

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 20520131151614

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

医用镁表面贻贝黏附蛋白/壳聚糖膜层的制备及其抗蚀性、生物相容性研究

Study on the Preparation of Mussel Adhesive Protein/Chitosan Film on Biomedical Magnesium Surface and Its Corrosion Protection and Biocompatibility

蒋平丽

指导教师姓名: 孙 岚 副 教 授

林 昌 健 教 授

专 业 名 称: 物 理 化 学

论文提交日期: 2016 年 5 月

论文答辩时间: 2016 年 5 月

学位授予日期: 2016 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016 年 5 月

厦门大学博硕士学位论文摘要库

**Study on the Preparation of Mussel Adhesive
Protein/Chitosan Film on Biomedical Magnesium Surface
and Its Corrosion Protection and Biocompatibility**



A Dissertation Submitted to the Graduate School in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Master of Science

By

Ping-Li Jiang

Directed by **Associate Prof. Lan Sun**

Prof. Chang-Jian Lin

Department of Chemistry

College of Chemistry and Chemical Engineering

Xiamen University

May, 2016

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

中文摘要	I
英文摘要	III
第一章 绪 论	1
1.1 生物医用材料简介	1
1.2 镁合金的降解	3
1.2.1 镁及其合金的腐蚀类型	3
1.2.1.1 电偶腐蚀	4
1.2.1.2 点腐蚀与丝状腐蚀	5
1.2.1.3 应力腐蚀开裂	7
1.2.1.4 高温腐蚀	8
1.2.1.5 生物腐蚀	8
1.2.2 镁及其合金的腐蚀机理	9
1.3 控制医用镁合金降解速度的方法	11
1.3.1 生物活性陶瓷	11
1.3.2 阳极氧化及微弧氧化膜	12
1.3.3 可降解高分子涂层	13
1.4 贻贝黏附蛋白简介	13
1.5 壳聚糖简介	16
1.6 本论文的研究目的与设想	17
参考文献	19
第二章 实验方法	28
2.1 电沉积技术	28
2.2 原子力显微镜 (AFM)	29

2.3 扫描电子显微镜 (SEM)	31
2.4 电化学测试技术	32
2.5 红外反射吸收光谱 (IRAS)	33
参考文献	35
第三章 贻贝黏附蛋白/壳聚糖膜层对医用纯镁在 Hanks' 溶液中 腐蚀降解的控制	36
3.1 前言	36
3.2 实验	37
3.2.1 电极与溶液制备	37
3.2.2 膜层的制备	38
3.2.3 膜层的表面形貌	38
3.2.4 红外反射吸收光谱 (IRAS) 测试	39
3.2.5 浸泡测试	39
3.2.6 电化学测试	39
3.3 结果与讨论	40
3.3.1 膜层的表面形貌分析	40
3.3.2 红外反射吸收光谱 (IRAS) 分析	44
3.3.3 电化学测试分析	47
3.3.4 浸泡实验	57
3.4 结论	60
参考文献	62
第四章 细胞吸附对镁表面贻贝黏附蛋白/壳聚糖膜层性能影响 的电化学研究	68
4.1 前言	68
4.2 实验	69

4.2.1 试样制备.....	69
4.2.2 实验方法.....	69
4.3 结果与讨论	70
4.3.1 高温灭菌后样品的表面形貌分析.....	70
4.3.2 细胞培养基中的电化学行为.....	72
4.3.3 细胞吸附对电化学行为的影响.....	76
4.3 结论	80
参考文献	82
第五章 结论与展望.....	85
5.1 主要结论	85
5.2 研究工作展望	86
攻读硕士学位期间发表与交流的论文	87
致谢	89

厦门大学博硕士学位论文摘要库

Contents

Abstract in Chinese	I
Abstract in English	III
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Introduction of Biomedical Materials	1
1.2 Degradation of Mg Alloys	3
1.2.1 Corrosion Types of Mg and Mg Alloys	3
1.2.1.1 Galvanic Corrosion	4
1.2.1.2 Pitting Corrosion and Filiform Corrosion.....	5
1.2.1.3 Stress Corrosion Cracking	7
1.2.1.4 High Temperature Corrosion	8
1.2.1.5 Biological Corrosion.....	8
1.2.2 Corrosion Mechanisms of Mg and Mg Alloys.....	9
1.3 Control of Degradation Rate for Medical Mg Alloys	11
1.3.1 Bioactive Ceramics	11
1.3.2 Anodic Oxidation and Micro-arc Oxidation Films	12
1.3.3 Biodegradable Polymer Coatings	13
1.4 Introduction of Mussel Adhesive Proteins.....	13
1.5 Introduction of Chitosan	16
1.6 Objective and Contents of This Dissertation	17
References.....	19
Chapter 2 Experimental Methods	28
2.1 Electrodeposition Technique.....	28
2.2 Atomic Force Microscope (AFM).....	29

2.3 Scanning Electron Microscope (SEM).....	31
2.4 Electrochemical Measurement Technology	32
2.5 Infrared Reflection Adsorption Spectroscopy (IRAS)	33
References.....	35
Chapter 3 Controllable Degradation of Medical Magnesium by Mussel Adhesive Protein (<i>Mefp-1</i>)/Chitosan in Hanks' solution	36
3.1 Introduction.....	36
3.2 Experimental	37
3.2.1 Preparation of Electrode and Solution	37
3.2.2 Preparation of Films.....	38
3.2.3 Morphology of the Films	38
3.2.4 Infrared Reflection Adsorption Spectroscopy (IRAS) Analysis	39
3.2.5 Immersion Tests	39
3.2.6 Electrochemical Measurements	39
3.3 Results and Discussion	40
3.3.1 Morphology of the Films	40
3.3.2 Infrared Reflection Adsorption Spectroscopy (IRAS) Analysis	44
3.3.3 Electrochemical Measurements	47
3.3.4 Immersion Tests	57
3.4 Conclusions.....	60
References.....	62
Chapter 4 Electrochemical Investigation of the Influence of Cell Adhesion on the Property of the <i>Mefp-1</i>/Chitosan Film.....	68
4.1 Introduction.....	68
4.2 Experimental	69

4.2.1 Preparation of Samples	69
4.2.2 Experimental Methods	69
4.3 Results and Discussion	70
4.3.1 Morphology Analysis after Autocalving	70
4.3.2 Electrochemical Behaviors in Cell Culture Medium	72
4.3.3 Influence of Cell Adhesion on the Electrochemical Behaviors	76
4.3 Conclusions.....	80
References.....	82
Chapter 5 Conclusions and Future Work	85
5.1 Conclusions.....	85
5.2 Future Work	86
Publications and Conference Presentations.....	87
Acknowledgements.....	89

廈門大學博碩論文摘要

厦门大学博硕士学位论文摘要库

摘要

镁及其合金由于具有优良的生物相容性、综合力学性能与人体骨骼相近、可降解性、无毒性以及促进骨骼愈合等突出优点，被认为是当今最具前景的新一代生物医用金属材料，成为了近年来国内外生物医用材料的研究热点。然而，镁的化学活性极高，耐蚀性差，过快的降解速率可导致镁基植入件提前失去必要的生物承载力，并造成大量皮下氢气泡积累而引起组织炎症，极大地限制了其临床应用。发展综合先进的表面改性方法有望控制镁及其合金的降解速度，有利于推进镁合金生物医用器件的临床应用。

贻贝黏附蛋白 (*Mefp-1*) 是一种提取自贻贝足丝的天然黏附蛋白，壳聚糖则是从蟹、虾壳中提取的可降解吸收天然氨基多糖，两者均具有优良的黏附性、成膜性、生物相容性、可降解性与无毒性，已广泛应用于临床。利用贻贝黏附蛋白和壳聚糖对医用镁表面进行改性，有望调控其降解速度的同时进一步改善其生物相容性。本论文主要研究内容：(1) 发展镁表面 *Mefp-1* 蛋白/壳聚糖膜层电化学改性技术，考察 Hanks' 模拟体液中表面膜层对镁腐蚀的调控作用及耐腐蚀机理；(2) 原位研究细胞吸附对镁表面 *Mefp-1* 蛋白/壳聚糖膜层降解行为的影响，评价 *Mefp-1* 蛋白/壳聚糖膜层的生物相容性。主要研究进展如下：

1. 运用阴极恒电流电沉积技术，成功实现了镁表面 *Mefp-1* 蛋白和壳聚糖的可控沉积，制备了致密、完整的 *Mefp-1* 蛋白膜层、壳聚糖膜层、壳聚糖/*Mefp-1* 蛋白/壳聚糖复合膜层，有效地将基底与溶液分隔开。结果表明，在 Hanks' 溶液中单一的 *Mefp-1* 蛋白膜层和壳聚糖膜层只能对基底提供短暂的腐蚀保护作用，进一步延长浸泡时间，其电化学阻抗迅速降低；而浸泡过程中，*Mefp-1* 蛋白和壳聚糖与腐蚀产物 Mg^{2+} 之间的协同络合作用或 *Mefp-1* 蛋白与壳聚糖之间的相互作用，使壳聚糖/*Mefp-1* 蛋白/壳聚糖复合膜层的保护性能随着浸泡时间的延长不断增加，尤其是浸泡 1 天以后，保护性能加速改善，测试时间达到 10 天以上，其阻抗略有降低，但仍比空白样大一个数量级左右。裸镁及表面仅涂覆 *Mefp-1* 蛋白膜层或壳聚糖膜层的镁在 Hanks' 溶液中呈现严重的局部腐蚀或腐蚀产物聚集的腐蚀形貌，而涂覆壳聚糖/*Mefp-1* 蛋白/壳聚糖复合膜层的镁腐蚀形貌均一，腐蚀产物分布均匀，证明壳聚糖

Mefp-1 蛋白/壳聚糖复合膜层可有效控制镁在模拟人体环境中的降解速度。

2. 原位细胞培养/电化学阻抗 (EIS) 测量发现, 表面培养小鼠前成骨细胞 MC3T3-E1 后, 生物吸附膜层的形成导致裸露的镁的阻抗值大幅度降低, 而涂覆壳聚糖/*Mefp-1* 蛋白/壳聚糖复合膜层的镁的阻抗随着测试时间的延长不断增加。吸附在镁表面的细胞难以完全铺展开, 呈球状; 而镁表面涂覆壳聚糖/*Mefp-1* 蛋白/壳聚糖复合膜层之后, 细胞伪足完全铺展呈薄膜状, 细胞生长状况良好。表明细胞初期可吸附在裸镁表面, 但表面由于腐蚀导致的强碱性微环境, 使得贴壁的细胞难以生长; 而表面经壳聚糖/*Mefp-1* 蛋白/壳聚糖复合膜层改性之后, 镁的降解速度得到控制, 改善了镁表面的微化学环境, 从而表现出优良的细胞活性和生物相容性。

关键词: 镁; 贻贝黏附蛋白; 壳聚糖; 腐蚀保护; 生物相容性

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库