

脉冲电沉积制备 HA/ZrO₂ 纳米复合涂层的 稳定性及生物相容性评价

王英波, 鲁 雄, 冯 波, 屈树新, 翁 杰

(西南交通大学材料科学与工程学院, 材料先进技术教育部重点实验室, 成都 610031)

摘要 采用脉冲电沉积法成功地在生物医用钛金属表面制备出均匀的纳米 HA/ZrO₂ 复合涂层. 通过热处理提高涂层的致密性, 同时保留涂层的微纳结构. 考察了热处理后复合涂层的成分、形貌、生物相容性及生理稳定性. X 射线衍射分析表明, 复合涂层成分为 HA 和 ZrO₂. 扫描电镜观察发现, 热处理后复合涂层的致密性有所提高. 研究发现, ZrO₂ 的加入大大降低了 HA/ZrO₂ 复合涂层中钙离子的释放速度, 提高了 HA/ZrO₂ 复合涂层的生理稳定性. 纳米划痕实验结果表明, HA/ZrO₂ 复合涂层具有较好的结合强度. 通过培养成骨细胞考察了复合涂层的生物相容性. Alamar Blue 检测表明, HA/ZrO₂ 复合涂层表面细胞黏附及增殖能力较好. ALP 检测发现, 热处理后 HA/ZrO₂ 复合涂层表面的细胞分化能力较强. 综合细胞培养结果显示, HA/ZrO₂ 复合涂层有较好的生物相容性.

关键词 HA/ZrO₂ 复合涂层; 脉冲电沉积; 稳定性; 生物相容性

中图分类号 O614; R318.08

文献标识码 A

文章编号 0251-0790(2010)02-0253-07

羟基磷灰石[Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂, 简称 HA]是人体硬组织骨和牙齿的主要无机成分, HA 材料植入人体后会部分分解, 游离出钙和磷, 为人体组织吸收利用, 使 HA 材料和人体组织产生化学键合, 表现出优异的生物相容性和生物活性, 在临床医学上引起广泛的重视, 已用于骨缺陷的修复与填充. 由于 HA 材料力学性能较差, 脆性大且强度低, 限制了其在人体承重部位的使用. 为此, 人们将 HA 制备成复合材料涂覆在临床应用广泛的医用金属^[1,2]基体上, 使得到的复合材料既有金属的强度和韧性, 又有优异的生物学性能.

氧化锆(ZrO₂)具有良好的耐磨性、抗生理腐蚀性和较好的生物相容性, 其强度高, 断裂韧性指标也高于其它生物陶瓷材料, 因此, 可作为与 HA 复合的良好材料^[3,4]. HA/ZrO₂ 复合涂层的制备方法主要有等离子喷涂法^[5]、高速氧焰喷涂法^[6]、溶胶-凝胶法^[7]和电沉积法^[8,9]等. Gu 等^[5]采用等离子喷涂制备了 HA/ZrO₂ 复合涂层, 复合涂层中 HA 颗粒的尺寸小于 10 μm, 氧化锆颗粒为纳米级, 但存在大量团聚现象, 且两种物质颗粒分布不均匀. 同时该方法喷涂的温度过高, 导致部分 HA 分解. Li 等^[6]采用高速氧焰喷涂法制备的 HA/ZrO₂ 复合涂层, 同样存在氧化锆团聚及 HA 分解等问题. Balamurugan 等^[7]采用溶胶-凝胶法制备 ZrO₂ 粉末增韧的 HA 复合涂层, 但涂层结构疏松. Xiao 等^[8]和刘榕芳等^[2]均采用电沉积技术中的恒电流模式制备了 HA/ZrO₂ 复合涂层, 但涂层中的 ZrO₂ 均以粉末的形式存在于电解液中, 且 ZrO₂ 颗粒分散不均匀.

实现 ZrO₂ 在 HA 涂层中的良好分散是 HA/ZrO₂ 复合涂层研究的难题, 进而影响 HA/ZrO₂ 复合涂层的物理化学性能. 我们采用脉冲电沉积法使氧化锆以离子的形式存在于电解液中, 即离子沉积, 实现了 ZrO₂ 在复合涂层的均匀分散, 很好地解决了 ZrO₂ 在复合涂层中分散不均匀的问题^[10]. 本研究考察了热处理对制备均匀的 HA/ZrO₂ 复合涂层的影响, 同时研究了 HA/ZrO₂ 复合涂层的生理稳定性和生物相容性.

收稿日期: 2009-02-16.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 30700172)、高等学校博士学科点专项科研(新教师)基金(批准号: 20070613019)和国家科技支撑计划项目(批准号: 2006BAI16B01)资助.

联系人简介: 鲁 雄, 男, 博士, 副教授, 主要从事生物材料方面的研究. E-mail: luxiong_2004@163.com

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 及硝酸锆均为分析纯试剂; Alamar Blue (Biosource 公司, 美国); Triton X-100 (Sigma-Aldrich 公司, 美国); 4-硝基苯磷酸 (4-nitrophenyl phosphate, 4-NPP, Sigma-Aldrich 公司, 美国); 纯钛 (宝鸡英耐特医用钛有限公司, 纯度 >99.9%)。

CHI660 型电化学工作站; 扫描电子显微镜 (SEM, QUANTA 200, FEI 公司, 荷兰); X 射线粉末衍射仪 (XRD, PW3040/60, FEI 公司, 荷兰); 酶标仪 (μ -Quant, Bio-Tek Instruments, 美国); 原子吸收分光光度计 (AAS, 361MC, 上海精密科学仪器有限公司); 纳米划痕仪 (Nano-scratch, CSEM 公司, 瑞士)。

1.2 实验过程

1.2.1 脉冲电沉积前钛表面的预处理 选用医用级钛作为基体, 其尺寸为 $10\text{ mm} \times 10\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ 。为提高复合涂层与钛基体的结合力, 钛表面的预处理是关键步骤, 否则由于钛表面氧化膜的影响, 会导致复合涂层容易脱落。因此, 需对打磨好的钛板进行除油、刻蚀及活化等预处理: 先用丙酮去油超声清洗 3 次, 每次 10 min; 然后用化学浸蚀法 [$V(\text{H}_2\text{SO}_4): V(\text{HCl}): V(\text{H}_2\text{O}) = 1:1:1$] 在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 下处理 3 ~ 5 h; 最后在活化液 (5 mol/L NaOH 溶液) 中于 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 下加热 1 h。以上预处理每一步骤后均在室温下用去离子水超声清洗。

1.2.2 实验步骤 涂层的制备在 $60\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴中进行。HA/ZrO₂ 复合涂层的电解液配置方法如下: 首先用分析纯 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 按照 $n(\text{Ca})/n(\text{P}) = 1.67$ 配制溶液, 然后将硝酸锆用无水乙醇溶解, 二者混合后得到 Ca^{2+} 浓度为 1.67 mmol/L、 PO_4^{3-} 浓度为 1.0 mmol/L、锆浓度为 0.0835 mmol/L 的混合溶液。用氨水调节 pH = 6.4。将电解液放在三电极系统 (以钛金属为阴极, 铂金板为阳极, 饱和甘汞电极为参比电极) 的电解槽中, 控制电位进行脉冲电沉积。电化学实验条件: 通电时间为 10800 s, 脉宽 100 s, 脉冲电位 -3.5 V。脉冲电化学沉积完成后立刻用去离子水冲洗样品, 自然晾干后放在真空烧结炉中进行烧结, 烧结的温度为 $1200\text{ }^\circ\text{C}$, 升温速率为 $3\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$, $1200\text{ }^\circ\text{C}$ 保温 2 h 后, 随炉冷却至室温。HA 涂层的制备方法与 HA/ZrO₂ 复合涂层的制备方法基本相同, 只是电解液中不含硝酸锆。

1.2.3 HA/ZrO₂ 复合涂层的溶解性测试 将制备好的样品放在磷酸缓冲液 (PBS) 中, 于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温浸泡 15 d 后, 采用原子吸收分光光度计测定浸泡液中 Ca^{2+} 的吸光度值 (波长 422.7 nm, 带宽 0.5 nm, 灯电流 5 mA, 空气压力 0.2 MPa, 流速 1.2 L/min)。根据标准曲线求出浸泡液中 Ca^{2+} 的浓度, 以此考察 HA/ZrO₂ 复合涂层的生理稳定性。

Ca^{2+} 标准曲线的配置: 分别吸取 0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 及 10.0 mL 浓度为 100 mg/L 的 Ca^{2+} 标准液于 50 mL 容量瓶中, 再分别加入 2 mL 稀盐酸 [$V(\text{HCl}): V(\text{H}_2\text{O}) = 1:3$] 和 3 mL 10% 氯化锶, 最后用蒸馏水稀释至刻度, 摇匀备用。标准溶液浓度分别为 0, 4.0, 8.0, 12.0, 16.0 及 20.0 mg/L。

1.2.4 纳米划痕实验 采用瑞士 CSEM 公司生产的 Nano-scratch 纳米划痕仪测定涂层的结合强度, 压头为金刚石 (直径 2 μm)。所加载荷为变载荷, 加载范围 0 ~ 50 mN, 划痕长度 1 mm。

1.2.5 HA/ZrO₂ 复合涂层的生物相容性测试 用大鼠颅盖骨成骨细胞 (MC3T3-E1) 考察涂层的生物相容性。以 HA 涂层热处理前后及 HA/ZrO₂ 复合涂层热处理前后分成 4 个实验组, 每个实验组取 6 个平行样。将试样置于 24 孔培养板内, 再将 MC3T3-E1 细胞接种于试样表面, 接种密度为 $1 \times 10^5\text{ cell}/\text{mL}$, 每孔加入 1.0 mL α -MEM [含 15% 胎牛血清 (Fetal bovine serum, FBS)], 在 CO_2 培养箱中于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 培养。进行以下检测:

(1) 将培养 1, 3 和 7 d 后的 4 组试样分别用 PBS 漂洗 3 次, 在 2.5% 的戊二醛溶液中固定, 然后用乙醇脱水, 再用乙酸乙酯脱醇, 在临界点干燥后在试样上镀金, 最后用 SEM 观察细胞的形貌。

(2) 在细胞培养 3 和 7 d 后进行 Alamar Blue 细胞活性及增殖情况检测: 首先弃去旧培养基; 用 PBS 清洗 1 次, 然后每孔加入 0.5 mL 无酚红的培养基 (含 10% Alamar Blue), 在 CO_2 培养箱中于 $37\text{ }^\circ\text{C}$

孵育 3 h, 从每孔吸取 200 μL 培养基放入 96 孔板中, 以酶标仪读数。

(3) 在细胞培养 7 d 后进行细胞 ALP 分化能力测定: 在 Alamar Blue 检测后, 弃去 Alamar Blue 的培养液, 再用 PBS 冲洗 3 次, 在每孔中加入 1 mL 1% 的 Triton X-100 以破坏材料上的细胞, 将其放入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻 10 min, 取出细胞破碎液放于预先加入 200 μL 4-NPP 溶液的 96 孔板中, 以酶标仪测定吸光度值。

2 结果与讨论

2.1 不同电解液的比较

在脉冲电化学沉积过程中, 电解液的组成和脉冲电位等^[11]对复合涂层的性能都有一定影响。本研究主要考察了脉冲电位为 -3.5 V 时不同电解液的沉积情况。由 XRD 分析可知, 在钙磷溶液中电沉积得到的产物为 HA 和磷酸八钙 [$\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, OCP](图 1 谱线 a)。在钙磷电解液中加入 Zr^{4+} 后产物的成分为 HA, $\text{Zr}(\text{OH})_2(\text{NO}_3)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ 和 OCP(图 1 谱线 b)。SEM 观察发现, 不同的电解液对涂层的形貌有较大的影响。钙磷电解液和含有 Zr^{4+} 离子的钙磷电解液都能得到直径约 100 nm、长约 800 nm 的均一纳米棒。纯钙磷电解液形成的涂层较疏松[图 2(A)], 加入 Zr^{4+} 离子的电解液形成的涂层较致密[图 2(B)]。 Zr^{4+} 离子的加入提高了涂层的致密性。

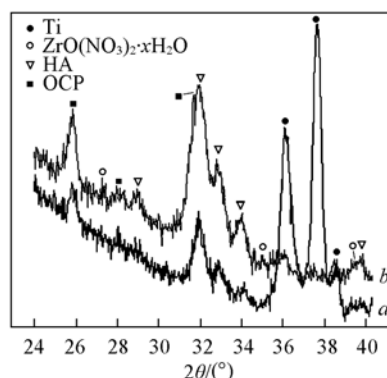


Fig. 1 XRD patterns of calcium phosphate coatings (a) and Zr contained calcium phosphate coatings (b) before heat treatment

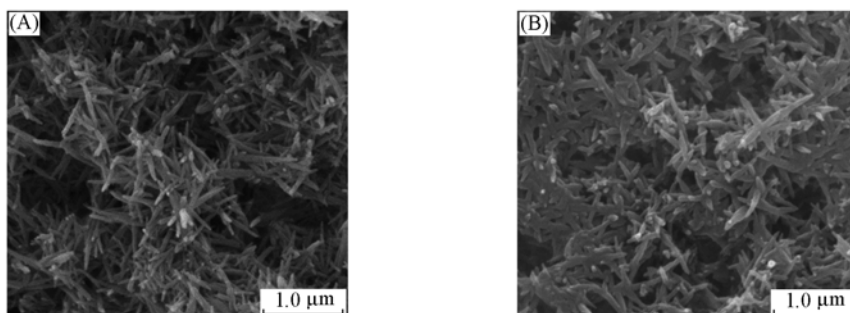


Fig. 2 SEM images of calcium phosphate coatings (A) and Zr contained calcium phosphate coatings (B) before heat treatment

2.2 热处理对不同电解液形成的复合涂层的影响

在热处理的过程中, 微粒之间由于表面熔化而相互连接, 使涂层本身致密化并与钛基体相互扩散。因此, 通过热处理能获得具有一定结合强度的涂层。为了得到满意的结合强度, 需要较高的热处理温度, 但这会导致 HA 的相变和分解。纯 HA 一般在 $1250\text{ }^{\circ}\text{C}$ ~ $1450\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围内发生分解。因此, 为了防止 HA 的分解, 热处理温度不应超过 $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。图 3(A) 为经 $1200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 真空热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层的表面形貌。可以看出, 纯钙磷电解液形成的 HA 涂层经热处理后纳米晶粒长大, 致密性提高, 晶粒之间出现粘连现象, 孔隙减少; 含有 Zr^{4+} 离子的电解液形成的 HA/ZrO₂ 复合涂层经热处理后纳米棒长大, 晶粒之间黏接紧密, 晶粒发育完整, 涂层的致密性进一步提高。同时 HA/ZrO₂ 复合涂层表面保留了一定的微纳米结构[图 3(B)]。

经热处理后 HA/ZrO₂ 复合涂层得到的是 HA 和单斜二氧化锆 ($m\text{-ZrO}_2$), XRD 分析(图 4)发现, 热处理前在 26.0° 处的 OCP 的衍射峰在热处理后消失, 且热处理后 HA 的峰变多。其原因在于, OCP 是 HA 的前驱体, 失去部分水后转变为稳定的 HA 晶体^[11]。复合涂层中 HA 的最强峰出现在 32.2° 处, 与 HA 的标准谱 (#74-0566) 对比可知, 32.2° 对应的 (112) 晶面出现了择优生长。同时, 热处理后碱式硝酸

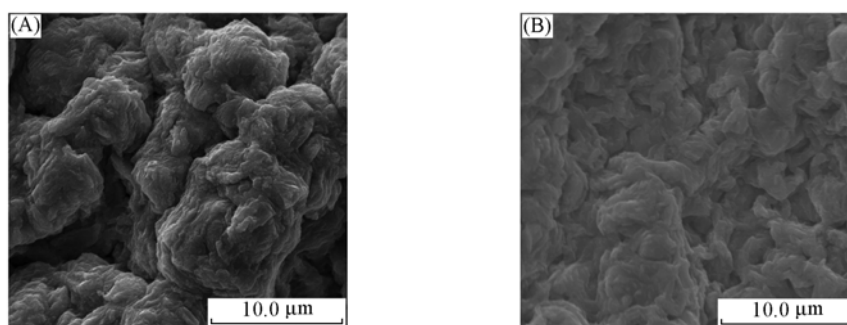


Fig. 3 SEM images of pure HA coatings(A) and HA/ZrO₂ composite coatings(B) after heat treatment

锆的衍射峰消失, 转化为单斜二氧化锆. XRD 分析发现, m-ZrO₂ 的峰较窄, 说明 m-ZrO₂ 的晶粒尺寸较大, 发育及结晶较好, 表明采用脉冲电化学沉积法制备了均匀致密的纳米棒状 HA/ZrO₂ 复合涂层, 可利用热处理提高涂层的致密性, 并保留涂层的微纳结构.

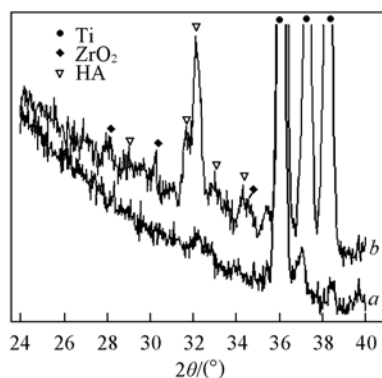


Fig. 4 XRD patterns of HA coatings(a) and HA/ZrO₂ composite coatings(b) after heat treatment

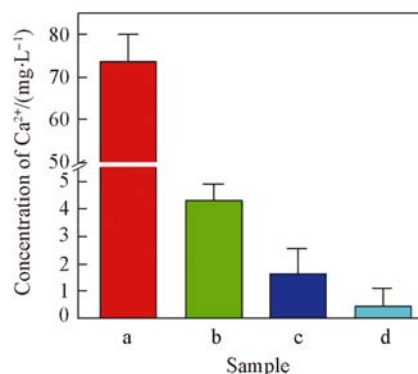


Fig. 5 AAS results of the coatings immersed in phosphate buffer solution(PBS)

a. HA(before sintered); b. HA/ZrO₂ (before sintered);
c. HA(after sintered); d. HA/ZrO₂ (after sintered).

2.3 复合涂层的溶解性分析

采用原子吸收分光光度计检测加入 ZrO₂ 后复合涂层在磷酸缓冲液(PBS)中 Ca²⁺ 的释放情况. 人体肿瘤细胞外基质的 pH 值范围为 5.66 ~ 7.78^[12,13], 因此将本文 PBS 的 pH 值定为 5.7. 图 5 是 HA/ZrO₂ 复合涂层热处理前后涂层浸泡于 PBS 中 15 d 后 Ca²⁺ 的 AAS 数据图. 可以看出, 未经热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层中的 Ca²⁺ 浓度明显低于 HA 涂层中 Ca²⁺ 的浓度. 表明硝酸锆的加入大幅减慢了复合涂层中 Ca²⁺ 的释放速度, 提高了涂层的稳定性. 同时可见, 热处理后的 HA 涂层和 HA/ZrO₂ 复合涂层中 Ca²⁺ 的释放速度都明显降低. HA/ZrO₂ 复合涂层中的 Ca²⁺ 浓度低于 HA 涂层中 Ca²⁺ 的浓度, 这表明热处理提高了涂层的致密性, 减慢了复合涂层中 Ca²⁺ 的释放速度, 进一步提高了涂层的稳定性. 溶解性测试结果表明, HA/ZrO₂ 复合涂层具有较好的生理稳定性.

2.4 复合涂层的力学性能分析

采用划痕试验检测涂层与基底的界面结合强度. 划痕试验是用一个半球形金刚石压头在薄膜表面上滑动, 在此过程中, 通过自动加载机构连续增加垂直载荷 L , 当 L 达到其临界载荷 (L_c) 时, 薄膜与基体开始剥离. HA/ZrO₂ 涂层表面的划痕实验结果显示, 压头滑动到 230 μm 左右, 垂直位移和摩擦力突然增加, 这时压缩载荷为 11.6 mN [图 6(A) 中用垂直箭头标出], 表明涂层破裂, 并从基底上脱离. 因此, 确定临界载荷 (L_c) 为 11.6 mN, 这也代表了 HA/ZrO₂ 涂层的界面结合强度. 纯 HA 涂层烧结后的临界负载为 6.4 mN [图 6(B) 中用垂直箭头标出], 这表明 HA/ZrO₂ 涂层的界面结合强度大于纯 HA 涂层. 将 HA/ZrO₂ 涂层和 Huang 等^[14] 在钛合金上的类金刚石碳薄膜(DLC)的临界负载进行比较, 钛合金上的 DLC 薄膜的临界负载为 75 mN, 与我们在钛基底上制备的 HA/ZrO₂ 涂层在力学性能上处于同

一个数量级.

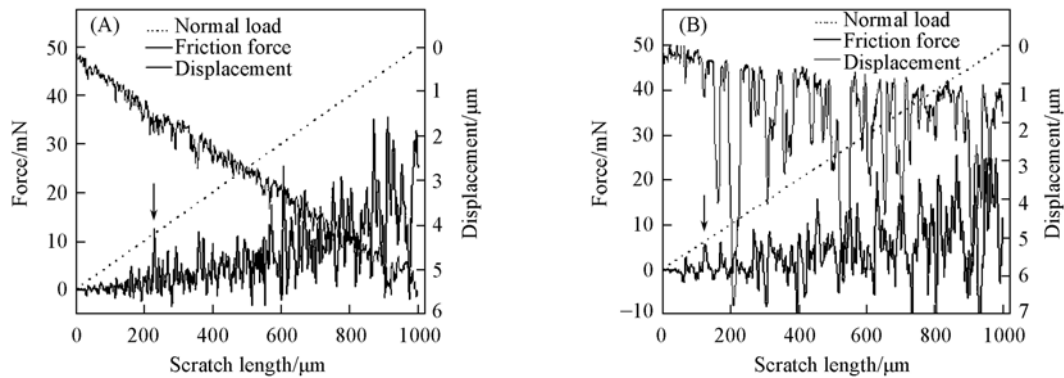


Fig. 6 Friction force, displacement variation along the scratch path with increasing the compression load from 0 to 50 mN during the nanoscratching testing

(A) HA/ZrO₂ coatings; (B) HA coatings.

2.5 复合涂层的生物相容性评价

图 7 显示大鼠颅盖骨成骨细胞 MC3T3-E1 附着于热处理前后 HA 涂层、HA/ZrO₂ 复合涂层的样品表面 1, 3 和 7 d 后的细胞形态. 细胞培养 1 d 后, 未经热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层样品表面细胞生长较好, 黏附较多, 呈梭形, 多数细胞已经铺展在材料表面[图 7(A₁)]. 与 HA 涂层相比[图 7(C₁)], 未

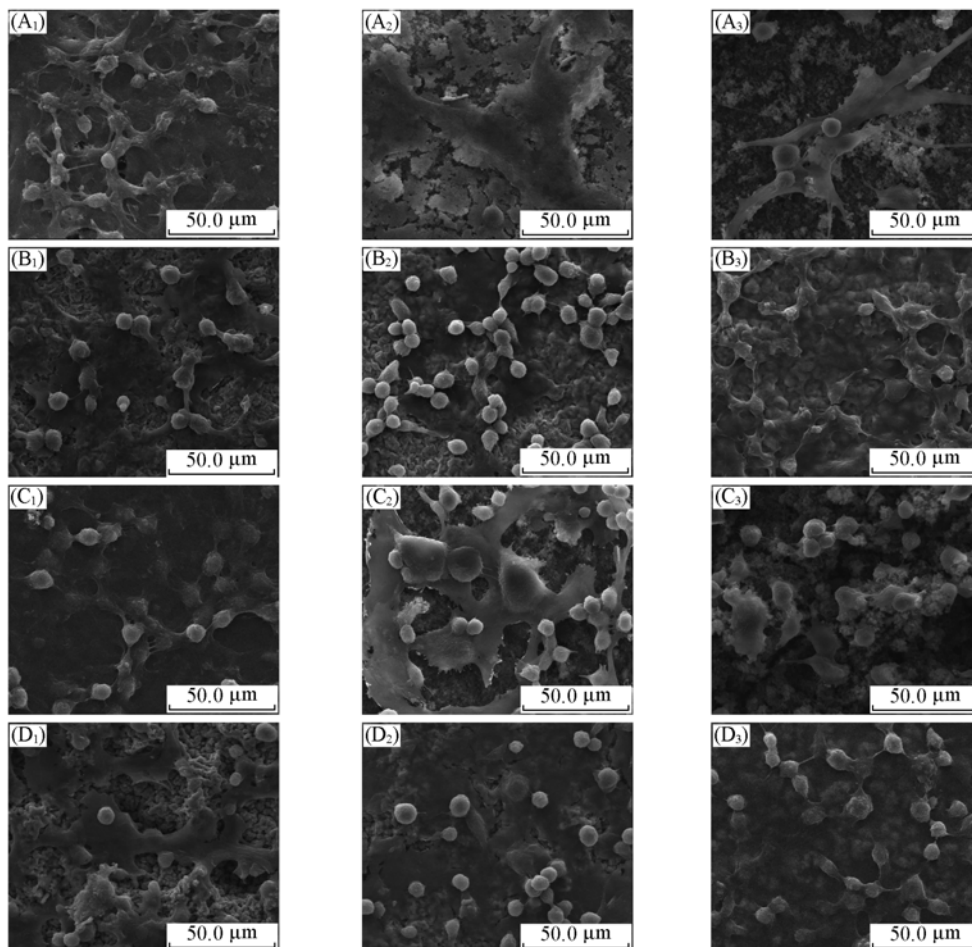


Fig. 7 SEM images of the cell morphologies on coatings

(A₁)—(A₃) Cells cultured on HA/ZrO₂ for 1, 3 and 7 d before sintering, respectively; (B₁)—(B₃) cells cultured on HA/ZrO₂ coatings for 1, 3 and 7 d after sintering, respectively; (C₁)—(C₃) cells cultured on pure HA coatings for 1, 3 and 7 d before sintering, respectively; (D₁)—(D₃) cells cultured on pure HA coatings for 1, 3 and 7 d after sintering, respectively.

经热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层对细胞的黏附、形态和铺展无明显影响. 热处理后 HA/ZrO₂ 复合涂层细胞生长较好, 黏附数量较热处理前增多, 细胞呈梭形, 几乎铺满材料表面[图 7(B₁)]. 黏附及铺展较未经热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层好, 亦表明热处理对细胞的黏附、形态和铺展无明显影响.

细胞培养 3 d 后, 未经热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层表面细胞生长较好, 多数细胞铺展在材料表面, 但部分细胞有浮起现象, 黏附数量也比 1 d 的明显减少[图 7(A₂)]. 热处理后 HA/ZrO₂ 复合涂层表面细胞生长较好, 黏附数量较 1 d 时和热处理前都明显增多, 几乎铺满材料表面[图 7(B₂)], 与热处理后的 HA 涂层细胞黏附及铺展无明显差别[图 7(D₂)], 表明细胞培养 3 d 时, HA/ZrO₂ 复合涂层热处理不影响细胞的黏附和铺展.

细胞培养 7 d 后, 未经热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层的细胞黏附数量比 1 和 3 d 明显减少, 细胞呈浮起状态[图 7(A₃)]. HA/ZrO₂ 复合涂层热处理后细胞生长较好, 黏附数量增多, 几乎铺满材料表面[图 7(B₃)]. 与经热处理的 HA 涂层细胞黏附及铺展无明显差别[图 7(D₃)], 表明细胞培养 7 d 时, HA/ZrO₂ 复合涂层热处理不影响细胞的黏附及铺展.

从细胞培养不同时间点的 SEM 图片可以看出, 培养 3 和 7 d 的未经热处理的细胞在材料表面存在浮起的现象, 随着培养时间的增加, 细胞黏附数量逐渐减少. 这是由于未经热处理的涂层表面是疏松的结构, 会随着培养时间延长出现细胞脱落所致. HA/ZrO₂ 复合涂层和 HA 涂层经热处理后, 涂层致密且保留一定的微纳结构, 更有利于细胞的黏附及铺展.

图 8 为不同时间点 Alamar Blue 检测的成骨细胞增殖率. 细胞培养 3 和 7 d 的结果显示, 未经热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层表面细胞增殖能力低于 HA 涂层表面细胞的增殖能力. 热处理后, HA/ZrO₂ 复合涂层表面细胞的增殖能力高于热处理前, 与热处理后 HA 涂层表面的细胞增殖能力大致相当. 上述分析表明, 经热处理后, HA/ZrO₂ 复合涂层具有较好的细胞增殖能力. 由文献[15,16]可知, 微粗糙的表面有利于细胞的黏附生长. 本研究制备的材料经热处理使表面致密化, 细胞的增殖能力反而增强, 这可能是由于热处理前材料表面结构较疏松, 随着培养时间的增加引起部分细胞脱落造成的. 材料热处理后涂层变致密, 且保留了微粗糙的结构, 有利于细胞的黏附与生长.

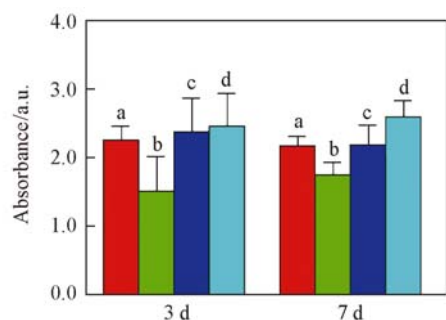


Fig. 8 Alamar Blue test for cell proliferation

a. HA (before sintered); b. HA/ZrO₂ (before sintered);
c. HA (after sintered); d. HA/ZrO₂ (after sintered).

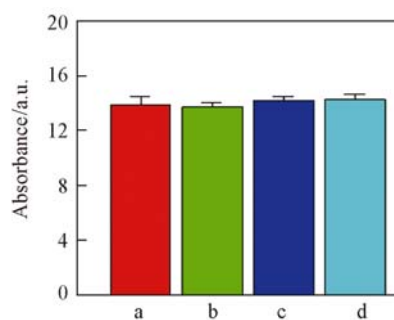


Fig. 9 ALP results for cell cultured after 7 d

a. HA (before sintered); b. HA/ZrO₂ (before sintered);
c. HA (after sintered); d. HA/ZrO₂ (after sintered).

图 9 给出了成骨细胞平均 ALP 活性, 表征细胞在不同涂层表面的分化能力. 细胞培养 7 d 后, 经热处理的 HA/ZrO₂ 复合涂层表面的细胞的分化能力略高于热处理前, 与 HA 涂层表面细胞增殖能力无明显差别. 说明 HA/ZrO₂ 复合涂层具有较好的诱导细胞分化的能力. 细胞培养的研究结果表明, HA/ZrO₂ 复合涂层具有较好的生物相容性.

参 考 文 献

- [1] WANG Xiu-Hong(王秀红), DUAN Ke(段可), FENG Bo(冯波), *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报)[J], 2009, **30**(6): 1071—1074
- [2] XIAO Xiu-Feng(肖秀峰), LIU Rong-Fang(刘榕芳), ZHENG Yang-Zeng(郑扬曾). Rare Metal Mat. Eng.(稀有金属材料与工程)[J], 2005, **34**: 1798—1801
- [3] Evis Z., Usta M., Kutbay I. J. Eur. Ceram. Soc.[J], 2008, **29**: 621—628

- [4] Balamurugan A. , Balossier G. , Kannan S. , *et al.* . Ceram. Int. [J] , 2007 , **33** : 605—614
- [5] Gu Y. W. , Khor K. A. , Pan D. , *et al.* . Biomaterials [J] , 2004 , **25** : 3177—3185
- [6] Li H. , Khor K. A. , Kumar R. , *et al.* . Surf. Coat. Technol. [J] , 2004 , **182** : 227—236
- [7] Balamurugan A. , Balossier G. , Kannan S. , *et al.* . Ceramics International [J] , 2007 , **33** : 605—614
- [8] Xiao X. F. , Liu R. F. , Zheng Y. Z. . J. Mater. Sci. [J] , 2006 , **41** : 3417—3424
- [9] WANG Zhou-Cheng(王周成) , HUANG Long-Men(黄龙门) , TANG Yi(唐毅) , *et al.* . Acta Phys. Chim. Sin. (物理化学学报) [J] , 2006 , **22** : 590—595
- [10] WANG Ying-Bo(王英波) , LU Xiong(鲁雄) , ZHAO Jing(赵婧) , *et al.* . Rare Metal Mat. Eng. (稀有金属材料与工程) [J] , 2009 , **38** : 1071—1075
- [11] Lu X. , Leng Y. . Biomaterials [J] , 2005 , **26** : 1097—1108
- [12] Engin K. , Leeper D. B. , Cater J. R. . Int. J. Hyperther. [J] , 1995 , **11** : 211—216
- [13] Lee E. S. , Kun N. , Bae Y. H. . J. Controlled Release [J] , 2003 , **91** : 103—113
- [14] Huang L. , Xu K. , Lu J. , *et al.* . Diamond Relat. Mater. [J] , 2001 , **10** : 1448—1456
- [15] QIAN Jie(钱捷) , YANG Ce-Yao(杨策尧) , SHENG Xun(盛迅) . J. Clin. Stomatol. (临床口腔医学杂志) [J] , 2005 , **21** : 384—350
- [16] WANG Shen-Guo(王身国) . Chin. J. Rehabil. Theory Practice(中国康复理论与实践) [J] , 2002 , **5** : 267—269

Investigation of the Stability and Biocompatibility of HA/ZrO₂ Nanocomposite Coatings Prepared by Pulsed Electrochemical Deposition

WANG Ying-Bo, LU Xiong*, FENG Bo, QU Shu-Xin, WENG Jie

(Key Laboratory of Advanced Technologies of Materials, Ministry of Education, School of Materials
Science and Engineering, Southwest Jiaotong University, Chengdu 610031, China)

Abstract The dense and uniform HA/ZrO₂ composite coatings were fabricated on titanium substrates by pulsed electrochemical deposition. The composition, morphologies, biocompatibility and physiological stability of the composite coatings were studied. X-ray diffraction showed Ca₈(PO₄)₄(HPO₄)₂ · 5H₂O in the coating was converted into hydroxylapatite(HA) and the coating was composed of HA and ZrO₂ after heat treatments. Scanning electron microscopy (SEM) indicated that ZrO₂ was uniformly distributed in the coatings and the coatings became dense after heat treatments. Atomic absorption spectrometry analysis was used to measure Ca²⁺ release rate of the coatings immersed in PBS. It was found that the Ca²⁺ release rate of HA/ZrO₂ was lower than that of pure HA coatings. Nanoscratching testing revealed that HA/ZrO₂ coatings had better interfacial bonding strength than that of pure HA coatings. Osteoblasts were cultured on the coatings to evaluate the biocompatibility of coatings. The results of the Alamar Blue and ALP test indicated that the composite coatings could favor the proliferation and differentiation of the osteoblasts. In summary, the as-prepared nanocomposite coatings have good biocompatibility.

Keywords HA/ZrO₂ composite coating; Pulsed electrochemical deposition; Stability; Biocompatibility
(Ed. : H, J, Z)