

学校编码：10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学 号：200136012

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学  
硕 士 学 位 论 文

生物材料表面改性及生物活性的研究

Study on Surface Modification of Biomaterials and

Its Bioactivity

庄 燕 燕

指导教师姓名：林昌健 教授

专业名称：材料科学

论文提交日期：2004年 7月

论文答辩时间：2004年 7月

学位授予日期：2004年 月

答辩委员会主席：\_\_\_\_\_

评 阅 人：\_\_\_\_\_

2004 年 7 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，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的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

## 目 录

|                              |    |
|------------------------------|----|
| 第一章 前言 .....                 | 1  |
| 1.1 生物材料的发展 .....            | 1  |
| 1.2 生物医用材料的分类 .....          | 2  |
| 1.2.1 医用高分子材料 .....          | 2  |
| 1.2.2 生物陶瓷材料 .....           | 3  |
| 1.2.3 医用金属材料 .....           | 3  |
| 1.3 钛表面改性的主要原理和方法 .....      | 6  |
| 1.3.1 种植体与骨的结合形式 .....       | 6  |
| 1.3.2 钛表面粗糙化方法 .....         | 7  |
| 1.3.3 钛表面钙磷盐涂覆的方法 .....      | 8  |
| 1.3.4 电化学方法沉积制备磷灰石陶瓷涂层 ..... | 10 |
| 1.4 本论文研究目的和设想 .....         | 12 |
| 参考文献 .....                   | 13 |
| <br>                         |    |
| 第二章 实验方法和仪器 .....            | 20 |
| 2.1 电化学沉积模式 .....            | 20 |
| 2.2 X 射线衍射 (XRD) .....       | 21 |
| 2.3 红外吸收光谱 (IR) .....        | 21 |
| 2.4 扫描电子显微镜 (SEM) .....      | 22 |
| 2.5 电化学线性极化法 .....           | 22 |
| 2.6 原子力显微镜 (AFM) .....       | 23 |
| 2.7 生物医用材料的生物学评价 .....       | 23 |

|                                       |           |
|---------------------------------------|-----------|
| 参考文献 .....                            | 24        |
| <b>第三章 钛表面粗糙化处理及表面活化 .....</b>        | <b>26</b> |
| <b>3.1 引言 .....</b>                   | <b>26</b> |
| <b>3.2 钛表面的化学刻蚀条件.....</b>            | <b>27</b> |
| 3.2.1 电化学刻蚀条件.....                    | 27        |
| 3.2.2 酸性刻蚀液.....                      | 27        |
| 3.2.3 碱性刻蚀液.....                      | 27        |
| <b>3.3 结果与讨论 .....</b>                | <b>28</b> |
| 3.3.1 钛表面的电化学微观处理.....                | 28        |
| 3.3.2 钛表面的酸刻蚀处理.....                  | 34        |
| 3.3.3 钛表面的碱刻蚀处理 .....                 | 35        |
| <b>3.4 本章小结 .....</b>                 | <b>37</b> |
| 参考文献 .....                            | 37        |
| <b>第四章 纳米羟基磷灰石膜层的电化学修饰与表面活化 .....</b> | <b>39</b> |
| <b>4.1 引言 .....</b>                   | <b>39</b> |
| <b>4.2 电解液的配置及电沉积条件 .....</b>         | <b>39</b> |
| 4.2.1 电沉积实验装置.....                    | 40        |
| 4.2.2 电解液的配制 .....                    | 40        |
| <b>4.3 结果与讨论 .....</b>                | <b>40</b> |
| 4.3.1 多孔羟基磷灰石涂层.....                  | 40        |
| 4.3.2 温度的影响.....                      | 42        |
| 4.3.3 电流密度的影响.....                    | 46        |
| 4.3.4 有序结构孔状 HA 形成过程研究.....           | 49        |
| <b>4.4 本章小结.....</b>                  | <b>54</b> |

|                               |    |
|-------------------------------|----|
| 参考文献                          | 55 |
| 第五章 医用钛表面生物化学修饰               | 56 |
| 5.1 引言                        | 56 |
| 5.2 胶原的基本性质                   | 58 |
| 5.3 实验材料和方法                   | 59 |
| 5.4 实验结果与讨论                   | 59 |
| 5.4.1 胶原在钛表面的自组装              | 59 |
| 5.4.2 钛表面胶原 - 羟基磷灰石复合涂层       | 65 |
| 5.5 本章小结                      | 68 |
| 参考文献                          | 68 |
| 第六章 生物相容性和生物活性研究              | 71 |
| 6.1 引言                        | 71 |
| 6.2 体外实验细胞的选择                 | 73 |
| 6.3 细胞培养                      | 74 |
| 6.3.1 细胞培养与诱导分化处理             | 74 |
| 6.3.2 生物材料样品的准备及细胞培养          | 75 |
| 6.3.3 细胞计数                    | 76 |
| 6.3.4 扫描电镜实验用细胞样品的准备          | 76 |
| 6.4 结果与讨论                     | 80 |
| 6.4.1 空白实验                    | 80 |
| 6.4.2 细胞样品的 SEM 实验            | 81 |
| 6.4.3 不同化学性质钛表面细胞的增殖行为        | 86 |
| 6.4.4 种植体表面粗糙度及涂层表面形貌对细胞附着的影响 | 89 |
| 6.5 本章小结                      | 90 |

|                     |    |
|---------------------|----|
| 参考文献 .....          | 91 |
| 第七章 主要结论和研究展望 ..... | 93 |
| 一、主要结论 .....        | 93 |
| 二、拟进一步开展的研究 .....   | 94 |
| 致谢 .....            | 95 |

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 摘要

在生理环境中,植入材料与机体组织之间的相互作用总是发生在材料表面。材料表面的物理化学特性必然直接影响到组织的愈合,同时,机体环境也可作用于材料表面,并使之发生腐蚀、降解及变性。植入材料的生物相容性和生物活性与表面理化特性密切相关。因此,控制和改善生物材料的表面特性,是促进材料表面与生物体之间相互作用,提高植入材料生物相容性和生物活性的有效途径。由于医用钛及其合金的结构和性质与自然骨相差很大,加之表面钝态氧化膜的存在,通常不能与骨发生化学键性结合,植入体内后,就被纤维性膜所包围,而与周围的骨组织隔离,从而造成植入治疗的失败。努力发展各种方法对医用钛进行表面改性以提高其生物活性是当前一个研究热点和重要研究方向。

为赋予钛植入体高的生物活性,本文试图发展多种方法对钛进行表面改性,并结合羟基磷灰石的沉积、蛋白质吸附和细胞体外培养等,研究钛表面物理化学性质与生物活性的关系。主要采用两种方法对钛表面进行微观修饰和改性:其一,发展电化学刻蚀和化学刻蚀技术在钛表面形成特定的纳米级微观结构,提高表面粗糙度,建立良好的骨架结构,改善细胞在生物材料表面的吸附行为,提高生物涂层与钛基底的结合强度;其二,发展电化学沉积技术直接在钛表面制备纯的羟基磷灰石(HA)型胶原蛋白(COL)及HA/COL仿生复合材料涂层,直接改善细胞在生物材料表面的吸附、识别、增殖行为,提高医用钛表面的生物活性。

结果表明,通过电化学刻蚀和化学刻蚀可实现:(1)在金属表面形成有利于改善种植体和骨组织之间的应力分布的一级形貌结构;(2)通过调节刻蚀电流,可获得适应不同生物大分子和细胞附着的二级显微结构;(3)可在钛表面形成纳米级微孔,增大表面积,还能在钛表面形成一定

厚度、稳定的生物活性凝胶层，表面TiO<sub>2</sub>氧化层厚度及稳定性的提高也还可增加钛的耐蚀性和生物活性。

采用电化学方法在钛表面直接沉积纯羟基磷灰石涂层，即保持了金属材料基体优良的力学性能，又使其表面具有生物陶瓷的生物相容性和生物活性的涂覆膜层。通过控制反应条件，可分别获得均匀致密、纳米有序的针状和孔状羟基磷灰石晶体，钛植入体表面涂覆特定结构形貌的纯 HA 涂层可促进细胞的粘附和生长，提高钛植入体的生物活性。

此外，研究表明从仿生学角度，在钛表面制备羟基磷灰石和胶原蛋白的复合涂层，可提高涂层的韧性和结合强度，并进一步提高钛植入体的生物活性和稳定性。

通过体外细胞培养实验，考察了医用钛、经化学处理的钛、纯羟基磷灰石膜层、胶原/羟基磷灰石仿生复合膜层的生物活性，结果表明，细胞在这些材料表面生长良好，未见异种细胞株。细胞体可跨越电沉积膜层中羟基磷灰石细小的晶粒，与材料表面紧密结合，对成骨样细胞有很较好的生物相容性。进一步的比较实验证明，胶原/羟基磷灰石仿生复合膜层具有相对最优异的生物活性。

关键字：生物材料，钛表面改性，电化学



## ABSTRACT

In physiological environments, the interactions between implants and cellular tissues mainly take place at the surface of implants. The physicochemical properties of surface for the implanting material have a very close and direct influence on the recovery of tissues; On the other hand, tissues exert effect on the implants surface, leading to corrosion, degradation or modification. It has been widely accepted that improving the surface nature of bio-material is an effective approach to enhance the interactions between bio-material and organisms and to increase bio-compatibility and bio-activity of implants. However, in the case of titanium and its alloy, the most popular metallic material of medical and dental implants, the chemical bond fails to form between the implants and bones because of the divergence between their properties, especially lack of bioactivity at surface for the metallic implants. Great attempt has been made to develop various kinds of techniques of surface modification to enhance the bioactivity for medical titanium and its alloys.

Two types of approach were explored in this work, (1) electrochemical etching and chemical etching, to form a desired surface nano-structures and increase the surface roughness, and thus it is possible to provide a framework for improving the adsorption of cells and enhancing bonding between bio-material coating and Ti substrate. (2) electrochemical deposition, to apply hydroxyapatite (HA), type I collagen and HA/COL biomimetic composite coatings in order to enhance the adsorption, recognition and reproduction behavior for the cells on the surface.

The results obtained indicated that the chemical and electrochemical

etching lead to following changes on Ti surface, (1) a primary structure favoring stress distribution between implants and bone tissues was formed; (2) Proper etching current gave rise

to a highly ordered secondary nano structure which is suitable for biomolecular and cell adhesion; (3) Formation of pores in micron scale and a stable bioactive gel layer, not only multiplying the surface area but also increasing the bioactivity and corrosion resistance of titanium implants.

Highly ordered, compact HA coatings with controllable microscopic morphology were obtained by the electrochemical deposition. Under specific conditions, the HA layer morphology was featured by granules shaped in needles or micro holes accordingly. The existence of HA coating with nano structure on surface accelerated the adhesion and growth of cell and raised the bioactivity of Ti implants distinctly. Furthermore, the HA and COL composite coating at the surface of Ti was able to increase the ductility of coating, and bioactivity and stability as well.

The bioactivity and biocompatibility of all the studied titanium surfaces (Ti, chemical treated titanium, HA coated titanium and HA/COL composite biomimetic coated titanium) were investigated in vitro, by cell culture. The results showed the cell grew prosperously on all surfaces for the mentioned materials, no heterogeneity cell was detected. The cell body occupied the intergranular area and kept contact with the substrate closely, convincing the excellent biocompatibility of studied surfaces, among which HA/COL biomimetic composite coating exhibited the best bioactivity.

**Key word:** Biomaterial, Titanium, Modification



## 第一章 前言

### 1.1 生物材料的发展

生物医用材料通常称为生物材料 (Biomaterials),是指用于生理系统疾病的诊断、治疗、修复或替换生物体组织或器官,增进或恢复其功能材料。

生物材料的发展已有很长的历史,经历了十八、十九和二十世纪初漫长的探索阶段,在二十世纪末期得到全世界医学界普遍重视,发达国家率先投入巨额的资金,用于发展与生物材料相关的科学研究和技术开发。这是因为随着经济的发展和生活质量的提高,使人们有更多的精力和财力去关爱自己的健康和生命;同时,材料学、物理、化学、医学的进步为生物材料的研究提供了技术基础。人们普遍认为二十一世纪必将是生命科学的时代,作为生命科学中的一个重要领域,生物材料的开发和应用对保障人类的健康、提高国家的科技水平和促进国家的经济竞争力具有重要的意义,所以各国都将其列入高技术中关键新材料的发展计划,投入人力,财力和物力,以期在此领域的国际竞争中占有一席之地。我国在生物材料方面的研究也取得长足的进步,某些方面的研究已经进入世界领先水平。与技术发展相应的生物材料产品方兴未艾,近 10年来,其市场销售额一直保持 20%左右的年增长率,1996 年全球仅生物陶瓷市场销售额就达 94

亿美元，专家预计到 2015年，全球生物材料总产值将达到 2000亿美元。目前，除了脑组织以及大多数内分泌器官外，可以说从天灵盖到脚趾骨，从内脏到皮肤，从血液到五官都可以用人工材料和器官来代替。医疗水平的提高和生活质量的改善反过来也促进了生物医学材料的发展。

生物医学材料是一门多学科交叉的边缘性学科，它涉及材料、生物、医学、物理、化学、制造以及临床医学等诸多学科领域，不仅关系到人类的健康，而且日益成为国民经济发展的新的增长点。

目前，临床应用对生物医学材料的特殊基本要求如下：<sup>[1]</sup>

- 1 无毒性，不致癌、不致畸，不引起人体细胞的突变和不良反应；
- 2 与人体生物相容性好，不引起中毒、溶血、凝血、发热和过敏等现象；
- 3 具有与天然组织相适应的力学性能；
- 4 针对不同的使用目的而具有特定的功能。

生物医学材料直接与生物系统相作用，除了各种理化性质要求外，生物医学材料必须具有良好的生物或组织相容性，这是生物医学材料区别于其他功能材料最重要的特征。

## 1.2 生物医用材料的分类

生物医用材料按材料组成和性质分为医用高分子材料、生物陶瓷材料和医用金属材料。

### 1.2.1 医用高分子材料 ( Medical Polymer Materials )<sup>[2-7]</sup>

医用高分子材料如聚甲基丙烯酸甲酯 ( PMMA ) 即骨水泥、用于人工关节的高分子聚乙烯，这类材料的生物相容性较差，与骨组织之间有纤维组织间隔。还有一类可生物降解的高分子材料以聚乳酸 ( Polylactid acid )

和聚乙醇酸 ( Polyglycolide ) 为代表, 植入人体内逐渐降解为对人体无害的小分子产物, 通过新陈代谢排出体外。它们主要用于可降解内固定材料等方面, 如骨钉, 人工皮肤, 角膜, 肌腱, 韧带等, 作为植骨替代材料多以复合材料的形势出现。

### 1.2.2 生物陶瓷材料 ( Bio-ceramics Materials )<sup>[8-9]</sup>

生物陶瓷材料主要包括生物玻璃、生物玻璃陶瓷、氧化物及磷酸钙陶瓷, 以及碳素等。按体内性质生物陶瓷可分为两类, 一类为生物惰性陶瓷, 如氧化铝、氧化锆、碳素材料等, 这类陶瓷材料的结构都比较稳定, 分子中的键力较强, 而且都具有较高的强度、耐磨性和化学稳定性。另一类为生物活性陶瓷, 如羟基磷灰石、生物玻璃陶瓷等, 在生理环境中可通过其表面发生的生物化学反应与生物体组织形成化学键性结合。另外还有在体内可发生降解和吸收的生物陶瓷, 如磷酸三钙生物活性陶瓷, 在生理环境中可被逐步降解和吸收, 并成为新生组织所替代。

生物陶瓷材料作为无机生物医学材料, 没有毒性和副作用, 与生物体组织有良好的生物相容性, 越来越受到人们的重视。生物陶瓷研究与临床应用, 已从生物惰性材料发展到生物活性材料, 从简单的填充发展为牢固性种植和永久性修复。

生物陶瓷已在整形外科、齿科和骨科获得了广泛应用。但由于生物陶瓷材料的脆性较大, 其弹性模量难以与自然骨相匹配, 在一定程度上限制了临床应用。六十年代以来, 陶瓷材料在骨科应用的相关研究已相当深入, 但在临床应用方面仍很有局限性, 主要是因为难以达到临床满意的要求。

### 1.2.3 医用金属材料 ( Medical Metallic Materials )<sup>[10,11]</sup>

在所有生物材料中, 金属具有最优的机械性能、韧性和加工性能。由于技术发展的限制, 人们最先使用的金属是金和银。20 世纪 20 年代, 人们开始把不锈钢作为人体植入材料, 即将 304 不锈钢用做人工关节和骨折结合板材料, 但是由于体液中氯离子的存在, 不锈钢材料极易发生点蚀、晶间腐蚀及应力腐蚀, 于是开始使用增加 Mo 含量的 316、317 奥氏体不

锈钢，使材料的强度、耐蚀性能得到很大的提高，然而，尽管如此仍不能阻止有害金属离子溶解进入体液而引发组织不良的反应。为了控制有害金属离子的溶解，通过增加 Ni、Mo 的含量，又研制了所谓的超级不锈钢。超级不锈钢在人体液中的耐蚀性是 304 不锈钢的 5 倍，是 316 不锈钢的 3 倍。这些合金已用在人工关节头、骨折连接用板和手术用螺丝等。

Co 基合金也叫 Co-Cr 合金，最初被用做口腔铸造合金。这类合金具有优异的耐蚀性、耐磨性和机械性能，但该类合金在铸造时经常会出现气泡、空洞等缺点而造成韧性和耐蚀性的降低。Co 基合金已被用于人工关节、骨折连接用板、人工心脏瓣、义齿床、手术用螺丝夹子和各种丝材<sup>[12,13]</sup>。

Ti 在 20 世纪 40 年代首次被 Bothe 用于医学领域。1950 年，英国人最先报道用钛制作人工股骨头；1957 年，Levental 研制了钛人工骨、人工关节；1961 年，Simpson 用钛板作颅骨成型术，之后有用钛网作骸骨等成型、修补硬脑膜缺损的报道。1965 年，Branemark 率先将钛制成牙种植体使用，并形成了纯钛的 Branemark 种植体系列<sup>[1,14]</sup>。钛密度小，仅为不锈钢的一半稍多，强度大，比铁强韧得多，满足医用“轻量化”的要求，其强度可通过合金而加强。弹性模量与人体骨和牙等硬组织接近，材料与组织接触时避免产生界面应力集中所致骨细胞坏死。钛导热性差、磁化率低，避免植入后对周围组织的冷热刺激或不良影响，钛化学性活泼，在空气中极易形成一层稳定而致密，厚约 5~10nm 的氧化钛薄膜，具有极好的耐腐蚀性，与体液长期接触而保持稳定。大量的试验及临床表明，钛的生物相容性好。另外，钛具有优良的加工性能，但价格较贵。

骨和关节是人体主要承受负荷的组织器官，在系统复杂的应力条件下，不仅要求修复材料无毒副作用、有生物安全性，而且还必须有足够的力学强度并能与原骨牢固地结合，缺损的修复材料应具有高强度。迄今为止，用于硬组织修复与替换的材料仍然首推金属与合金，钛作为金属类生

物材料的代表,在医学领域应用广泛,如,牙种植体、人工关节、接骨板钉、人工骨、血管吻合器以及手术器械等,被认为是最有应用前景的医用材料。

虽然钛具有足够的强度和韧性,但它们属于生物惰性材料,与骨的结合只是一种机械锁合,无生物活性,不能像生物活性材料那样与骨发生化学键性结合,植入体内后,就被纤维性膜所包围,而与周围的骨组织隔离。

植入材料与机体组织相互作用是在界面之间进行的。材料表面的理化特性影响着组织的愈合,反过来机体也将作用于材料表面,并发生腐蚀、降解及改性。植入材料表面的理化特性直接影响着它的生物相容性。因此,控制和改善生物材料的表面性质,是改善和促进材料表面与生物体之间的有利相互作用、抑制不利的相互作用的关键途径。对材料与生物体相互作用机制研究表明:材料表面的成分、结构、形态、表面能、亲、疏水性以及电荷等表面化学特性都会影响材料与生物体之间的相互作用,采用不同的表面处理手段,从微观的角度改变材料表面的理化特性,已逐渐受到人们的重视,并取得了重大进展。目前对 Ti 及其合金进行表面活化改性已成为生物材料学科最活跃、最引人注目和发展最迅速的领域之一<sup>[15~17]</sup>。

利用表面改性技术不仅可提高金属表面的稳定性和耐磨性,而且可赋予其生物活性,即可使新骨直接沉积于金属表面,而无纤维结缔组织的中间隔层。钛合金表面生物活化改性的研究已获得重要进展,并导致“生物活性金属”概念的出现。

### 1.3 钛表面改性的主要原理和方法

#### 1.3.1 种植体与骨的结合形式<sup>[18]</sup>

骨替换材料植入体内后,与骨组织的结合形式分为骨结合(Bone bonding)、形态固定(Morphological fixation)和生物固定(Biological

fixation), 骨结合又称为生物活性结合 (Bioactive fixation)。它们的特性见表 1-1

表 1-1 植入体与骨组织的结合形式

| 结合类型    | 骨结合       | 形态结合       | 生物结合            |
|---------|-----------|------------|-----------------|
| 种植材料    | 生物活性材料    | 生物惰性材料     | 生物惰性多孔材料        |
| 结合性质    | 分子水平的化学键合 | 机械嵌合       | 机械嵌合与表面交联       |
| 应力传递    | 连续        | 不连续        | 不连续             |
| 增强结合的措施 | 提高表面生物活性  | 表面粗糙、多孔、压配 | 提高孔隙贯通程度,初期严格固定 |

从表 1-1中可以看出,骨种植材料与骨组织之间的理想结合方式为骨结合。在这种结合方式下,由于植入体与骨之间界面结构连续而使功能呈现连续性,其界面的结合强度达到甚至超过骨与种植体本身的强度。

由于钛的结构和性质与自然骨组织相差很大,通常不能象生物活性材料那样直接与骨组织发生化学键合。此外,它与骨组织的弹性模量相差也较大,植入后生物相容性欠佳,容易产生应力集中、松动和骨质吸收等不良后果。为了赋予钛高的生物活性,必须对其表面进行活化处理。现已研究开发了多种进行表面活化处理的工艺技术。这些处理方法或是直接在金属材料表面涂覆 HA或其他磷酸盐涂层<sup>[19~21]</sup>,或是金属经处理后置于生理环境或模拟生理环境,在表面诱导磷酸盐形成<sup>[22~24]</sup>。但在提高生物活性、增强化学结合力的同时,不能忽略机械嵌合对植入材料与人体组织结合性的作用,粗糙的表面可改善力的分布,提高其结合力。对于有适宜表面形态(如粗糙、多孔)的生物活性材料,骨键合过程同时包括化学结合作用和机械嵌合作用。表面活性化及粗糙化处理后,金属骨替换材料既可保持



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](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库