

多孔钛表面羟基磷灰石形貌及形成机理

李若琳¹, 寇宏超¹, 徐广胜¹, 李金山¹, 周 廉¹, 卢婷丽²

(1. 西北工业大学 凝固技术国家重点实验室, 西安 710072;

2. 西北工业大学 生命科学学院, 西安 710072)

摘 要: 由于预钙化对 HA 有诱导沉积作用, 进而形成均匀涂层, 而未预钙化的多孔钛表面由于表面张力作用形成团簇状 HA 涂层。采用碱热处理+模拟体液(SBF)等化学方法在多孔钛表面制备羟基磷灰石(HA)涂层, 采用扫描电镜观察多孔钛表面形貌, 采用能谱分析仪对表面的 HA 涂层成分进行分析, 对比研究预钙化对 HA 形貌的影响, 并探讨不同形貌 HA 的形成机理。结果表明: 采用预钙化处理的多孔钛表面形成均匀附着且有一定厚度的 HA, 而未预钙化多孔钛表面则形成以团簇状不均匀分布的 HA。

关键词: 多孔钛; 碱热处理; 预钙化; 团簇; 羟基磷灰石

中图分类号: TG146.2

文献标志码: A

Morphology and formation mechanism of hydroxyapatite on porous titanium surface

LI Ruo-lin¹, KOU Hong-chao¹, XU Guang-sheng¹, LI Jin-shan¹, ZHOU Lian¹, LU Ting-li²

(1. State Key Laboratory of Solidification Processing, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China;

2. School of Life Science, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China)

Abstract: The formation of HA is induced by pre-calcified, leading to form a uniform coating. However, because of the effect of surface tension, cluster-like HA is formed. A hydroxyapatite (HA) coating on the porous titanium surface was prepared by NaOH heat treatment and heat treatment followed by immersing into the simulated body fluid (SBF). The influence of pre-calcified on HA morphology and element content was studied, the formation mechanisms of HA with different morphologies were explored. The results show the hydroxyapatite of porous titanium surface after pre-calcified is attached uniformly and has a certain thickness. However, the hydroxyapatite without pre-calcified is unevenly distributed on porous titanium surface in clusters.

Key words: porous titanium; NaOH heat treatment; pre-calcification; cluster-like; hydroxyapatite

钛及钛合金因其良好的生物相容性、耐蚀性及优异的综合性能成为临床医用金属材料的首选^[1], 但是, 钛合金植入人体后会产生应力屏蔽, 且始终作为宿主的异物存在, 容易变形和松动, 这些缺点严重影响了钛合金人工关节的长期应用效果^[2]。为了解决以上问题, 采用在钛及钛合金中引入孔隙的方法, 并对其进行表面改性^[3]。多孔结构可通过调控孔隙率使材料的弹性模量接近人骨而减少应力屏蔽^[4-5], 且其独特的三维连通孔能使体液和营养物质在多孔植入体中传输, 促进组织再生与重建, 加快愈合过程。

人工植入材料的基本要求是不仅具有生物相容性, 而且与相邻宿主骨间存在生物活性^[6-7]。羟基磷灰石(HA)是脊椎动物硬组织的矿物质成分^[8-9], 具有良好的生物相容性及生物活性, HA 涂层的溶解刺激了骨组织的结合, 它植入人体后能在短时间内与人体的软组织紧密结合。在钛或钛合金表面涂覆 HA 活性涂层, 改变了原有多孔钛的表面形态, 具有与人骨相近的钙磷比, 有利于成骨细胞的粘附、增殖和分化, 促使新骨组织长入孔隙, 使植入体同骨之间形成生物固定^[10]。ZHUANG 等^[11]利用粉末的单结晶羟基磷灰

石纤维合成磷灰石凝胶, 成功研发出一种新型高择优取向致密的羟基磷灰石陶瓷复合活性骨。LEE 等^[12]采用微弧氧化法在海绵复制法制备的多孔钛支架表面制备 HA/TiO₂ 复合涂层, 这种混合涂层提高成骨细胞活性的多孔钛支架显著。徐淑华等^[13-14]用扫描电镜和透射电镜对未经热处理的钛合金基体等离子喷涂 HA 生物材料的界面结合进行了观察与分析, 发现 HA 以结晶态和非晶态两种形态存在, 且 HA 和基体的界面结合是以物理结合为主, 界面明显, 加入 ZrO₂ 后, 涂层和基体之间的界面结合力显著增强。以上研究主要将视线集中于采用不同制备工艺对 HA 涂层进行设计, 但对材料表面不同 HA 形貌及形成机理探讨较少。

本文作者通过化学法在多孔钛表面沉积涂覆羟基磷灰石, 研究预钙化前后 HA 表面形貌的变化, 探讨多孔钛表面均匀 HA 及团簇状 HA 的形成机理。

1 实验

1.1 表面 HA 涂层制备

实验所用多孔钛为采用专利^[15]钛网层叠烧结法制备的 $d16\text{ mm} \times 0.4\text{ mm}$ 样品, 在丙酮/酒精、去离子水依次中超声波清洗 20 min 后放入 NaOH 水溶液(浓度 5.0 mol/L), 于 60 °C 密封保温处理 24 h。取出后用去离子水清洗, 在空气中干燥。处理后的样品以 3 °C/min 的速率升温至 630 °C, 保温 1 h 后随炉冷却, 取 A 组碱热处理后的多孔钛试样进行预钙化处理, 另取 B 组碱热处理后多孔钛样品不进行预钙化处理。预钙化处理的步骤为: 将 A 组样品放入 0.5 mol/L Na₂HPO₄ 溶液中 24 h, 再在饱和 Ca(OH)₂ 溶液中浸泡 5 h, 取出后用去离子水清洗。A 组与 B 组均置于 36.5 °C 模拟体液(Simulated body fluid, SBF, 离子浓度见表 1)中浸泡, 制成 HA 涂层多孔钛。浸泡过程中每 48 h

表 1 模拟体液(SBF) 和人体血清离子浓度对照

Table 1 Ion concentrations of simulated body fluid and human blood plasma

Solution	Concentration/(mmol·L ⁻¹)				
	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻
Blood plasma	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0
SBF	142.0	5.0	1.5	2.5	148.8

Solution	Concentration/(mmol·L ⁻¹)				
	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	Buffer	pH
Blood plasma	27.0	1.0	0.5		
SBF	4.2	1.0	0.5	A	7.25

更换 1 次 SBF, 以(CH₂OH)₃CNH₂ 溶液作为缓冲液, 调节 pH 到 7.25。将 2 组样品于 5 d 和 14 d 后取出进行观察分析。

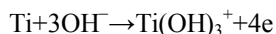
1.2 观察分析

采用 TESCAN VEGA3 扫描电镜(SEM)对改性前后试样形貌进行观察, 用扫描电镜配备的能谱分析仪对表面的 HA 涂层进行成分分析。

2 结果与分析

2.1 多孔钛表面碱热处理

对钛网预压烧结制备的多孔钛基体进行碱热处理。图 1 所示为碱热处理前后的多孔钛表面形貌, 其中, 图 1(a)所示为酸洗后多孔钛表面形貌, 表面呈阶梯型层片结构, 表面平整光滑, 提高了 HA 附着力和结合力。多孔钛表面产生大量气体, 热处理使气体释放出来, 表面形成纳米或几微米的三维孔隙结构, 如图 1(b)所示, 这是由于多孔钛表面发生以下化学反应:



碱热处理后钛表面形成非晶的钛胶层, 热处理后

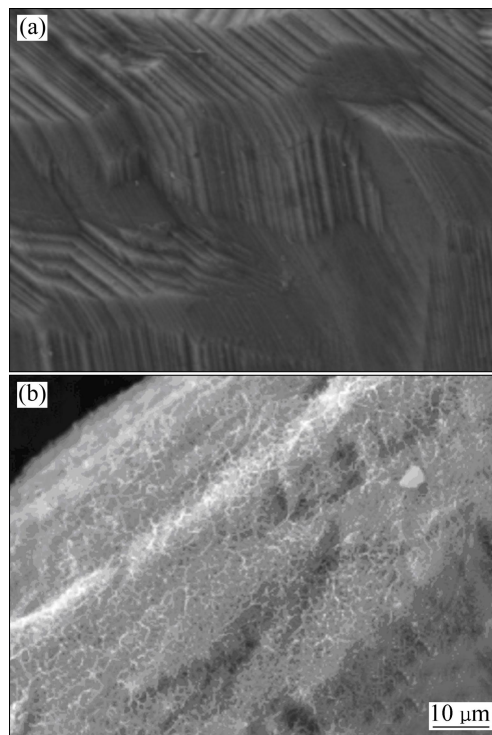


图 1 碱热处理前后的多孔钛表面形貌

Fig. 1 Morphologies of porous titanium surface before (a) and after (b) NaOH and heat treatment

表面形成钛酸钠, 浸泡到 SBF 中钛表面的 Na^+ 与模拟体液 SBF 中的 H_3O^+ 交换, 钛表面形成活性 Ti-OH , 为表面磷灰石形核提供活性位。

2.2 多孔钛表面 HA 沉积

将 A 和 B 2 组多孔钛试样在 SBF 中浸泡 5 d 后取出, 利用扫描电镜观察钙磷涂层的生长情况, 如图 2 所示, 其中, 图 2(a)所示为 A 组预钙化后多孔钛表面磷灰石附着形貌, 图 2(b)所示为 B 组未经预钙化的多孔钛表面磷灰石附着形貌。

从图 2(a)可以看出: 预钙化的样品表面磷灰石附

着均匀, 涂层具有一定厚度, 碱热处理后形成的微米级孔基本上观察不到, 涂层分布比较均匀, 一些盐类析出物没有看到。而图 2(b)中所示的未预钙化多孔钛表面磷灰石分布比较分散, 有些地方的原始表面片层纹路依稀可见, 且一些结晶物分布比较明显, 多孔钛表面碱热处理后的微米级孔洞还可以看到, 磷灰石涂层分布不均匀, 一些白色的盐类析出物比较多, 且分布没有规律。

将 2 组样品在 SBF 中继续浸泡至 14 d 后取出, 图 3 所示为 A 和 B 3 组多孔钛浸泡 SBF 14 d 后的扫描电镜照片及能谱分析, 其中, 图 3(a)所示为 A 组预钙化

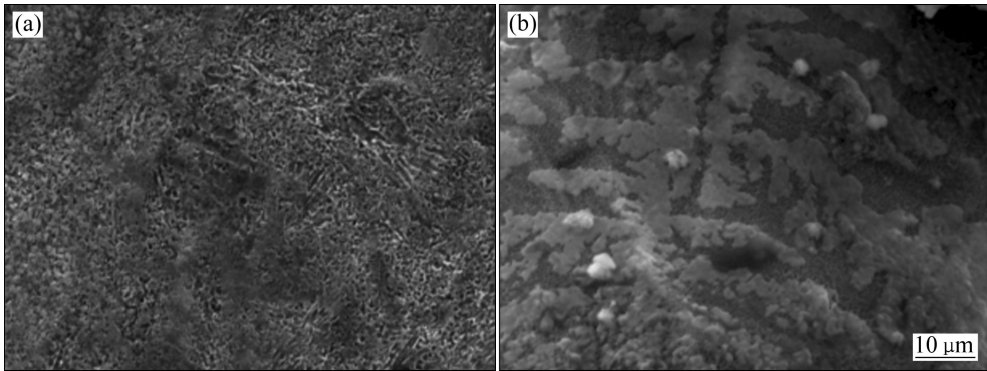


图 2 多孔钛在 SBF 中浸泡 5 d 后钙磷涂层生长照片

Fig. 2 Surface morphologies of apatite coating on porous titanium immersed in SBF for 5 d: (a) Pre-calcification; (b) Without pre-calcification

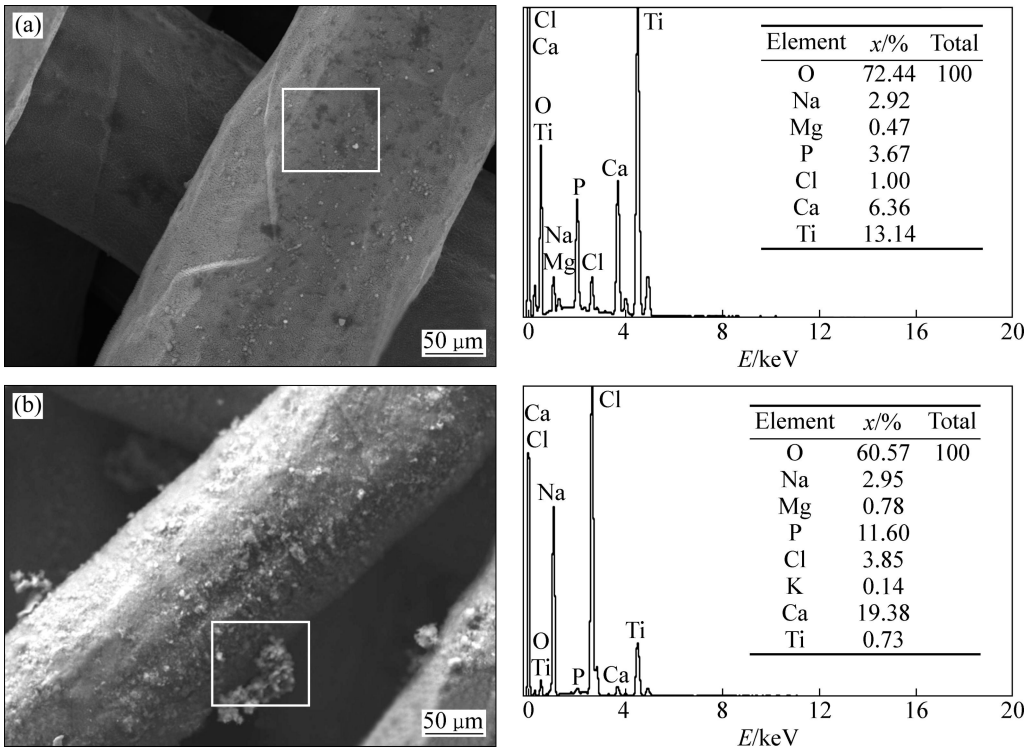


图 3 多孔钛在 SBF 中浸泡 14 d 后钙磷涂层生长照片及能谱分析

Fig. 3 Surface morphologies and EDS analysis of apatite coating on porous titanium immersed in SBF for 14 d: (a) Pre-calcification; (b) Without pre-calcification

后进行 SBF 浸泡的样品, 磷灰石涂层均匀地附着在多孔钛表面。对图 3(a)框图区域进行 EDS 分析得到表面涂层的摩尔分数分别为 Ca 6.36%、P 3.67%、O 72.44%, 钙与磷摩尔比为 1.73; 而标准 HA 的钙磷摩尔比为 1.67:1, 说明浸泡 SBF 14 d 后 A 组多孔钛表面形成的磷灰石涂层为 HA 涂层。图 3(b)所示为 B 组未预钙化样品浸泡 SBF 14 d 的表面形貌, 磷灰石已完全覆盖多孔体表面, 而且变成更大的簇状和团状。在对图 3(b)框图区域内的团簇状物质进行 EDS 分析可知, 团簇状磷灰石的摩尔分数分别为 Ca 19.38%、P 11.60%、O 60.57%, 钙磷原摩尔为 1.67, B 组多孔钛表面形成了 HA 涂层, 且表面不均匀分布了少许 NaCl 和 MgCl 等其他盐类。

2.3 多孔钛表面磷灰石涂层形成机理

图 4 所示为碱热处理后多孔钛表面诱导磷灰石形成机理示意图, 其中, 图 4(a)所示为均匀磷灰石涂层形成机理示意图, 预钙化过程中样品表面的钛酸钠水解, 形成带负电的活性 Ti-OH, Ca^{2+} 被静电引力均匀吸附到表面的活性羟基位上。在浸泡 SBF 过程中, PO_4^{3-} 与 Ca^{2+} 发生反应, 均匀附着在 Ca^{2+} 表面, 同时, 又有 Ca^{2+} 均匀吸附到 PO_4^{3-} 表面, 层层叠加吸附, 形成了均匀分布的 HA。图 4(b)所示为团簇状磷灰石涂层形成机理示意图, 未预钙化的多孔钛表面, Ca^{2+} 与 PO_4^{3-} 同时吸附到多孔钛表面, 由于表面张力的作用, 使磷酸钙发生球化, 并以此为核心, 结晶生长, 形成团簇状 HA。有些研究人员认为, 多孔钛表面形成团簇状 HA 是由于浸泡的 SBF 中含有 Mg^{2+} 和 HCO_3^- , 在模拟体液环境中, HCO_3^- 对镁的腐蚀具有保护和破坏的双重作用, 在这种交互作用下, 会在表面形成团

簇状 HA。但在本实验中, A 组和 B 组均浸泡了同样的含有 Mg^{2+} 和 HCO_3^- 的 SBF, 唯一区别在于浸泡前后是否进行了预钙化这一过程, 因此, 本文作者认为未进行预钙化是团簇状 HA 的形成原因。

3 结论

1) 碱热处理后, 多孔钛表面形成丰富的三维微纳米级孔隙结构, 便于 HA 的形核。

2) 采用预钙化处理的多孔钛表面形成均匀附着且有一定厚度的 HA, 预钙化对 HA 有诱导沉积作用, 进而形成均匀涂层。

3) 未预钙化的多孔钛表面形成以团簇状不均匀分布的 HA, Ca^{2+} 与 PO_4^{3-} 同时吸附到多孔钛表面, 由于表面张力的作用, 使磷酸钙发生球化, 形成团簇状 HA。

REFERENCES

- [1] NISHIUCHI S, KATO H, FUJITA H, OKA M, KIM H M, KOKUBO T, NAKAMURA T. Titanium metals form direct bonding to bone after alkali and heat treatments[J]. *Biomaterials*, 2001, 22(18): 2525-2533.
- [2] HUISKES R, WEINANS H, RIEBERGER B. Natural factors that affect the shape and strength of the aging human femur[J]. *Clin Orthop Relat Res*, 1992, 274:124.
- [3] LIU Xuan-yong, CHU P K, DING Chuan-xian. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications[J]. *Materials Science and Engineering*, 2004, 47(3/4): 49-121.
- [4] 刘 辉, 慈 勇. 医用多孔金属的制备及其生物活化研究进展[J]. *中国材料进展*, 2012(5): 40-56.
LIU Hui, HAN Yong. Research progress on preparation and surface activation of porous biomedical metal materials[J]. *Materials China*, 2012(5): 40-56.
- [5] 姜淑文, 齐 民. 生物医用多孔金属材料的研究进展[J]. *材料科学与工程*, 2002, 20(4): 597-600.
JIANG Shu-wen, QI Min. Development of porous metals used as biomaterials[J]. *Materials Science and Engineering*, 2002, 20(4): 597-600.
- [6] SYKARAS N, LACOPINO A M, MARKER V A, TRIPLET R G, WOODY R D. Implant materials, designs and surface topographies: their effect on osseointegration. A literature review[J]. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 2000, 15(5): 675-690.
- [7] PONSONNET L, REYBIER K, JAFFREZIC N, COMTE V, LAGNEAU C, LISSAC M, MARTELET C. Relationship

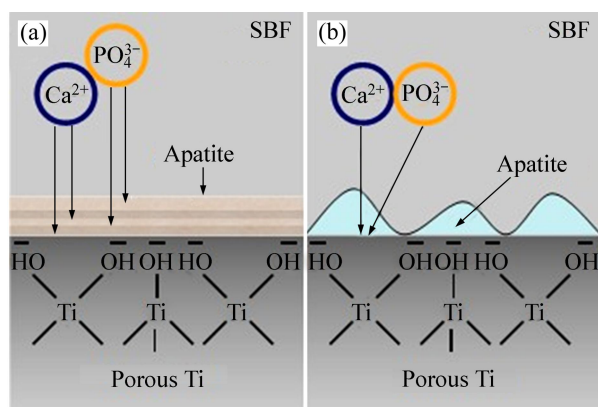


图 4 多孔钛表面磷灰石涂层形成机理

Fig. 4 Formation mechanism of porous titanium apatite coating: (a) Uniform apatite coating; (b) Cluster-like apatite coating

- between surface properties (Roughness, wettability) of titanium an titanium alloys and cell behaviour[J]. Materials Science & Engineering C, 2003, 23(4): 551–560.
- [8] AKAO M, AOKI H, KATO K. Mechanical properties of sintered hydroxyapatite for prosthetic application[J]. Journal of Materials Science, 1981, 16(3): 809–812.
- [9] ZHOU H, LEE J. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering[J]. Acta Biomater, 2011, 7(7): 2769–2781.
- [10] ANSELME K. Osteoblast adhesion on biomaterials[J]. Biomaterials, 2000, 21(7): 667–681.
- [11] ZHUANG Z, FUJIMI T J, NAKAMURA M, KONISHI T, YOSHIMURA H, AIZAWA M. Development of a,b-plane-oriented hydroxyapatite ceramics as models for living bones and their cell adhesion behavior[J]. Acta Biomater, 2013, 9(5): 6732–6740.
- [12] LEE J H, KIM H E, KOH Y H. Highly porous titanium (Ti) scaffolds with bioactive microporous hydroxyapatite/TiO₂ hybrid coating layer[J]. Materials Letters, 2009, 63(23): 1995–1998.
- [13] 徐淑华, 罗承萍, 王迎军. 羟基磷灰石生物涂层材料界面的电镜观察与分析[J]. 中国有色金属学报, 2001, 11(2): 190–194.
- XU Shu-hua, LUO Cheng-ping, WANG Ying-jun. Electron microscopic study on interfacial characterization of hydroxyapatite biomaterial coating[J]. The Chinese Journal of Nonferrous Metals, 2001, 11(2): 190–194.
- [14] 徐淑华, 罗承萍, 王迎军. 羟基磷灰石生物活性梯度涂层材料的界面特点[J]. 中国有色金属学报, 2002, 12(1): 163–167.
- XU Shu-hua, LUO Cheng-ping, WANG Ying-jun. Interfacial characterization of hydroxyapatite Bioactive gradient coating[J]. The Chinese Journal of Nonferrous Metals, 2002, 12(1): 163–167.
- [15] 寇宏超, 李金山, 徐广胜, 唐 斌, 王 军, 周 廉. 一种梯度多孔钛合金的制备方法[P]. 中国专利: 201310005574.3. 2013–01–08
- KOU Hong-chao, LI Jin-shan, XU Guang-sheng, TANG Bin, WANG Jun, ZHOU Lian. A fabricated method of gradient porous titanium and titanium alloys[P]. China Patent: 201310005574.3. 2013–01–08.
- [16] WITTE F, FISCHER J. In vitro and in vivo corrosion measurements of magnesium alloys[J]. Biomaterials, 2006, 27(7): 1013–1018.

(编辑 陈灿华)