

学校编码: 10384

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

学 号: 200325105

UDC\_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

羟基磷灰石与牛血清白蛋白相互作用的

原位 ATR-FTIR 及 EQCM 研究

*In Situ* ATR-FTIR and EQCM Study on the Interaction of  
Hydroxyapatite with Bovine Serum Albumin

叶 青

指导教师姓名: 林昌健 教授

专业名称: 物理化学

论文提交日期: 2006年6月

论文答辩时间: 2006年 月

学位授予日期: 2006年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2006年6月

***In Situ* ATR-FTIR and EQCM Study on the Interaction of  
Hydroxyapatite with Bovine Serum Albumin**



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

By

**Qing Ye**

Directed by **Prof. Chang-Jian Lin**

Department of Chemistry, Xiamen University

June, 2006

厦门大学博硕士学位论文摘要库

# 厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，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产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

- 1、保密（ ），在 年解密后适用本授权书。
- 2、不保密（ ）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：

日期： 年 月 日

导师签名：

日期： 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 生物材料的发展.....	1
§1-2 生物材料的分类.....	2
§1-2-1 生物金属材料.....	2
§1-2-2 生物陶瓷材料.....	3
§1-2-3 医用高分子材料.....	4
§1-3 生物材料—蛋白质相互作用.....	4
§1-3-1 生物材料表面性能的影响.....	4
§1-3-2 蛋白质表面性能的影响.....	5
§1-3-3 蛋白在生物材料表面的吸附.....	6
§1-3-4 蛋白质构象的变化.....	6
§1-4 材料与蛋白相互作用的研究方法.....	7
§1-5 本论文的研究目的和设想.....	11
参考文献.....	13
第二章 实验方法和仪器.....	17
§2-1 生物材料的电化学沉积制备.....	17
§2-2 涂层表面性能表征.....	17
§2-2-1 扫描电子显微镜.....	17
§2-2-2 原子力显微镜.....	18
§2-2-3 X 射线粉末衍射.....	18
§2-2-4 红外吸收光谱.....	18
§2-2-5 激光拉曼光谱.....	18



§2-3 生物材料与蛋白相互作用的原位研究.....	19
§2-3-1 全内反射红外光谱.....	19
§2-3-2 电化学石英晶体微天平.....	20
§2-4 蛋白质二级结构的研究.....	21
§2-4-1 红外光谱曲线拟合.....	21
§2-4-2 圆二色光谱.....	21
参考文献.....	23
<b>第三章 生物材料与牛血清白蛋白相互作用的原位 ATR-FTIR</b>	
<b>研究</b> .....	24
§3-1 ATR-FTIR.....	24
§3-1-1 ATR-FTIR 发展概况.....	24
§3-1-2 ATR-FTIR 原理.....	24
§3-1-3 ATR-FTIR 在界面及生物医学研究中的应用.....	27
§3-2 羟基磷灰石与牛血清白蛋白相互作用的 ATR-FTIR 研究.....	28
§3-2-1 HA 的电化学沉积制备.....	28
§3-2-2 HA 涂层的表征.....	30
§3-2-3 HA 与牛血清白蛋白相互作用的原位 ATR-FTIR 表征.....	36
§3-3 磷酸八钙与牛血清白蛋白相互作用的 ATR-FTIR 研究.....	38
§3-3-1 OCP 的电化学沉积制备.....	38
§3-3-2 OCP 涂层的表征.....	39
§3-3-3 OCP 与牛血清白蛋白相互作用的原位 ATR-FTIR 表征.....	40
§3-4 钛酸盐与牛血清白蛋白相互作用的 ATR-FTIR 研究.....	42
§3-4-1 钛酸盐薄层的制备.....	42
§3-4-2 钛酸盐薄层的表征.....	42
§3-4-3 钛酸盐与牛血清白蛋白相互作用的原位 ATR-FTIR 表征.....	43
§3-5 本章小结.....	44
参考文献.....	45

<b>第四章 电化学石英晶体微天平原位研究电沉积羟基磷灰石及其与牛血清白蛋白的相互作用过程</b> .....	49
<b>§4-1 电化学石英晶体微天平</b> .....	49
§4-1-1 EQCM 原理.....	49
§4-1-2 EQCM 电极结构.....	50
§4-1-3 EQCM 在蛋白吸附中的研究进展.....	50
<b>§4-2 EQCM 原位跟踪羟基磷灰石电沉积过程</b> .....	51
§4-2-1 实验条件.....	51
§4-2-2 电化学沉积 HA 的机理探讨.....	51
<b>§4-3 QCM 原位研究蛋白的吸附</b> .....	56
§4-3-1 QCM 基底 Au 表面的蛋白吸附动力学过程.....	56
§4-3-2 HA 表面的蛋白吸附动力学过程.....	58
§4-3-3 蛋白吸附类型.....	59
<b>§4-4 本章小结</b> .....	59
<b>参考文献</b> .....	60
<b>第五章 羟基磷灰石与牛血清白蛋白相互作用的机理探讨</b> .....	62
<b>§5-1 HA 与 BSA 的相互作用</b> .....	62
§5-1-1 SEM 研究.....	62
§5-1-2 IR 研究.....	63
§5-1-3 XRD 研究.....	63
<b>§5-2 BSA 与 HA 结合位点研究</b> .....	65
§5-2-1 HA 的晶体结构和表面状态.....	65
§5-2-2 结合位点.....	65
<b>§5-3 蛋白二级结构的改变</b> .....	68
§5-3-1 CD 研究蛋白二级结构的改变.....	69
§5-3-2 IR 研究蛋白二级结构的改变.....	74
<b>§5-4 本章小结</b> .....	77

参考文献.....	78
第六章 结论与展望.....	80
作者攻读硕士学位期间发表与交流的论文.....	82
致谢.....	84

厦门大学博硕士论文摘要库

<b>Abstract in Chinese</b> .....	I
<b>Abstract in English</b> .....	III
<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	1
<b>§1-1 Brief Introduction of Biomaterials</b> .....	1
<b>§1-2 Three kinds of Biomedical Materials</b> .....	2
§1-2-1 Biomedical Metal Materials.....	2
§1-2-2 Bioceramics Materials.....	3
§1-2-3 Biomedical Macromolecule Materials.....	4
<b>§1-3 The Interaction of Biomaterial with Protein</b> .....	4
§1-3-1 Effects of Surface Properties of Biomaterials.....	4
§1-3-2 Effects of Surface Properties of Proteins.....	5
§1-3-3 Protein adsorption on Biomaterials.....	6
§1-3-4 The Changes of Protein Secondary Structure.....	6
<b>§1-4 Experimental Methods for Investigation the Interaction between     Biomaterials and Protein</b> .....	7
<b>§1-5 Objectives and Contents of the Thesis</b> .....	11
<b>References</b> .....	13
<b>Chapter 2 Experimental Methods and Instruments</b> .....	17
<b>§2-1 Electrochemical Deposition Setup of Biomaterials</b> .....	17
<b>§2-2 Characterization of Physico-chemical Properties</b> .....	17
§2-2-1 Scanning Electron Microscopy.....	17
§2-2-2 Atomic Force Microscopy.....	18
§2-2-3 X-ray Diffraction Method.....	18
§2-2-4 Infrared Spectroscopy.....	18
§2-2-5 Raman Spectroscopy.....	18
<b>§2-3 <i>In situ</i> Study on the Interaction of Biomaterial and Protein</b> .....	19
§2-3-1 Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared Spectroscopy...19	

§2-3-2 Electrochemical Quartz Crystal Microbalance.....	20
<b>§2-4 Study on Protein Secondary Structure.....</b>	<b>21</b>
§2-4-1 Curve fitting by Infrared Spectroscopy.....	21
§2-4-2 Circular Dichroism.....	21
<b>References.....</b>	<b>23</b>

## **Chapter 3 *In Situ* ATR-FTIR Study on the Interaction of**

<b>Biomaterials with BSA .....</b>	<b>24</b>
<b>§3-1 ATR-FTIR.....</b>	<b>24</b>
§3-1-1 Brief Introduction of ATR-FTIR.....	24
§3-1-2 The Principle of ATR-FTIR.....	24
§3-1-3 The Application of ATR-FTIR Study on Interface and Biomedicine.....	27
<b>§3-2 <i>In Situ</i> ATR-FTIR Study on the Interaction of HA with BSA.....</b>	<b>28</b>
§3-2-1 Electrochemical Preparation of nano HA Coating.....	28
§3-2-2 Characterization of nano HA Coating.....	30
§3-2-3 <i>In situ</i> ATR-FTIR Study on HA/BSA Interface.....	36
<b>§3-3 <i>In Situ</i> ATR-FTIR Study on the Interaction of OCP with BSA.....</b>	<b>38</b>
§3-3-1 Electrochemical Preparation of OCP Coating.....	38
§3-3-2 Characterization of OCP Coating.....	39
§3-3-3 <i>In situ</i> ATR-FTIR Study on OCP/BSA Interface.....	40
<b>§3-4 <i>In Situ</i> ATR-FTIR Study on the Interaction of TNT with BSA.....</b>	<b>42</b>
§3-3-1 Preparation of TNT Coating.....	42
§3-3-2 Characterization of TNT Coating.....	42
§3-3-3 <i>In situ</i> ATR-FTIR Study on TNT/BSA Interface.....	43
<b>§3-5 Summary.....</b>	<b>44</b>
<b>References.....</b>	<b>45</b>

## **Chapter 4 *In Situ* EQCM Study on HA Electrochemical Deposition**

<b>and Its Interaction with BSA.....</b>	<b>49</b>
<b>§4-1 EQCM.....</b>	<b>49</b>

§4-1-1 The Principle of EQCM.....	49
§4-1-2 Electrode Structure of EQCM.....	50
§4-1-3 Introduction of protein Adsorption studied by EQCM.....	50
<b>§4-2 <i>In Situ</i> EQCM Study on HA Electrochemical Deposition.....</b>	<b>51</b>
§4-2-1 Experimental.....	51
§4-2-2 Study on Electrochemical Deposition Mechanism of HA.....	51
<b>§4-3 <i>In Situ</i> EQCM Study on Protein Adsorption.....</b>	<b>56</b>
§4-3-1 BSA Adsorption on Au Surface.....	56
§4-3-2 BSA Adsorption on HA Surface.....	58
§4-3-3 Adsorption Mechanisms.....	59
<b>§4-4 Summary.....</b>	<b>59</b>
<b>References.....</b>	<b>60</b>

## **Chapter 5 Study on the Mechanism of the Interaction of HA**

<b>with BSA.....</b>	<b>62</b>
<b>§5-1 Study on the Interaction of HA and BSA.....</b>	<b>62</b>
§5-1-1 SEM Characterization.....	62
§5-1-2 IR Characterization.....	63
§5-1-3 XRD Characterization.....	63
<b>§5-2 Study on the Bonding Site of HA with BSA.....</b>	<b>65</b>
§5-2-1 Structure and Surface Properties of HA.....	65
§5-2-2 Bonding Site.....	65
<b>§5-3 The changes of Secondary Structure of BSA.....</b>	<b>68</b>
§5-3-1 Study on the Secondary Structure by CD.....	69
§5-3-2 Study on the Secondary Structure by IR.....	74
<b>§5-4 Summary.....</b>	<b>77</b>
<b>References.....</b>	<b>78</b>

## **Chap 6 Conclusions and Future Work.....80**

## **Selected Publications and Conference Presentations.....82**

**Acknowledgements**.....84

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 摘要

羟基磷灰石 (HA) 是一种重要的生物材料, 它在人体的多种生理过程中起到极其重要的作用, 在骨骼的修复、替代中有着广泛的应用, 是目前植入材料研究的热点。当羟基磷灰石作为骨替代材料植入体内时, 必然要与血液和组织液中的蛋白发生相互作用。首先是蛋白在生物材料表面的吸附, 而吸附的蛋白将直接影响细胞在材料表面的黏附、贴壁、生长和增殖, 并将影响材料/组织的界面反应及其最终植入效果, 所以蛋白在材料表面的吸附过程及其相互作用机理是一个重要的基础问题。

目前已有多种技术可应用于生物界面的研究, 如圆二色光谱 (CD), 激光拉曼光谱 (Raman), 全内反射红外光谱 (ATR-FTIR), 电化学石英晶体微天平 (EQCM) 等。全内反射模式红外光谱灵敏度高、可有效排除生理环境中水的干扰, 有利于对生物材料/生物环境界面进行分子水平的原位研究。电化学石英晶体微天平可原位测量电极频率的变化值, 从而获得电极纳克级的质量变化, 十分有利于对生物物种在电极表面的吸附过程及相互作用机理进行研究。

本论文选择血清中含量最丰富的牛血清白蛋白 (BSA) 作为研究蛋白, 主要采用全内反射红外光谱、电化学石英晶体微天平等方法, 原位考察牛血清白蛋白与生物材料的界面相互作用, 牛血清白蛋白在羟基磷灰石表面的吸附动力学行为, 以及羟基磷灰石与牛血清白蛋白的相互作用机理。试图探明电化学法制备的 HA 生物材料/生物环境界面过程的微观本质。主要取得如下研究进展:

1. 将生物材料 HA 和磷酸八钙(OCP)分别电化学沉积于红外全内反射晶体锗单晶表面; 将钛酸盐纳米管(TNT)用 layer-by-layer 法修饰于锗单晶表面。而后对三种材料的表面形貌、结构和组分等理化性能进行了全面表征。
2. 采用 ATR-FTIR 原位研究了 BSA 与三种生物材料的界面相互作用, BSA 在三种材料表面的吸附量都随着作用时间的延长而增加。BSA 在 HA 表面有强的吸附作用, 而后是 OCP, 在 TNT 表面的吸附较弱, 表明 HA 比 OCP、TNT 有更好的生物相容性。
3. 采用 EQCM 对 HA 电沉积初期的行为进行了原位研究, HA 膜层的形成



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.

厦门大学博硕士学位论文摘要库