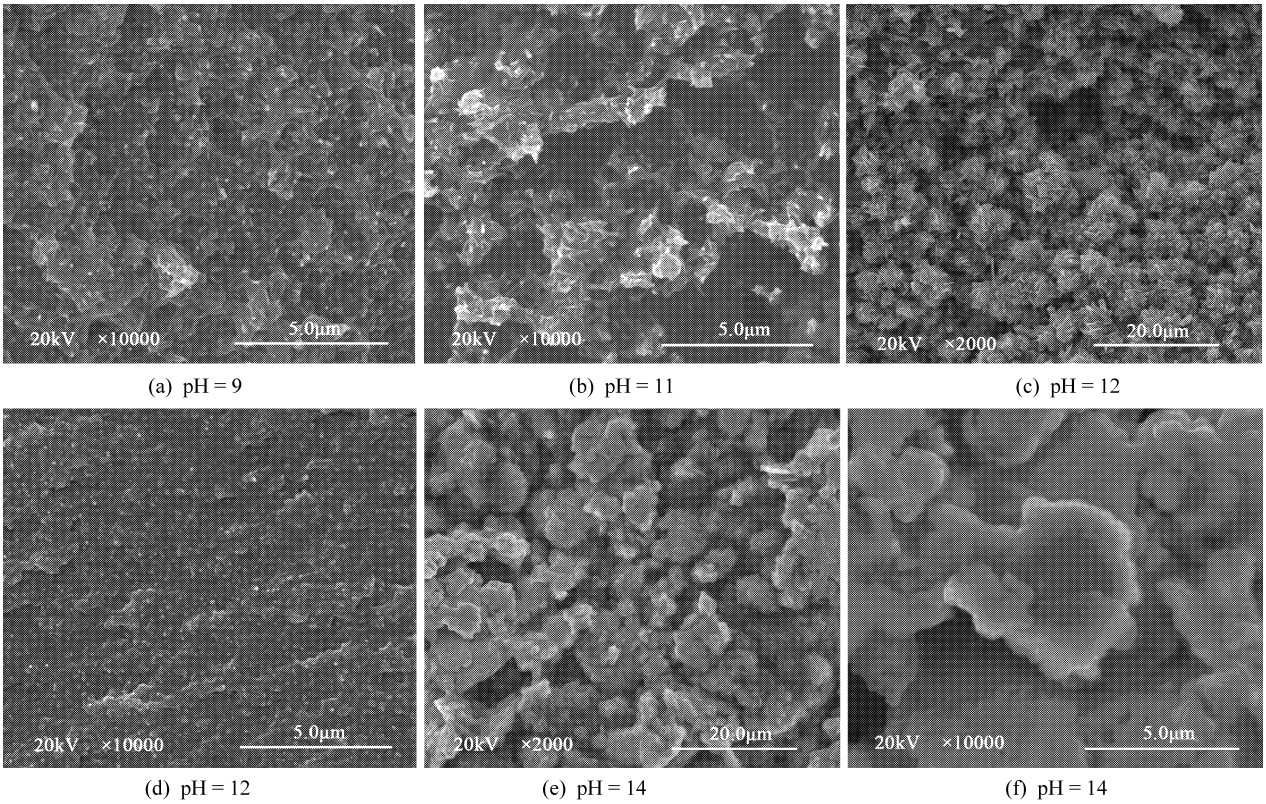
Table 2　Assignment of the absorption peaks in FTIR spectra of the composites

Bands /cm^{-1}	Groups
3300～3482	—OH，—NH_2
2871～2962	—CH_2，—CH
1665～1695	Amide Ⅰ(C═O)
1591～1599	Amide Ⅱ (N—H)
1478～1435	—OH，—CH_2，—CH_3，P═O
1386～1415	Amide Ⅲ (C—N)
1060～1145	C_3—OH
1009～1031	C_6—OH
940～1120，540～655	PO_4^{3-}
903～851	C—O—C (glucosidic bond)

得出，由于原位水热沉积法的使用，复合材料中 CS 分子与 HA 晶体发生较强的化学作用，具体表现为 CS 分子的—OH 与 HA 中的 PO_4^{3-} 之间形成氢键作用，并且 CS 分子中 C_2 处的—NH_2 与 HA 中的 Ca^{2+} 之间形成较强的螯合作用。复合材料中 CS 分子和 HA 之间的这种化学作用的存在，可从复合材料的 TG 分析图谱中得到进一步的证实。

图 3 为不同反应 pH 值下所得 HA/CS 复合材料的表面形貌图。利用 SEM 上能谱仪(EDX)来检测，发现所测试样品中都存在 Ca、P 元素。结合 XRD 的数据，可以判定所测样品中均含有 HA 晶体，且沉积于 CS 分子中。从图 3 可以发现：当反应 pH 值较低时，CS 分子结晶不完善，少量区域出现有棒状晶体(图 3(a)和 3(b))。当反应 pH 值进一步升高到 12 时，CS 分子结晶完善，出现大量片层状晶体的堆积体(图 3(c))。且在高倍下观察，可以看到椭球形纳米 HA 均匀分布在 CS 分子中(图 3(d))。而当反应 pH 值进一步增大到 14 时，这种片层状晶体进一步长大，并排列有序(图 3(e)和 3(f))。据文献[13]报道，CS 分子这种有序化片层结构的出现，是因为 CS 分子受环境条件的影响，使其分子内和分子间的作用力发生变化，而出现沿 *c* 轴方向的优先生长所致。这与复合材料的 XRD 分析结果一致。此外，当反应 pH 值进一步增大，复合材料中 CS 分子的生长情况并无较大变化。

图 4 为所得复合材料(c 和 d)、纯 CS(a)及非水热处理所得复合材料(b)的 DSC 图谱。从图 4 可知，由于材料中 CS 分子含量不同以及结合状态不同，导致复合材料在 200℃以上的放热峰发生明显变化。将曲线 c，d 与 b 相比较可知，在相同的原位沉积的基础上，由于水热环境的施加，使得复合材料中 CS 分子的分解温度(从 200℃到 670～750℃)均高于未进行水热处理制备的样品(从 200℃到 625℃)。因此认为，由于 CS 分子结构的排列有序，并且与 HA 晶体发生紧密的化学键合，因此需要更高的能量来破坏 CS 的分子结构，破坏 CS 与 HA 晶体之间的化学键合。这与前面的 FTIR 分析结果一致。结合各样品的 TG 曲线还可发现，水热处理获得的样品在整个过程的质量散失(介于 68.2%～59.2%中)均少于非水热处理的样品(约 86%)。通



(a) pH = 9　(b) pH = 11　(c) pH = 12

(d) pH = 12　(e) pH = 14　(f) pH = 14

图 3　不同反应 pH 值下制备的 HA/CS(20/100)复合材料的 SEM 照片

Fig. 3　SEM images of HA/CS (20/100) composites prepared at 100℃ and different pH values

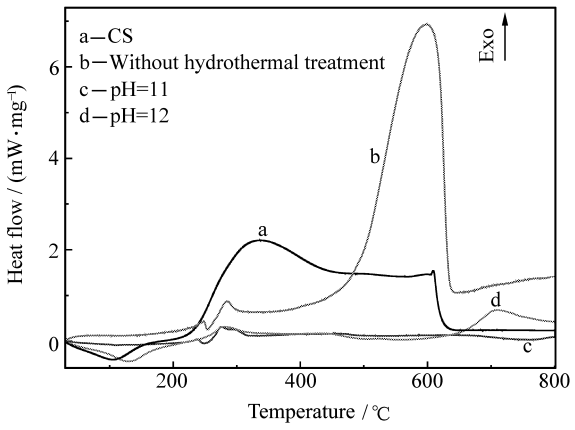


图 4 HA/CS 纳米复合材料和纯 CS 的 DSC 图谱

Fig. 4 DSC curves of nano-HA/CS composites hydrothermally prepared at pH=11 (c), pH=12 (d), prepared without hydrothermal treatment (b) and pure CS (a)

过样品在 800℃的残留量来计算复合材料中 HA 的沉积含量[13]，可以发现在不同反应 pH 值下所得的复合材料，其无机相 HA 的沉积含量约为 32%～41%(质量分数)，远高于未进行水热处理样品中 HA 的沉积含量(约 14%)，约为后者沉积量的 2.3～3 倍。这说明水热环境的施加，有利于复合材料中 HA 晶体的沉积。

由以上分析可知，随着反应 pH 值的增大，复合材料中 CS 和 HA 晶体的结晶度提高，CS 分子排列有序化程度提高。当反应 pH 值为 12 时，复合材料中 CS 分子形成一种高结晶度的 α 晶型，HA 结晶度较低；纳米 HA 晶体(约为 27.63 nm)均匀分布在 CS 分子中。并且 CS 分子与 HA 晶体之间存在较强的化学作用。

2.2 分析与讨论

本实验中采用的原位水热沉积法制备的 HA/CS 复合材料，是以原位沉积法为基础，结合水热处理而得到。从原理上看，当环境 pH 大于 6.7 时，CS 能从其溶液中沉淀出来[6]。而 HA 的沉积需要环境 pH 大于 10 才能使 Ca、P 的前驱液发生沉积。本实验中在保持反应 pH 值较大的碱性条件下，让 HA 的沉积伴随 CS 分子的沉淀而发生，这就有效克服了 HA 在 CS 基体中分布不均的问题[6-7]。加之实验中长时间水热环境的施加，使得密闭体系中存在饱和的蒸汽压，这将加速密闭溶液中各离子尤其是 OH^- 离子的扩散和渗透[14]，进而有效地改善材料中 HA 晶体在 CS 基体中的沉析。同时由于在密闭体系和水热环境中，OH^- 离子的供应有限，所以在既要满足 CS 分子的沉析，又要满足 HA 晶体形成的条件下，导致 CS 分子和 HA 晶体之间相互竞争，相互抑制，最终导致低结晶度的纳米 HA 晶体和结构排列有序的 CS 分子出现在复合材料中。

随着反应 pH 值的增大，密闭体系中 OH^- 离子数量增多，这就导致更多的 CS 分子和 HA 晶体成核、结晶并晶体长大，因此导致复合材料中 HA 结晶度提高，晶体尺寸增大；CS 分子由无定形逐渐变成高结晶度的 α 晶型，分子排列有序，规整度增高。并且，随着反应 pH 值的增大，强碱性的条件使得部分没被脱乙酰化的 CS 分子进一步脱乙酰化，在 CS 分子的 C_2 位上形成更多游离的—NH_2，从而使得 CS 分子链上的 C_2—NH_2 容易与相邻或链内 CS 分子上的 C_3—OH 和 C_6—OH 以及糖苷键(—O—)之间形成更多的分子内或分子间氢键，进而使得 CS 分子链规整度增高，分子排列趋于均一，结晶度提高[9]。而结晶度的提高又进一步导致 CS 分子主链的断裂温度和分解温度都得到提高，这在复合材料的 DSC 检测分析中得到证实。更重要的是，由于密闭体系和水热环境的施加，CS 分子的 C_2—NH_2，C_3—OH 和 C_6—OH 容易与 HA 中的 PO_4^{3-} 之间形成较强的氢键，且 C_2 处游离的—NH_2 也容易与 HA 中的 Ca^{2+} 发生螯合作用。这些存在于 CS 分子和 HA 之间所形成的化学作用，在复合材料的 FTIR 图谱和 DSC 检测中还可得到进一步的证实。研究表明，复合材料中在 CS 分子与 HA 晶体之间形成较强的化学作用，有利于该复合材料力学性能的提高[15]。加之，HA 晶体结构中相邻 Ca 的距离($d_{Ca}=0.344\times3=1.03$ nm)与 CS 分子中 c 轴的晶胞参数(1.03 nm)非常相近[10]，这种存在于 CS 分子与 HA 之间的相近的晶胞参数，导致 HA 晶体和 CS 晶体的生长均出现沿 c 轴的择优取向生长，因而利用 SEM 观察到片层状的 CS 分子有序地出现在复合材料中。

3 结 论

本实验是在结合原位沉积法和水热法优点的基础上，发展、采用原位水热沉积法制备 HA/CS 纳米复合材料，并深入研究了不同反应 pH 值对该复合材料的影响，得出如下结论。

(1) 采用原位水热沉积法制备的复合材料，是

由 CS 晶体和低结晶度的纳米 HA 晶体所组成，且 CS 分子和 HA 晶体均出现沿 c 轴方向的择优生长。

（2）水热环境的施加，有利于该复合材料中 HA 晶体的沉积。水热处理的样品中 HA 的沉积量（约 32%～41%）约为未进行水热处理样品（约 14%）的 2.3～3 倍。

（3）随着反应 pH 值的增大，复合材料中 HA 晶体和 CS 分子的结晶度都增加，HA 的晶体尺寸增大，CS 分子排列有序化增加，且 CS 分子与 HA 晶体之间发生较强的化学键合作用。

（4）当反应 pH 值为 12 时，复合材料中 CS 分子形成一种高结晶度的 α 晶型，CS 分子排列有序，分子规整度高；HA 晶体尺寸为 27.63 nm，与自然骨中磷灰石的晶体尺寸相近；且纳米 HA 晶体均匀分布在 CS 分子中。存在于 CS 分子与 HA 晶体之间所形成的化学键合作用为最强。

参考文献：

[1] 程玲妹，袁楠希，薛　晴，等. 生物及环境材料 [M]. 北京：化学工业出版社，1997：239-242.

[2] 张志斌，黎达光，苏智青，万昌秀. 骨修复用聚磷酸钙/壳聚糖复合材料的合成及其细胞相容性 [J]. 复合材料学报，2007，24(6)：105-109.
Zhang Zhibin，Li Daguang，Su Zhiqing，Wan Changxiu. Syntheses and cell compatibilities of CPP/CS composite for bone repair [J]. Acta Materiae Compositae Sinica，2007，24(6)：105-109.

[3] Wan Andrew C A，Khor E，Hastings G W. Hydroxyapatite modified chitin as potential hard tissue substitute material [J]. J Biomed Mater Res，l997，38(3)：235-241.

[4] Hockin K X，Carl G S. Fast setting calcium phosphate-chitosan scaffold：Mechanical properties and biocompatibility [J]. Biomaterials，2005，26(12)：1337-1348.

[5] 吕彩霞，姚子华. 纳米羟基磷灰石/壳聚糖-硫酸软骨素复合材料的制备及其性能研究 [J]. 复合材料学报，2007，24(1)：110-115.
Lü Caixia，Yao Zihua. Preparation and characterization of nano-hydroxyapatite/chitosan－chondroitin sulfate composite materials [J]. Acta Materiae Compositae Sinica，2007 24，(1)：110-115.

[6] Chen Fei，Wang Zhoucheng，Lin Changjian. Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite particles and hydroxyapatite/chitosan nano-composite for use in biomedical materials [J]. Materials Letters，2002，57(4)：858-861.

[7] 李保强，胡巧玲，汪　茫，沈家骢. 原位复合法制备层状结构的壳聚糖/羟基磷灰石纳米材料 [J]. 高等学校化学学报，2004，25(10)：1949-1952.
Li Baoqiang，Hu Qiaoling，Wang Mang，Shen Jiacong. Preparation of chitosan/hydroxyapatite nanocomposite with layered structure via in-situ compositing [J]. Chem J Chinese Universities，2004，25(10)：1949-1952.

[8] 卢晓英，王秀红，屈树新，翁　杰. 纳米经基磷灰石/壳聚糖杂化材料的制备 [J]. 无机材料学报，2008，23(2)：332-336.
Lu Xiaoying，Wang Xiuhong，Qu Shuxin，Weng Jie. Preparation of nano-hydroxyapatite/chitosan hybrids [J]. Journal of Inorganic Materials，2008，23(2)：332-336.

[9] 蒋挺大. 壳聚糖 [M]. 北京：化学工业出版社，2001：13-18.

[10] Okuyamaa K，Noguchia K，Kanenaria M，Egawa T，Ogawa K. Structural diversity of chitosan and its complexes [J]. Carbohydrate Polymers，2000，41(3)：237-247.

[11] Klug H P，Alezander L E. X-ray diffraction procedures for poly-crystalline and amorphous materials [M]. New York：Wiley Publisher，1971.

[12] 马克昌，冯 坤，朱太勇，郭建刚. 骨生理学 [M]. 郑州：河南医科大学出版社，2000：137-142.

[13] Yamaguchi I，Itoh S，Suzuki M，Osaka A，Tanaka J. The chitosan prepared from crab tendons Ⅱ：The chitosan/apatite composites and their application to nerve regeneration [J]. Biomaterials，2003，24(19)：3285-3292.

[14] 孙玉静，田　莳，李小兵. 钛基钙钛矿陶瓷粉体的溶胶-水热法合成机理研究 [J]. 功能材料，2006，37(4)：528-531.
Sun Yujing，Tian Shi，Li Xiaobing. Mechanism of sol-hydrothermal for the synthesis of Ti-based perovskite ceramic powders [J]. Journal of Functional Materials，2006，37(4)：528-531.

[15] Yamaguchia I，Itohe S，Suzukie M，Sakane M，Osaka A，Tanaka J. The chitosan prepared from crab tendon I：The characterization and the mechanical properties [J]. Biomater，2003，24(2)：2031-2036.