

ZnO 表面改性 Zn-Cu 组织工程支架的研究

任浩征, 潘超, 许迎, 孙小淩, 刘德宝

(天津理工大学 材料科学与工程学院, 天津 300384)

摘要: **目的** 利用 ZnO 对 Zn-Cu 组织支架材料进行表面改性, 以提高其亲水性和抑菌、抗菌性能。**方法** 采用气压渗流铸造法制备了理论孔隙率约为 60% 的 Zn-xCu ($x=0,1,2,3$) 合金组织工程支架, 并利用水热法对 Zn-xCu ($x=0,1,2,3$) 组织工程多孔支架进行 ZnO 表面修饰。采用扫描电子显微镜、X 射线衍射仪, 对制备的多孔支架宏观形貌、相组成进行了表征。通过滴液法测定样品表面接触角, 评价了材料表面的亲/疏水性。采用细菌铺板法研究了 ZnO 表面修饰前后支架材料的抑菌、抗菌性能。**结果** 制备的支架体孔洞分布均匀, 连通性良好。没有 ZnO 表面修饰的支架材料表面表现为强疏水性, 利用 ZnO 进行表面改性后, 支架材料的表面润湿性能明显改善。修饰后的 Zn-3Cu 支架抑菌效果更优, 未经 ZnO 表面修饰的 Zn-3Cu 合金支架的有效灭菌最长距离为 7.8 mm, 经 ZnO 表面修饰后的 Zn-3Cu 合金支架的有效灭菌最长距离为 9.8 mm, 并且修饰后的 Zn-3Cu 支架材料浸提液与菌液共培养后分别划线与涂布, 与空白菌液相比, 菌落稀疏松散。**结论** 利用气压渗流铸造结合 ZnO 表面修饰的方法, 可制备出具备一定抗菌性能且材料表面呈亲水性的 Zn-Cu 合金组织工程支架。

关键词: Zn-Cu 合金; 多孔支架; ZnO 涂层; 亲水性; 抗菌性能

中图分类号: TG146 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3660(2021)02-0058-08

DOI: 10.16490/j.cnki.issn.1001-3660.2021.02.007

Study on Zn-Cu Tissue Engineering Scaffolds Surface Modified by ZnO

REN Hao-zheng, PAN Chao, XU Ying, SUN Xiao-hao, LIU De-bao

(College of Material Science and Engineering, Tianjin University of Technology, Tianjin 300384, China)

ABSTRACT: Modern tissue scaffolds materials are not only required to possess a certain mechanical properties and excellent biocompatibility, but also required to have a surface presenting good hydrophilicity and certain antibacterial properties. In this work, Zn-xCu ($x=0,1,2,3$) alloy tissue engineering scaffolds with theoretical porosity of 60% were successfully prepared by using air pressure infiltration method (APIM) and the surface of Zn-xCu ($x=0,1,2,3$) tissue engineering porous scaffolds were modified with ZnO by hydrothermal method. The macrostructures, microstructures and phase composition of the porous scaffolds were characterized by means of a field emission scanning electron microscope and X-ray diffractometer respectively.

收稿日期: 2020-10-23; 修订日期: 2020-12-23

Received: 2020-10-23; Revised: 2020-12-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (51871166)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (51871166)

作者简介: 任浩征 (1994—), 男, 硕士研究生, 主要研究方向可降解金属材料。

Biography: REN Hao-zheng (1994—), Male, Master, Research focus: biodegradable metal.

通讯作者: 刘德宝 (1971—), 男, 博士, 教授, 主要研究方向为医用金属材料。邮箱: debaoliu@126.com

Corresponding author: LIU De-bao (1971—), Male, Doctor, Professor, Research focus: biomedical metallic material. E-mail: debaoliu@126.com

引文格式: 任浩征, 潘超, 许迎, 等. ZnO 表面改性 Zn-Cu 组织工程支架的研究[J]. 表面技术, 2021, 50(2): 58-65.

REN Hao-zheng, PAN Chao, XU Ying, et al. Study on Zn-Cu Tissue Engineering Scaffolds Surface Modified by ZnO[J]. Surface technology, 2021, 50(2): 58-65.

The hydrophilicity/hydrophobicity of the material surface was evaluated by measuring the contact angle between the material surface and water by drop method. The antibacterial properties of the scaffolds materials before and after the surface modification of ZnO were studied by using the bacterial paving method. The results show that: the pores are interconnected and distributed homogeneously within all the prepared scaffolds; the surface of the scaffolds without ZnO modification shows strong hydrophobicity, and the wettability of the scaffolds modified with ZnO is significantly improved; and the modified Zn-3Cu scaffolds have better antibacterial properties. The longest effective distance of Zn-3Cu scaffolds without ZnO surface modification is 7.8 mm, and the longest effective distance of Zn-3Cu scaffolds after ZnO surface modification is 9.8 mm. In addition, compared with the blank control bacterial solution, the modified Zn-3Cu scaffolds material extract co-cultured with the bacterial solution, has sparse and loose bacterial colony after scribing and coating. Therefore, Zn-Cu alloy tissue engineering scaffolds with certain antibacterial properties and hydrophilic surface can be prepared by using the APIM with ZnO surface modification.

KEY WORDS: Zn-Cu alloy; porous scaffolds; ZnO coating; hydrophilicity; antibacterial properties

近年来,具有生物可降解特性的新一代医用金属材料的研究发展迅速,这类新型医用金属材料(Mg、Fe、Zn)巧妙地应用在人体环境中,充分利用其易发生腐蚀降解的特性,实现在体内逐渐降解直至最终消失的医学临床目的^[1-7]。因此,可降解金属通过材料成分的合理设计,结合生命科学和工程学的研究思路,将会对骨组织工程学产生积极而深远的影响。

可降解镁合金材料因表现出优异的生物相容性而被广泛研究。Mg 大量参与人体的各种生理活动,在许多细胞功能中发挥着重要作用^[8],且其密度与人体骨骼密度接近,同时弹性模量也与人体骨骼相近,减少了应力屏蔽^[9]。Singh 等人^[10]采用粉末冶金以及钛编织丝网作为空间支撑材料相结合的方法,成功地制备了一种孔隙率为 60%、孔径大小约为 300 μm 、孔洞互连的新型 Mg-10Zn-4Y 支架材料。其中,钛编织金属丝网法保证了拓扑有序多孔结构的形成;锌和钇作为添加的合金材料,通过提高整体可烧结性来增强多孔镁的强度;使用 L929 细胞对支架材料的细胞相容性进行了研究,证实了其生物相容性良好。然而, Mg 的标准电极电位为 -2.37 V,因此,镁在生理环境中的腐蚀速率快,并且在腐蚀过程中会产生氢气包裹^[11]。应用到组织工程领域的镁基多孔支架由于具有更大的表面积,因而腐蚀降解速率会更快。可降解铁基材料有较好的生物相容性。Fe 是人体必需的金属元素,参与氧的运输与储存,与某些酶的合成和活动密切相关^[12]。Carluccio 等人^[13]采用选择性激光熔化(SLM)制备了孔隙率为 42%的 Fe-35Mn 骨支架,并对其性能进行了深入分析,结果表明,选择性激光熔化可以制备具有复杂分级结构的材料,这是传统制造方法无法实现的;支架的微观结构主要由奥氏体组成,延展性良好;电化学和浸泡测试体现出 Fe-35Mn 支架降解速率比纯铁快;植入大鼠颅骨 4 周后观察到新骨形成,表明该支架具有良好的生物相容性。然而, Fe 的标准电极电位为 -0.44 V,在体内的腐蚀降解速率较慢,铁基多孔支架如若植入到体内会有较长时间的

保留。此外,铁的腐蚀产物在生理环境中趋于稳定,导致长期滞留,这可能会引起代谢并发症^[14-15]。另外,铁基材料本身具有铁磁性,在植入后的医学影像检测中存在诸多不便。

锌具有良好的生物相容性,标准电极电位为 -0.76 V,介于镁和铁之间,降解速率适中。Xiao 等人^[16]对 Zn-0.05Mg 合金进行了体内外研究。结果表明,在纯锌基础上添加镁以后,力学性能得到了改善;合金对 L-929 细胞无毒性作用,且对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有抗菌作用;将 Zn-0.05Mg 植入兔股骨后均匀降解且无炎症反应,在骨与植入体界面逐渐有新骨形成。目前,对于锌基多孔支架的研究也在不断深入^[17-23]。Capek 等人^[18]采用放电等离子烧结制备了孔隙率约为 20%的多孔 Zn。结果表明,初始 Zn 粉末尺寸显著影响孔的大小和形状、机械性能以及腐蚀性;浸泡实验证明多孔 Zn 表面可以沉积 Ca-P 产物,具有良好的生物活性。Xie 等人^[19]采用气压渗流法制备了孔隙率为 59.1%的多孔 Zn-1Ag、Zn-3.5Ag 支架。结果表明,降解表面的腐蚀产物主要由 ZnO、 $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 和 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 组成;多孔 Zn-Ag 支架的力学性能高于相同孔隙率的多孔 Zn 支架,说明合金元素的添加改善了支架的力学性能;随着银含量的增加,多孔锌银支架的抗菌能力越来越高。Cockerill 等人^[20]采用增材制造技术制备了孔径为 900 μm 和 2 mm 的锌骨支架,制备的多孔锌支架呈现出完全互连的孔结构,可促进细胞渗透和骨向内生长,且表现出良好的抗菌作用;体外细胞测试和浸泡结果,证实了支架良好的生物相容性和适中的降解速率。上述研究都证明了锌基多孔支架在骨科领域具有良好的应用前景。

为了获得综合性能优异的锌基多孔支架,对其进行合金化是很有必要的。铜是锌合金的主要合金化元素之一,也是人体必需的微量元素,可改善机械性能和生物医学功能,如增强锌基多孔支架的力学性能和抗菌效果^[24-26]。Hou 等人^[25]采用热压烧结来制备氯化钠模板,将熔化的金属渗流到氯化钠模板中,凝固后

去除氯化钠,得到多孔纯 Zn 和 Zn-3Cu 支架。由于铜在锌基体中的固溶和锌铜第二相的析出,添加铜显著提高了锌支架的力学性能和腐蚀速率。Tang 等人^[26]系统研究了挤压态 Zn-xCu ($x=1,2,3,4$) 合金的显微组织、力学性能、细胞毒性和抗菌性能。结果表明,Zn-Cu 二元合金具有良好的强度和延展性、可接受的细胞毒性和良好的抗菌性能。此外,由于人体细胞存在于组织液中,组织液以水溶液为基础,支架材料优良的亲水性能有利于组织液浸润,也有利于促进细胞的快速粘附和快速生长^[27-28]。在医用金属材料表面改性的研究中发现,在 Ti 基体表面制备了 Hep/Chi 功能涂层,在 Mg 基体表面制备了 PDA/HA 功能涂层,改善了表面的润湿性,显著地提高了材料的生物相容性^[29]。在 Zn-Cu 组织工程支架表面进行 ZnO 表面修饰可改善支架表面润湿性,促进亲水性,且 ZnO 也具备一定的抗菌作用^[30-31],对 Zn-Cu 组织工程支架进行 ZnO 表面修饰,有望达成 ZnO 与富铜相的协同抗菌作用,进一步提高 Zn-Cu 组织工程支架的抑菌、抗菌性能。在合金支架表面制备 ZnO 的方法有固相法、气相法和液相法。固相法在反应中会引入杂质粒子,气相法的制备过程较复杂。液相法效率高,成本较低,其中水热法制备 ZnO 过程相对简单,易于控制,速度快且制备的 ZnO 形貌可控均匀。所以,水热法是目前制备 ZnO 最常见的方法^[32]。

在本研究中,利用气压渗流铸造法制备出理论孔隙率为 60%且孔径尺寸为 100~500 μm 的 Zn-xCu ($x=0,1,2,3$)合金组织工程支架。通过水热法对 Zn-Cu 组织工程支架进行 ZnO 表面修饰,从而改善其表面润湿性。对所制备支架的宏观、微观形貌,ZnO 表面修饰后支架表面的微观形貌、相结构以及表面亲水性进行了系统表征,并且评价了 ZnO 表面修饰后的 Zn-Cu 组织工程支架的抑菌、抗菌性能。本研究可以对开发新一代 Zn 基组织工程支架材料提供借鉴与参考。

1 试验

1.1 材料制备方法

1.1.1 Zn-Cu 支架的制备

本研究中制备 Zn-Cu 合金组织工程支架所用的材料包括高纯锌锭(纯度 99.995%)、高纯铜粉(纯度 99.99%)、50~100 目 NaCl 颗粒。Zn-Cu 合金组织工程支架的制备采用气压渗流铸造法,其铸造模具示意图如图 1 所示。具体制备步骤为:首先在坩埚中将锌锭加热至 560 $^{\circ}\text{C}$,保温 1 h,之后将配比好的铜粉加入坩埚,继续保温 1 h,在此过程中通入 N_2 作为保护气氛;将氯化钠颗粒放入模具中,一起放入电阻炉中 330 $^{\circ}\text{C}$ 保温至浇铸;然后迅速将熔融好的合金撤渣后浇铸到模具中,冷却后脱模;在超声环境中清洗去除氯化钠颗粒,得到锌铜合金支架。

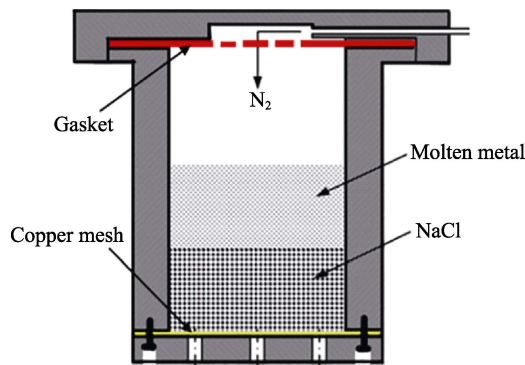


图 1 铸造模具示意图

Fig.1 Schematic diagram of the casting mould

1.1.2 表面 ZnO 涂层的制备

将 Zn-Cu 合金组织工程支架采用线切割的方法加工成 $\phi 10\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ 圆柱体试样,用去离子水、无水乙醇超声清洗,然后充分干燥。将干燥后的试样置于 200 g/L 的氯化钠溶液中,在 80 $^{\circ}\text{C}$ 下保温 5 h。到预定时间后,取出试样放置到真空干燥箱中充分干燥。

1.2 显微形貌观察与物相分析方法

使用场发射扫描电子显微镜(FE-SEM, Quanta FEG 250)对 $\phi 10\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ 的 Zn-Cu 支架圆柱体试样进行显微形貌观察。使用场发射扫描电子显微镜对 $\phi 10\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ 的表面制备有 ZnO 层的圆柱体试样进行显微形貌观察。使用 X 射线衍射仪(XRD, Rigaku D/max/2500PC),在扫描范围 2θ 为 $10^{\circ} \sim 80^{\circ}$ 、扫描速度为 5 ($^{\circ}$)/min 的条件下,对表面制备有 ZnO 层的圆柱体试样进行物相分析。

1.3 Zn-Cu 支架表面接触角测定方法

材料表面与水的接触角采用光学接触角测量仪进行测量。将平整的待测试样放置在实验台上,然后通过滴定针管将 5 μL 去离子水滴在样品表面,用相机拍摄液滴与样品表面接触图像,最后经图像分析得到材料与水的接触角。

1.4 ZnO 表面修饰前后的 Zn-3Cu 支架细胞粘附性能评价

对 ZnO 表面修饰前后的 Zn-3Cu 合金组织工程支架的细胞粘附性能进行评价。将 MC3T3 大鼠成骨细胞置于 α -MEM 培养基中,在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 条件下的培养箱中培养 6 h,将 Zn-3Cu 合金组织工程支架辐照灭菌之后,每片材料接种相同数量的细胞,用磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗掉残留的培养基,之后用 Hoechst 染色剂染色细胞核 20 min,最后用激光扫描共聚焦显微镜(LSCM, Nikon A1)观察细胞的粘附情况。

1.5 ZnO 表面修饰前后的 Zn-3Cu 支架抗菌性能评价

评价材料抑菌、抗菌性能所用菌种为金黄色葡萄

球菌与大肠杆菌。将金黄色葡萄球菌置于 LB 液体培养基中培养, 将培养好的细菌悬液接种于平板, 充分涂抹, 将 ZnO 表面修饰前后的 Zn-3Cu 支架小圆片贴于平板中间, 16 h 后观察测定材料周边抑菌圈的大小, 抑菌圈越大, 材料的抑菌抗菌性能越好。

将大肠杆菌置于 LB 琼脂培养基中培养, 将配制好的有 ZnO 表面修饰的 Zn-3Cu 支架材料浸提液涂于此培养基上, 干燥后将培养好的细菌悬液分别涂布与划线, 16 h 后与空白试样形成对照, 观察细菌数量的变化情况。细菌数量若减少, 进一步证明 ZnO 表面修饰后的 Zn-3Cu 支架材料具有抗菌性能。

2 结果及分析

2.1 Zn-Cu 支架的微观形貌

本研究制备的 Zn-3Cu 合金组织工程支架的宏观和微观形貌如图 2 所示。计算分析得出支架的平均孔径尺寸为 $237\ \mu\text{m}$, 实际孔隙率为 $(71.13 \pm 0.90)\%$ 。从图 2a 中的宏观形貌照片可以看出, 支架材料底面和侧面的孔洞均匀分布。以图 2b 中的 SEM 照片可看出, 支架体孔洞分布均匀, 孔的连通性良好, 孔洞之间的孔壁相对完整。

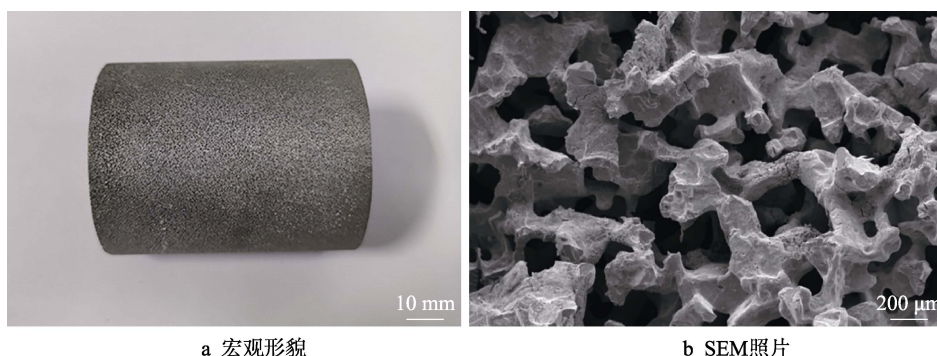


图 2 Zn-3Cu 合金组织工程支架形貌

Fig.2 Zn-3Cu alloy tissue engineering scaffolds: a) macrostructures; b) scanning electron microscope (SEM) image

2.2 ZnO 表面修饰的 Zn-Cu 支架表面微观形貌及相组成

Zn-Cu 合金组织工程支架表面 ZnO 层的微观形貌如图 3 所示。可以看出, 在同一温度、相同时间的处理条件下, 在纯锌支架体表面, ZnO 多为一些絮状颗粒。

添加 Cu 合金元素的 Zn-xCu ($x=1,2,3$) 支架表面均被针状或者棒状聚集的团簇均匀覆盖, 并且随着 Cu 添加量的增加, 支架表面针状、棒状 ZnO 的大小逐渐变大。图 4 为带涂层支架体表面 XRD 相结构分析谱图。从图 4 中可以发现, 支架体表面有 Zn、CuZn₅、ZnO 相, 说明经过改性后的材料表面生成了棒状、针状的 ZnO 产物。

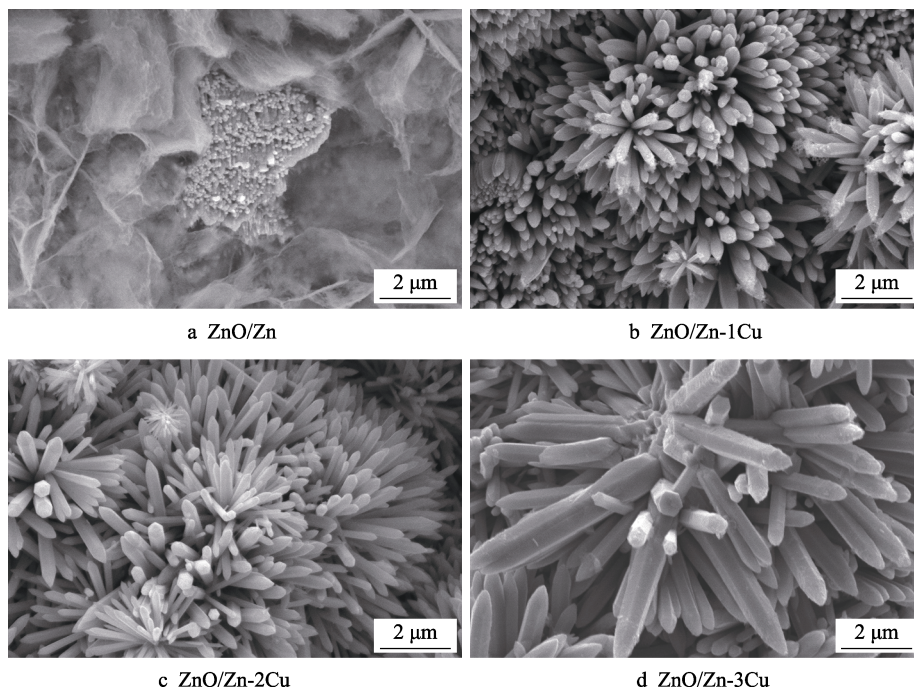


图 3 Zn-Cu 合金组织工程支架表面修饰后的微观形貌

Fig.3 Microstructures of coated Zn-Cu alloy tissue engineering scaffolds

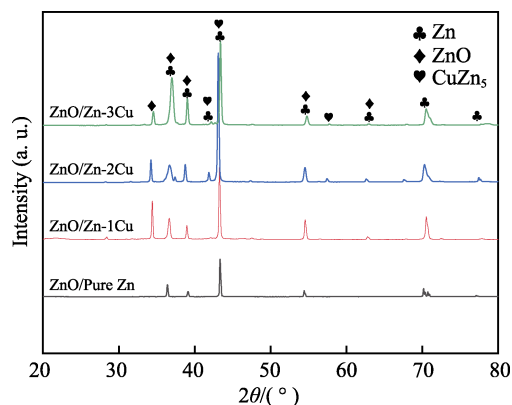


图4 支架体表面修饰后的XRD相结构分析图谱
Fig.4 XRD phase structure analysis of coated scaffolds surface

从图3可以看出,相同水热反应条件下,纯锌支架体表面生成的ZnO为颗粒状,处于生长的初级阶段,有逐渐形成与长大的趋势。而添加Cu以后,由XRD相结构分析可知,Zn-2Cu、Zn-3Cu支架体表面会有金属间化合物CuZn₅相的形成,并且随着Cu添加量的增加,CuZn₅相的含量也增加。基体Zn的腐蚀电位低于第二相CuZn₅相的腐蚀电位,二者之间会形成腐蚀微电池,Zn在Zn-Cu合金中充当阳极,发生电偶腐蚀^[26],锌基体的腐蚀速率显著增加,Zn离子释放量增加,从而使ZnO晶体的生成与长大速率变快,因此随着合金元素Cu含量的增加,Zn-Cu支架材料表面生成的ZnO晶体尺寸逐渐增加。

Zn-Cu合金组织工程支架在80℃的NaCl溶液中生成分成ZnO相的反应方程式如(1)~(3)所列^[33-35]。



支架置于NaCl溶液后,锌的溶解和氧的还原开始进行,Zn²⁺和OH⁻通过扩散作用相互接触,反应生

成Zn(OH)₂,再进一步转化为ZnO,当ZnO在NaCl溶液中的浓度达到过饱和时,则会在试样表面逐渐沉积。虽然ZnO层在Cl⁻的作用下会发生分解生成可溶性物质ZnCl₂^[36],但依据表面均被ZnO层均匀覆盖的实验结果可以推断,ZnO层的沉积速率大于其分解速率。其原因可能是NaCl电解质溶液具有良好的导电性,加速了锌的溶解和氧的还原过程的进行。此外,试样附近溶液中的OH⁻会随着反应的进行而逐渐增多,pH值进而大于7,溶液呈碱性,而ZnO易于在碱性环境中稳定存在。制备的ZnO纳米棒大多呈现六棱柱形态。六棱柱ZnO的生长过程主要包括三个阶段^[37]:

1) 六方薄片的形成。Zn²⁺与OH⁻发生反应生成ZnO,为降低表面能,ZnO聚集在一起形成六方薄片。

2) 二维方向形核。在低能量的{0001}晶面族上不断形成新晶核,溶液中Zn²⁺与OH⁻数量逐渐增多,ZnO二维形核速率也相应变快。

3) 晶核侧向长大。晶核将主要沿二维方向侧向长大,以降低晶核六个侧面的高表面能。随着不断的形核与长大,ZnO六方薄片逐层生长并最终生长为六棱柱ZnO纳米棒。

2.3 ZnO表面修饰对Zn-Cu支架表面接触角的影响

Zn-Cu合金组织工程支架和ZnO表面改性的Zn-Cu合金组织工程支架的接触角测试结果如图5所示。从图5中可以看出,表面没有制备ZnO层的Zn-Cu合金组织工程支架对水的接触角均为90°~180°,即水对材料均表现为不润湿。而ZnO表面改性的Zn-Cu合金组织工程支架表面接触角则表现出明显差异:纯锌支架的接触角为112.21°,大于90°,表现为不润湿,即纯锌支架经5h的水热处理后,表面涂层并不能够改善其润湿性。这可能是由于纯锌支架为纯金属,成分单一,制备

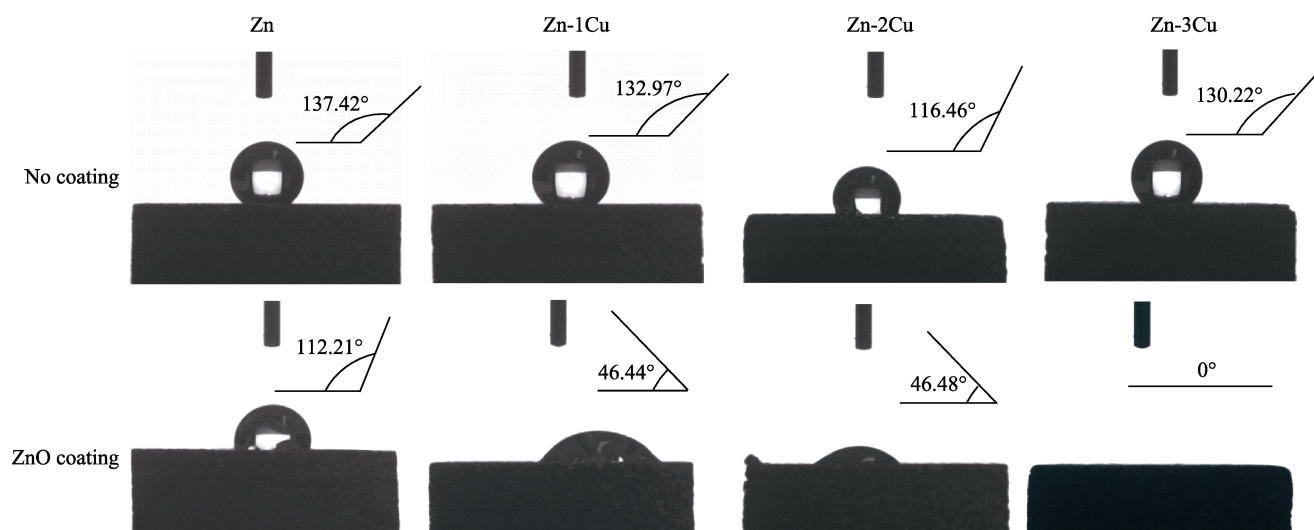


图5 ZnO表面修饰前后的Zn-Cu合金组织工程支架接触角测定结果
Fig.5 Water contact angles of the surface of Zn-Cu alloy tissue engineering scaffolds with or without ZnO coating

的表面 ZnO 层厚度较薄、局部覆盖, 造成对水的吸引力较弱。Zn-1Cu、Zn-2Cu、Zn-3Cu 支架材料表面的接触角分别为 46.44° 、 46.48° 、 0° , 均小于 90° , 都表现为润湿。结合 ZnO 的尺寸和形貌, Zn-Cu 材料表面的 ZnO 多生长为针状或者棒状, 且形态多为聚集的团簇, 导致表面的粗糙度变大, 对水的吸引力变大, 接触角变小。Zn-3Cu 支架材料表面的 ZnO 分布均匀且相对致密, 粗糙度较大, 对水的吸引力较强, 润湿效果最佳, 表现为完全润湿。材料表面与水的接触角大小可以显示出材料表面润湿性的差异^[38-39], 通过测定材料表面对水的接触角可反映支架材料表面的亲疏水性能。接触角越小, 代表材料的亲水性能越好, 有利于组织液的浸润, 从而促进细胞快速粘附; 相反, 接触角越大, 表示支架材料表面的润湿性越差, 越不利于组织液的浸润, 从而减缓细胞在支架表面粘附。

2.4 ZnO 表面修饰对 Zn-Cu 支架细胞粘附性的影响

图 6 为 ZnO 表面修饰前后的 Zn-3Cu 合金组织工程支架的细胞粘附性, 可以看出, 染色细胞核后, 在同一视野下, ZnO 表面修饰后的支架表面细胞粘附数量要比无 ZnO 表面修饰的支架表面多, 说明 Zn-3Cu 支架表面的 ZnO 涂层促进了细胞粘附。

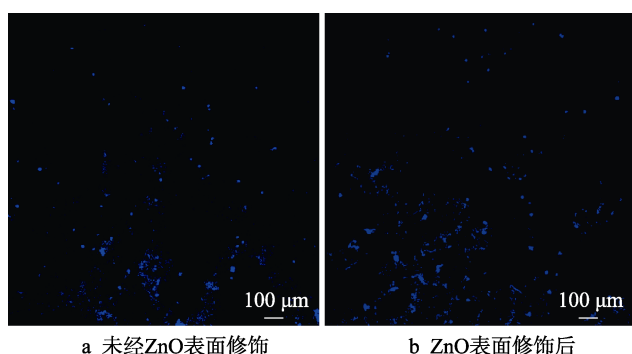


图 6 Zn-3Cu 合金组织工程支架细胞粘附

Fig.6 Cell adhesion on Zn-3Cu alloy tissue engineering scaffolds: a) without ZnO coating, b) with ZnO coating

结合 Zn-Cu 合金组织工程支架的接触角大小, 说明了材料表面的 ZnO 能够改善材料的亲水性, 促进了细胞在组织工程支架表面的快速粘附, 从而实现支架材料表面功能化, 对于组织工程支架的临床应用十分有意义。

2.5 ZnO 表面修饰前后的 Zn-3Cu 支架抗菌性能评价

图 7 为未经 ZnO 表面修饰和 ZnO 表面修饰后的 Zn-3Cu 支架与金黄色葡萄球菌接触培养 16 h 后的细菌菌落铺板数码照片。从图 7 中可以看出, 未经 ZnO 表面修饰的 Zn-3Cu 合金支架有效灭菌空白区域的最长距离为 7.8 mm, 说明其合金本身 Zn-3Cu 材料存在

抗菌活性, ZnO 表面修饰后的 Zn-3Cu 合金支架有效灭菌空白区域的最长距离为 9.8 mm, 说明 ZnO 表面修饰后的 Zn-3Cu 合金支架的抑菌、抗菌效果优于未经 ZnO 表面修饰的 Zn-3Cu 合金支架。图 7 中没有完整抑菌环的存在, 可能是因为微观孔隙结构存在毛细现象, 孔与孔之间的结构存在差异, 合适的孔结构对菌落有一定的吸附作用, 从而会有一部分菌落贴附于材料周围, 导致抑菌环不完整。

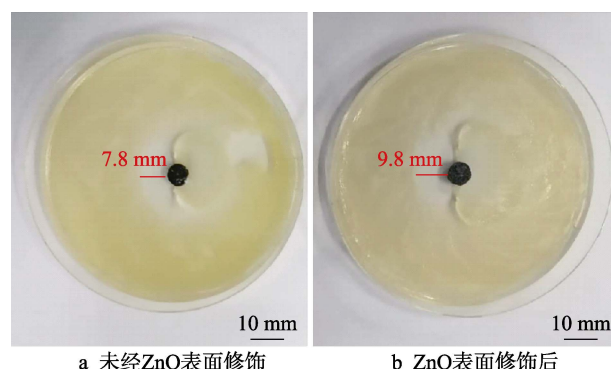


图 7 Zn-3Cu 合金组织工程支架抑菌圈照片

Fig.7 Antibacterial circle photograph of Zn-3Cu alloy tissue engineering scaffolds: a) without ZnO coating; b) with ZnO coating

图 8、图 9 分别为菌液划线图与涂布图。图 8a 与图 9a 为空白菌液, 图 8b 与图 9b 为 ZnO 表面修饰后的 Zn-3Cu 支架浸提液与大肠杆菌共培养后的菌液。可以看出, 分别将菌液划线与涂布后, 作为空白对照的菌落生长状态良好, 菌落与菌落之间致密紧凑排列, 稠密分布, 肉眼无法分辨出菌落状态; 而 Zn-3Cu 支架材料浸提液处理过的菌液与空白菌液相



图 8 Zn-3Cu 合金组织工程支架抑菌划线照片

Fig.8 Antibacterial line photograph of Zn-3Cu alloy tissue engineering scaffolds: a) blank; b) with ZnO coating

比,菌落数量减少,清晰可见点状细菌菌落,分布稀疏,松散排列。这进一步说明了 ZnO 表面修饰后的 Zn-3Cu 支架材料具有抑菌、抗菌性能。

细菌细胞壁和细胞膜会被 ZnO 颗粒溶解释放的 Zn^{2+} 破坏,导致细菌内容物流出,从而严重抑制其活性,最终导致细菌死亡。并且有研究发现, ZnO 中溶解的 Zn^{2+} 的质量浓度约为 $10 \mu\text{g/mL}$ 时,细胞活性降低到 50%^[40]。除 Zn^{2+} 的作用外, ZnO 颗粒对细胞的机械损伤也可导致其抑菌、抗菌。细菌的细胞表面存在羧基等一些带负电荷的基团, ZnO 纳米颗粒带正电荷,在静电力的作用下,细菌细胞与 ZnO 颗粒相互吸引,紧密结合,针状或者棒状聚集的团簇 ZnO 对细菌细胞壁和细胞膜造成破坏,从而使细菌失去活性^[41]。此外, ZnO 颗粒的取向也能影响其抗菌性能,随机取向的 ZnO 颗粒的抗菌效果优于规则取向的 ZnO 颗粒^[42]。

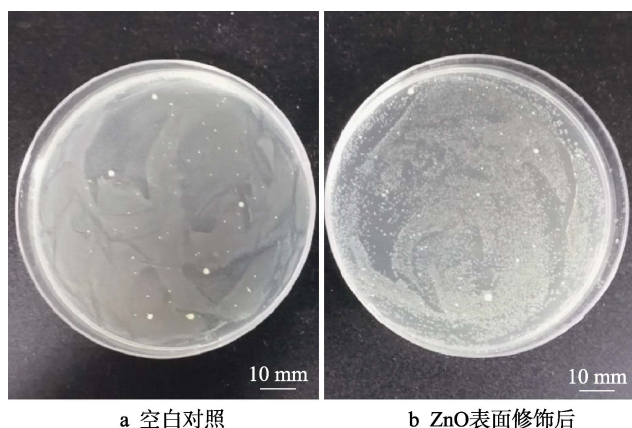


图 9 Zn-3Cu 合金组织工程支架抑菌涂布照片

Fig.9 Antibacterial coated photograph of Zn-3Cu alloy tissue engineering scaffolds: a) blank; b) with ZnO coating

3 结论

1) 制备的 Zn- x Cu ($x=0,1,2,3$) 支架体孔洞分布均匀,连通性良好。

2) ZnO 表面修饰后的 Zn-Cu 组织工程支架的表面润湿性得到改善,有利于细胞快速粘附,提高了支架材料的细胞相容性。

3) ZnO 表面修饰后的 Zn-Cu 组织工程支架具有良好的抑菌、抗菌性能。

参考文献:

- [1] ZHENG Y F, GU X N, WITTE F. Biodegradable metals[J]. Materials science and engineering: Reports, 2014, 77: 1-34.
- [2] WEN P, QIN Y, CHEN Y, et al. Laser additive manufacturing of Zn porous scaffolds: Shielding gas flow, surface quality and densification[J]. Journal of materials science & technology, 2019, 35(2): 368-376.
- [3] CHEN Q Z, THOUAS G A. Metallic implant biomaterials[J]. Materials science and engineering: Reports, 2015, 87: 1-57.
- [4] 郑玉峰, 刘彬, 顾雪楠. 可生物降解性医用金属材料的进展[J]. 材料导报, 2009, 23(1): 1-6.
ZHENG Yu-feng, LIU Bin, GU Xue-nan. Research progress in biodegradable metallic materials for medical application[J]. Materials reports, 2009, 23(1): 1-6.
- [5] LI H, ZHENG Y, QIN L. Progress of biodegradable metals[J]. Progress in natural science: Materials international, 2014, 24(5): 414-422.
- [6] LI Y Y, YAN J L, ZHOU W H, et al. In vitro degradation and biocompatibility evaluation of typical biodegradable metals (Mg/Zn/Fe) for the application of tracheobronchial stenosis[J]. Bioactive materials, 2019, 4: 114-119.
- [7] KUBASEK J, VOJTECH D, JABLONSKA E, et al. Structure, mechanical characteristics and in vitro degradation, cytotoxicity, genotoxicity and mutagenicity of novel biodegradable Zn-Mg alloys[J]. Materials science and engineering: C, 2016, 58: 24-35.
- [8] 袁广银, 张佳, 丁文江. 可降解医用镁基生物材料的研究进展[J]. 中国材料进展, 2011, 30(2): 44-50.
YUAN Guang-yin, ZHANG Jia, DING Wen-jiang. Research progress of Mg-based alloys as degradable biomedical materials[J]. Materials China, 2011, 30(2): 44-50.
- [9] GE M Z, XIANG J Y, YANG L, et al. Effect of laser shock peening on the stress corrosion cracking of AZ31B magnesium alloy in a simulated body fluid[J]. Surface & coatings technology, 2017, 310: 157-165.
- [10] SINGH S, VASHISTH P, SHRIVASTAV A, et al. Synthesis and characterization of a novel open cellular Mg-based scaffold for tissue engineering application[J]. Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 2019, 94: 54-62.
- [11] GU X, ZHENG Y, CHENG Y, et al. In vitro corrosion and biocompatibility of binary magnesium alloys[J]. Biomaterials, 2009, 30(4): 484-498.
- [12] FRANCIS A, YANG Y, VIRTANEN S, et al. Iron and iron-based alloys for temporary cardiovascular applications[J]. Journal of materials science-materials in medicine, 2015, 26(3): 578.
- [13] CARLUCCIO D, XU C, VENEZUELA J, et al. Additively manufactured iron-manganese for biodegradable porous load-bearing bone scaffold applications[J]. Acta biomaterialia, 2020, 103: 346-360.
- [14] ORINAKOVA R, ORINAK A, BUCKOVA L M, et al. Iron based degradable foam structures for potential orthopedic applications[J]. International journal of electrochem science, 2013, 8: 12451-12465.
- [15] PEUSTER M, HESSE C, SCHLOO T, et al. Long-term biocompatibility of a corrodible peripheral iron stent in the porcine descending aorta[J]. Biomaterials, 2006, 27(28): 4955-4962.
- [16] XIAO C, WANG L Q, REN Y P, et al. Indirectly extruded biodegradable Zn-0.05wt%Mg alloy with improved strength and ductility: In vitro and in vivo studies[J]. Journal of materials science & technology, 2018, 34(9): 1618-1627.

- [17] ZHAO L C, ZHANG Z, SONG Y T, et al. Mechanical properties and in vitro biodegradation of newly developed porous Zn scaffolds for biomedical applications[J]. *Materials and design*, 2016, 108: 136-144.
- [18] CAPEK J, JABLONSK E, LIPOV J, et al. Preparation and characterization of porous zinc prepared by spark plasma sintering as a material for biodegradable scaffolds[J]. *Materials chemistry and physics*, 2018, 203(1): 249-258.
- [19] XIE Y, ZHAO L C, ZHANG Z, et al. Fabrication and properties of porous Zn-Ag alloy scaffolds as biodegradable materials[J]. *Materials chemistry and physics*, 2018, 219(1): 433-443.
- [20] COCKERILL I, SU Y C, SINHA S, et al. Porous zinc scaffolds for bone tissue engineering applications: A novel additive manufacturing and casting approach[J]. *Materials science & engineering: C*, 2020, 110: 546.
- [21] ZHAO L C, WANG X, WANG T, et al. Mechanical properties and biodegradation of porous Zn-1Al alloy scaffolds[J]. *Materials letters*, 2019, 247: 75-78.
- [22] LI Y, LI W, BOBBERT F, et al. Corrosion fatigue behavior of additively manufactured biodegradable porous zinc[J]. *Acta biomaterialia*, 2020, 106: 439-449.
- [23] QIN Y, WEN P, VOSHAGE M, et al. Additive manufacturing of biodegradable Zn-xWE43 porous scaffolds: Formation quality, microstructure and mechanical properties[J]. *Materials & design*, 2019, 181: 107937.
- [24] 唐馨, 李浩, 游天雪, 等. 医用可降解 Zn-Cu 合金的力学性能和腐蚀性能[J]. *材料科学与工程学报*, 2019, 37(1): 57-61.
TANG Xin, LI Hao, YOU Tian-xue, et al. Mechanical properties and corrosion of biodegradable Zn-Cu alloy[J]. *Journal of materials science and engineering*, 2019, 37(1): 57-61.
- [25] HOU Y, JIA G Z, YUE R, et al. Synthesis of biodegradable Zn-based scaffolds using NaCl templates: Relationship between porosity, compressive properties and degradation behavior[J]. *Materials characterization*, 2018, 137: 162-169.
- [26] TANG Z B, NIU J L, HUANG H, et al. Potential biodegradable Zn-Cu binary alloys developed for cardiovascular implant applications[J]. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2017, 72: 182-191.
- [27] 王静. 多孔生物材料[M]. 北京: 机械工业出版社, 2012.
WANG Jing. *Porous biomaterial*[M]. Beijing: China Machine Press, 2012.
- [28] 郑玉峰, 秦岭, 杨柯. 可降解金属[M]. 北京: 科学出版社, 2016.
ZHENG Yu-feng, QIN Ling, YANG Ke. *Biodegradable metals*[M]. Beijing: Science Press, 2016.
- [29] 裴宇梁. 医用金属材料表面功能涂层的构建及其生物学性能的研究[D]. 太原: 太原理工大学, 2019.
PEI Yu-liang. *Construction of surface functional coatings for medical metal materials and study on their biological properties*[D]. Taiyuan: Taiyuan University of Technology, 2019.
- [30] KUMAR R, UMAR A, KUMAR G, et al. Antimicrobial properties of ZnO nanomaterials: A review[J]. *Ceramics international*, 2017, 43(5): 3940-3961.
- [31] 赵立臣, 谢宇, 张喆, 等. ZnO 纳米棒/多孔锌泡沫的制备及其压缩和抗菌性能[J]. *材料导报*, 2019, 33(4): 577-581.
ZHAO Li-chen, XIE Yu, ZHANG Zhe, et al. Fabrication of ZnO nano-rods/porous Zn foam and its compressive and antibacterial properties[J]. *Materials reports*, 2019, 33(4): 577-581.
- [32] 刘梦博, 李文彬, 段理, 等. 水热法制备氧化锌纳米棒及微观形貌控制[J]. *电子元件与材料*, 2018, 37(10): 73-78.
LIU Meng-bo, LI Wen-bin, DUAN Li, et al. Morphology control of ZnO nano-rod arrays prepared by hydrothermal method[J]. *Electronic components and materials*, 2018, 37(10): 73-78.
- [33] SIELMANN C, WALUS K, STOEBER B. Zinc exhaustion in ZnO electrodeposition[J]. *Thin solid films*, 2015, 592: 76-80.
- [34] NOBIAL M, DEVOS O, TRIBOLLET B. Electrochemical and in situ optical investigations of ZnO deposition[J]. *Journal of crystal growth*, 2011, 327(1): 173-181.
- [35] YOSHIDA T, KOMATSU D, SHIMOKAWA N, et al. Mechanism of cathodic electrodeposition of zinc oxide thin films from aqueous zinc nitrate baths[J]. *Thin solid films*, 2004, 451: 166-169.
- [36] KHIREECHE S, BOUGHRARA D, KADRI A, et al. Corrosion mechanism of Al, Al-Zn and Al-Zn-Sn alloys in 3wt.% NaCl solution[J]. *Corrosion science*, 2014, 87: 504-516.
- [37] ZHAO L C, XIE Y, ZHANG Z, et al. Fabrication and properties of biodegradable ZnO nano-rods/porous Zn scaffolds[J]. *Materials characterization*, 2018, 144: 227-238.
- [38] 丁聪, 顾江江, 王嘉讯, 等. 关于润湿作用的讨论及应用[J]. *广东化工*, 2019, 46(2): 211-213.
DING Cong, GU Jiang-jiang, WANG Jia-xun, et al. The discussion and application of wetting effect[J]. *Guangdong chemical industry*, 2019, 46(2): 211-213.
- [39] 刘朋博, 王嘉骏, 冯连芳, 等. 润湿性可切换的表面[J]. *材料工程*, 2016, 44(12): 118-126.
LIU Peng-bo, WANG Jia-jun, FENG Lian-fang, et al. Surface with switchable wettability[J]. *Journal of materials engineering*, 2016, 44(12): 118-126.
- [40] SONG W H, ZHANG J Y, GUO J, et al. Role of the dissolved zinc ion and reactive oxygen species in cytotoxicity of ZnO nanoparticles[J]. *Toxicology letters*, 2010, 199(3): 389-397.
- [41] ZHANG L L, JIANG Y H, DING Y L, et al. Investigation into the antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles (ZnO nanofluids)[J]. *Journal of nanoparticle research*, 2007, 9(3): 479-489.
- [42] WANG X L, YANG F, YANG W, et al. A study on the antibacterial activity of one-dimensional ZnO nanowire arrays: Effects of the orientation and plane surface[J]. *Chemical communications*, 2007, 42: 4419-4421.