

水热处理镁离子改性改善纯钛体外骨传导性的研究

徐玲利, 史兴岭, 朱治愿, 王泽鑫

(江苏科技大学, 江苏 镇江 212003)

摘要: 在 200 °C, 0.1 mol/L 的 MgCl₂ 溶液中对纯钛进行了水热处理, 以期改善其生物活性。采用多种分析手段对水热处理前后试样的形貌、润湿性能及表面化学成分进行了分析; 采用模拟体液浸泡法评价了处理前后试样的体外骨传导性。水热处理在试样表面形成了纳米氧化钛颗粒, 但并没有改变试样的微米尺度的形貌, 经过水热处理的试样表现出了超亲水性。水热处理成功地将 Mg 元素复合至钛表面; 在 MgCl₂ 溶液中进行水热处理时, Mg 元素主要以钛酸镁形式存在, 而在 pH 为 9.5 的 MgCl₂ 的溶液中进行水热处理时, Mg 元素主要以 Mg(OH)₂ 形式存在。在 SBF 中浸泡 3 d 后, 水热处理试样表面可观察到羟基磷灰石球状晶簇, 而未经处理的试样表面则未能发现沉积, 此外, 过高的 Mg 复合量抑制了羟基磷灰石的形核长大。结果表明, 水热处理在保持种植体宏观形貌不受影响的前提下可作为种植体生产的最后工序以提高其骨结合性。

关键词: 纯钛; 水热处理; 镁; 羟基磷灰石; 骨传导性

中图分类号: TG174.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-185X(2017)09-2613-05

由于生物相容性好, 耐腐蚀性强, 钛及钛合金被广泛用于制造人工义齿种植体及其他整形外科医疗器械。然而由于其本身属于生物惰性材料, 因此, 在用于骨科植入物时需要进行表面改性以改善其骨传导性^[1]。如通过增加种植体表面形貌复杂性来增强种植体与骨的结合强度, 如通过机械加工、喷砂和酸蚀等, 此外, 以羟基磷灰石为代表的生物活性涂层得到了广泛研究并获得商业应用。然而, 等离子喷涂羟基磷灰石涂层的结晶度降低, 研究人员对其长期稳定性依然有所顾虑^[2]。众所周知, 钛及钛合金的优良的化学稳定性和生物相容性均源于其表面自然形成的氧化膜, 此外, 通过观察体内、体外实验中磷灰石在钛植入物表面的沉积, 研究人员发现氧化膜在钛种植体与骨的结合过程中发挥了重要作用^[3]。鉴于此, 近年来, 人们通过各种技术在医用钛金属表面制备了成分、形貌和结构各异的氧化膜, 以期改善其骨传导性^[4-6]。

镁在人体骨骼新陈代谢过程的诸多生理环节中发挥了关键作用, 近年来的研究证实, PI3K/Akt 信号通路对于成骨细胞的增殖分化起到非常重要的调节作用, 适当提高镁离子浓度可以激活 PI3K/Akt 信号通路, 而高浓度的镁离子浓度对成骨细胞的活力和分化具有抑制作用^[7,8]。因此, 在镁合金体内降解速率尚未得到有效控制的前提下, 通过镁元素改性改善钛金属的骨传导性值得

研究^[9]。目前已报导的钛及其合金镁离子改性方法有离子注入、微弧氧化等。Sul 等通过微弧氧化将镁离子复合至钛表面形成 MgTiO₃, 动物实验表面钛的骨结合性得到了明显改善^[10]。Zreiqat 等通过离子注入在钛合金表面医用钛金属表面制备了富含 MgO 和 Mg(OH)₂ 的氧化层, 并能明显成果细胞在试样表面的吸附、铺展及增殖^[11]。

水热合成是制备纳米二氧化钛颗粒的重要方法, 因此也可以用于在钛金属表面构建纳米氧化膜, 与上述微弧氧化、离子注入方法相比, 水热处理改性具有设备工艺简单、能耗小经济环保的优点, 而且能够对具有复杂形状的种植体试样进行均匀的表面改性。研究表明, 通过水热处理可以将钙、磷等生物活性元素复合到钛氧化膜中, 从而提高了种植体的生物活性。Fu 等通过在 Ca-P 溶液中进行水热处理, 在纯钛表面制备了具有生物活性的 TiO₂-CaP 纳米复合涂层^[12]; Oshiro 等通过在 CaCl₂ 溶液中进行水热处理, 改善了上皮细胞在纯钛表面的反应^[13]。作者的前期实验表明通过水热处理方法将镁元素复合至钛表面氧化膜中可明显改善成骨细胞的附着与增殖, 而且其复合量可通过调节水热反应溶液的 pH 值进行控制, 然而其体内外骨传导性尚待研究^[14-16]。因此, 本实验通过水热处理在医用纯钛表面制备镁离子改性氧化膜, 考察镁离子复合量对种植体材料体外羟基磷灰石诱导能力的影响。

收稿日期: 2016-09-05

基金项目: 江苏科技大学科研基金 (635061402); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 徐玲利, 女, 1982 年生, 硕士, 江苏科技大学材料科学与工程学院, 江苏 镇江 212003, 电话: 0511-84401184, E-mail: shixingling1985@hotmail.com

1 实验

水热处理采用 10 mm×10 mm×1 mm 二级纯钛片 (Ta2, 宝鸡钛业股份有限公司) 为基材, 用 SiC 砂纸逐级打磨, 直至 1000#, 然后将试样依次在无水乙醇和去离子水中超声清洗, 在空气中晾干后备用。将分析纯 $MgCl_2$ (国药试剂) 溶于去离子水中制备镁离子浓度为 0.1 mol/L 的溶液, 取出一部分, 用 0.01 mol/L 的 NaOH 溶液将其 pH 调节为 9.5。水热处理分两组进行, 一组采用 $MgCl_2$ 溶液, 另一组采用 pH=9.5 的 $MgCl_2$ +NaOH 溶液, 将试样放入 50 mL 聚四氟乙烯反应罐中, 注入 30 mL 溶液, 密封后在 200 °C 下保温 24 h。处理结束后, 将试样取出, 在去离子水中超声清洗 10 min 后烘干备用。未处理试样, $MgCl_2$ 、 $MgCl_2$ +NaOH 溶液水热处理试样分别被命名为 UnTi, MgTi 和 HMgTi。

利用扫描电子显微镜 (SEM, S-3100, Hitachi Co.) 对试样表面微观形貌进行观察; 用静滴接触角/界面张力测量仪 (DM 500, Kyowa Interface Science Co., Ltd.) 测量试样与水的接触角; 用 K-alpha X 射线光电子能谱仪 (XPS, K-alpha, Thermo Fisher Scientific) 分析试样表面元素化学态, 背底真空度小于 1×10^{-7} Pa, 用 C 1s 的 $E=284.8$ eV 对各峰进行校准。

水热处理后, 将试样转移至 36.5 °C 模拟体液 (SBF) 中考察其诱导羟基磷灰石沉积能力, SBF 配方及制备过程参照 Kokubo 等的方法^[16]。浸泡实验在 50 mL 聚苯乙烯瓶内进行, 整个过程中试样在聚四氟乙烯底座夹持下保持垂直于容器底面的状态, SBF 体积 (V/mL) 和试样面积 (S/mm^2) 满足如下关系: $V=S/10$ 。浸泡 1, 3, 5, 7 d 后将试样取出, 用去离子水充分冲洗, 烘干后用 SEM 观察表面形貌并利用 D/MAX-3BX 型射线衍射仪 (XRD, D8 Advance, Bruker AXS Inc.) 对试样表层物相组成进行分析。

2 结果与分析

2.1 水热处理后微观形貌

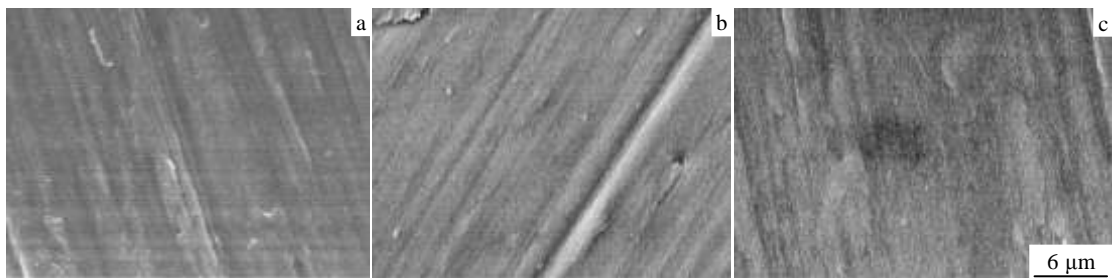


图 1 不同试样 SEM 形貌

Fig.1 SEM images of UnTi (a), MgTi (b), and HMgTi (c)

图 1 为试样水热处理前后的 SEM 观察结果。所有试样上均可见砂纸划痕, 可见水热处理并未改善试样表面的微米尺度上的形貌。水热处理后试样表面被纳米尺度的颗粒覆盖, 溶液 pH 值提高时, 颗粒的粒径明显变大, 但数量减少。拉曼光谱分析表明其主要成分为锐钛矿型 TiO_2 ^[15]。研究表明, 水热处理过程中发生的是溶解-沉淀反应, 因此, 试样表面结构仅仅在纳米尺度上发生了再构造^[14-15]。水热处理的这一特点可使其应用于种植体生产的最终环节, 即在不影响种植体结构、微米级表面形貌和机械强度的前提下改善种植体骨传导性。

2.2 水热处理润湿性能

水热处理后试样的润湿性能也得到了明显改善, 如图 2 所示。研磨试样的接触角为 36.2°, 而水滴在水热处理试样表面迅速扩展, 因此接触角为 0°。种植体在空气环境中长期存放后, 其表面会被含碳化合物污染, 造成亲水性下降, 生物活性退化^[6]。通过紫外光 (UV) 照射处理或等离子 (Plasma) 处理能使种植体恢复清洁表面, 并能改善其亲水性和骨结合性^[17]。水热处理对钛试样的除污作用可与 UV 及 Plasma 相当, 也可显著减少试样表面的含碳污染物, 同时, 与紫外照射和等离子处理相比, 水热处理还具有无可比拟的优点, 如可适用于形状复杂的钛种植体, 可同时实现金属植入物灭菌等。此外, 水热处理在钛试样表面构建了微纳二级结构也能促进超亲水现象的产生。

2.3 水热处理后表面成分分析

试样表面成分分析结果如图 3 所示。由 XPS 宽谱可知, 水热处理后镁元素被复合至钛金属表面的氧化层中, 而且水热处理液 pH 提高后, 镁元素的复合量明显增大。同时, 可以看到试样表面并没有残留的钠元素。在溶液中, Ca^{2+} 及 Mg^{2+} 与 Ti-OH 的结合力远远强于 Na^+ 与 Ti-OH 的结合力, 无定型钛酸钠中的 Na^+ 离子可完全被二价的钙、镁离子取替, 充分清洗后试样表面没有钠残留^[15]。图 4 为镁元素的高分辨率 XPS 谱。分析结合能可知, 复合至 MgTi 上镁元素主要以



图 2 水滴与不同试样表面的接触角

Fig.2 Contact angles of water drops on UnTi (a), MgTi (b), and HMgTi (c)

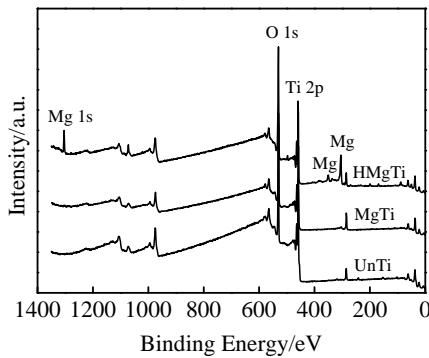


图 3 不同试样的 XPS 宽谱

Fig.3 XPS survey spectra of different specimens

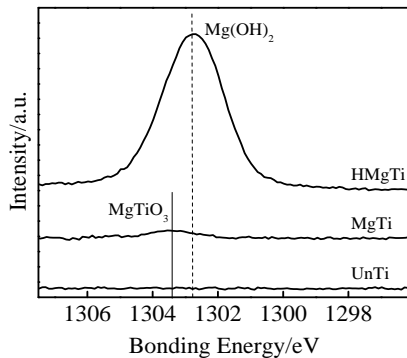


图 4 Mg 1s 高分比率 XPS 谱

Fig.4 XPS narrow spectra of Mg 1s on different specimens

钛酸镁形式存在，而镁元素在 HMgTi 上主要以氢氧化镁形态存在。

在水热条件下，纯钛表面自然形成的氧化膜受到 -OH 离子的攻击而逐渐溶解为 Ti(OH)₄，但由于其溶解度低而且为非稳定相，所以会不断脱水浓缩并转化为 TiO₂ 纳米颗粒沉积在钛金属基体表面，这就是水热反应中溶解-沉淀过程。在稀 MgCl₂ 溶液中，Mg²⁺ 离子会随着 Ti(OH)₄ 一同沉积而转变为 MgTiO₃，提高溶液 pH

值将促进溶解-沉淀反应的发生，加速碱土金属离子与 Ti(OH)₄ 的反应。但 pH 过高时，Mg²⁺ 会快速消耗 Ti(OH)₄ 而随后发生水解反应，生成 Mg(OH)₂^[18]。试样表面的溶解-沉淀反应原理示意图如图 5 所示。

2.4 SBF 浸泡实验

图 6 为试样在 SBF 中浸泡 3 d 后的 SEM 观察结果。可见，UnTi 试样表面未发生变化，而 MgTi 和 HMgTi 试样表面出现了典型球状沉积^[16]。用 XRD 对浸泡后的试样表面进行分析表明，这些球形沉积物为羟基磷灰石，如图 7 所示。可见，水热处理镁离子改性赋予钛金属表面羟基磷灰石诱导能力。其中，MgTi 试样表现了最佳的羟基磷灰石诱导能力，浸泡 3 d 后 80% 的试样表面即已经被联接成片的羟基磷灰石球形晶簇覆盖。但镁元素含量过高反而会阻碍羟基磷灰石的生长，浸泡 3 d 后 HMgTi 试样表面仅仅出现了分散的、彼此孤立的球形晶簇，与 MgTi 试样相比，晶簇数量明显减少。磷灰石在不同试样表面的覆盖率随浸泡时间的变化如图 8 所示，浸泡早期，磷灰石在 MgTi 表面快速沉积，第 5 d 时即可完全覆盖基体，而 HMgTi 试样表面的磷灰石沉积速度则明显缓慢。

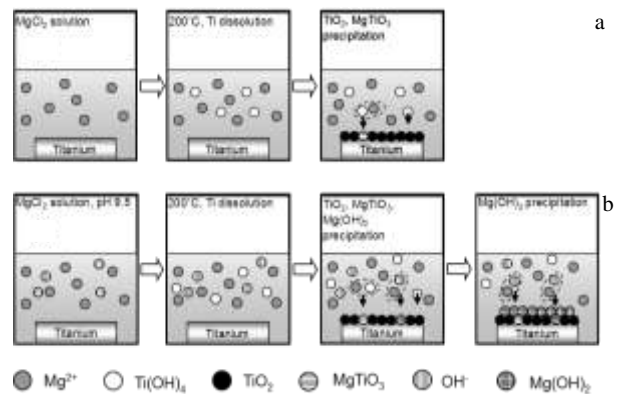


图 5 纯钛在不同 pH 值 MgCl₂ 溶液中的水热反应原理

Fig.5 Reaction mechanism of titanium hydrothermal treatment in MgCl₂ solution with different pH

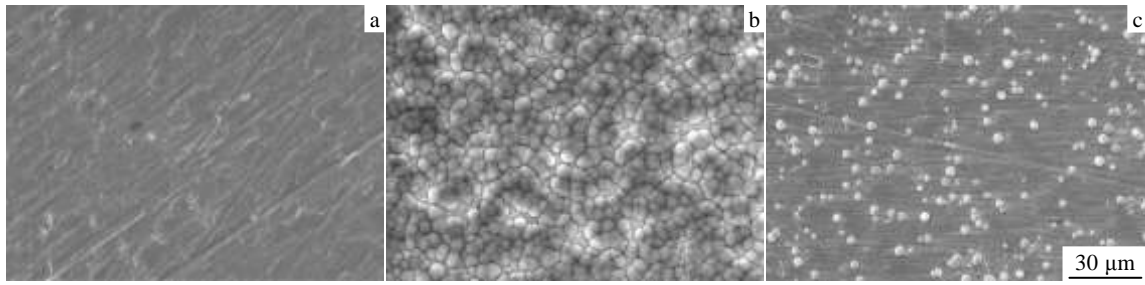


图 6 不同试样在 SBF 中浸泡 3 d 后的表面 SEM 形貌

Fig.6 SEM images of samples immersed in SBF for 3 d: (a) UnTi, (b) MgTi, and (c) HMgTi

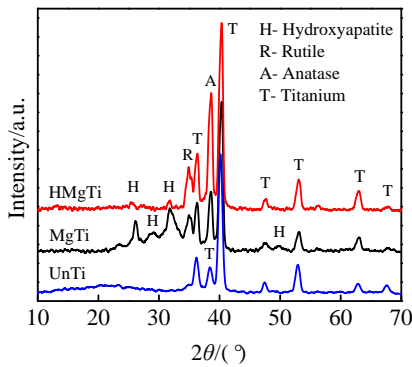


图 7 不同试样在 SBF 中浸泡 3 d 后的 XRD 分析结果

Fig.7 XRD patterns of different specimens after immersed in SBF for 3 d

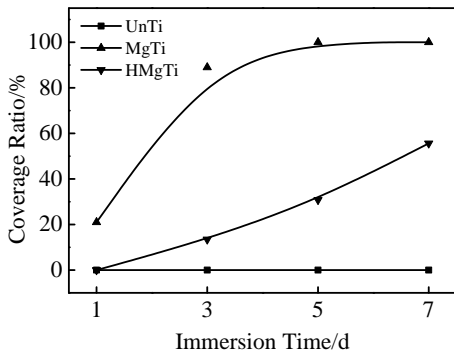


图 8 试样表面磷灰石覆盖率随浸泡时间的变化

Fig.8 Coverage ratio of apatite formed on specimens depending on immersion time

钛表面氧化膜易在 SBF 溶液中水解，产生的大量 Ti-OH 基团，使试样呈现电负性，此时 Ca^{2+} 和 PO_3^{4-} 交替吸附于试样表面，达到一定浓度后反应生成羟基磷灰石^[19]。可见，氧化膜在诱导羟基磷灰石沉积的过程中发挥了重要作用。但钛在空气中自然形成的氧化膜厚度不足 10 nm，而且含有大量结构缺陷，因此并不能在 SBF

中诱导羟基磷灰石形核、长大。通过在纯水或者溶液中进行水热处理，增加氧化层的厚度，提高其致密度，则可明显提高其诱导羟基磷灰石的能力^[20]。此外，二氧化钛、钛酸镁与羟基磷灰石之间存在一定的晶格匹配关系，羟基磷灰石(0100)晶面中 Ca 离子的位置与锐钛矿(100)晶面及金红石(110)晶面上的 O 离子位置重合度极高，这也被认为是氧化膜能从 SBF 中诱导羟基磷灰石形核、长大的重要因素^[21, 22]。当水热处理溶液 pH 增大时，试样表面将会被 $Mg(OH)_2$ 层覆盖，导致氧化膜基体与 SBF 液体隔离开，静电引力及晶格匹配作用均被削弱，因此羟基磷灰石的沉积被抑制。 $Mg(OH)_2$ 会在 SBF 中发生溶解，由于 Mg^{2+} 对无定型磷酸钙具有稳定作用，因此 Mg^{2+} 的释放也会从一定程度上抑制已经成核羟基磷灰石的长大^[23]。这也是表面 Mg 含量提高而体外羟基磷灰石诱导能力下降的另一个原因。

3 结 论

1) 在不改变试样宏观形貌的前提下，在 $MgCl_2$ 溶液中对纯钛进行水热处理能在其表面引入生物活性镁元素并赋予纯钛诱导羟基磷灰石的能力，因此可作为骨科植入物最终处理环节以提高其骨传导性。

2) 提高水热处理溶液的 pH 值导致试样表面出现 $Mg(OH)_2$ 沉积，一定程度上抑制了羟基磷灰石形核与长大。

参考文献 References

[1] Le Guéhenec L, Soueidan A, Layrolle P *et al. Dent Mater*[J], 2007, 23(7): 844
 [2] Hayashi K, Inadome T, Tsumura H *et al. Biomaterials*[J], 1994, 15(14): 1187
 [3] Hench L L. *J Am Ceram Soc*[J], 1991, 74(7): 1487
 [4] Shi X L, Xu L L, Wang Q L. *Surf Coat Technol*[J], 2010, 205(6): 1730
 [5] Li J, Liu X, Qiao Y *et al. Colloid Surface B*[J], 2014, 113: 134

- [6] Aita H, Hori N, Takeuchi M *et al. Biomaterials*[J], 2009, 30(6): 1015
- [7] Li L R, Xia Y F, Wang Z W *et al. Cell Biol Int*[J], 2011, 35(10): 1063
- [8] Su N Y, Peng T C, Tsai P S *et al. J Surg Res*[J], 2013, 185(2): 726
- [9] Hallab N J, Vermes C, Messina C *et al. J Biomed Mater Res*[J], 2002, 60(3): 420
- [10] Sul Y T, Johansson P, Chang B S *et al. J Appl Biomater Biomech*[J], 2005, 3(1): 18
- [11] Zreiqat H, Howlett C R, Zannettino A *et al. J Biomed Mater Res*[J], 2002, 62(2): 175
- [12] Fu Tao, Li H W, Sun J M *et al. Transactions of Nonferrous Metals Society of China*[J], 2015, 25(4): 1122
- [13] Oshiro W, Ayukawa Y, Atsuta I *et al. Colloid Surface B* [J], 2015, 131: 141
- [14] Shi X, Nakagawa M, Kawachi G *et al. J Mater Sci: Mater Med*[J], 2012, 23(5): 1281
- [15] Shi X, Tsuru K, Xu L *et al. Appl Surf Sci*[J], 2013, 270: 445
- [16] Shi X, Xu L, Munar M L *et al. Mater Sci Eng C: Mater Biol Appl*[J], 2015, 49:1
- [17] Kokubo T, Takadama H. *Biomaterials*[J], 2006, 27(15): 2907
- [18] Zhao L, Mei S, Wang W *et al. Biomaterials*[J], 2010, 31(8): 2055
- [19] Shi X, Xu L, Bastos Violin K *et al. J Mech Behav Biomed Mater*[J], 2016, 53: 312
- [20] Yan L, Zhuang J, Sun X *et al. Mater Chem Phys*[J], 2002, 76(2): 119
- [21] Takadama H, Kim HM, Kokubo T *et al. J Biomed Mater Res*[J], 2001, 55(2): 185
- [22] Nakagawa M, Zhang L, Udoh K *et al. J Mater Sci: Mater Med*[J], 2005, 16(11): 985
- [23] Wu J M, Hayakawa S, Tsuru K *et al. J Am Ceram Soc*[J], 2004, 87(9): 1635

Improved *in Vitro* Osteoconductivity of Pure Titanium Modified with Magnesium by Hydrothermal Treatment

Xu Lingli, Shi Xingling, Zhu Zhiyuan, Wang Zexin

(Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212003, China)

Abstract: Pure titanium was hydrothermally treated in 0.1 mol/L MgCl₂ solution with different pH at 200 °C for 24 h in order to improve its bioactivity. Surface morphology, roughness, wettability and chemical composition were characterized with sophisticated equipments before and after treatment. Simulated body fluid immersion experiment was conducted to examine *in vitro* osteoconductivity. Results indicate that hydrothermal treatment preserves the macro topography of polished substrates although nano-sized precipitations are observed and these surfaces show superhydrophilicity. Magnesium titanate is formed on titanium surface after hydrothermal treatment in MgCl₂ solution; however, under high pH, Mg(OH)₂ precipitated from the solution. Typical apatite spheres are observed on hydrothermally treated samples after immersion in SBF for 3 d. However, as Mg amount incorporated into titanium surface increases, the precipitation is depressed. The hydrothermal treatment is a promising final treatment for fabricating titanium implants with good bioactivity.

Key words: pure titanium; hydrothermal treatment; magnesium; hydroxyapatite; osteoconductivity

Corresponding author: Shi Xingling, Ph. D., School of Materials Science and Engineering, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212330, P. R. China, Tel: 0086-511-84401184, E-mail: shixingling1985@hotmail.com