

# 镁表面氧化膜层的优化及其对结构和性能的影响

闫 宁, 宋 文, 张玉梅

(第四军医大学口腔医院 军事口腔医学国家重点实验室 口腔疾病国家临床医学研究中心  
陕西省口腔医学重点实验室, 陕西 西安 710032)

**摘 要:** 通过对纯镁进行不同电压参数的阳极氧化 (5、10、20、40 V), 然后进行 450 °C 高温退火处理, 对镁表面氧化膜层进行优化。利用扫描电子显微镜分析膜层表面及截面形貌, 用原子力显微镜分析三维结构及粗糙度, 通过电化学极化实验与体外浸泡试验评估耐腐蚀性能, 通过 CCK-8 试验评估对小鼠成骨细胞 MC3T3-E1 的增殖活性影响。结果表明, 电压的升高可以使表面膜层从层板状变得多孔, 继续升高电压又变得光滑均匀。退火处理维持了基本形貌特征, 膜层厚度有所增加, 粗糙度有所下降。未退火膜层由于微孔的存在以及氢氧化镁的不稳定导致耐腐蚀性能并未增高, 退火所形成的致密氧化镁结晶膜层对基体有一定的保护作用, 其中 40 V 氧化后退火组样品拥有相对较好的耐腐蚀性能, 且对细胞增殖无明显抑制作用, 具有良好的生物相容性。

**关键词:** 镁; 阳极氧化膜层; 退火; 结构; 耐腐蚀性; 生物相容性

**中图分类号:** TG146.22; TG174.451

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-185X(2020)06-2168-07

引导骨再生 (guided bone regeneration, GBR) 技术已经被普遍地应用于口腔种植手术中, 然而现有临床应用的 GBR 膜材料还存在不足之处, 膜不可吸收, 例如钛或者聚四氟乙烯膜, 需要二次手术取出, 给患者带来了极大的痛苦和经济负担<sup>[1]</sup>; 而常规的生物可吸收聚合物, 例如胶原膜, 机械强度比较低, 且体内降解产物为酸性, 易引起组织炎症<sup>[2]</sup>。因此, 研发高强度可吸收 GBR 膜材料是一个重要方向。以镁为代表的可降解金属的研究为其带来了革命性变化, 由于它的生物可降解性、良好的生物相容性、以及机械性能与骨骼相似, 降解产物为碱性, 有利于骨组织的愈合等优势, 被认为是理想的可降解 GBR 膜植入材料<sup>[3,4]</sup>。然而镁金属在体内面临快速降解的问题, 导致机械性能的过早丧失、降解产物的局部高碱性环境和氢气累积等不良影响, 限制了其临床应用。因此针对这些问题, 也研发了一些表面处理的保护手段<sup>[5-7]</sup>, 例如转化膜层<sup>[8]</sup>, 碱热处理<sup>[9]</sup>, 阳极氧化<sup>[10]</sup>, 电沉积<sup>[11]</sup>和聚合物膜层<sup>[12]</sup>。其中阳极氧化是最常用的延缓镁降解的方法之一, 它的效果可靠、经济实用, 可以在镁表面产生厚度从纳米级到微米级的稳定的保护性氧化膜层<sup>[13]</sup>。一般而言, 阳极氧化电压参数对氧化层的形成具有显著影响<sup>[14]</sup>。而有研究证实, 后期的退火处理也可能对增

加氧化层的稳定性具有更为重要的意义<sup>[15]</sup>, 然而通过不同电压参数阳极氧化后进行退火处理对镁氧化层的结构和稳定性的影响尚缺乏系统性研究。因此, 本实验尝试通过调控镁阳极氧化的不同电压参数以及分析退火的影响, 系统地比较不同条件下所形成的阳极氧化膜层的形貌结构以及耐腐蚀性能差异, 并初步探索膜层优化对细胞相容性的影响, 为增强镁在体内的稳定性、提升其更好的生物应用提供参考。

## 1 实 验

采用的设备及试剂为阳极氧化电源设备 (TPR6010S, GRALLEN, 南京); 磁力加热搅拌器 (CJJ78-1, 上海); 超声波振荡清洗设备 (KQ250B, 昆山); 场发射扫描电子显微镜 (S-4800, Hitachi, 日本); 原子力显微镜 (Agilent Technologies, Arizona, 美国); 一体式箱式电阻炉 (SX2-1300, 上海); 电化学工作站 (ZahnerPP211, 德国); 电子密度天平 (ZL204MD, 上海); 改良型模拟体液 r-SBF (leagene, 上海振誉); MC3T3-E1 细胞 (ATCC, 美国); 青、链霉素 (索莱宝, 中国); 胎牛血清、 $\alpha$ -MEM 培养基 (HyCLone, 美国); CCK-8 试剂盒 (碧云天, 上海)。

对规格为 10 mm×10 mm×1 mm 的纯镁片 (99.9%

收稿日期: 2019-12-28

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (81530051, 31670966, 31800790); 陕西省重点研发计划 (2019SF-031)

作者简介: 闫 宁, 男, 1994 年生, 博士生, 第四军医大学口腔医院修复科, 陕西 西安 710032, 电话: 029-84776121, E-mail: saltning@163.com

纯度), 依次使用 400#~3000#的砂纸打磨抛光, 制备成表面光滑的试样, 并在丙酮、乙醇、去离子水中超声清洗。阳极氧化过程中纯镁试样为阳极, 石墨为阴极, 电解液为 120 g/L 的 NaOH 溶液。阳极氧化恒定电压分别设定为 5、10、20、40 V, 整个阳极氧化时间为 1 h, 电流密度于通电开始时快速升高达到峰值, 分别约为 0.08、0.14、0.22 与 0.29 A/cm<sup>2</sup>, 后由于氧化膜电阻增大及电解液粒子浓度逐渐减小的原因, 电流密度逐渐下降, 最终均稳定在较低水平。整个过程在室温磁力搅拌作用下完成。然后将试样用去离子水清洗, 干燥待用。

在 450 °C 下对经过阳极氧化的各组试样进行 6 h 的退火处理。退火程序包括初始 100 °C/h 的缓慢加热, 至 450 °C 保温 6 h, 后在空气中缓慢冷却至室温。分别用 “Annealing” 和 “Non-annealing” 表示经过和未经过退火处理的组别。

采用扫描电镜观察阳极氧化膜层的表面微观结构和横截面形态, 观察形貌前表面经过喷金处理, 使用 image j 软件对膜层厚度进行分析; 使用原子力显微镜观察各试样表面的三维结构, 并记录表面粗糙度。

使用电化学工作站动电位极化技术测量各组试样的耐腐蚀性能。具体方法为: 在室温环境中, 使用以阳极氧化样品为工作电极 (暴露面积为 1 cm<sup>2</sup>), 饱和甘汞电极为参比电极, 铂电极为辅助电极的三电极电池, 以改良模拟体液 (r-SBF) 为电解液, 开路电位趋

于稳定后, 在 -2.0 V 到 -1.0 V 的扫描区间以 10 mV/s 的扫描速率进行动电位极化测试, 测得各组试样的 Tafel 极化曲线, 并通过外推法计算各组试样的腐蚀电位和腐蚀电流密度。

将不同电压氧化 1 h 后退火的试样与纯镁试样 (10 mm×10 mm×1 mm) 各 3 个置于 12 孔板中, 暴露面积固定为 1 cm<sup>2</sup>, 用 3 mL r-SBF 进行浸泡。在浸泡过程中, 定期记录浸泡每天以及之后 20 d 内试样的质量损失情况, 收集并重新补充对应时间的浸泡液, 测量 pH 值以研究材料在浸泡过程中被腐蚀的程度, 整个浸泡试验在 37 °C 恒温细胞培养箱中进行。

选择 40 V 氧化后退火组与纯镁组各 6 个试样, 消毒灭菌后分别放入 24 孔培养板中, 选择小鼠成骨细胞系 MC3T3-E1 作为试验细胞, 以 1×10<sup>4</sup>/mL 的密度分别接种于各个试样表面, 并分别加入含有 10% FBS, 青霉素和链霉素的 α-MEM 培养基, 培养于 37 °C、5%CO<sub>2</sub> 的恒温细胞培养箱中, 隔日换液, 分别于培养第 1、3、7 d 的各时间点用 CCK-8 试剂盒测定各组细胞活性, 以 450 nm 处吸光度 (OD 值) 代表细胞活性绘制增殖曲线; 同时收集各时间点的培养液, 测定对应 pH 值, 以评估其对细胞生长增殖的影响。

## 2 实验结果

### 2.1 氧化膜层的表面和截面微观形貌

图 1 为扫描电镜下不同电压阳极氧化以及退火后

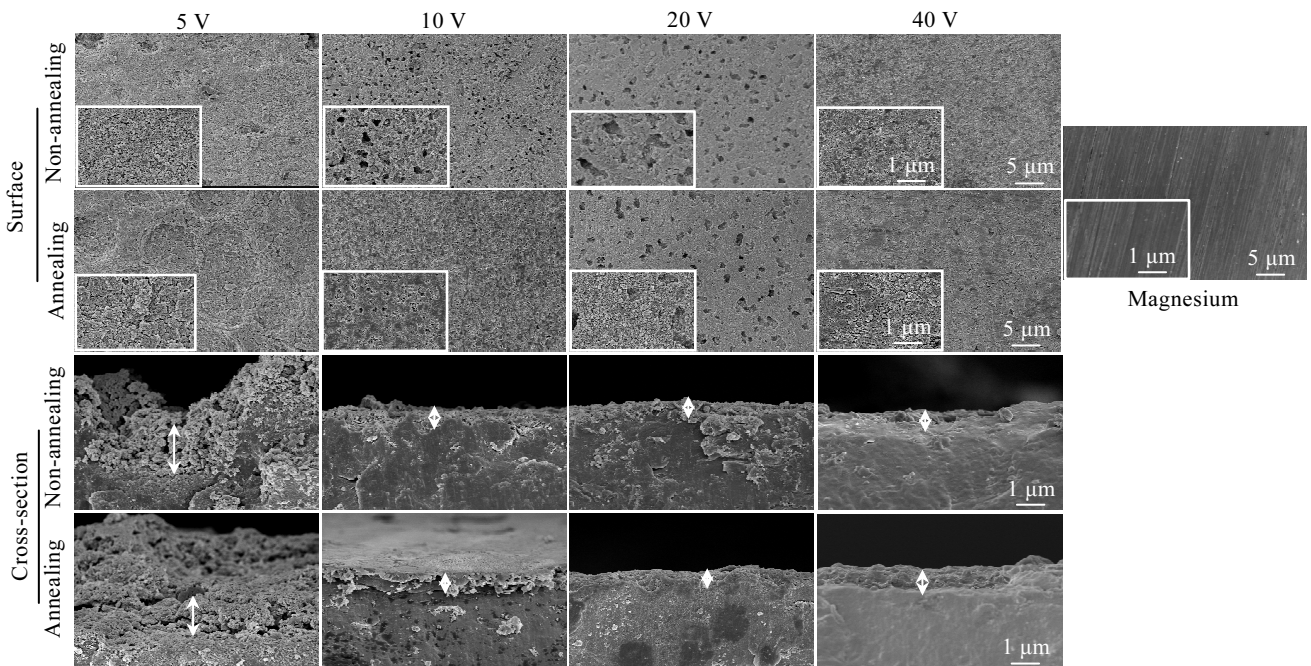


图 1 扫描电镜下各组试样的表面形貌以及横截面形貌

Fig.1 SEM images of surface and cross-section of each group of samples

各组试样的表面及截面形貌。可以发现，不同电压阳极氧化后均可在镁表面形成多孔的氧化层,不同电压下无显著性的结构差异，退火处理之后形貌基本没有较大差别。截面观察各组膜层（白色箭头标记），可见 5 V 电压组别膜层厚度较厚，但膜层较为疏松；随着电压的升高，膜层从疏松多孔逐渐变得更为致密，退火处理前后无明显变化。

图 2 显示了氧化膜层的厚度变化。可见 5 V 电压组别膜层厚度较厚，约为 5  $\mu\text{m}$ ，随着电压的升高，膜层厚度维持在 2  $\mu\text{m}$  左右；退火后膜层厚度除 5 V 组有所减小外，其他组别均有所增加，但无显著性差异。

2.2 氧化膜层的三维形貌和粗糙度分析

图 3 显示了原子力显微镜分析所得各组试样的三维形貌以及粗糙度检测结果。可以发现，不同电压氧化后膜层形貌结构、粗糙度存在差异，较低电压膜层疏松多孔，粗糙度较高，40 V 组别膜层结构较为均匀致密，粗糙度降低；同时退火处理也会进一步降低各个组别表面粗糙度，使表面更加均匀平整。

2.3 氧化膜层的耐腐蚀性能评估

图 4 显示了不同电压下阳极氧化以及退火后的各组试样在改良模拟体液中的动电位极化曲线。图 5 为根据极化曲线 Tafel 区域外推算所得到的各组试样的腐蚀电流密度与腐蚀电位结果。在不同电压制备的膜层中，未退火处理与纯镁材料相比未能增加腐蚀电位，且腐蚀电流显著升高；当氧化层进行退火处理后腐蚀电位增加，腐蚀电流显著降低。在这其中 40 V 电压氧化后退火组别表现出了最好的耐腐蚀性能。

2.4 退火试样的浸泡试验

图 6 总结了各电压下氧化后退火试样与纯镁在改良模拟体液中浸泡 20 d 的降解结果。可以观察到，退火后试样浸泡 20 d 内质量损失总量均小于纯镁，pH 升高的程度也相对较低。但降解进程普遍存在着早期降解

速率很快的情况，即在 1~5 d 的时间内，质量损失斜率高，降解快，pH 快速升高到 8 以上。但随着浸泡时间延长到 5 d 左右后，质量损失的斜率逐渐降低，pH 升高程度也有所下降，质量损失逐渐趋于平缓，pH 值也稳定在 8 左右。浸泡 20 d 的结果分析显示，耐腐蚀性能提升的顺序为 40 V 氧化后退火组别>5 V>10 V>20 V>纯镁组别，与 Tafel 曲线所得腐蚀电流结果一致。

2.5 细胞相容性分析

图 7 显示了 40V 氧化后退火试样与纯镁在培养第 1、3 和 7 天通过 CCK-8 方法测量的 MC3T3-E1 细胞的增殖和培养液 pH 值变化。可以看到随时间延长，2 组试样通过 CCK-8 分析测得可以代表细胞活性的 OD 值均不断升高，即材料对细胞无明显毒副作用，并不影响增殖进程；在各时间点 40V 氧化退火组都表现出比纯镁组更好的细胞活性，说明其对细胞增殖的抑制作用更小。测量培养液的 pH 值观测到，虽然 2 组培养液环境都偏碱性，但同一个时间点 40 V 氧化退火组 pH 值均相较更低，更有利于创造细胞生长增殖的环境。

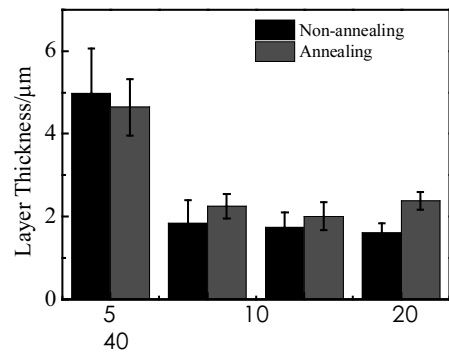


图 2 各组试样膜层厚度比较

Fig.2 Comparison of layer thickness of each group of samples

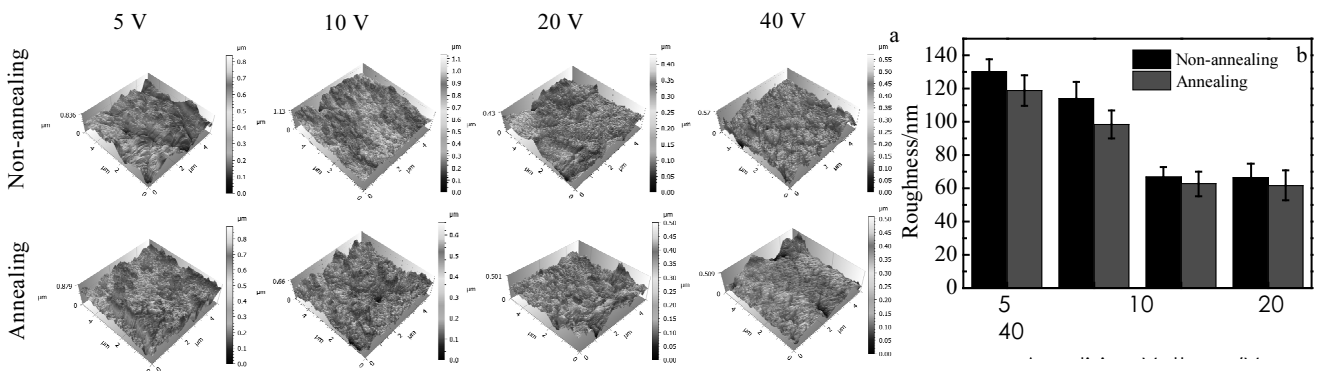


图 3 各组试样的三维形貌和表面粗糙度

Fig.3 3D morphology (a) and surface roughness (b) of each group of samples

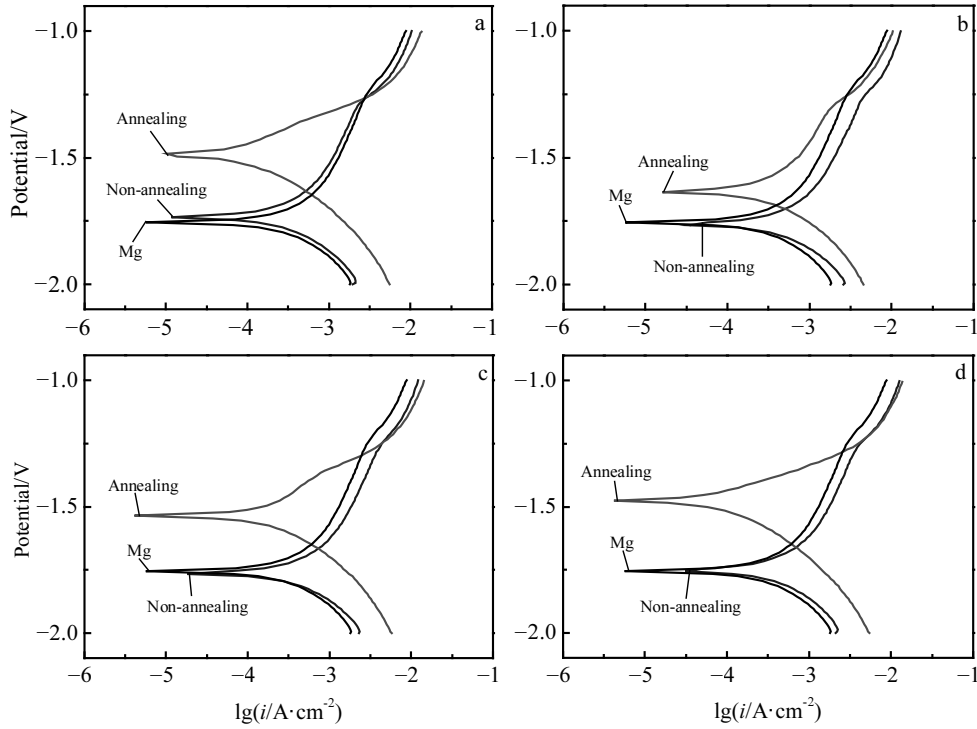


图 4 各组试样膜层 Tafel 极化曲线

Fig.4 Tafel polarization curves of each group of sample films: (a) 5 V, (b) 10 V, (c) 20 V, and (d) 40 V

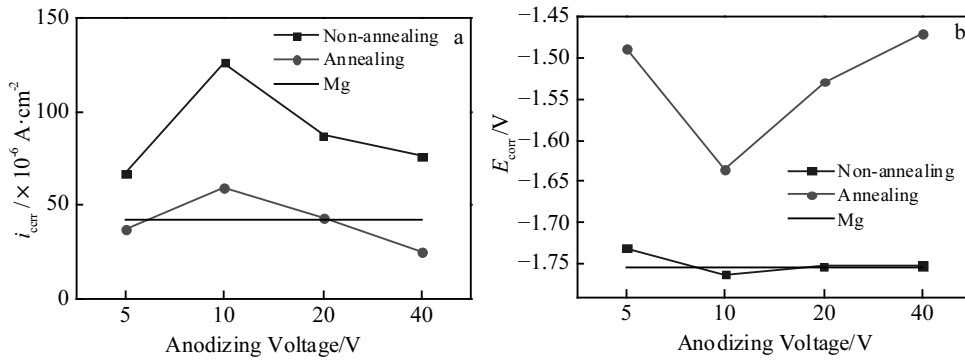


图 5 各组试样的膜层腐蚀电流密度和腐蚀电位

Fig.5 Corrosion current density (a) and corrosion potential (b) of each group of sample coatings

### 3 讨论

传统镁合金阳极氧化电解液中的铬酸盐污染环境、氟化物存在一定毒性以及磷酸盐会造成水体富营养化<sup>[16]</sup>，并不适合于生物体内应用。因此开发了绿色环保型电解液，其中硅酸盐的存在可以改善膜层的均匀性与抗蚀性<sup>[17]</sup>。但最近研究表明，高剂量的硅酸盐可导致骨髓间充质干细胞活力降低，自噬蛋白的增加导致自噬功能障碍<sup>[18]</sup>。相比之下，近年来开发的单纯

KOH 或 NaOH 为基础的电解液对商业纯镁及合金进行阳极氧化，在提高了其耐腐蚀性的同时，也表现出了较好的相容性，避免了上述电解液中可能带来的一些问题<sup>[19]</sup>。

本实验在氢氧化钠电解液中对纯镁进行不同电压参数的阳极氧化后进行退火处理，发现随着阳极氧化电压的增加，膜层从疏松逐渐变得致密，这提示氧化电压的升高可能对提升膜层致密度有利。在该电解液中阳极氧化后形成的膜层主要成分为氢氧化镁，经过

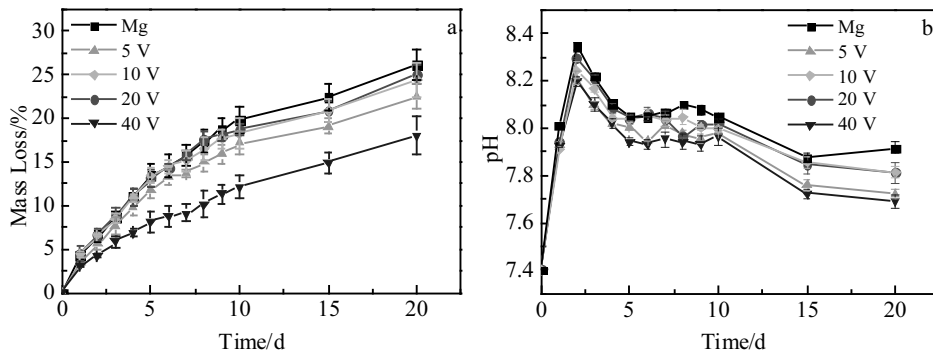


图 6 纯镁和氧化退火试样在模拟体液中浸泡 20 d 的质量损失与浸泡液 pH 变化

Fig.6 Mass loss (a) and solution pH change (b) of pure Mg and annealing group samples immersed in r-SBF for 20 d

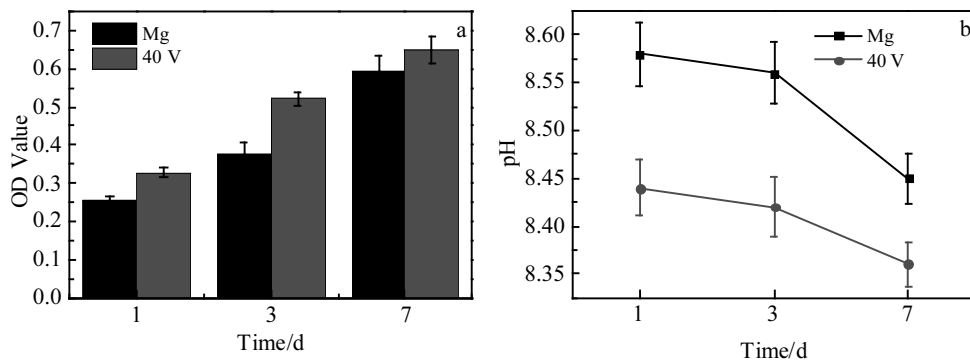


图 7 40 V 氧化退火试样与纯镁在培养第 1、3 和 7 d 通过 CCK-8 分析测量 MC3T3-E1 细胞的增殖和培养液 pH 值变化

Fig.7 Proliferation of MC3T3-E1 cells (a) measured by CCK-8 assay and change of solution pH value (b) cultured for 1, 3 and 7 d

450 °C 的高温退火处理可以利用初始缓慢加热过程来使  $Mg(OH)_2$  晶体转变成致密的氧化镁(MgO)，避免结构突然崩塌的同时，最大限度地保留表面形貌。这种涂层的结构表征在 Cipriano 的研究中也有相似的报道<sup>[20]</sup>。退火后膜层厚度略有增厚，表面粗糙度略有降低，但均无显著改变。电化学 Tafel 极化曲线是检测金属耐腐蚀性的“金标准”，一般而言，腐蚀电位越高、腐蚀电流越小，则材料的耐腐蚀性能越强。本研究发现，在氢氧化钠电解质环境中单纯氧化后的膜层腐蚀性能没有提升，反而相对纯镁出现了下降的趋势。这表明单纯氧化后形成的氢氧化镁在水相环境中，尤其是有着高氯浓度的改良模拟体液中稳定性较差，形成易溶的氯化镁更进一步加快了镁的点蚀降解。这与 Altun 报道的氯离子的存在加速了腐蚀速率结果相一致<sup>[21]</sup>。而进行退火处理后，氧化层的耐腐蚀性能显著提升。这是由于在水相环境中，氧化镁具有更强的稳定性，证明其在水相环境下保护性能更为优异，对基底起到更好的延缓降解作用。体外的模拟体液浸

泡结果更进一步证实了作者的想法，氧化后退火组别中微孔更少、更均匀光滑的表面减少了腐蚀介质渗透的同时，由于表面更稳定的氧化镁保护层存在，降解速率更慢，pH 升高更缓慢，其中 40 V 组别表现出了更好的保护效果，和极化曲线中测得结果相一致。除了很好的耐腐蚀性能，生物相容性和生物安全性也是开发可降解镁金属生物应用的重要考虑因素，因此本研究评估了该组试样与纯镁对 MC3T3-E1 成骨细胞活力的影响，经过 7 d 的细胞培养之后，40 V 氧化后退火组试样表现出了相较于纯镁更好的生物相容性和更小的细胞毒性作用。分析原因可能是退火后的样本在延缓材料降解速率的同时，也延缓了降解产物对周围环境的影响，其降解产生的  $OH^-$  更少，会使细胞所处培养液 pH 值增长更为缓慢，避免了过高的碱性环境对细胞的生长增殖过程产生不利影响。Gill 也采用了相似的阳极氧化以及后处理对镁表面改性，细胞培养增殖上也表现出了相较于纯镁分布更加良好的特征和更良好的相容性<sup>[22]</sup>，所以这也提示人们在设计材料改

善其耐腐蚀性能的同时, 兼顾其生物相容性同样重要。

然而, 本实验中进行的 450 °C/6 h 的退火处理虽然确保了氢氧化镁向氧化镁的完全转化, 在一定程度上提高了膜层的均匀性、耐腐蚀性能及生物相容性, 实现了对阳极氧化膜层的优化, 解决了材料早期体内应用面临最大的耐腐蚀性问题, 但这种高温条件可能会使镁基底晶粒粗化, 晶界腐蚀程度加重, 进而影响基底的抗应力与耐腐蚀能力, 所以这仍然需要开展进一步研究, 在不影响基底性能的前提下, 最大限度提升膜层以及材料整体的性能; 同时该高温条件可能会使部分镁合金形成液相而发生过热, 进而影响该方法在镁合金上的拓展应用。经过学者研究发现, 氢氧化镁在 400 °C 时完全分解其实只需 60 min, 温度的继续升高只是会相对加快其分解速度<sup>[23]</sup>, 所以在满足氢氧化镁煅烧转化成为氧化镁的温度为 350~400 °C 的前提下, 将实验中 450 °C 的退火温度适当降低至 400 °C 或更低, 或采用分段长时间加热的退火方法, 避免过高温度致使镁基底晶粒粗化、性能下降, 在镁合金材料中也能得到拓展使用。

## 4 结 论

1) 电压升高, 阳极氧化膜层粗糙的层板表面上产生孔径变大的微孔, 继续升高电压后又光滑平整, 并且逐渐由疏松变为致密。

2) 退火处理使表面的氢氧化镁脱水形成致密的氧化镁结晶层, 膜层形貌基本不变, 厚度有所增加, 表面粗糙度有所下降。

3) 各电压下阳极氧化膜层由于表面微孔以及不稳定氢氧化镁的存在并未明显提升耐腐蚀性, 而退火后形成的氧化镁结晶层有更好的保护作用。

4) 40 V 氧化后退火组膜层表现出了较好的耐腐蚀性能, 同时相较于纯镁, 对小鼠成骨细胞的增殖无明显抑制作用, 拥有较好的生物相容性和较小的细胞毒性。

### 参考文献 References

- [1] Rakhmatia Y D, Ayukawa Y, Furuhashi A *et al.* *Journal of Prosthodontic Research*[J], 2013, 57(1): 3
- [2] Sheikh Z, Qureshi J, Alshahrani A M *et al.* *Odontology*[J], 2017, 105(1): 1
- [3] Chen Y, Xu Z, Smith C *et al.* *Acta Biomaterialia*[J], 2014, 10(11): 4561
- [4] Zheng Y F, Gu X N, Witte F. *Materials Science and Engineering R: Reports*[J], 2014, 77: 1
- [5] Sankara Narayanan T S N, Park I S, Lee M H. *Progress in Materials Science*[J], 2014, 60: 1
- [6] Hornberger H, Virtanen S, Boccaccini A R. *Acta Biomaterialia* [J], 2012, 8(7): 2442
- [7] Wu G, Ibrahim J M, Chu P K. *Surface and Coatings Technology*[J], 2013, 233: 2
- [8] Zhao H, Cai S, Ding Z *et al.* *RSC Advances*[J], 2015, 5(31): 24 586
- [9] Gu X N, Zheng W, Cheng Y *et al.* *Acta Biomaterialia*[J], 2009, 5(7): 2790
- [10] Li Weiping, Li Wen, Zhu Liqun *et al.* *Materials Science and Engineering B*[J], 2013, 178(7): 417
- [11] Xu Q, Liu Y, Liu C *et al.* *RSC Advances*[J], 2015, 5(19): 14 458
- [12] Alabbasi A, Liyanaarachchi S, Kannan M B. *Thin Solid Films* [J], 2012, 520(23): 6841
- [13] Xue D, Yun Y, Schulz M J *et al.* *Materials Science and Engineering C*[J], 2011, 31(2): 215
- [14] De Oliveira M C L D, Pereira V S M, Correa O V *et al.* *Journal of Materials Engineering and Performance*[J], 2014, 23(2): 593
- [15] Miller C, Cipriano A F, Liu H N. *Advanced Materials Research*[J], 2014, 922: 513
- [16] Huo Hongwei(霍宏伟), Zheng Zhiguo(郑志国), Li Mingsheng(李明升) *et al.* *Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程) [J], 2005, 34(9): 1345
- [17] Gou Yinning(沟引宁), Su Yongyao(苏勇要), Tan Zujun(谭祖君) *et al.* *Journal of Chongqing University of Technology, Natural Science*(重庆理工大学学报, 自然科学版)[J], 2017, 31(4): 45
- [18] Li Z, Liu S, Fu T *et al.* *Stem Cell Res Ther*[J], 2019, 10(1): 351
- [19] Cai Z, Lu D, Li W *et al.* *International Journal of Hydrogen Energy*[J], 2009, 34(1): 467
- [20] Cipriano A F, Lin J, Miller C *et al.* *Acta Biomaterialia*[J], 2017, 62: 397
- [21] Altun H, Sen S. *Materials and Design*[J], 2004, 25(7): 637
- [22] Gill P, Munroe N, Mcgoron A. *Journal of Biomimetics, Biomaterials, and Tissue Engineering*[J], 2012, 16(1): 55
- [23] Yang Guang(杨光). *Dissertation for Master*(硕士论文)[D]. Shenyang: Northeastern University, 2009

## Optimization of Anodized Film on Magnesium Surface and Its Effect on Structure and Properties

Yan Ning, Song Wen, Zhang Yumei

(State Key Laboratory of Military Stomatology, National Clinical Research Center for Oral Diseases, Shaanxi Key Laboratory of Stomatology, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

**Abstract:** The film on the magnesium surface was optimized by anodizing pure magnesium with different voltage parameters (5, 10, 20, 40 V), and then annealing at 450 °C. The surface and cross-section morphology of the formed coatings were analyzed by scanning electron microscopy. Three-dimensional structure and roughness were analyzed by atomic force microscope. The corrosion behavior of each group of samples was evaluated by electrochemical polarization experiments and in vitro immersion test. The proliferation activity of mouse osteoblasts MC3T3-E1 was evaluated by the CCK-8 method. The results show that the increase of voltage can make the surface film layer become porous from the lamellar shape, and then if the voltage continues to be increased, the layer becomes smooth and uniform. The annealing treatment maintains the basic morphological characteristics, the coating thickness increases and the roughness decreases. Due to the existence of micropores and the instability of magnesium hydroxide, the corrosion resistance of the unannealed film does not increase. The dense magnesium oxide crystal film formed by annealing has a certain protective effect to substrate, and the annealing group of the samples after 40 V oxidation is relatively good. which has a better corrosion resistance, biocompatibility and has no obvious inhibitory effect on cell proliferation.

**Key words:** magnesium; anodized film; annealing; structure; corrosion resistance; biocompatibility

---

Corresponding author: Zhang Yumei, Ph. D., Professor, Department of Prosthodontics, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, P. R. China, Tel: 0086-29-84776121, E-mail: wqtzym@fmmu.edu.cn