

强磁重力环境下的自组装分子膜表征 及其对该环境的响应机制

叶雅静, 尹大川

(西北工业大学 空间生物实验模拟技术国防重点学科实验室, 陕西 西安 710072)

摘要: 在利用梯度磁场模拟的重力场环境中, 用自组装的方法在钛合金表面制备官能团修饰的改性表面。采用接触角测量仪测量各种表面的接触角及表面能, 用 AFM 分析抛光及酸洗表面的粗糙度。接触角测量结果表明, 几种表面对 3 种测试液体的接触角及表面能的变化趋势基本一致; 强磁效应使得官能团修饰的钛合金表面接触角降低, 表面能提高; 磁场强度相等时, 重力加速度与接触角呈反比关系, 与表面能呈正比关系。

关键词: 生物材料; 自组装; 超导磁体; 接触角; 表面能

中图分类号: TG174

文献标识码: A

文章编号: 1002-185X(2010)01-0037-05

自组装诱导仿生作为一种有发展潜力的钛合金骨植入生物材料的表面改性方法, 受到广泛研究^[1-4]。该技术的基本思路是: 首先用自组装法在钛合金表面覆盖一层排列整齐分子膜(Self-Assembly Monolayers, SAMs), 再将自组装过的钛合金浸入类似于人体组织内环境的模拟体液(Simulated Body Fluid, SBF)中, 形成磷灰石仿生涂层。

自组装分子膜的质量决定磷灰石仿生涂层的质量。自组装溶质输运过程中的自然对流和扩散是控制自组装分子膜生长的重要因素, 可能对分子膜的缺陷结构产生影响, 进而影响涂层的质量。因此, 有必要对溶质输运影响沉积过程的机制进行研究, 以指导高质量仿生涂层的制备。然而, 溶质输运是一个复杂的非线性过程, 其机制研究困难。若通过抑制自然对流的方法, 则有望简化涂层沉积过程的机制研究。强磁条件下, 由密度差引起的溶质自然对流可被抑制^[5], 则有序结构生长过程可由非线性过程简化为由溶质扩散控制的线形非平衡过程, 从而便于利用相关理论深入研究其机制。通过深入探讨强磁环境影响有序结构形成的一般规律, 揭示结构缺陷形成的各种机制, 可为提高钛合金表面改性涂层质量提供可靠的理论依据。

固体材料表面的固液接触角反应了材料表面的亲液、憎液性能, 是表面微观结构、表面化学性质等信息的宏观性能表现。而表面能是分子间作用力的直接体现, 高表面能生物材料具有更好的诱导细胞黏附生

长的特性。二者在一定程度上能够反应生物材料植入人体后的生物活性^[6]。

Webb 等^[7]研究表明, 细胞在生物材料表面的附着、铺展与表面的亲水性有很大关系, 亲水性越好的材料越有利于细胞的附着铺展; 另外, 固体表面能在细胞附着的初期起着非常重要的作用, 细胞在表面能高的材料表面具有更好的附着及铺展性。因此, 从生物材料表面性质的角度出发, 为提高生物材料表面的细胞黏附性, 必须降低材料表面的固液接触角。一方面可以通过机械^[8]、化学腐蚀等方法提高表面粗糙度来降低接触角; 另一方面, 可以通过改变材料表面化学性质来实现, 比如官能团修饰、沉积涂层等。

大梯度强磁场重力模拟实验技术提供了强磁场及模拟重力环境, 能够有效抑制溶质自然对流^[5]。基于此, 本研究拟利用大梯度强磁场重力模拟实验技术模拟重力环境, 研究该环境下钛合金表面分子自组装的表面特征及其对该环境的响应机制。

1 实验

选取尺寸为 1 mm×10 mm×10 mm 的钛合金(Ti-6Al-4V)片, 分别用 600#及 1200#砂纸打磨, 再用金刚石研磨膏抛光, 然后分别用丙酮、无水乙醇、二次蒸馏水超声清洗 20 min 后烘干, 然后用混合酸液 A(HF+HCl+HNO₃)在 60 °C 腐蚀 40 min, 之后清洗并烘干。

收稿日期: 2009-01-15

基金项目: 国家自然科学基金“青年基金”(50801052); 中国博士后基金项目(20070421127)

作者简介: 叶雅静, 女, 1978 年生, 博士, 讲师, 西北工业大学生命科学院, 陕西 西安 710072, 电话: 029-88460254, E-mail: yeyajing@nwpu.edu.cn

采用具备悬浮能力的 JMTA-16T50MF 型超导磁体, 实现重力场环境模拟^[9-11]。超导磁体内磁场分布情况如图 1 所示。A、C、B 3 个位置的重力加速度分别为 0g、1g、2g, 磁场强度分别为 12、16、12 T, 其中 C 位置的磁场强度为地磁场强度 (约 5×10^{-5} T) 的 32 万倍。

用 0.02 mol/L 的 K_2HPO_4 溶液作为自组装溶液, 将以上酸液腐蚀的试样分为 4 组, 分别在磁体外 (1 g/ μ T) (T 为磁场强度单位特斯拉, 实验地点的磁体外的地磁场强度约为 5×10^{-5} T, 在此记为 μ T) 及磁体内的 0g/12 T, 1g/16 T, 2g/12 T 位置浸入 50 °C 的自组装溶液中 12 h, 得到- PO_4H_2 官能团修饰的表面。

采用 EsayDrop 光学接触角测量仪 (KRUSS, Germany) 在 20 °C 下测量试样表面对二次蒸馏水、丙三醇以及甲酰胺 3 种液体的接触角, 并计算表面能等表面信息。采用 MI PicoScanTM 2500 原子力显微镜 (Atomic Force Microscope, AFM) 扫描试样表面。

固体表面能由极性分量 γ^p 和色散分量 γ^d 两部分组成:

$$\gamma_s = \gamma^p + \gamma^d \quad (1)$$

根据 Young-Good-Girifalco-Fwokes 方程^[12], 固液接触角 θ 与固体、液体表面能参数直接的关系为^[12,13]:

$$\gamma_L(1 - \cos\theta) = 2(\sqrt{\gamma_s^{LW}\gamma_L^{LW}} + \sqrt{\gamma_s^+\gamma_L^+} + \sqrt{\gamma_s^-\gamma_L^-}) \quad (2)$$

式中, γ_L 为液体表面张力, γ_L^{LW} 为液体的极性分量, γ_L^+ 为液体的 Lewis 酸分量, γ_L^- 为液体的 Lewis 碱分量, 以上 3 个物理量为液体表面能参数, 通常为已知量; θ 为固液界面接触角; γ_s^{LW} 、 γ_s^+ 、 γ_s^- 为固体表面能参数。固体表面能可由以上参数推导而来^[13]。3 种液体表面能参数如表 1^[14]所示。选用的表面能计算模型为 Owens-Wendt-Rabel-Kaelble (OWRK) 方法。

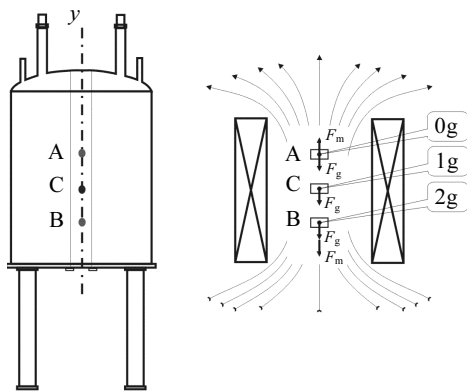


图 1 超导磁体内部特征模拟重力位置及其磁场分布情况
Fig.1 Schematics of the simulated gravities and the magnetic field distribution in the superconductive magnet

表 1 3 种检测液体的表面能参数^[14]

| Test fluids | γ_l | γ_l^{LW} | γ_l^+ | γ_l^- |
|-------------|------------|-----------------|--------------|--------------|
| Water | 72.8 | 21.8 | 25.5 | 25.5 |
| Glycerol | 64.0 | 34.0 | 3.92 | 57.4 |
| Formamide | 58.0 | 39.0 | 2.28 | 39.6 |

2 结果与讨论

2.1 接触角

表 2 为样品对 3 种液体: 二次蒸馏水、丙三醇和甲酰胺的接触角。测试了 6 种表面的接触角, 分别是机械抛光试样 (Polished), 酸液腐蚀表面 (A), 酸液腐蚀、- PO_4H_2 官能团修饰试样表面 (AP), 以及磁体内 0g、1g 和 2g 位置的 AP 试样表面。

总体而言, 几种钛合金表面都呈现出亲液性 (接触角小于 90°)。不同的表面对 3 种液体 (包括极性丙三醇和甲酰胺, 以及弱碱性的二次蒸馏水) 的接触角表现出大体一致的趋势。即未被修饰过的抛光试样表面的接触角较大, 其对水的接触角为 78.5° , 相对而言亲水性不佳。酸洗后, 腐蚀表面的微观粗糙度增加。图 2 为抛光及酸洗钛合金表面的 AFM 三维形貌。可见, 抛光钛合金试样的表面粗糙度 $< 0.5 \mu m$, 而腐蚀试样的表面粗糙度达 $2.0 \mu m$, 与成骨细胞的大小^[7]相当, 因此有利于细胞的附着和铺展。根据表面粗糙度对接触角的影响规律可知, 当接触角小于 90° 时, 较高的表面粗糙度会使接触角减小, 因此腐蚀的表面接触角小于抛光表面的表面接触角。这一结果与 Lampin^[7]的实验结果不同, 他认为, 粗糙度在 $1 \sim 2 \mu m$ 范围内时, 对表面润湿性没有影响。在磁体外 (1g/ μ T), 与钛合金酸洗表面相比, 被- PO_4H_2 官能团修饰的酸洗表面接触角有所下降, 反映了官能团对钛合金表面显著的化学修饰作用。

在超导磁体模拟的重力场中, 用- PO_4H_2 官能团修饰的表面 (0g/12 T/AP, 1g/16 T/AP 和 2g/12 T/AP) 对 3 种液体的接触角, 与磁体外 1g/ μ T/AP 试样的接触角相比有所减小。其中, 在 1g/16 T 位置进行修饰所得

表 2 几种材料表面对 3 种液体的接触角

Table 2 Contact angles of the samples for the three fluids ($^\circ$)

| Sample | Water | Glycerol | Formamide |
|----------------|-------|----------|-----------|
| Polished | 78.5 | 80.2 | 26.6 |
| A | 73.5 | 77.6 | 24.9 |
| 1g/ μ T/AP | 62.9 | 75.3 | 23.6 |
| 1g/16 T/AP | 42.0 | 61.7 | 15.9 |
| 0g/12 T/AP | 57.4 | 75.1 | 18.6 |
| 2g/12 T/AP | 44.7 | 67.6 | 19.2 |

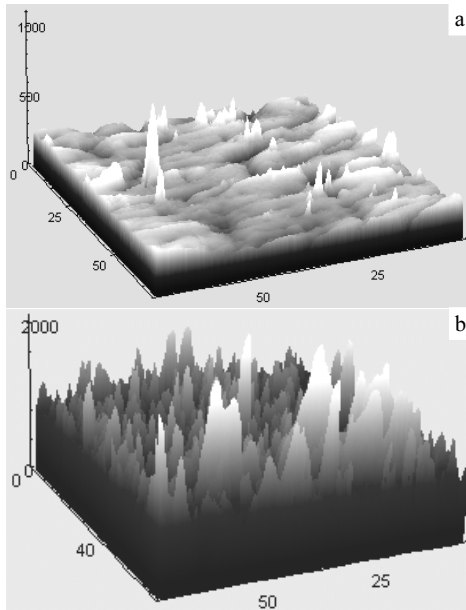


图 2 抛光及腐蚀后的钛合金表面原子力扫描三维形貌
Fig.2 3D AFM topography of polished (a) and eroded (b) Ti-alloy surfaces

到的官能团表面接触角最小, 0g/12 T 位置的表面接触角最大(表 2 中对纯水及丙三醇接触角)。

2.1.1 同重力条件下强磁和地磁对自组装表面接触角的影响

首先比较同重力条件下, 磁场对接触角的影响。与磁体外 1g/ μ T 位置相比, 在强磁场作用下, 自组装膜的微观分子结构及其成膜质量发生了改变, 从而导致其宏观接触角的差异。一方面表现在-OH 偶极子受强磁场定向作用呈现出具有取向性的规则排列(如图 3a 所示), 磁场越强, 这种作用越明显(如 1g/16 T 位置的接触角最小); 而在磁体外的 1g/ μ T 位置, 由于地磁场强度(5×10^{-5} T)非常弱, 难以约束-OH 偶极子定向排列, 使得自组装膜在与测试液体如水、丙三醇或甲酰胺中的羟基(-OH)、胺基(-NH₂)等基团相互作用较弱, 表现出较高的接触角。另一方面, 在强磁场作用下, 溶液中的溶质自然对流被抑制, 自组装分子仅靠浓度差引起的溶质扩散与基底结合, 因而能够生成无缺陷的完美单分子膜; 而在磁体外 1g/ μ T 位置, 溶质输运过程变得复杂, 容易受到热扰动、溶质自然对流等诸多因素的影响, 从而导致部分-OH 甚至-PO₄H₂ 基团缺陷(如图 3b 所示), 使得金属基体暴露在外, 从而表现出较高的接触角。

2.1.2 不同重力水平对自组装表面接触角的影响

磁体内 0g 和 2g 位置拥有相同的磁场强度 12 T, 因此对比这 2 个位置自组装钛合金表面的接触角数值,

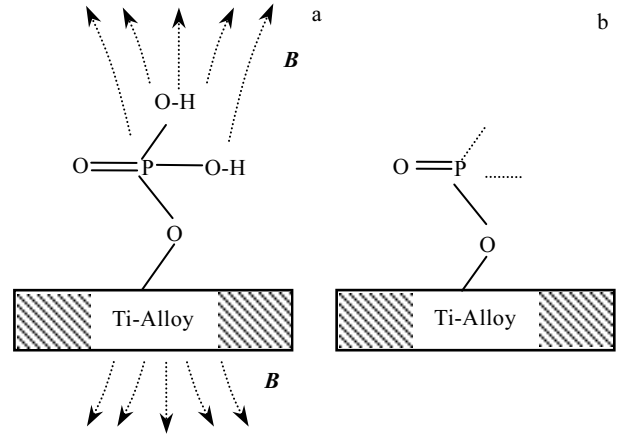


图 3 强磁和地磁条件下自组装分子在钛合金表面成膜示意图
Fig.3 Schematic map for self-assembly monolayer on the surface of Ti-alloy in the high intensity magnetic (a), and geomagnetic (b)

能够得到不同重力水平对接触角的影响。由表 2 可知, 2g 位置自组装钛合金表面接触角 ($\theta_{2g/Water} = 44.7^\circ$, $\theta_{2g/Glycerol} = 67.6^\circ$) 分别小于 0g 位置接触角 ($\theta_{0g/water} = 57.4^\circ$, $\theta_{0g/Glycerol} = 75.1^\circ$), 二者对甲酰胺的接触角非常接近 ($\theta_{0g/Formamide} = 18.6^\circ$, $\theta_{2g/Formamide} = 19.2^\circ$)。

超重力场(2g)中, 在自组装分子膜形成的初期阶段, 成膜区的溶液浓度由 C_0 降为 C_1 , 由于超重作用, 成膜区上方溶液中的溶质粒子迅速补充到下方低浓度区(如图 4 所示), 使得自组装过程持续进行, 从而形成完整的自组装分子膜。而在微重力场(0g)中, 由于溶液不受重力作用, C_0 区溶液中的溶质分子无法通过传质过程输送到 C_1 区, 导致 C_1 区的溶质浓度无法得到有效补充, 自组装分子膜结构形成缺陷。由同重力条件下强磁和地磁对自组装表面接触角的影响分析可知, 具有缺陷的自组装分子膜暴露了金属基底, 因而表现出较高的接触角。

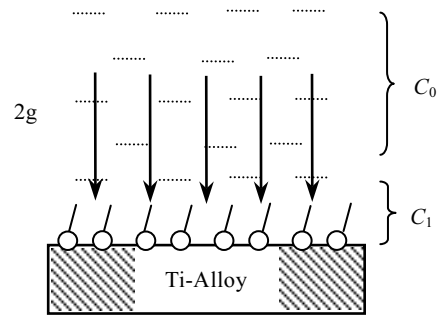


图 4 超重(2g)条件下自组装示意图
Fig.4 Schematic map for self-assembly monolayer on the surface of Ti-alloy in the 2g circumstances

2.2 表面能

表面能是决定生物材料植入后骨整合效果的重要因素之一,高表面能材料更容易吸附周围组织液中的蛋白质等各种生物大分子^[8],这些分子在生物材料表面的聚积可以促进细胞粘附,生长因子和激素则会在骨组织新生和组建中起到重要作用,组织液中还有大量的无机离子,如钙离子和磷酸根等,对这些离子的吸附有助于骨样磷灰石的结晶并启动成骨和改建过程^[15-17],从而提高生物材料表面的生物活性。

表 3 给出了几种表面的表面能参数。可见,经过自组装的钛合金表面,其极性分量 γ^P 与未经自组装钛合金试样表面相比有所提高;在强磁和模拟重力的共同作用下, γ^P 显著提高(表 3)。生物材料植入初期,其表面能中的有效分量(即极性分量)将对肌体环境产生强烈的正响应,极性分量较高的表面将会吸附更多的钙磷离子及蛋白质,从而有利于骨细胞的附着及生长。Lampin^[7]等研究表明,生物材料表面的细胞附着强度与总表面能及极性分量具有很高的相关性,而与色散分量 γ^D 的相关性小。自组装及强磁重力环境能够显著提高极性分量,从而为细胞附着提供了有利条件。

表 3 几种测试表面的表面能参数
Table 3 Surface energy parameters of the test surfaces (mJ/m²)

| Parameter | Polished | A | AP | 0g/12 T | 1g/16 T | 2g/12 T |
|------------|----------|-------|-------|---------|---------|---------|
| γ^P | 3.76 | 18.62 | 22.42 | 23.93 | 40.97 | 41.12 |
| γ^D | 37.18 | 22.38 | 18.88 | 17.60 | 12.76 | 10.70 |
| γ_S | 40.94 | 41.0 | 41.3 | 41.53 | 53.73 | 51.82 |

强磁场作用下的自组装分子膜 $[\gamma_S(\text{mJ}/\text{m}^2): \gamma_{0\text{g}/12\text{T}}=41.53, \gamma_{1\text{g}/16\text{T}}=53.73, \gamma_{2\text{g}/12\text{T}}=51.82]$ 表现出了相对高的表面能,说明强磁环境能够有效改善自组装分子膜的质量,从而为植入体内后诱导骨组织沉积提供高能表面。

3 结 论

- 1) 强磁环境下自组装分子膜亲液性好,接触角小。
- 2) 不同重力水平下,随着模拟重力加速度的增加,自组装分子膜的接触角减小。
- 3) 在强磁场中得到了具有较高表面能及较高极性分量的自组装分子膜。

致 谢:感谢第四军医大学口腔医学系关泰红、高阳在接触角测量实验中给予的热情帮助!

参考文献 References

- [1] Shin K, Kim C S. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*[J], 2003, 23(3): 407
- [2] Schwartz J, Avaltroni M J, Danahy M P et al. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*[J], 2003, 23(3): 395
- [3] Liu Q, Ding J, Mante F K et al. *Biomaterials*[J], 2002, 23(15): 3103
- [4] Kim H M, Miyaji F, Kokubo T et al. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*[J], 1996, 32: 409
- [5] Liu X Y. *Applied Physics Letters*[J], 2001, 79: 3539
- [6] Zhang Yumei(张玉梅), Zhao Yimin(赵银民), Huang Pin(黄平) et al. *Rare Metal Materials and Engineering(稀有金属材料与工程)*[J], 2004, 33(5): 518
- [7] Lampin M, Warocquier-Clerout R, Legris C et al. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*[J], 1997, 36(1): 99
- [8] Brash J L, Horbett T A. In: Horbett T A, Brash J L eds. *Proteins at Interfaces II*[M]. Washington: American Chemical Society, 1995: 87
- [9] Beaunon E, Tournier R. *Nature*[J], 1991, 349: 470
- [10] Wakayama N I. *Gravitational Effects in Materials and Fluid Sciences*[J], 1999, 24: 1337
- [11] Yin D C, Lu H M, Geng L Q et al. *Journal of Crystal Growth*[J], 2008, 310: 1206
- [12] Van Oss C J, Chaudhury M K, Good R J. *Advance in Colloid and Interface Science*[J], 1987, 28: 35
- [13] Wang Hui(王 晖), Gu Guohua(顾帼华), Qiu Guanzhou(邱冠周). *J Cent South Univ (Science and Technology)(中南大学学报(自然科学版))*[J], 2006, 37: 942
- [14] Vladimir L, Alfonso T, Y. *Colloids and Surfaces A: Physico-chemical and Engineering Aspects*[J], 1999, 155: 131
- [15] Yan W, Nakamura T, Kobayashi M. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*[J], 1997, 37(2): 265
- [16] Feng Q L, Wang H, Cui F Z. *Journal of Crystal Growth*[J], 1999, 200: 550
- [17] Gao Yang(高 阳). *The Biological Study of Ti-24Nb-4Zr-7.9Sn Treated by Anodic Oxidation(阳极氧化钛铌锆锡合金的生物学性能研究)*[D]. Xi'an: Fourth Military Medical University, 2007

Characterization of Self-Assembly Monolayers in High-Magnetic Gravity Field and Response Mechanism

Ye Yajing, Yin Dachuan

(Key Laboratory for Space Bioscience and Biotechnology, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China)

Abstract: Functional-group-modified surface of titanium alloys was derived by self-assembly method in the high-magnetic gravity field simulated by superconductive magnet. Contact angle and surface energy of the surface were measured and calculated by a contact angle meter, and surface roughness of the polished and eroded samples was analyzed by atomic force microscopy (AFM). The contact angle test results show that the developing tendency of contact angle and surface energy of the six test surfaces for the three fluids is basically consistent. The contact angle of the surface chemically modified by $-PO_4H_2$ functional group is decreased, and its surface energy is higher in the magnet than that out of the magnet due to the high magnetic effect. The acceleration of gravity is inversely proportional to the contact angle, and proportional to the surface energy when magnetic field intensity are equal.

Key words: biomaterials; self-assembly; superconductive magnet; contact angle; surface energy

Corresponding author: Ye Yajing, Ph. D., Lecturer, School of Life Sciences, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, P. R. China, Tel: 0086-29-88460254, E-mail: yeyajing@nwpu.edu.cn