

基于 FTIR, ICP-MS 的仿生 Mg-Ag-HA/明胶抗菌 生物涂层的制备与表征

茹 苹¹, 袁翠芳¹, 乔海霞¹, 黄 勇^{1,2*}, 张雪姣¹, 董鑫雨¹, 吕紫薇¹,
张 敏¹, 王一烧¹, 党宪阳¹, 陈韞龙¹, 杨贺杰³, 张小军⁴, 张效云^{1*}

1. 河北北方学院医学检验学院, 河北 张家口 075000
2. 电子科技大学生命科学与技术学院, 四川 成都 610054
3. 西安交通大学材料机械行为国家重点实验室, 陕西 西安 710049
4. 第四军医大学生物医学工程系, 陕西 西安 710032

摘 要 目前, 傅里叶变换红外光谱(FTIR)技术具有待测样品数量少、对特征基团灵敏度高、样品制备和分析简单等优点; 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)的优势也较为显著: 微量元素的高灵敏度检出率, 低检测限和多元素的同时分析; 协同上述两种方法, 可快速对功能医用材料的化学元素和基团进行鉴定, 从而为仿生医用抗菌材料的研发提供新的设计思路和理论依据。羟基磷灰石(HA)因其优异的骨传导和骨诱导特性被用于薄膜材料, 钛植入表面 HA 薄膜已进入临床应用阶段。但是, HA 的本真脆性和缺乏抗菌性, 常常导致植入失败。因此, 开发一种耐磨性好且抑菌性优的促成骨功能涂层成为当前急需解决的难题。研究目的在于在钛表面制备耐磨性好且抑菌性优的促成骨功能涂层, 初步探讨了涂层的抗菌离子缓释规律和生物活性。开拓性地在工业纯钛表面制备了明胶、银和镁离子改性的羟基磷灰石(Mg-Ag-HA/明胶)抗菌涂层。将银(Ag)引入羟基磷灰石涂层(HA)以改善其抗菌性能, 镁(Mg)作为第二元素以提高生物相容性, 明胶可以同时提高 HA 的生物相容性和力学性能。ICP-MS 测定涂层中镁和银元素的释放量和可持续性。所得到的新型 Mg-Ag-HA/明胶的 SEM 结果、Ca/P 比值、化学特征峰和晶相通过 FTIR, SEM, EDAX 和 XRD 进行表征。结果表明: 明胶的羧基与 HA 的钙离子之间已形成 Ca-COO 化学键, 明胶和 Mg-Ag-HA 构成了有机-无机复合涂层; Mg 和 Ag 元素被成功地引入到了 HA 晶格中, 且分布均匀。模拟体液浸泡后, Mg-Ag-HA/明胶涂层试样表面有新的缺钙型的 HA 生成, 且球形磷灰石中检测到新的 Mg, Na 和 Cl 元素; 结果表明, 新型复合涂层样品具有良好的生物活性。SEM 和 LSCM 实验结果观察发现, 小鼠颅骨成骨细胞在 Mg-Ag-HA/明胶上粘附良好, 细胞伸展大量伪足, 未见细胞毒性。明胶的加入大大降低了复合镀层中 Mg²⁺ 和 Ag⁺ 的释放速率, 提高了复合镀层的生理稳定性, 为镀层保持长期抗菌功能提供了保证。Mg-Ag-HA/明胶作为钛基涂层材料具有良好的抗菌离子释放能力和优异的生物相容性, 为新型抗感染外科植入体的研发提供了新思路。

关键词 傅里叶变换红外光谱; 电感耦合等离子质谱; Mg-Ag 共掺杂羟基磷灰石明胶; 抗菌生物涂层

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)11-3352-07

收稿日期: 2018-10-09, **修订日期:** 2019-02-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(11404088), 河北省高校科学研究重点项目(ZD2017206), 河北省委组织部青年拔尖人才基金项目, 河北省自然科学基金项目(H2019405063), 河北省卫生厅项目(20180810), 张家口市科技局研发项目(1811033D), 河北省重点研发项目(19271301D), 河北省高等学校科学研究青年项目(QN2017010), 河北北方学院青年基金项目(QN2018006)项目资助

作者简介: 茹 苹, 女, 1997 年生, 河北北方学院医学检验学院本科生 e-mail: 1848519637@qq.com

袁翠芳, 女, 1998 年生, 河北北方学院医学检验学院本科生 e-mail: 2285207802@qq.com

茹 苹, 袁翠芳: 并列第一作者 * 通讯联系人 e-mail: xfpang@aliyun.com; 2235399775@qq.com

引 言

虽然商业纯钛(CP-Ti)及其合金被广泛应用于牙科和整形外科,但是它们只表现出有限的生理稳定性和骨整合能力,大量研究发现其植入体内后经常会因感染导致植入松动等术后并发症^[1-3]。解决这些问题需要改善钛表面的综合性能。羟基磷灰石(HA)与人体牙齿和骨骼的无机成分近似,因其优异的骨传导和骨诱导特性被用于薄膜材料,钛植入表面 HA 薄膜已进入临床应用阶段^[1]。但是,HA 涂层具备优异成骨活性的同时,给细菌的滋生和粘附提供的天然的温床,极易在植入体表面形成生物膜而引发炎症,造成植入体脱落,从而导致植入失败^[2]。据文献报道,由人工假体引发的感染中,45%的原因是植入假体与人体接触时,涂层材料表面首先会形成蛋白类薄膜,这层蛋白膜为细菌的滋生繁殖提供了有利条件,使得 HA 涂层失去骨整合的能力而导致植入体发生松动^[3]。此外,HA 差的耐磨性和低的断裂韧性仍难以满足天然骨组织的机械性能要求,阻碍了其作为膜层材料在主要承载设备上的临床应用^[4]。再者,虽然有公认的骨传导性能,但由于人工 HA 与自然骨存在一定的差异(如缺少成骨微量元素和胶原等),其诱导间充质干细胞分化以及诱导新骨生成能力仍然存在争议,需要进一步提高 HA 涂层的生物学性能。因此开发一种耐磨性好且抑菌性优的促成骨功能涂层成为当前急需解决的难题^[5]。

明胶作为无毒、免疫原性低的可降解生物材料,可以诱导细胞的粘附和增殖、表现出优异的细胞相容性,作为胶原的水解产物,其与胶原一起被广泛用于医用材料领域^[6]。天然的骨间质是由纳米级低结晶的磷灰石和少量碳酸钙与胶原纤维有机组合而成的三维结构。基于仿生学的观点,HA 和明胶的恰当组合,可以在一定程度上模拟自然骨的成分和形态,从而综合改善 HA 的机械性能和骨诱导活性^[7]。银作为广谱抗菌金属、极具潜力、且几乎无耐药性,而将 Ag 离子取代 Ca 离子掺入 HA 的晶格后,AgHA 依然表现出优异的抑菌活性^[2]。近些年,AgHA 逐渐成为抗菌涂层的研究热点^[3]。Mg 离子可诱导骨细胞伪足的延伸,诱导 ALP 和 GLA 蛋白等成骨分化标志物的合成,同时整合素、转录因子 Dlx5、骨涎蛋白的表达也显著增加^[8]。掺镁 HA 可以提高转录因子 Runx2、碱性磷酸酶、骨桥蛋白在成骨细胞中的表达,MgHA 具备优异的细胞相容性^[9]。

综上,我们可以充分利用上述三种成分各自的优点,设计耐磨性好且抑菌性优的促成骨功能涂层,相关研究目前尚未见报道。本工作尝试合成一种新的生物相容性、抗感染性的 MgAgHA/明胶仿生生物复合涂层,并采用 FTIR, ICP-MS, SEM, EDS, XRD 和激光共聚焦等技术对涂层的表现形貌、理化性能进行表征;对复合涂层表面 MC3T3-E1 细胞的生物学特性以及成骨和粘附能力进行了研究,以探讨该涂层材料在抗菌植入领域的可行性。

1 实验部分

1.1 Mg-Ag-HA/明胶薄膜的制备

采用 CP-Ti(纯度 99.98%)作为基板材料。其尺寸为 10 mm×10 mm×1 mm 的方片。首先,用 240#—1200# 的金相砂纸对其表面进行抛光处理。然后,用 10% 的盐酸,10% 的硝酸和 80% 的 H₂O 组成的溶液对样品进行蚀刻,以创造一个粗糙的表面。用无水乙醇、丙酮和去离子水对样品分别进行超声清洗,每次 10 min^[5]。将 $2.2 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2$, $2.5 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $1 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ AgNO}_3$ 和 $1 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Mg}(\text{NO}_3)_2$ 溶解于 1 L 烧杯中。然后在上述电解液中加入 1 g 明胶,恒温 60 °C 水浴磁力搅拌 1 h,超声 10 min,调节溶液的 pH 为 4.4。单纯 HA 涂层作为对照组。实验主设备为天津兰立科高新技术有限公司的 LK2005 A 型电化学工作站,烧杯中加入 150 mL 的沉积液,25 mm×25 mm×0.1 mm 的 Pt 为阳极,CP-Ti 为阴极,两个电极距离 1 cm,单电流阶跃模式进行电解沉积,涂层的制备过程需要在 65 °C、恒电流密度为 0.9 mA·cm⁻² 条件下持续 30 min。

1.2 Mg-Ag-HA/明胶的表征

采用 SEM(JEOL JSM-7500F)观察样品表面形貌并用 EDS(Max20 EDAX)对样品进行成分分析;采用 D/Max-2500 型 X-射线衍射仪检测涂层的晶体特性,Cu 靶(40 mA, 40 kV) $\lambda=0.15406 \text{ nm}$,步长为 0.06°。

1.3 Mg-Ag-HA/明胶涂层的红外光谱

采用 Nicolet iS5 型 FTIR 仪对 Mg-Ag-HA/明胶的基团振动峰进行分析;将刮下的涂层与 KBr 按照 1:100 的比例混合压片,扫描范围:4 000~500 cm⁻¹;分辨率常规设定为 4 cm⁻¹,扫描叠加 16 次。

1.4 ICP-MS 检测 Mg-Ag-HA/明胶复合物的缓释规律

为了检测 Mg²⁺ 和 Ag⁺ 的缓释规律,37 °C 下,将 Mg-Ag-HA/明胶涂层静态浸泡在盛有 2 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)的 24 孔板中,分别放置 1, 7 和 14 d 等不同的时间段。每天,溶液都需要收集并且重新置换 2 mL 新鲜的 PBS 溶液,采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS, 7700, Agilent Technologies Inc, USA)法对涂层中释放的 Mg 和 Ag 的浓度进行实时监测。

1.5 体外生物活性实验

将 6.547 g NaCl, 2.268 g NaHCO₃, 0.373 g KCl, 0.358 g Na₂HPO₄·12H₂O, 0.305 g MgCl₂·6H₂O, 0.278 g CaCl₂, 0.071 g Na₂SO₄ 和 6.057 g(CH₂OH)₃CNH₂ 依次溶解到 1 000 mL 去离子水中,制备模拟体液(SBF)。而后在 37 °C 下调节溶液的 pH 值为 7.40。沉积的样品用去离子水洗涤后干燥,然后放入制备的 SBF 中,溶液在 36.5 °C 恒温下每隔 1 d 更换一次,5 d 后取样。

1.6 细胞粘附实验

在加有 10% 的胎牛血清、10 μg·mL⁻¹ 的链霉素(In-vitrogen)和 10 μg·mL⁻¹ 的青霉素的基本培养基(α-MEM)中培育 MC3T3-E1 成骨细胞。将样品置 120 °C 的水蒸汽中灭菌 20 min,并在每个样本上接种成骨细胞密度为 1×10⁵ cells·mL⁻¹。细胞培养 1 d 后,观察细胞形态。取出样本,用 PBS 缓冲液漂洗钛片,吸弃 PBS,加入 2.5% 戊二醛在 4 °C 下固定 3 h。用 PBS 替换戊二醛,系列梯度乙醇溶液对细

胞进行脱水。用二氧化碳对样品进行临界点干燥, 涂层表面喷金处理, FE-SEM 观察细胞形态。MC3T3-E1 接种后 3 d, 用浓度为 4% 多聚甲醛溶液将 MC3T3-E1 固定于试样表面, 用 Triton X-100 打孔 15 min, 对 MC3T3-E1 的骨架(用兔笔环肽染为红色)和核(用 DAPI 染为蓝色)。最后, 用 Confocal microscopy 技术对 MC3T3-E1 的粘附特性进行拍照观察。

2 结果与讨论

2.1 涂层的 SEM, EDS, XRD 分析

SEM 结果见(图 1), 实验组(HA)及对照组(Mg-Ag-HA/明胶)表面均未见明显裂纹。HA 薄膜具有均匀针状和簇晶形态, 这些晶体融合在一起形成微孔结构, 且分布均匀[图 1(a)]。当引入 Mg 和 Ag 离子和明胶以后, 复合涂层的磷灰石晶粒变为紧凑的片状[图 1(c)], 晶粒呈团簇状分布[图 1(b)], 孔隙分布更致密, 但明胶的引入导致涂层分布不均匀[图 1(b)]^[7]。目前普遍认为可能由于电解质中晶体结构中 Mg²⁺ 引入, 使得 HA 晶体的生长受限, 从而导致的导致一个相对较低的孔径^[10]。根据图 1(b)中所示的 Mg-Ag-HA/明胶涂层的横截面形貌, 涂层为厚度约 10 μm 均匀薄膜, 界面处未见分层和/或开裂, 结合强度良好。

图 2(b)为 Mg-Ag-HA/明胶复合涂层的 EDS 能谱图, 表明涂层中含有 Mg, Ag, P, Ca, C 及 O 元素, 其中(Mg+Ag+Ca)/P 的原子量比约为 1.31, Mg 的质量分数约为 1.21

Wt%, Ag 的质量分数约为 2.94 Wt%, 表明实验得到的薄膜为缺钙型 Mg 和 Ag 离子共修饰 HA 复合涂层。图 2(c)示出了 MgAgHA/明胶复合物的 EDS 扫描结果。所有元素均匀地分布在膜中, 表明镁和银元素均匀地掺杂到 HA 的晶体结构中。

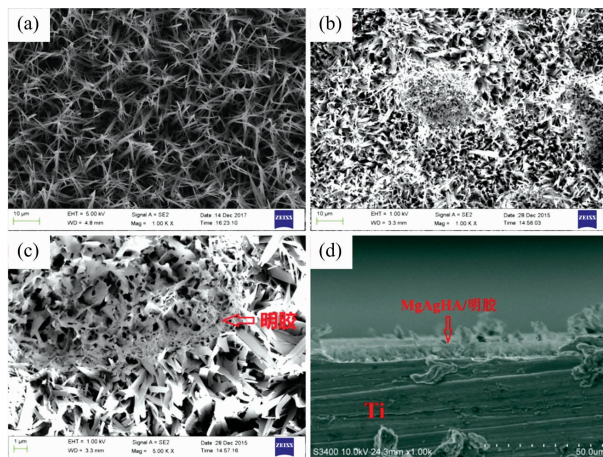


图 1 HA 涂层(a)和 Mg-Ag-HA/明胶涂层(b和c)的扫描电子显微镜图; Mg-Ag-HA/明胶涂层横截面的扫描电子显微镜图(d)

Fig. 1 SEM micrographs of HA (a) and Mg-Ag-HA/gelatin coating (b and c); The cross-section SEM micrographs of the Mg-Ag-HA/gelatin coating (d)

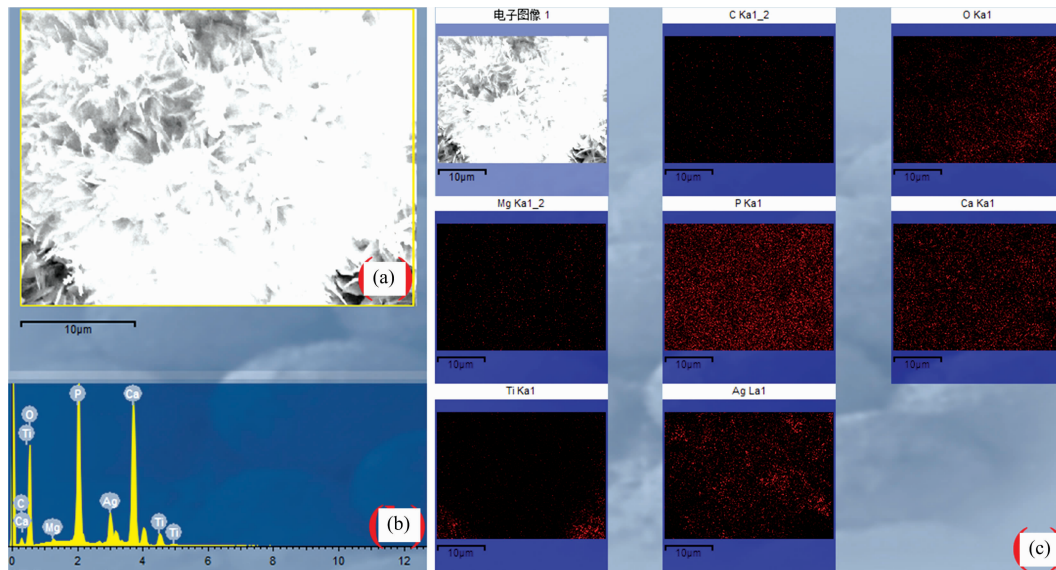


图 2 Mg-Ag-HA/明胶涂层的 EDS 能谱图(a和b); Mg-Ag-HA/明胶涂层 EDS 能谱面扫描图(c)

Fig. 2 (a, b) EDS spectra of the Mg-Ag-HA/gelatin coating; (c) EDS mapping of the Mg-Ag-HA/gelatin coating

图 3 为 Mg-Ag-HA/明胶涂层的 XRD 图谱。与 JCPDS 09-0432 标准 HA 衍射图谱相比, 观察到特征性 HA 衍射峰和基底 Ti 衍射峰, 没有观察到其他的相衍射峰。涂层在(002)晶面出现了择优生长, 且结晶度较好^[10], 与 Chang^[11]等的研究结果一致, 说明明胶具有能诱导能 HA 成核的基团, 提高 Mg-Ag-HA 结晶度。且电解沉积法在 Ti 表面涂覆

HA 薄膜时通常会垂直于 Ti 表面, 即沿着(002)晶面择优生长。XRD 图谱中未见明显的明胶的衍射峰, 可能是因为明胶为弱结晶物质而无法检测到。

2.2 涂层的 FTIR 特征分析

图 4 为 Mg-Ag-HA/明胶涂层的傅里叶变换红外光谱。涂层中可见 HA 化学基团的振动峰^[2], 如 3 443 cm⁻¹ 表征

HA 中 OH—的伸缩振动吸收峰; 629 cm^{-1} 为—OH 的摆动振动峰^[2]。600 和 559 cm^{-1} 对应 PO_4^{3-} 的 ν_1 振动吸收峰; 963 cm^{-1} 对应 PO_4^{3-} 的 ν_3 振动吸收峰^[12]。867 和 $1\ 020$ 和 $1\ 109\text{ cm}^{-1}$ 为 PO_4^{3-} 的 ν_3 振动吸收峰^[12]。867 和 $1\ 451\text{ cm}^{-1}$ 为 CO_3^{2-} 的特征吸收峰。其中, 867 cm^{-1} 为 CO_3^{2-} 的面外弯曲振动峰, $1\ 451\text{ cm}^{-1}$ 附近的峰为 CO_3^{2-} 的反对称伸缩振动峰, 这些特征峰均证实合成复合涂层为主要为碳酸化的 HA^[2]。Mg-Ag 离子的引入对复合涂层的 HA 官能团无任何明显的影响。

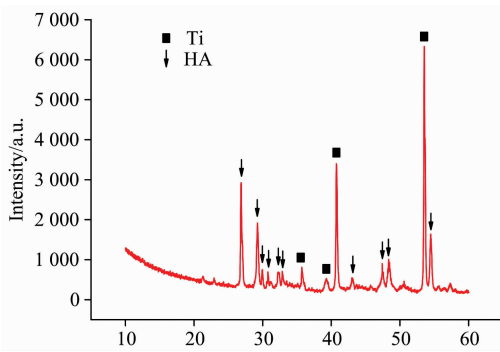


图 3 Mg-Ag-HA/明胶复合材料的 XRD 图

Fig. 3 XRD pattern of the Mg-Ag-HA/gelatin coatings

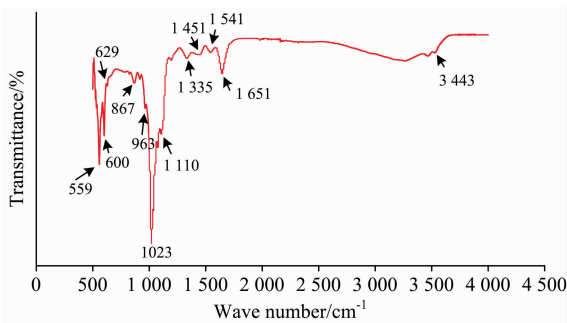


图 4 Mg-Ag-HA/明胶复合材料的 FTIR 图

Fig. 4 FTIR pattern of the Mg-Ag-HA/gelatin coatings

明胶是基于多肽构成的有机物, 酰胺 I 带($1\ 651\text{ cm}^{-1}$) 和酰胺 II 带($1\ 541\text{ cm}^{-1}$) 特征吸收峰表明, 明胶掺入到了复合涂层中^[11]。图 3 中, 涂层中含有明胶和 HA 的特征性化学基团振动吸收光谱, 且无机和有机相之间形成了化学键。如 $1\ 335\text{ cm}^{-1}$ 对应的吸收峰表示来自明胶的羧基与 HA 的钙离子之间已形成 $\text{Ca}-\text{COO}$ 化学键。研究表明^[11]: 明胶的氨基酸成分里富含羧酸根负离子, 在适当温度条件下, 能与羟基磷灰石的钙离子形成化学键, 诱导羟基磷灰石的成核和生长, 利于复合材料的自组装和生成。这一结论与 SEM 的分析一致。通过分析 FTIR, SEM, EDS 和 XRD 的表征结果表明, 采用经济高效、低碳环保的电沉积技术, 成功地将无机离子和有机化合物掺入 HA 薄膜, 在 CP-Ti 表面成功制备出结晶度好, 生长有序的仿生 Mg-Ag-HA/明胶复合涂层。

2.3 ICP-MS 测定 Mg-Ag-HA/明胶涂层中 Mg 和 Ag 元素的缓释规律

图 5 为样品在 PBS 中浸泡 7 d 的 Mg^{2+} 和 Ag^+ 离子释放结果。结果表明 Mg-Ag-HA/明胶结构的离子释放缓释动力

学显示无突然释放现象。从材料表面缓慢释放的 Ag^+ 可通过静电力吸附在负电荷细菌的细胞壁上, 阻断跨膜电子传递, 并通过与—SH 结合破坏酶蛋白的活性。接着 Ag^+ 从细菌尸体中游离出来, 再与其他细菌结合达到循环杀菌的效果^[3-4]。因此, 采用 Ag^+ 抗菌几乎无耐药性现象, 其广谱抗菌能力表现为可以高效地灭活细菌、真菌和病毒等各类微生物^[3-4]。研究表明^[1-2], 虽然 Ag^+ 对微生物的毒性强, 但低浓度时对人体细胞相对安全。与此同时, Mg^{2+} 离子的释放可以增加涂层的细胞相容性, Mg^{2+} 作为生物活性元素可以有效地抵消 Ag^+ 可能潜在的细胞毒性^[13]。而对照组 HA 的 Mg 和 Ag 浓度几乎持续为 0, 可忽略不计。

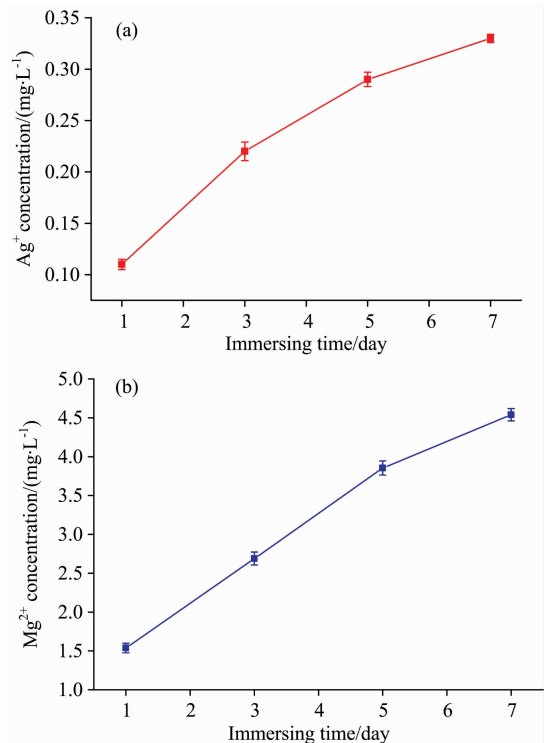


图 5 在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的 PBS 缓冲液中采用电感耦合等离子体质谱法测定涂层中 Ag (a) 和 Mg (b) 元素的释放规律曲线

Fig. 5 Amount of delivered magnesium/silver species per surface area released from the Mg-Ag-HA/gelatin coating (a, b), static incubation, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ in PBS

2.4 Mg-Ag-HA/明胶涂层的生物矿化检测

在 SBF 中浸泡 5 d 后, Mg-Ag-HA/明胶涂层表面被新的差异显著的磷灰石覆盖, 且在复合试样表面呈球状聚集生长, 模拟体液浸泡后试样表面的磷灰石聚集越来越密集, 见图 6(a), 同时可以发现, 球状聚集的磷灰石层是由细针状的羟基磷灰石晶体层层交错堆积而成的^[14]。图 6(b) 是模拟体液浸泡 5 d 后 Mg-Ag-HA/明胶试样表面涂层的 EDS 能谱图, 计算其 Ca/P 比分别是 1.3, 比较 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 的化学计量比 1.67, 可见钛基体上沉积的是缺钙型 HA^[14]。此外, 在球形磷灰石中检测到新的 Mg, Na 和 Cl 元素。

Mg-Ag-HA/明胶在 SBF 中浸泡 5 d 后, 其 FTIR 结果如图 7(a, b), 波数 $1\ 022$ 和 963 cm^{-1} 为 PO_4^{3-} 的伸缩振动峰,

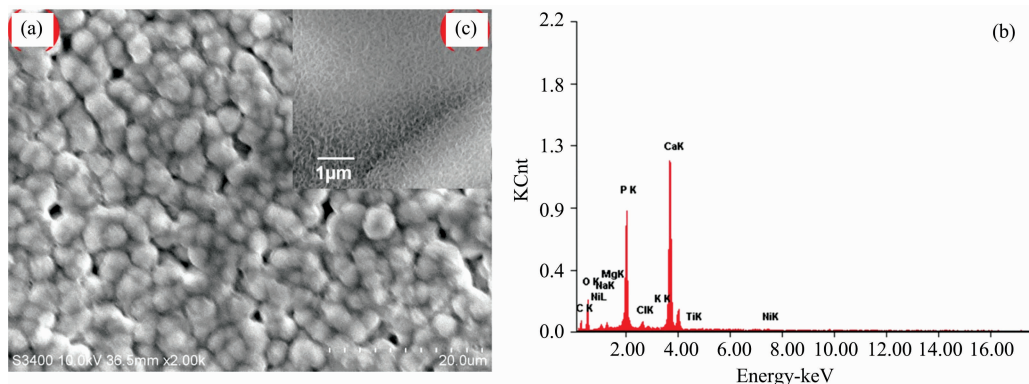


图 6 Mg-Ag-HA/明胶经 SBF 浸泡后的扫描电子显微镜图(a 和 c)和 EDS 能谱图(b)

Fig. 6 SEM images (a and c) and EDS (b) spectrum of the Mg-Ag-HA/gelatin coatings after immersed in SBF

波数 559 和 600 cm^{-1} 为 PO_4^{3-} 的弯曲振动峰^[10]。波数为 1 459, 1 418 和 875 cm^{-1} 出现了明显的 CO_3^{2-} 的特征峰, 说明 Mg-Ag-HA/明胶抗菌涂层表面形成了碳酸化-磷灰石, 即

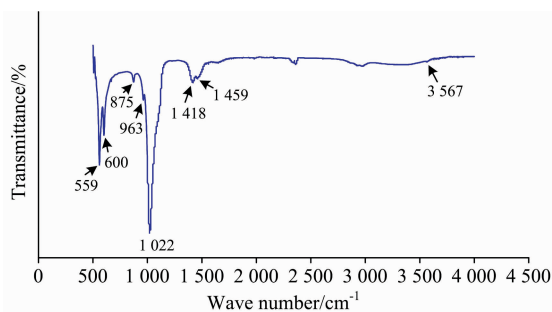


图 7 经 SBF 浸泡后, Mg-Ag-HA/明胶复合薄膜表面的 FTIR 图

Fig. 7 FTIR pattern of the Mg-Ag-HA/gelatin coatings after immersed in SBF

类骨磷灰石^[14]。骨样磷灰石的形成在种植体与骨组织骨结合的形成中起着重要作用^[10]。综上, Mg-Ag-HA/明胶复合材料具有良好的再矿化能力, 其诱导了新的 HA 生成, 这一现象印证了复合材料良好的体外生物活性, 为后期体内活性实验的开展提供了实验依据^[14]。

2.5 Mg-Ag-HA/明胶涂层的细胞粘附实验

骨整合和成骨细胞分化的关键首先是其在陶瓷表面的附着特性^[15]。图 8(a) 是 MC3T3-E1 细胞在 Mg-Ag-HA/明胶上培养 1 d 后, 通过 SEM 观察细胞的粘附能力。结果表明细胞紧紧贴附于涂层表面并表现出典型的细胞呈梭形或多边形成骨细胞表型, 丝状伪足附着在材料孔壁上, 部分细胞还伸出板状伪足, 胞质在板状伪足之间扩展或完全伸展^[15]。接种 3 d 后涂层上的细胞的形态如图 8(b) 所示。附着细胞呈伸长并均匀铺展的状态。F-肌动蛋白丝在许多不同方向上的延伸, 表明涂层具有良好的细胞相容性^[15]。复合生物涂层材料为细胞向成骨分化的提供了微环境和促成骨的 Mg 元素和明胶^[6-9]。

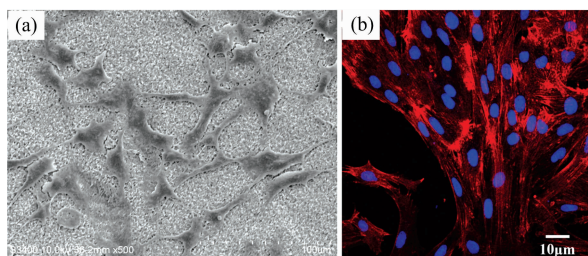


图 8 (a) MC3T3-E1 成骨细胞在 Mg-Ag-HA/明胶涂层表面培养 1 d 以后的扫描电子显微镜图; (b) MC3T3-E1 成骨细胞在 Mg-Ag-HA/明胶涂层表面培养 3 d 以后的激光扫描共聚焦显微镜图

Fig. 8 (a) SEM morphologies of the MC3T3-E1 cells on the Mg-Ag-HA/gelatin coating for 1 day; (b) Laser scanning confocal microscope images of MC3T3-E1 cells cultured on Mg-Ag-HA/gelatin surfaces after 3 days of culture

3 结论

多功能复合材料的表面应当具备长效的抗菌性能和生物相容性, 是目前替代硬组织替换的理想生物材料。研究表明, Mg-Ag-HA/明胶抗菌涂层的开发满足了上述多功能性的要求。FTIR, XRD, SEM 和 EDX 的结果证实了 Mg-Ag-HA/明胶涂层的形成。得到的涂层形貌完全无裂纹、致密, 但分布不均。Mg 和 Ag 离子均匀地掺杂到了 Mg-Ag-HA/明胶复合涂层中。SBF 浸泡结果显示, Mg-Ag-HA/明胶可以在 5 天内诱导新的类骨磷灰石形成, 表明其生物活性优异。小鼠颅骨成骨细胞在 Mg-Ag-HA/明胶上未见细胞毒性。涂层中持续的 Mg 和 Ag 离子释放, 为其植入体内后具备长期的骨诱导性和抗菌性成为可能。本实验旨在为研发仿生抗感染骨修复薄膜提供多方位的设计思路和实验依据。

References

- [1] YE Ting, QIAO Hai-xia, HUANG Yong, et al(叶 婷, 乔海霞, 黄 勇, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2018, 38(4): 1198.
- [2] Marques C F, Olhero S, Abrantes J C C, et al. Ceram. Int., 2017, 43: 15719.
- [3] Zhang Y Z, Liu X M, Li Z Y, et al. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2018, 10: 1021.
- [4] Xie X, Mao C, Liu X, et al. ACS Appl. Mater. Interfaces, 2017, 9: 26417.
- [5] Huang Y, Wang W D, Zhang X J, et al. Ceram. Int., 2018, 44: 5528.
- [6] LIANG Hong-pei, WANG Ying-bo, SU Zhi, et al(梁红培, 王英波, 粟 智, 等). Journal of Inorganic Materials(无机材料学报), 2018, 30(5): 516.
- [7] Huang Y, Yan Y J, Pang X F, et al. Appl. Surf. Sci., 2013, 282: 583.
- [8] Park J W, An C H, Jeong S H, et al. Clin. Oral. Implants. Res., 2012, 23: 294.
- [9] Nabyouni M, Ren Y, Bhaduri S B. Mater. Sci. Eng. C, 2015, 52: 11.
- [10] Huang Y, Ding Q Q, Han S H, et al. J. Mater. Sci. Mater. Med., 2013, 24: 1853.
- [11] Chang M C, Douglas W H, Tanaka J. J. Mater. Sci. Mater. Med., 2006, 17: 387.
- [12] Siriguleng L I, Xiaowen H U. J. Cent. South. Univ., 2014, 39: 949.
- [13] Gopi D, Shinyjoy E, Kavitha L. Spectrochimica. Acta Part A, 2014, 127: 286.
- [14] Fathyunes L, Khalil-Allafi J. Appl. Surf. Sci., 2018, 437: 122.
- [15] Pandey A, Midha S, Sharma R K, et al. Mater. Sci. Eng. C, 2018, 88: 13.

Preparation and Characterization of Bionic Mg-Ag-HA/Gelatin Antibacterial Biocoating Based on FTIR and ICP-MS

RU Ping¹, YUAN Cui-fang¹, QIAO Hai-xia¹, HUANG Yong^{1, 2*}, ZHANG Xue-jiao¹, DONG Xin-yu¹, LÜ Zi-wei¹, ZHANG Min¹, WANG Yi-rao¹, DANG Xian-yang¹, CHEN Yun-long¹, YANG He-jie³, ZHANG Xiao-jun⁴, ZHANG Xiao-yun^{1*}

1. College of Lab Medicine, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

2. Institute of Life Science and Technology, University of Electronic Science and Technology of China, Chengdu 610054, China

3. State Key Laboratory for Mechanical Behavior of Materials, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049, China

4. Department of Biomedical Engineering, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Abstract Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) has the advantages of a low test sample requirement, high sensitivity to characteristic groups and simple sample preparation and analysis. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) is important because of its high detection rate sensitivity to trace elements, low detection limit and ability to analyse multiple elements simultaneously. Synergistically, the use of FTIR and ICP aids in the rapid identification of chemical elements and groups of functional medical materials, thereby providing new design ideas and theoretical basis for the development of bionic medical antibacterial materials. Hydroxyapatite (HA) is used in thin film materials because of its excellent bone conduction and osteoinductive properties. Titanium-implanted surface HA film is currently in the clinical application stage, but the brittleness and lack of antibacterial properties of HA often lead to implant failure. Thus, a bone-promoting functional coating with good wear resistance and excellent bacteriostasis must be developed to address these limitations. This paper presents a method for preparing a bone-promoting coating on the surface of titanium with good abrasion resistance and excellent bacteriostasis. The antibacterial ion sustained release law and biological activity of the coating were studied. For the first time, a gelatin, silver (Ag) and magnesium (Mg) ion-modified hydroxyapatite (Mg-Ag-HA/gelatin) antibacterial coating was prepared on the surface of industrial pure titanium. Ag was introduced into the HA coating to improve its antibacterial properties, while Mg was added to improve the biocompatibility of industrial pure titanium. Gelatin could simultaneously improve the biocompatibility and mechanics of HA. The release and sustainability of Mg and Ag in the coating were determined using ICP-MS. Morphology, Ca/P, chemical structure and crystal structure of deposited Mg-Ag-HA/gelatin were characterized using FTIR, scanning electron microscopy, electron diffraction spectroscopy and X-ray diffraction. Results showed that a Ca-COO chemical bond formed between the carboxyl group

of gelatin and the calcium ion of HA. Gelatin and Mg-Ag-HA formed an organic-inorganic composite coating, and Mg and Ag were successfully introduced and evenly distributed into the HA lattice. After simulated body fluid immersion, a new calcium-deficient HA was formed on the surface of the Mg-Ag-HA/gelatin-coated samples, and new Mg, Na and Cl were detected in the spherical apatite. Results showed that the new composite coating has good biological activity. SEM and laser confocal experiments showed that mouse MC3T3-E1 cells adhered well on the film and had good morphology. The composite coating did not manifest cytotoxicity. The addition of gelatin greatly reduces the release rate of Mg^{2+} and Ag^+ in the composite coating, improves the physiological stability of the composite coating and guarantees the long-term antibacterial function of the coating. As a titanium-based coating material, Mg-Ag-HA/gelatin has good antibacterial ion release ability and excellent biocompatibility, which provides a new idea for the development of new anti-infective surgical implants.

Keywords Fourier transform infrared spectroscopy; Inductively coupled plasma mass spectrometry; Mg-Ag Hydroxyapatite/gelatin; Antibacterial biocoating

(Received Oct. 9, 2018; accepted Feb. 19, 2019)

RU Ping and YUAN Cui-fang: joint first authors

* Corresponding author

(上接 3351 页)

报告形式

为充分利用会议学术交流的效率,会议仍采用“口头报告”和“墙报展示”两种方式进行学术交流。无论是口头报告还是墙报展示,均属大会同等学术交流。为尊重个人意见和便于组委会的安排,请大家在会议注册时,提交“口头报告”或“墙报”的题目。为了鼓励博士、硕士研究生积极参与学术交流活动,本次会议将继续设立“优秀青年论文奖”和“优秀墙报奖”,表彰那些研究水平高、能突出研究内容要点、条理清晰的“口头报告”和“墙报”,大会将给获奖作者颁发优秀论文证书和奖金。同时会议还将邀请国内外知名专家学者就光谱有关学术领域的前沿热点问题作大会报告和主题报告。

主要报告形式有:

1. 大会邀请报告:主要邀请国内外知名专家学者报告光谱分析的前沿技术在各个领域的最新研究进展。
2. 主题邀请报告:本次会议将选择光谱技术的热点应用领域,开设多个专题论坛,邀请在该领域的知名专家作论坛主题报告。
3. 青年论坛报告:为博士、硕士研究生开设交流平台,并评选“优秀青年论文奖”。
4. 口头报告和墙报展示:作为本次会议的主要交流和展示形式。会议统一安排墙报讲解时间,希望作者按时到位讲解。

重要时间

论文截稿日期:2019年12月30日

第二轮会议通知:2019年10月(开通会议注册系统)

第三轮会议通知:2020年4月

会议召开期:2020年5月15—18日

会议组织机构、注册费及缴纳方式、宾馆住宿介绍及住房预定等信息近期将在会议主页上发布,请您经常浏览光谱网上会议主页,了解会议筹备情况和会议具体安排。网址:<http://www.sinospectroscopy.org.cn>

产品展示

会议热忱邀请国内外仪器厂商前来展示分子光谱(红外、近红外、拉曼、荧光等)、原子光谱等各类光谱仪以及质谱、核磁等其他相关仪器设备。我们将在本次会议的网站和会议现场提供展出场所,希望各厂商充分利用这次机会展示自己的最新产品。

会务组联系方式

李成辉(会议稿件)

四川大学分析测试中心

电话:028-85410280; 18980877825

Email: atcpubs@scu.edu.cn

(下转 3382 页)

temperature is about 3 300 K in the present, and it increases with the increase of discharge current, and there is a sudden increase when the pulse disappears. Since the electron energy and electron density are closely related to the molecular vibrational temperature, the results also indicate that the average electron energy and electron density increase with the increase of the discharge current. When the pulse disappears, the average energy and electron density appear to increase drastically. Finally, the formation mechanism of self-pulse in hollow cathode discharge is discussed. The results show that self-pulse discharge originates from the transition of discharge modes.

Keywords Hollow cathode discharge; Self-pulse; Emission spectrum; Molecular vibrational temperature

(Received Sep. 7, 2018; accepted Feb. 5, 2019)

* Corresponding authors

(上接 3358 页)

吴兰(会议咨询)

四川大学分析测试中心

电话: 028-85412512; 13688385033

Email: wulan@scu.edu.cn

王香凤(厂商联络)

北京师范大学分析测试中心

电话: 010-58807981; 13520034335

Email: xiangfeng@bnu.edu.cn

支持媒体:

会议官网: 光谱网 <http://www.sinospectroscopy.org.cn>(会议各类信息发布以光谱网信息为准)

支持媒体:

分析测试百科网 <http://www.antpedia.com/>

仪器信息网 <http://www.instrument.com.cn>

主办单位:

中国光学学会

中国光学学会光谱专业委员会

中国化学会

承办单位:

四川大学分析测试中心

第 21 届全国分子光谱学学术会议暨 2020 年光谱年会组委会

2019 年 6 月 18 日