

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: B200025003

UDC_____

学 位 论 文

纳米羟基磷灰石生物材料的制备 及性能研究

Investigation of the Synthesis and Properties of Nano Hydroxyapatite Biomaterials

陈 菲

指导教师: 林昌健 教授

申请学位级别: 理学博士

专业名称: 物理化学

论文提交日期: 2004年6月

论文答辩日期: 2004年6月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2004年6月

Investigation of the Synthesis and Properties of Nano Hydroxyapatite Biomaterials



A Dissertation Submitted to the Graduate School in Partial
Fulfillment of the Requirements for the Degree of
Doctor of Philosophy

By

Fei Chen

Directed by **Professor Chang-Jian Lin**

Department of Chemistry, Xiamen University

June, 2004

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

中文摘要.....	I
英文摘要.....	III
第一章 绪论.....	1
§ 1-1 生物材料简介.....	1
§ 1-1-1 生物医用金属材料.....	2
§ 1-1-2 高分子生物材料.....	2
§ 1-1-3 生物陶瓷材料.....	2
§ 1-1-4 羟基磷灰石复合材料.....	4
§ 1-1-5 仿生材料.....	8
§1-2 纳米材料.....	10
§1-2-1 纳米粉末.....	11
§1-2-2 纳米复合生物材料.....	14
§1-3 本论文的研究目的和设想.....	15
参 考 文 献.....	17
第二章 实验.....	22
§2-1 电泳沉积体系的建立.....	22
§2-2 表征和仪器.....	23
§2-3 涂层的力学性能表征.....	25
§2-4 纳米涂层的体外细胞培养实验.....	28
参 考 文 献.....	30

第三章	纳米羟基磷灰石粉体材料的制备与表征	31
§3-1	纳米羟基磷灰石粉末的共沉淀法制备.....	35
§3-1-1	制备工艺和流程.....	36
§3-1-2	纳米 HAp 粉末的表征.....	38
§3-2	溶胶—凝胶法制备羟基磷灰石粉末.....	44
§3-3	纳米羟基磷灰石粉末的宏量制备.....	47
§3-4	本章小结.....	49
	参考文献.....	50
第四章	纳米羟基磷灰石/高聚物复合材料的制备与表征	67
§4-1	纳米羟基磷灰石/壳聚糖复合材料的制备与表征.....	69
§4-2	纳米羟基磷灰石/聚乳酸复合材料的制备及表征.....	71
§4-3	本章小结.....	73
	参考文献.....	74
第五章	纳米羟基磷灰石涂层的电泳沉积及表征	81
§5-1	纳米羟基磷灰石电泳沉积条件的确定.....	83
§5-1-1	悬浮液的 pH 值.....	84
§5-1-2	分散溶剂.....	85
§5-1-3	悬浮液浓度.....	86
§5-1-4	陈化时间.....	86
§5-1-5	沉积电压.....	86
§5-1-6	沉积时间.....	87
§5-2	电泳沉积过程.....	87
§5-3	HAp 纳米涂层的力学性能表征实验.....	88

§5-3-1 纳米硬度测试——纳米压痕实验	88
§5-3-2 结合强度测试——粘结—拉伸实验	88
§5-4 涂层的性能分析	89
§5-5 本章小结	92
参考文献	94
第六章 纳米羟基磷灰石涂层生物性能的初步评价	103
§6-1 试剂准备	105
§6-2 干细胞的培养	105
§6-3 材料的体外细胞培养	106
§6-3-1 细胞和样品准备	106
§6-3-2 细胞培养	107
§6-3-3 细胞生长与形貌观察	109
§6-4 本章小结	111
参考文献	112
第七章 结论与展望	119
攻读博士学位期间发表与交流的论文	122
致谢	124

纳米羟基磷灰石生物材料的制备及性能研究

摘 要

纳米生物材料是当今材料和医药领域的一个重要组成部分和发展方向，纳米材料将可能成为 21 世纪生物医学材料的核心。自然骨是由纳米羟基磷灰石 ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAp) 晶体和胶原蛋白组成的复合材料，制备与自然骨性能接近的纳米生物材料是人们不懈努力的目标。人工合成的羟基磷灰石材料与人体组织具有良好的相容性，并能与骨组织形成骨性结合，但材料本身的脆性使其不适用于人体强负载部分。本论文的目的在于研究在金属钛表面涂覆纳米羟基磷灰石膜层的制备方法和性能，以期获得具有优良力学性能和生物性能的纳米合生物材料。

通过实验比较了沉淀法、沉淀法结合水热处理和溶胶—凝胶法合成纳米 HAp 粉末的优缺点。结果表明温度对反应产物的形貌有较大的影响。水热处理可促进纳米 HAp 晶体在 c 轴方向的生长，这与自然 HAp 晶体的生长是一致的，同时晶体形态的生长较完整。溶胶—凝胶法因需要煅烧过程，易造成粉末团聚，难以得到纳米 HAp 粉末。成功的将溶剂替换干燥技术扩展应用于纳米 HAp 粉末的干燥，所得粉末疏松，团聚少。

制定沉淀法结合水热处理合成纳米羟基磷灰石的工艺，设计了电加热压力反应釜，实现了纳米羟基磷灰石粉末的宏量合成。结果表明，宏量合成获得的 HAp 纳米粉末尺寸分布均匀，成分纯，采用所建立的工艺条件和合成设备，可实现纳米 HAp 粉末安全、快速、宏量的生产。

分别以共沉淀法和包覆法制备了纳米羟基磷灰石/壳聚糖 (HAp/CTS) 和纳米羟基磷灰石/聚乳酸 (HAp/PDLLA) 的复合材料。粉末尺寸分布均匀，团聚轻微，微观结构均一，克服了传统浇注法制备的无机/有机复合材料微观结构不均匀，相间结合不牢的缺点。此材料可用于制备各种形状的植入体。

建立了电泳沉积法（EPD）在钛基表面沉积均匀的纳米羟基磷灰石涂层的方法。为了克服传统 EPD 工艺烧结温度高，结合强度不如等离子喷涂工艺等缺点，进行了一系列的实验探索和工艺改进。首次采用弱酸性溶剂，乙酸酐，为分散介质进行纳米 HAp 涂层的电泳沉积，避免了在体系中引入酸液而在沉积过程中因水的分解产生气体。结果表明，采用纳米 HAp 粉末可以明显降低涂层的烧结温度，比常用的温度（1000℃）约低 200℃。经烧结处理，涂层结构均匀、无裂缝，能够保持纳米结构。对钛进行一定的表面氧化和化学刻蚀处理后，钛表面布满腐蚀小孔，作为支架，实现了 HAp 涂层和金属基底的机械互锁，改善了涂层的力学分布，增强了 HAp 涂层与基底的结合力。此外，钛表面氧化和化学刻蚀处理，使得表面形成一定厚度的和稳定的 TiO₂ 薄层。TiO₂ 具有介于钛和 HAp 之间的热膨胀系数，起到过渡层的作用，从而可降低烧结后涂层和基底之间的残余应力，减少 HAp 涂层裂纹的发生，进一步改善了涂层的结合性能。EPD 法制备纳米 HAp 涂层与钛基底的结合强度可达 18±2.5MPa，杨式模量和硬度分别为 40.6 和 0.42 GPa。

探索了以骨髓干细胞体外培养实验，对钛基表面沉积的纳米羟基磷灰石 EPD 涂层的生物性能进行初步评价。比较实验结果表明，细胞在材料表面和周围生长良好，特别是在纳米 HAp EPD 涂层表面的细胞增殖最快，证明钛基表面沉积的纳米羟基磷灰石 EPD 涂层的生物相容性和生物活性最好，其余依次为常规尺寸（微米尺寸）的 HAp 涂层，纯钛板。以湿法制备的 HAp 粉末与烧结后的 HAp 粉末相比，在形貌和晶体结构方面都更接近于自然磷灰石；纳米羟基磷灰石 EPD 涂层的大比表面积和良好的仿生特性，有利于蛋白质等生物大分子与材料的相互作用，促进细胞的吸附和增殖，因此表现出良好的生物相容性和生物活性。

关键词：羟基磷灰石；纳米粉末；EPD 涂层；制备；性能

Investigation of the Synthesis and Properties of Nano Hydroxyapatite Biomaterials

Abstract

Nano biomaterials become a most important branch in the field of materials and medicine, and they are recognized as a nuclear material in biomaterial in the 21th century. Natural bone is a composite material made of nano hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAp) crystals and collagen fibers. Great attempts have been made to prepare the biomaterials with similar composition, structure and properties to the natural bone. Synthetical HAp materials show good biocompatibility and have the ability to form osteointegration. But due to its brittleness, pure HAp material is not suitable to be used for bone implant materials. The motivation of this work is to develop novel techniques to prepare nano HAp coating on titanium substrate, to acquire composite nano biomaterials with an excellent biocompatibility and bioactivity and mechanical properties.

The HAp nano powder was synthesized by co-precipitation followed by hydrothermal treatment. Reaction temperature had great effect on the powder morphology. Through hydrothermal treatment the crystal growth of HAp in c-axes direction was enhanced, which was similar to the natural HAp crystals. Hydrothermal treatment also helped the growth of crystals with uniform size. Sol-gel method was also used to synthesize HAp powder. In this process, calcining was needed to complete the reaction, but high temperature caused the aggregation of powder and the powder size might be beyond nano scale.

According to the flow and technical parameters of the synthesis of nano HAp powder, a reactor was designed to achieve a large-scale preparation of HAp under certain temperature

and pressure. It was shown that the HAp nano powder synthesized by this technique was of uniform structure and perfect crystalline. It is a safe, quick method to prepare large-scale HAp nano powder.

The HAp/CTS and HAp/PDLLA nano composite powder were synthesized by co-precipitation and surface coating, respectively. The composite powder had uniform size and microstructure, which may avoid from some technical problem, such as, uneven microstructure, insufficient bonding between different phases, etc, by the traditional slip-casting method. This kind of nano HAp composite powder is suitable for preparing block materials or implant devices with various shapes in the clinical applications.

Titanium and its alloy are used widely as bone implant materials due to their excellent mechanical properties and biocompatibility. The HAp coating on titanium surface can further improve the affinity between cells or biomolecules and implant surfaces, thus the bioactivity, biocompatibility and utility of biomaterials will be enhanced. In this work, the HAp nano coating on titanium surface was prepared in order to combine the bioproperties of HAp bioceramic and the excellent mechanical properties of titanium.

A uniform HAp nano coating was formed on the titanium substrate by electrophoretic deposition (EPD). To overcome the shortage of traditional EPD process, such as relatively high sintering temperature, lower bonding strength than that of the coating formed by plasma spraying, etc., some technical improvements had been done. For the first time acetic anhydride was used as solvent to disperse HAp particles, which avoided adding acid solution into the suspension and the gas formed by the electroanalysis of water. The results indicated that using nano HAp powder to form a EPD coating on titanium substrate could decrease the sintering temperature as low as 800 °C, which was 200 °C lower than the temperature used

in general EPD coatings ($\geq 1000^\circ\text{C}$). The coating was uniform, maintained nano structure and showed no cracks after sintering at 800°C . After surface oxidation and chemical etch, a distribution of small pits acting as scaffold was formed on Ti surface. As a result, mechanical interlocking was formed between coating and substrate, which improved the bonding between coating and substrate. In the other hand, both Ti-OH groups formed by etching and the strong oxidation tendency of concentrated H_2SO_4 led to the formation of a thin TiO_2 layer when sintering. This oxidation layer has a thermal expansion coefficient between that of HAp and titanium substrate, and could work as an interlayer in the HAp/Ti composite system. As a result, the thermal residual stresses decreased and the crack was also minimized in the coating. It was shown that the bonding strength of coating to the substrate is as high as $18 \pm 2.5\text{MPa}$, and the Young's modulus and hardness are 40.6 and 0.42 GPa, respectively.

The bioproperties of nano HAp EPD coating on the titanium substrate was evaluated by *in vivo* mesenchymal stem cells (MSCs) culture. It was indicated that the cells could grow well on the surface and wall of the materials. Biomaterials enhanced the proliferation of cells not only on the materials surface, but also around materials. It is noticed that the cells growing on nano HAp EPD coating had the maximum proliferation rate; secondly, the cells on HAp coating with micro size, while the cells in the well of Ti had the lowest rate. Compared with the sintered HAp powder, the HAp powder synthesized by wet chemical method shows more similarity in both morphology and crystal structure to those of natural apatite. Nano powder also has larger specific surface area than micro size power, which can enhance the interaction between biomolecules (such as protein) and biomaterials. So the HAp coating with nano structure shows excellent biocompatibility and bioactivity.

Keywords: Hydroxyapatite; Nano powder; EPD coating; Preparation; Properties

厦门大学博硕士学位论文摘要库

第一章 绪 论

§1-1 生物材料简介

生物材料又称为生物医用材料，是用以和生物系统结合，以诊断、治疗或替换机体中的组织、器官或增强其功能的材料。随着社会文明的进步和生活水平的提高，人类迫切需要新的生物材料以对人体内发生病变、损伤或老化的组织器官进行替代、修补和校正，为此长期以来，科技工作者一直在不懈地研制和开发适合于人体器官使用的生物材料。

公元前 3500 年到 20 世纪 20 年代是人类主要利用天然和半天然生物材料的阶段。此后人类进入了使用全人工合成生物材料的时代。除了人脑等极少部分器官外，人类的各个部位都可以用人工制备的生物材料对其进行修补和置换，其中，陶瓷、金属、高分子是使用最广泛的材料。

人工植骨材料，即替代人体硬组织（骨骼、牙齿等）的生物材料，是重要的生物医用材料之一。由于在使用过程中与人体生理环境相接触，因而与其它功能材料相比，植骨生物材料还必须具备某些特殊要求。一般来说，植骨生物医用材料应满足如下基本要求 [1]：

1. 尽可能小的人体排异性，即植入人体后，无不良刺激、无过敏、不引起感染等症状。
2. 足够的强度和韧性。
3. 稳定的理化特性。
4. 优良的生物活性。

目前人工植骨材料主要分为三大类：生物医用金属材料，高分子生物材料，生物陶瓷材料。

§1-1-1 生物医用金属材料

在三大生物材料中，金属具有最优的机械性能、韧性和加工性能。选择金属材料时应考虑以下几个问题：腐蚀，毒性，机械性能。

常用的金属材料有不锈钢，Co 基合金，Ti 及 Ti 合金等。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。为提高其耐蚀性能，在材料中增加了 Ni、Mo 等合金元素的含量 [2]。此材料易加工，价格低廉。Co 基合金具有优异的耐蚀性、耐磨性和机械性能，但硬度大，加工工艺困难，价格较高，应用尚不普及。钛及钛合金，质量轻，比重与人骨接近，弹性模量与其它医用金属相比更接近自然骨，具有良好的生物相容性，是目前最理想的生物医用金属植骨材料 [3]。钛及其合金表面有一层 2—6 nm 厚的 TiO_2 膜，被认为是一种类陶瓷 [4]，在医用中表现出了一般生物陶瓷的一些生物学特性，使其生物相容性在金属材料中最为优越 [5]。但钛合金的缺点是耐磨性差，强度不如钴基合金，合金中的 Al、V 是有毒元素。通过金属表面的高温离子氮化处理和置换有毒元素，可提高硬度、耐磨性和耐蚀性，降低毒性。

§1-1-2 高分子生物材料

医用高分子被广泛用于人体植入材料、牙体材料、包敷材料、矫形器件、补缺材料及体外循环设备的材料。聚甲基丙烯酸甲酯、有机硅、高密度聚乙烯、聚乙烯醇、聚乳酸、胶原等都是常用的高分子材料 [6-16]。高分子也是复合材料中常用的基体材料，尤其是医用高分子与生物陶瓷材料的复合材料。

§1-1-3 生物陶瓷材料

生物陶瓷材料的优点是植入体内不会被机体排斥，具有优良的生物相容性和化学稳定性，不会被体液腐蚀，自身也不会老化。近半个世纪以来人们热衷于生物陶瓷骨替代品的研究还基于以下原因：（1）自体骨移植的手术创伤和可能的并发症；（2）异体骨移植的潜在疾病传染危险；（3）发现骨组织能与一些含钙生物陶瓷有机结合；（4）利用生物陶瓷作为药物、生长因子、细胞或其它成分的载体。根据陶瓷在体内与组织的反应，可将其分成三类：惰性生物陶瓷，可降解生物陶瓷，活性生物陶瓷 [17]。

惰性生物陶瓷材料主要有氧化物生物陶瓷（Al、Ti、Zr 等的氧化物）、非氧化物生物陶瓷（硼化物、氮化物、碳化物，硅化物等）及碳材三类。氧化铝因机械强度高、硬度高、化学稳定性好、比重与人体接近，亲水性较好等特点成为应用最广泛和成功的惰性陶瓷[18-20]。

可降解陶瓷是一种暂时性的骨替代材料，植入体内后逐渐被吸收，同时新生骨逐渐长入而替代之。在临床上主要用作治疗脸部和颌部的骨缺损，填补牙周的空洞及与有机或无机物复合制作人造肌腱及复合骨板，药物的载体等 [21-23]。珊瑚是天然的可降解生物陶瓷，最突出特点是具有与人的松质骨相类似的相互连通的空心结构，孔隙孔径分布在 100—600 μm 之间，非常有利于人体有机组织的长入。缺点是降解速度太快，强度不能满足人体负重部位的需要 [24-26]。磷酸三钙是目前广泛使用的合成降解陶瓷，但强度不够，只能用于非负重部位的骨修复 [27, 28]。磷酸钙陶瓷与生物惰性植体材料（如高纯度 Al_2O_3 陶瓷）最显著的区别在于，不论是致密的还是多孔的磷酸钙陶瓷，其表面都可沉积成骨细胞，新生骨组织在植体表面生长，可与植体直接结合，即化学结合。而惰性生物陶瓷表面不能沉积成骨细胞，表面需先形成纤维组织隔层。这种材料被应用于医药和牙科方面已有 20 年，包括整形外科和牙科植体、齿槽脊的增高、上颌面手术、耳鼻喉科、骨生长支架，髌骨关节及膝盖手术等。但是由于 β -磷酸钙在人体环境中降解速度大于骨生长速

度，不能及时起到“桥梁”的作用而引起植体塌陷，因此对磷酸钙陶瓷的研究多集中于羟基磷灰石方面。

生物活性陶瓷主要有骨水泥 [29, 30]，羟基磷灰石，煅烧骨 [31]、氟基磷灰石 [32, 33]，生物玻璃 [34, 35]等，其突出优点是随修复时间延长，种植体表面发生动态变化，表面形成与骨组织能够化学结合的生物性羟基磷灰石。其中用途最广泛的是羟基磷灰石 ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAp)，脊椎动物的主要矿物相 [36]。

自然骨和牙齿是由无机材料和有机材料巧妙结合在一起的复合体，其中无机材料大部分是羟基磷灰石晶体，还含有 CO_3^{2-} 、 Mg^{2+} 、 Na^+ 、 Cl^- 、 F^- 等微量元素；有机物质的大部分是纤维性蛋白质胶原。在骨质中，羟基磷灰石大约占 69%，是一种长 10-60 nm，宽 2-6 nm 的针状结晶 [37]，其周围规则地排列着骨胶原纤维。齿骨的结构也类似于自然骨，但齿骨中羟基磷灰石的含量可高达 97% [38]。人工合成的羟基磷灰石的组成与自然骨的矿物成分非常接近，植入人体后不会引起异物排斥反应，可以与骨直接结合，是比较理想的植体材料。

§1-1-4 羟基磷灰石复合材料

HAp 虽然具有极好的生物相容性和生物活性，但纯羟基磷灰石材料的力学性能不足，特别是抗折强度和断裂韧性不符合要求，因此对其进行复合以增韧补强是必要的。

§1-1-4-1 羟基磷灰石/无机复合材料

主要采用一些陶瓷材料和金属，如 Al_2O_3 [39]、 ZrO_2 [40]、 TiO_2 [41]、生物玻璃 [42]、珊瑚 [43]、Ag [44]等，作为基体材料。该方法一般需要高温烧

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