

造孔剂对电泳沉积制备多孔 HA 涂层及其生物活性的影响

张 岚 黄紫洋*

(福建师范大学化学与材料学院 福州 350007)

摘 要 采用水热法制得的羟基磷灰石(HA)纳米粉体,分别与造孔剂葡萄糖(Glu)、壳聚糖(CS)、炭粉(C)3种微粒($<38.5\ \mu\text{m}$)配置成质量比1:1的悬浮液,电泳沉积-烧结制备钛基多孔HA涂层,并对制得的3种多孔HA涂层在模拟体液浸泡前后的表面形貌、化学组成及物相变化进行表征。结果表明,经700℃烧结处理后制得的3种多孔HA涂层在1.5倍人体模拟体液中浸泡5 d后,多孔HA涂层表面均被层状生长的碳磷灰石颗粒完全覆盖,颗粒直径在5~25 μm ,说明这些多孔HA涂层均具有良好的生物活性。其中以CS为造孔剂制得的多孔HA涂层结合强度最高,达19.5 MPa,有望开发成为新型的人骨植入生物陶瓷材料。

关键词 电泳沉积,钛基材,多孔羟基磷灰石涂层,碳磷灰石,生物活性

中图分类号:O647.1; TQ174.1

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2012)01-0046-06

DOI:10.3724/SP.J.1095.2012.00070

羟基磷灰石(Hydroxyapatite, HA)是人体和动物骨骼的主要无机成分,具有良好的生物相容性、生物活性及骨传导性等^[1-2],作为生物陶瓷植入人体后,在体液的作用下,钙和磷会游离于材料表面,被机体组织所吸收,并与人体骨组织发生化学键合,生长出新的组织。但是目前制备的HA生物陶瓷材料与基材的结合强度低,脆性大,难应用于临床^[3]。由于多孔HA生物陶瓷能为纤维细胞和骨组织生长提供通道和生长空间,相互贯通的孔隙结构还可以形成纤维组织和新生骨组织交叉结合,此界面能保持人体正常的新陈代谢,因此成为人工植入材料研究的热点,制备综合利用生物惰性金属钛优异力学性能和HA优良生物活性的钛基多孔HA涂层材料成为人们研究的主要方向。目前多孔HA陶瓷的制备方法主要有添加造孔剂法、有机泡沫浸渍法、溶胶-凝胶法和发泡剂法等^[4-5]。而电泳沉积(Electrophoretic deposition, EPD)是将悬浮液中荷电的HA固体微粒在电场作用下,发生定向移动并在电极表面形成沉积层的过程,是近年来应用于制备金属基体HA生物陶瓷涂层的一种新方法,具有许多显著的优点^[6]。壳聚糖(Chitosan, CS)是一种天然的多糖,由甲壳素(Chitin)经脱乙酰化反应而得,与葡萄糖(Glucose, Glu)一样均容易荷电,有利于电泳沉积,炭粉(Carbon, C)的热膨胀系数与羟基磷灰石的接近。这3种物质作为造孔剂高温烧结后均完全氧化^[7]。本研究旨在研究利用电泳沉积技术,在涂层中添加葡萄糖、壳聚糖和炭粉3种微粒作为造孔剂,在纯钛基体表面电泳沉积HA复合涂层,通过后续烧结处理制得多孔HA涂层,结合模拟体液(SBF)浸泡,评价3种多孔HA涂层的生物活性,并对涂层与钛基材的结合强度进行评价。

1 实验过程

1.1 试剂和仪器

HA纳米粉体采用水热法自制^[8];壳聚糖(脱乙酰度为96.4%,青岛金湖甲壳制品有限公司);炭粉(天津市瑞金特化学品有限公司);商业纯钛(西北有色金属研究院);其余试剂均为分析纯,购自中国医药集团。

冷场发射扫描电子显微镜(JSM-7500F FE-SEM, 日本电子, Ltd, Japan)观察烧结后涂层的表面形貌;

Philips X-Perd MPD X 射线粉末衍射仪 (Philips, Netherlands) 分析涂层的晶体结构; Nicolet Avatar 360 Fourier 型红外光谱仪 (FT-IR, 美国 Thermo Electron Corporation) 分析粉体的组成; LLOYD LR5K 型万能材料实验机 (Lloyd Instruments, UK) 测试涂层与基体的结合强度, 测试方法依据 ASTM F 1044-87 标准进行。

1.2 多孔 HA 涂层的制备

将 1 mm 厚纯钛裁剪成 10 mm × 100 mm 的样品, 经金相砂纸磨光, 水洗, 丙酮超声除油 20 min, 然后置于 5 mol/L HNO₃ 和 4% HF (质量分数) 混合酸中刻蚀 2 min, 二次蒸馏水水洗, 自然晾干待用。将质量之比为 1:1 的 HA 纳米粉体和造孔剂微粒 (粒径 < 38.5 μm) 加入到 40 mL 正丁醇中, 搅拌的同时加入 0.5 mL 三乙醇胺作为添加剂, 悬浮液超声分散 1 h, 静置陈化过夜。以经预处理的纯钛片为阴极, 大面积铂片为阳极, 电极间距 7 mm, 电泳沉积电压 35 V, 沉积时间 60 s, 沉积面积 10 mm × 10 mm, 沉积结束后取出, 自然晾干。采用程序升温, 设定烧结温度为 700 °C, 保温 2 h^[9], 烧结后自然冷却, 隔夜取出, 于干燥器中存放。

1.3 多孔 HA 材料生物活性评价

将涂层浸入 1.5 倍人体模拟体液 (1.5SBF) (表 1) 中, SBF 以 (CH₂OH)₃CNH₂/HCl (1 mol/L) 维持溶液 pH = 7.4, 在 (37.0 ± 0.1) °C 温度下浸泡 5 d 后, 取出水洗自然晾干, 采用 SEM 观察涂层表面形貌、FT-IR 和 XRD 分析组分的变化。

表 1 1.5 倍人体模拟体液的离子浓度
Table 1 Ion concentrations in 1.5 times simulated body fluid (SBF)

Ions	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Human plasma/(mmol · L ⁻¹)	142.0	5.0	1.5	2.5	103.0	27.0	1.0	0.5
1.5SBF/(mmol · L ⁻¹)	142.0	5.0	1.5	4.2	147.8	3.75	1.5	0.4

2 结果与讨论

2.1 烧结后的 HA 涂层的 SEM 图

添加不同造孔剂经 700 °C 烧结 2 h 后多孔 HA 涂层的表面形貌如图 1 所示。由图 1 可见, 未添加造

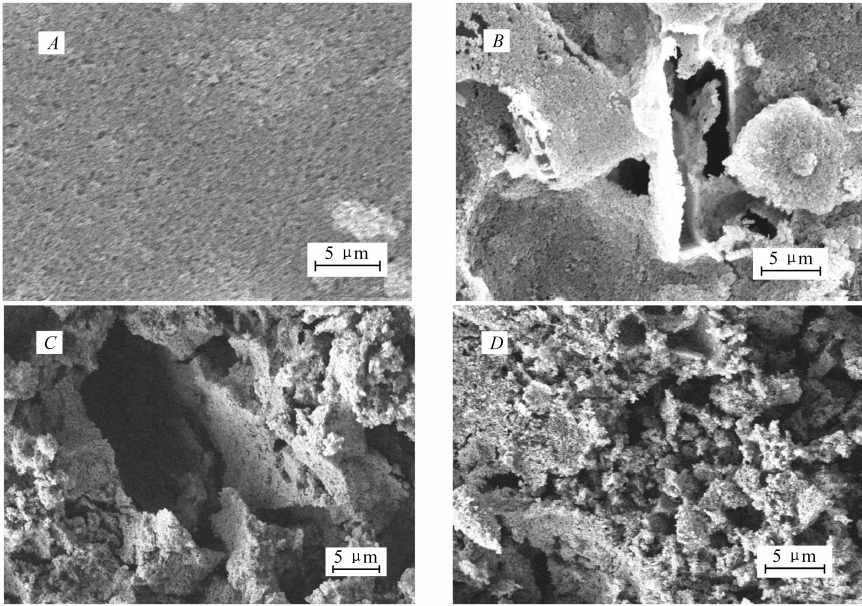


图 1 添加不同造孔剂经 700 °C 烧结 2 h 后 HA 的 SEM 图

Fig. 1 Surface morphologies of HA coatings obtained by sintering at 700 °C for 2 h with different porogens
A. without porogen; B. Glu; C. CS; D. C

孔剂的涂层经烧结后其表面均匀致密(图 1A);而添加葡萄糖的涂层经烧结后其表面出现多孔结构且凹凸不平,孔洞直径在 2~20 μm (图 1B);图 1C 为添加壳聚糖烧结得到的涂层,孔径在 5~25 μm ,表面粗糙;添加 C 粉微粒的涂层烧结后其表面呈疏松状,孔径较小,一般在 2~5 μm (图 1D),添加 3 种不同造孔剂烧结得到的多孔 HA 涂层的这些表面形貌均极其有利于组织的生长和延伸^[10]。

2.2 SBF 浸泡后多孔 HA 涂层的表征

未添加造孔剂的 HA 涂层仅被少量蠕虫状碳磷灰石 (CHA) 晶体覆盖^[11](图 2A),涂层表面出现了明显的裂纹。这是由于 HA 涂层从 1.5SBF 中取出后,HA 涂层干燥收缩所致。而添加 Glu 和 CS 为造孔剂制备的多孔涂层表面完全覆盖 CHA 颗粒,颗粒表面分布大量小孔,这种结构有利于涂层与体液进行

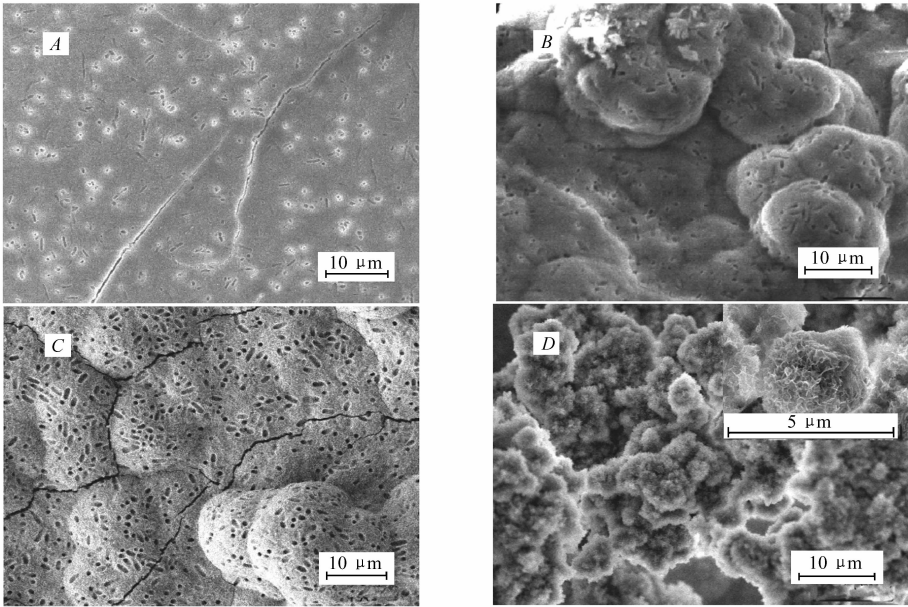


图 2 多孔 HA 在 1.5SBF 中浸泡 5 d 后的 SEM 图

Fig. 2 Surface morphologies of porous HA coatings after immersion in 1.5SBF for 5 d
A. without porogen; B. Glu; C. CS; D. C

进一步物质交换,致使 CHA 呈层状生长,颗粒大小在 10~15 μm (图 2B、2C),这是由于 HA 涂层表面存在孔洞时,具有较大的比表面积和粗糙度,与 1.5SBF 接触的面积增加,能溶解出更多的 Ca^{2+} 、 PO_4^{3-} 离子,同时 1.5SBF 中的 Ca^{2+} 、 PO_4^{3-} 、 CO_3^{2-} 离子使孔洞内部的离子浓度增加,即饱和度增大,在这种多孔 HA 结构体系中 CHA 晶体与基体之间的接触角变小,有利于 CHA 晶核的生长。而以 C 为造孔剂的多孔 HA 涂层在 1.5SBF 中浸泡 5 d 后,CHA 颗粒呈絮状且完全覆盖涂层表面(图 2D),局部放大图(图 2D 右上角)可看出颗粒呈片状晶体排列,类似珍珠层,这与人骨生成机理相似^[12]。以上这些结构形貌均说明,本实验制得的多孔 HA 涂层具有良好的生物活性。

图 3 为多孔 HA 涂层以及在 1.5SBF 中浸泡 5 d 后的涂层粉体的 XRD 谱图。从图 3 可以看出,粉体在 2θ 为 25.8°、31.8°、32.9°及 39.8°处均出现衍射峰,为 HA 纳米粉体的结构特征峰(图 3 谱线 a)。多

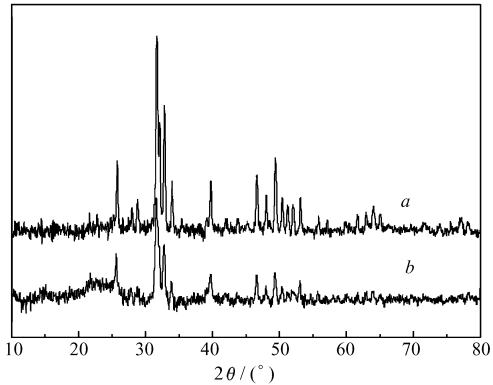


图 3 多孔 HA 涂层在 1.5SBF 中浸泡 5 d 涂层的 XRD 谱图

Fig. 3 XRD patterns of porous HA coating before and after immersion in 1.5SBF

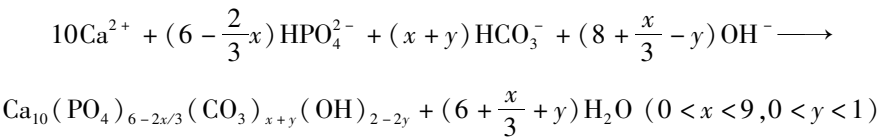
a. before immersion; b. immersion in 1.5SBF for 5 d

孔 HA 涂层在 SBF 中浸泡 5 d 后,涂层中 HA 的所有衍射峰均出现弱化,这进一步说明 HA 中的 PO_4^{3-} 可能部分为 CO_3^{2-} 所取代(图 3 谱线 b)。

2.3 SBF 浸泡后多孔 HA 涂层的 FT-IR 表征

HA 涂层在人体模拟体液中形成碳磷灰石层,是涂层具有生物活性的一种间接测定方法^[13],CHA 的形成能力常作为衡量该材料是否具有生物活性的重要依据。

本实验制得的多孔 HA 涂层在 1.5SBF 中浸泡 5 d 后的 FT-IR 谱图如图 4 所示。3 571 cm^{-1} 处的 O—H 振动吸收峰弱化,且 1 000 ~ 1 100 cm^{-1} 的 PO_4^{3-} 吸收峰变宽,说明涂层中 HA 的对称性降低,这是由于 HA 中的 PO_4^{3-} 可能部分被 CO_3^{2-} 取代的结果;而在 1 400 ~ 1 550 cm^{-1} 之间和 870 cm^{-1} 处则出现 CO_3^{2-} 的特征吸收峰。在分析浸泡前后 HA 涂层的化学组分时,同时采用化学分析方法辅助测试,该实验方法为:取一定量浸泡后涂层粉末与 1.0 mol/L 的盐酸反应,可观察到有明显的气泡生成,而浸泡前的 HA 涂层采用同样的实验方法则无气泡生成,从而可以证实浸泡后的涂层中可能含有 CO_3^{2-} 。由此可以推断,在 1.5SBF 中浸泡 5 d 后涂层表面碳磷灰石化,其碳酸化的羟基磷灰石对动物体内的新骨形成具有十分重要的意义^[14],其反应过程可能是:



在 1.5SBF 中浸泡实验结果表明,利用 3 种不同造孔剂制得的多孔 HA 涂层均具有良好的生物活性。

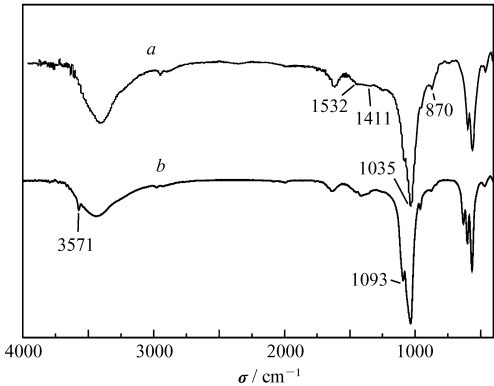


图4 多孔 HA 涂层于 1.5SBF 溶液中浸泡前后的 FT-IR 图

Fig. 4 FT-IR of porous HA coatings before and after immersion in 1.5SBF

a. immersion in 1.5SBF for 5 d; b. before immersion

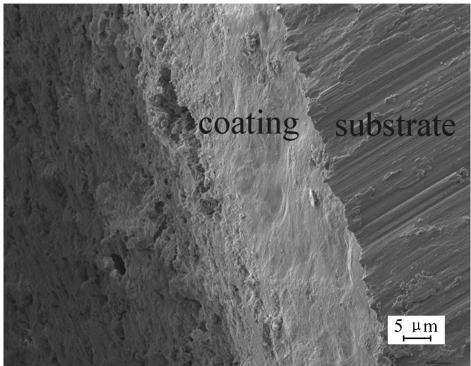


图5 CS/HA/Ti 复合涂层经 700 °C 热处理后涂层横截面形貌的 SEM 图

Fig. 5 SEM photograph of cross-section of CS/HA/Ti composite coating after heat treatment at 700 °C

2.4 多孔 HA 涂层力学性能测试

表 2 为采用不同造孔剂电泳沉积涂层经 700 °C 烧结后涂层与基体之间的结合强度测定结果。从表 2 可以看出,CS/HA/Ti 涂层经烧结后与基体钛的结合强度最高可达 19.5 MPa,涂层与基体具有较高的结合强度,Glu/HA/Ti 涂层结合强度居中,与 HA/Ti 致密涂层的结合强度 17.9 MPa 相近,其原因可能是以葡萄糖和壳聚糖为造孔剂制得的多孔 HA 涂层为表层多孔而深层致密的结构,从图 5 的 CS/HA/Ti 复合涂层经 700 °C 热处理后得到的多孔 HA 涂层的截面 SEM 图可以进一步得到佐证,图中呈现出的是

表 2 不同造孔剂对多孔 HA 涂层结合强度的影响

Table 2 Effect on bonding strength(σ) of the porous coating with different porogens

Sample	σ/MPa	Sample	σ/MPa
HA/Ti	17.9	CS/HA/Ti	19.5
Glu/HA/Ti	17.6	C/HA/Ti	15.2

HA 与 Ti 基体的紧密结合。而 C/HA/Ti 涂层的结合强度为 15.2 MPa, 涂层与基体的结合强度相对较低, 可能的原因是采用炭粉为造孔剂所得到的多孔 HA 涂层(在显微镜下观察)呈蓬松状, 这是导致涂层与钛基材的结合强度不高的主要原因。

3 结 论

以壳聚糖、葡萄糖和炭粉微粒($<38.5\ \mu\text{m}$)为造孔剂采用电泳沉积-烧结法制备钛基多孔 HA 涂层在 1.5 SBF 中浸泡 5 d 后, 相比于致密的 HA 复合涂层, 多孔涂层表面更易碳磷灰石化, 表现为很强的生物活性。3 种造孔剂所制得的多孔 HA 涂层与钛基材的结合强度分别为 19.5 MPa(壳聚糖)、17.6 MPa(葡萄糖)和 15.2 MPa(炭粉)。以壳聚糖为造孔剂制得的多孔 HA 涂层结合强度最高, 并且具有很高的生物活性, 有望开发成为新型的人骨植入生物陶瓷材料。

参 考 文 献

- [1] Wei M, Ruys A J, Milthorpe C C, *et al.* Solution Ripening of Hydroxyapatite Nanoparticles: Effects on Electrophoretic Deposition[J]. *J Biomed Mater Res*, 1999, **45**(1): 11-19.
- [2] ZHU Danchen, XIAO Xiufeng, LIU Rongfang, *et al.* Hydrothermal Synthesis of Hydroxyapatite with Cyclodextrin as Template[J]. *J Synth Cryst*, 2010, **39**(1): 214-220 (in Chinese).
朱丹琛, 肖秀峰, 刘榕芳, 等. 以环糊精为模板水热合成羟基磷灰石[J]. *人工晶体学报*, 2010, **39**(1): 214-220.
- [3] MA Li, ZHOU Kechao, LI Zhiyou, *et al.* Porous Bioglass Reinforced Hydroxyapatite Materials Produced with Carbon Particles[J]. *Chinese J Nonferrous Met*, 2008, **18**(10): 1885-1892 (in Chinese).
马莉, 周科朝, 李志友, 等. 生物玻璃增强多孔羟基磷灰石生物陶瓷的制备及其性能[J]. *中国有色金属学报*, 2008, **18**(10): 1885-1892.
- [4] Yousefpour M, Afshar A, Chen J, *et al.* Electrophoretic Deposition of Porous Hydroxyapatite Coatings Using Polytetrafluoroethylene Particles as Templates[J]. *Mater Sci Eng C*, 2007, (27): 1482-1486.
- [5] Jun-ichi H, Yuki A, Kiyoshi K. Macroporous Hydroxyapatite Ceramic Coating by Using Electrophoretic Deposition and then Heat Treatment[J]. *J Ceram Soc Jpn*, 2006, **114**(1): 51-54.
- [6] HUANG Ziyang, LIU Rongfang, XIAO Xiufeng. Advancement in Electrophoretic Deposition Hydroxyapatite Bioceramic Coating[J]. *J Chinese Ceram Soc*, 2003, **3**(6): 591-597 (in Chinese).
黄紫洋, 刘榕芳, 肖秀峰. 电泳沉积羟基磷灰石生物陶瓷涂层的研究进展[J]. *硅酸盐学报*, 2003, **3**(6): 591-597.
- [7] Pang X, Casagrande T, Zhitomirsky I. Electrophoretic Deposition of Hydroxyapatite-CaSiO₃-chitosan Composite Coatings [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2009, **330**(2): 323-329.
- [8] LIU Rongfang, XIAO Xiufeng, NI Jun, *et al.* Study on Kinetics of Hydrothermal Synthesis of Hydroxyapatite Powders[J]. *Chinese J Inorg Chem*, 2003, **19**(10): 1079-1084.
刘榕芳, 肖秀峰, 倪军, 等. 羟基磷灰石粉末的水热合成及动力学研究[J]. *无机化学学报*, 2003, **19**(10): 1079-1084.
- [9] Xiao X F, Liu R F, Zheng Y Z. Characterization of Hydroxyapatite/titania Composite Coatings Codeposited by a Hydrothermal-electrochemical Method on Titanium[J]. *Surf Coat Technol*, 2006, **200**(14): 4406-4413.
- [10] WANG Xinyu, HAN Yingchao, DAI Honglian, *et al.* Preparation and Micro-topography Observation of Porous Gradieng Hydroxyapatite Bionic Bone Material[J]. *Chinese J Biomed Eng*, 2003, **22**(3): 274-278 (in Chinese).
王欣宇, 韩颖超, 戴红莲, 等. 多孔梯度结构羟基磷灰石仿骨材料的制备和微观形貌观测[J]. *中国生物医学工程学报*, 2003, **22**(3): 274-278.
- [11] ZHAO Li, LIN Kaili, CHANG Jiang. Microstructure and Formation of HCA on the Surface of Bioactive[J]. *Ceram J Inorg Mater*, 2003, **18**(6): 1280-1285 (in Chinese).
赵莉, 林开利, 常江. 生物活性陶瓷材料表面碳酸羟基磷灰石形成及其微观结构的研究[J]. *无机材料学报*, 2003, **18**(6): 1280-1285.
- [12] LIAO Jianguo, LI Yubao, WANG Xuejiang, *et al.* Nano-hydroxyapatite/polycarbonate Composites: II. Bioactivity *in Vitro* [J]. *Acta Mater Compos Sin*, 2008, **25**(3): 68-72 (in Chinese).
廖建国, 李玉宝, 王学江, 等. 纳米羟基磷灰石/聚碳酸酯复合生物材料: II. 体外生物活性[J]. *复合材料学报*, 2008, **25**(3): 68-72.
- [13] Li P, Kanagasnie I, Degroot K, *et al.* Bone like Hydroxyapatite Induction by a Gel-derived Titania on a Titanium Substrate [J]. *J Am Ceram Soc*, 1994, **77**(5): 1307-1312.
- [14] Ducheyne P, Radin S, King L. The Effect of Calcium Phosphate Ceramic Composition and Structure on *in Vitro* Behavior: I. Dissolution[J]. *J Biomed Mater Res*, 1993, **27**: 25-34.

Fabrication and Bioactivity of Porous Hydroxyapatite Coating by Electrophoretic Deposition Using Different Porogens

ZHANG Lan, HUANG Ziyang*

(*College of Chemistry and Materials Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China*)

Abstract To improve the bioactivity and adhesion strength of hydroxyapatite (HA) coatings on titanium substrate, porous nano-HA coatings were deposited on titanium substrate using porogens such as glucose, starch and chitosan by electrophoretic deposition and sintering processes. The changes of surface morphology, chemical composition and phase composition of the porous HA coatings before and after immersion in simulated body fluid (SBF) were also investigated. The results showed that the porous HA coating was obtained by sintering at 700 °C. These porous HA coating surfaces were covered by carbonate-apatite particles after immersion in 1.5 times ion concentration of SBF for 5 days, with diameter about 5 ~ 25 μm, indicating that these coatings possessed an excellent bioactivity on its surface. The adhesion strength between coating and substrate was up to 19.5 MPa using CS as porogens. The developed method is promising to develop new implant bioceramic materials of human bone.

Keywords electrophoretic deposition, titanium substrate, porous hydroxyapatite, carbonate-apatite, bioactivity