文章编号:1000-5404(2014)18-1895-04

论著

激光酸蚀联合纳米管的种植体表面粗化及分析

王敬旭[1,2],丁祥龙[1],容明灯[1],周 磊[1] (510260 广州,南方医科大学附属口腔医院,广东省口腔医院种植中心[1];510120 广州,广州医科大学附属第一医院口腔科[2])

[摘要] **目的** 探讨激光酸蚀联合纳米管的钛表面粗化处理方法,分析其理化性能。**方法** 依次采用LT-G20W光纤激光打标机轰击、18%盐酸和49%硫酸的混合物酸蚀、阳极氧化法制纳米管3个工序联合粗化光滑面的纯钛种植体表面。通过扫描电镜(SEM)观察加工完成的种植体表面形貌;应用表面电子探针(EPMA)对种植体表面的元素组成和元素化合状态进行分析;应用3D表面形貌仪在白光共聚焦扫描模式下对种植体表面粗糙度进行测试分析。**结果** 成功制备复合微米、纳米结构的钛种植体表面,表面结构的元素组成为Ti、O,晶体为锐钛矿晶相,激光酸蚀联合纳米管的钛种植体表面粗糙度分别为Ra(8.38±0.91)μm、Rq(10.64±2.10)μm、Rt(43.42±6.18)μm。**结论** 采用LT-G20W光纤激光打标机轰击、18%盐酸和49%硫酸的混合物酸蚀、阳极氧化法制纳米管3个工序联合粗化光滑面的纯钛种植体表面是可行的,制备的纯钛种植体表面具备优良的物理指标。

[关键词] 钛;牙种植体;激光;酸蚀;纳米管
[中图法分类号] R318.08;R783.1 [文献标志码] A

Analysis on laser and acid treatment of titanium implant with nanotubes

Wang Jingxu[1,2], Ding Xianglong[1], Rong Mingdeng[1], Zhou Lei[1] ([1]Center of Oral Implantology, Guangdong Provincial Stomatological Hospital & Affiliated Stomatological Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510280; [2]Department of Stomatology, First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong Province, 510120, China)

[**Abstract**] Objective To study the method of laser and acid treatment of titanium implant to produce nanotubes on the surface. Methods The titanium surface was treated with laser, acid etching (18% HCl and 49% H_2SO_4) and anodic oxidation. Surface morphology was tested with scanning electron microscopy (SEM). Elemental composition and compound states were tested with electron probe microanalysis (EPMA). Surface roughness was tested with a BMT Experi 3D surface topography instrument. Results The surface of titanium implant had composite microstructure and nanostructure (nanotubes), element composition of Ti and O, anatase crystal phase, and surface roughness of Ra = 8.19 ± 0.09 μm, Rq = 10.64 ± 2.10 μm, and Rt = 43.42 ± 6.18 μm. Conclusion The surface treatment method of titanium implant with laser, acid etching (18% HCl and 49% H_2SO_4) and anodic oxidation generates rough surface with nanostructure and good physical properties.

[**Key words**] titanium; dental implant; laser; acid; nanotubes

Supported by the National Natural Science Foundation of China(81170998). Corresponding author: Zhou Lei, E-mail:zho668@263.com

自20世纪中期口腔种植技术出现以来,种植牙修复以其无需损伤邻牙、咀嚼功能恢复好、舒适美观等优点,在众多的修复技术中脱颖而出,为越来越多的患者所接受。种植牙修复已成为治疗牙列缺损、恢复牙颌系统功能的理想方法之一。良好的骨结合是牙种植体成功修复的基础,而表面处理是影响骨结合的一个重要因素。目前口腔种植医学领域使用最广泛的基础材料是钛及钛合金。钛及钛合金具备优良的机械性能和生物相容性,但是钛金属属于生物惰性材料,植入体内后需要较长的时间才形成功能性修复,与骨组织界面缺乏有效的化学结合,主要是依靠机械锁合方式的物理整合。为了使钛种植材料获得更好的生物相容性,促进更迅速的骨整合,其表面处理一直是口腔种植的研究热点之一。研究表明,微米级形貌能增加骨结合面积、稳定细胞外基质蛋白支架及血凝块,为成骨细胞提供稳定的增殖分化微环境;纳米级形貌模仿天然细

[基金项目] 国家自然科学基金(81170998)
[通信作者] 周 磊,E-mail:zho668@263.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140701.1241.012.html(2014-07-01)

胞生长环境,可以促进蛋白的吸附、成骨细胞的附着和增殖分化[1]。同时具备复合微米和纳米的表面形态已成为未来种植体表面处理的发展趋势。本研究采用激光酸蚀联合纳米管粗化钛金属表面,成功制备复合微米、纳米结构的钛金属表面,旨在为牙种植体的表面处理提供新选择。

1 材料与方法

1.1 钛种植体的表面粗化处理

商业纯钛(深圳市兴宏德金属有限公司)按本课题组前期实验的加工方法制作[2]:植体的长度为7.8 mm,内径为2.0 mm,外径为3.5 mm;双侧为等腰梯形的平行螺纹各2个,螺峰尖端处为钝性设计,钝面的宽度为0.5 mm,螺距为3.0 mm,螺峰高度为0.75 mm(图1),丙酮去除油污,超声清洗。



图1 激光酸蚀联合纳米管处理的钛钉

1.1.1 机械抛光 把加工好的钛种植体采用砂纸制成的砂轮装在口腔慢速手机上逐级打磨,材料表面粗糙度Ra=0.4 μm。

1.1.2 激光蚀刻 使用LT-G20W光纤激光打标机(德国IPG:Nd光纤激光器)对光滑的钛种植体表面进行均匀蚀刻,具体参数为:功率为9 W,波长为1 064 nm,设定孔坑直径为30 μm,孔坑深度为20 μm,孔坑间距为10 μm。整个过程由同一人员操作完成。操作过程中,激光束始终与钛种植体表面垂直。

1.1.3 酸蚀处理 激光蚀刻完成后,将钛种植体按顺序置于丙酮、无水乙醇和dH_2O中,分别超声清洗15 min,室温干燥1 h;继之放在49%硫酸和18%盐酸的混合物中,60 ℃水浴加热酸蚀30 min,dH_2O中超声清洗15 min后,室温干燥1 h。

1.1.4 纳米管制备 采用阳极氧化工艺,参照Dion等[3]提出的方法,选用氟化物作为制备纳米管的电解液体系,即调配1 mol/L的$NH_4H_2PO_4$和0.4 mol/L的HF混合电解液作为制备体系。将前述处理后的钛种植体试样放在阳极,控制直流电源电压在16 V以下,在电解液中对阳极钛种植体进行氧化2 h。在钛种植体的阳极氧化过程中控制水浴温度为20 ℃,阴极与工作电极的间距为40 mm。阳极氧化后的试样在双蒸水中清洗并干燥,置入烧结炉回火处理。选择450 ℃作为热处理温度,控制升温和降温速率均为2 ℃/min,升温至450 ℃之后,在炉中保温3 h。

1.2 理化分析

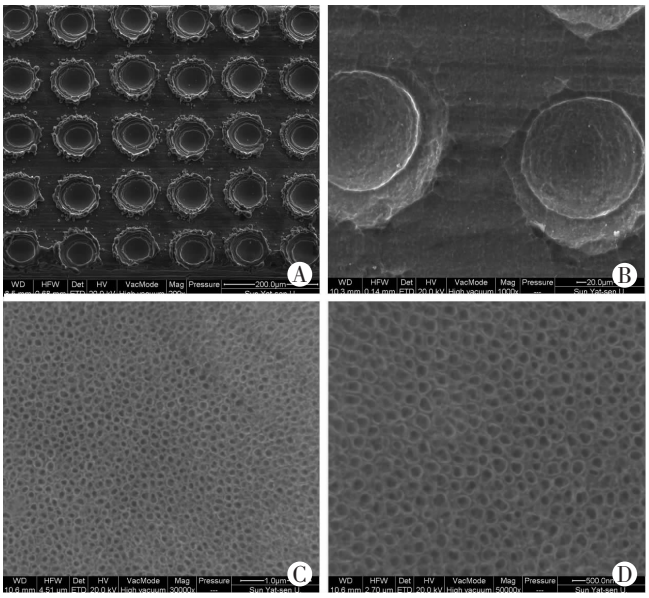
1.2.1 表面扫描及元素分析 该检测在中山大学检测中心进行,在高真空环境下,应用扫描电镜(Quanta 400,FEI,USA)、表面电子探针(EPMA)对样品的元素组成进行分析。光电子由单色Al、K、X射线在150 W辐射产生,测试电流为10 mA,测试电压为15 kV,经半球电子能分析仪分析,获扫描全谱及主要特征峰(Ti 2 p、O 1 s、C 1 s、Al 2 p和N 1 s)的高分辨扫描能谱,再进行分峰拟合,分析样品表面元素的化学状态。各元素结合能以C 1 s(284.8 eV)进行校准。

1.2.2 表面粗糙度分析 该检测在华南理工大学检测中心进行,应用BMT Experi 3D表面形貌仪(Breitmeier Messtechnik GmbH,GER),在扫描模式下对清洗干净的共6个样品的三维形貌特征进行分析,测量范围为140 μm,所有样品的测量由1位操作者完成。

2 结果

2.1 表面形貌分析

通过扫描电镜(SEM)观察,激光酸蚀联合纳米管处理的表面,可清晰地见到其表面形成直径大小约为30 μm、深度为20 μm的规则孔洞,形成微米级粗糙表面;经过阳极氧化法制备的纳米管阵列,直径约80 nm,形成了典型的纳米级粗糙表面。在放大200倍时,可以看到钛种植体表面均匀的凹坑状孔洞,边缘有突起,为激光高温融化钛金属冷却后形成(图2A);放大1 000倍时可以看到钛种植体表面包括凹坑内壁、底壁粗糙的形态,这是由酸蚀所形成的(图2B);放大倍数达到30 000倍以上时,才能清晰地观察到钛种植体表面均匀分布的纳米管结构,纳米管直径约80 nm,并非正圆形,形态不完全相同(图2C、D)。



A:×200;B:×1 000;C:×30 000;D:×50 000

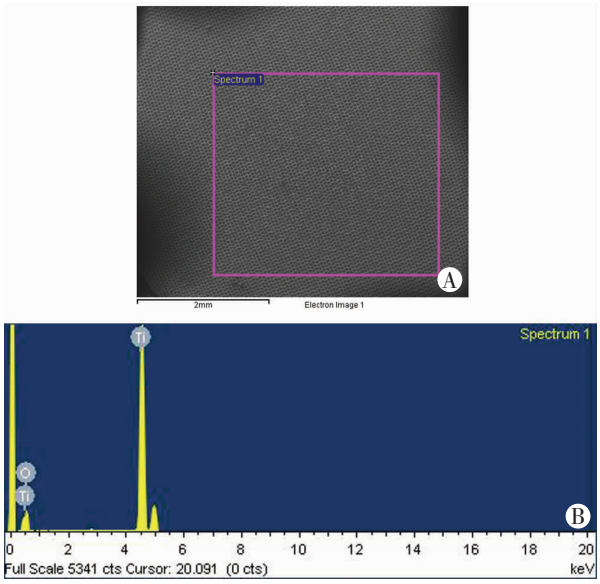
图2 不同倍数扫描电镜下激光酸蚀联合纳米管处理的钛钉表面形貌 (SEM)

2.2 表面粗糙度分析

通过光学轮廓仪的测试分析,选取6个种植体样本表面,每个样品3个不同位置进行直线扫描分析,激光酸蚀联合纳米管的钛种植体表面粗糙度分别为轮廓算术平方差(Ra)(8.38±0.91)μm、轮廓各点高度均方根(Rq)(10.64±2.10)μm、轮廓最大峰高度(Rt)(43.42±6.18)μm。

2.3 表面元素分析

电子探针检测到激光酸蚀联合纳米管处理后的表面含有钛、氧 2 种元素，表明种植体表面符合实验预定的目标，表面为 TiO_2 纳米管，没有发现氮元素、碳元素以及阳极氧化反应缓冲液中的氟元素等污染。样品表面的元素成分波峰图见图 3。



A：种植体表面检测区域；B：电子探针检测的元素分析波峰图

图 3 电子探针检测激光酸蚀联合纳米管处理的钛钉表面元素分析

3 讨论

1981 年，Albrektsson 等[4]的研究认为粗糙的表面比光滑表面更有利于促进骨结合，提出种植体表面形貌结构是影响种植体骨结合的六大因素之一。至今这方面的研究仍然是口腔种植学领域的热点。当前使用最为广泛的种植体表面处理方法是喷砂酸蚀（sand blast and acid etching，SLA），因其良好的机械生物相容性和骨引导性已经得到了临床实践的验证。然而 SLA 的表面处理方法也存在一定的缺点[5-6]：如喷砂操作的不可控性，其形成的孔坑大小不确定可直接影响种植体表面的成骨效能；此外，SLA 表面处理后的种植体表面会嵌留下一些不利于骨结合的颗粒，如 Al_2O_3 等。

近年来，随着激光加工和口腔种植学的不断进步，激光表面处理新技术逐渐被引进种植体表面处理的领域。与 SLA 等传统的种植体表面处理技术不同的是，激光表面处理是一种非接触性的清洁技术，其具有准确可控、高度重复性、高效率性等特点，它能在纯钛的表面产生独特的表面形貌和表面物质，还能增加钛表面的耐腐蚀性等[7]。Picraux 等[8]研究发现其可以增加钛种植体表面的抗腐蚀性，增强其表面氧化层的结合强度；Heinrich 等[9]研究认为：用 YAG 激光刻蚀可明显增加种植体表面积、粗化种植体表面及骨细胞的附着等；最近 Cho 等[10]及 Kang 等[11]使用光纤激光来处理种植体的实验，均获得良好的种植体表面形貌及较好的骨结合效果；Karacs 等[12]的研究表明 Nd 光纤激光处理后的表面比喷砂处理的表面更能增加扭出力值。另有研究表明，种植体表面不同级别的粗糙结构能在不同环节促进成骨细胞的增殖、分化。因此，目前种植体表面处理的发展趋向于兼具微米和纳米的表面形态。

2001 年，Gong 等[13]首次报道了低电压下钛种植体在 HF 中通过阳极氧化可以生成均一的 TiO_2 纳米管；随后，人们通过调整氧化电压，使用不同的化学溶剂和调节电解液的 pH 值等，先后制备获得了各种尺寸的 TiO_2 纳米管。由于 TiO_2 纳米管表面较其他形式的表面具有更大的比表面积、孔体积和吸附能力，而且阳极氧化法制备的 TiO_2 纳米管尺寸、形貌和结构可控，阵列层与基体结合强度较高，因此，近些年来已被学者们逐渐用于种植体表面氧化膜改造的实验研究。

近来的研究发现 TiO_2 纳米管在生物医学领域也有潜在的应用价值[14]。Brammer 等[15]在体外实验观察到纳米管可促进牛血管上皮细胞的伸展、迁移；Oh 等[16]的研究发现在具有纳米管形貌的材料表面，成骨细胞的细胞突可伸到纳米管内，提高成骨细胞的增殖达 300% ~400%；在动物体内实验中，Kubota 等[17]发现大鼠股骨纳米管种植体能显示出优良的骨再生效果。这些研究表明 TiO_2 纳米管结构能促进成骨细胞在种植材料上初期的黏附、增殖，并可促进骨组织的修复再生。

以往研究表明，纳米化钛种植体可促进成骨细胞的分化，认为其促成骨细胞分化可能有如下的几个因素：①纳米结构的尺寸与天然骨无机矿物的粒度相近[18]（未成熟矿物质颗粒是 10 ~50 nm，成熟矿物质颗粒为 20 ~50 mn），具有生理性仿生作用[1]。②相比微米结构，纳米形貌有更大的比表面积，可为成骨细胞提供更多的黏附区域[19]。③纳米管或孔能为细胞提供“错点”，细胞的丝足可以伸入其纳米结构中，促进细胞的黏附和生长[20]。④纳米结构可以特异性地吸附蛋白，影响吸附后的蛋白构象，暴露蛋白精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸等黏附位点，使其为细胞膜受体识别，促进细胞的黏附和生长。

本实验选用 Nd 光纤激光器，在一定的参数下，对种植体表面进行激光蚀刻粗化后，再用一定浓度的盐酸和硫酸混合液进行表面酸蚀，以达到进一步对种植体表面进行微粗化、双重处理来改变其表面形貌的目

的。在本实验过程中,我们尝试了调整不同的激光刻蚀参数,较易地得到不同大小、深浅的孔坑,孔坑的间距也可根据实验需要调整参数得到;同时,在酸蚀前,对激光处理过的表面进行测量,各孔坑直径大小基本一致,激光处理后的种植体形成均匀的、直径约为30 μm的火山状孔坑粗糙表面,孔深约为20 μm,孔坑间距为10 μm,与原实验设计参数相一致,由此验证了激光处理的精确、可控性的特点;经酸蚀处理后,原激光处理的表面能形成无数大小不一的微孔,大小主要在1~3 μm。通过电镜观察可见,激光孔坑的周围嵌满大量大小不一的微孔。此外,通过电子探针检测,可知样品表面含有少量的钛、氧元素,与目前的研究检测结果相符[21]。

阳极氧化法是利用钛金属阳极氧化蚀刻原理,根据钛表面TiO_2氧化层生成速度与溶解速度的平衡,制备TiO_2纳米管。与模板法和水热法相比,阳极氧化法能在钛电极表面形成规律的纳米管阵列,并能通过参数调节,改变纳米管的直径,成本低廉,操作性强。纳米管孔径主要和阳极氧化时的电压相关,氧化反应在低电压下可控性高,可避免因微弧放电造成的表面氧化物熔融,氧化时间控制纳米管长度,纳米管壁厚度则受水浴温度的影响,纳米管的生成和溶解率由电解液pH和组成决定[22]。本实验选用的TiO_2纳米管阵列的制备体系是$NH_4H_2PO_4$和HF的混合氟化物体系,调节混合液浓度配比来控制反应速度,解决了传统HF酸性体系中化学溶解速率较大的问题,对TiO_2纳米管阵列结构及尺寸的控制较理想。

综上所述,本研究成功制备了复合微米、纳米结构的钛金属表面,经检测,其表面结构的元素组成、粗糙度、表面接触角等参数均在目前报道的有利于骨细胞附着生长的范围内,为种植体的表面处理提供了新的方法。

参考文献:

[1] Webster T J, Siegel R W, Bizios R. Osteoblast adhesion on nanophase ceramics [J]. Biomaterials, 1999, 20(13): 1221-1227.

[2] 容明灯. 激光酸蚀与喷砂酸蚀的纯钛种植体表面生物效能的对比性研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2013.

[3] Dion I, Baquey C, Monties J R, *et al*. Haemocompatibility of Ti6A14V alloy[J]. Biomaterials, 1993, 14(2): 122-126.

[4] Albrektsson T, Branemark P I, Hansson H A, *et al*. Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting, direct bone-to-implant anchorage in man[J]. Acta Orthop Scand, 1981, 52(2): 155-170.

[5] Darvell B W, Samman N, Luk W K, *et al*. Contamination of titanium castings by aluminium oxide blasting[J]. J Dent, 1995, 23(5): 319-322.

[6] Martin D C, O'Ryan F S, Indresano A T, *et al*. Characteristics of implant failures in patients with a history of oral bisphosphonate therapy [J]. J Oral Maxillofac Surg, 2010, 68(3): 508-514.

[7] 丁阳喜, 周立志. 激光表面处理技术的现状及发展[J]. 热加工工艺, 2007, 36(6): 69-72.

[8] Picraux S T, Pope L E. Tailored surface modification by ion implantation and laser treatment[J]. Science, 1984, 226(4675): 615-622.

[9] Heinrich A, Dengler K, Koerner T, *et al*. Laser-modified titanium implants for improved cell adhesion[J]. Lasers Med Sci, 2008, 23(1): 55-58.

[10] Cho S A, Jung S K. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia[J]. Biomaterials, 2003, 24(26): 4859-4863.

[11] Kang S H, Cho S A. Comparison of removal torques for laser-treated titanium implants with anodized implants[J]. J Craniofac Surg, 2011, 22(4): 1491-1495.

[12] Karacs A, Joob-Fancsaly A, Divinyi T, *et al*. Morphological and animal study of titanium dental implant surface induced by blasting and high intensity pulsed Nd-glass laser[J]. Materials Science and Engineering C, 2003, 23(3): 431-435.

[13] Gong D, Grimes C A, Varghese O K, *et al*. Titanium oxide nanotube arrays prepared by anodic oxidation[J]. J Mater Res, 2001, 16(12): 3331-3334.

[14] Feng B, Chu X, Chen J, *et al*. Hydroxyapatite coating on titanium surface with titania nanotube layer and its bond strength to substrate [J]. Journal of Porous Materials, 2010, 17(4): 453-458.

[15] Brammer K S, Oh S, Gallagher J O, *et al*. Enhanced cellular mobility guided by TiO_2 nanotube surfaces[J]. Nano Lett, 2008, 8(3): 786-793.

[16] Oh S, Daraio C, Chen L H, *et al*. Significantly accelerated osteoblast cell growth on aligned TiO_2 nanotubes[J]. J Biomed Mater Res A, 2006, 78(1): 97-103.

[17] Kubota S, Johkura K, Asanuma K, *et al*. Titanium oxide nanotubes for bone regeneration[J]. J Mater Sci Mater Med, 2004, 15(9): 1031-1035.

[18] Ward B C, Webster T J. The effect of nanotopography on calcium and phosphorus deposition on metallic materials in vitro[J]. Biomaterials, 2006, 27(16): 3064-3074.

[19] Sato M, Sambito M A, Aslani A, *et al*. Increased osteoblast functions on undoped and yttrium-doped nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium[J]. Biomaterials, 2006, 27(11): 2358-2369.

[20] Popat K C, Leoni L, Grimes C A, *et al*. Influence of engineered titania nanotubular surfaces on cells[J]. Biomaterials, 2007, 28(21): 3188-3197.

[21] Hallgren C, Reimers H, Chakarov D, *et al*. An in vivo study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining [J]. Biomaterials, 2003, 24(5): 701-710.

[22] Ghicov A, Tsuchiya H, Macak J M, *et al*. Titanium oxide nanotubes prepared in phosphate electrolytes[J]. Electrochem Commun, 2005, 7(5): 505-509.

(收稿:2014-03-29;修回:2014-04-14)

(编辑 张 维)