

以微波水熱法進行微弧氧化鈦的快速奈米表面改質

Rapid Nano-Modification of Micro Arc Oxidized Titanium Surface by Microwave-Hydrothermal Method

林殿傑 Dan-Jae, Lin

中國醫藥大學 口腔衛生學系 Department of Dental Hygiene, China Medical University

摘要–本研究透過微波/水熱方式(MARS)在短時間內可以製備具有微米等級的相連多孔氧化鈦表面並有奈米級的粗糙度。顯示在 SEM 觀察下具有明顯奈米結構的組別親水性較佳。MARS 處理後的相結構仍以 Anatase 為主，表面奈米結構受溶液 pH 值影響改變型態，但是都可以促進細胞的初期貼覆，且 24 小時細胞活性都有增加趨勢。

Abstract–We have successful used a microwave process to synthesize nanoscale bioactive CaP on a MAO titanium surface. Surface energy influences initial cell attachment and spreading of osteoblastic cells on the biomaterial surface. The nano-scale CaP surface possess a better affinity to the MG63 cells than that of the MAO does, distinct morphological consequences in that more filopodia and lamellipodia. Nanoscale coatings enhancing the cellular activity relative to their micron-sized phase.

前言

微弧氧化(Micro-Arc-Oxidation, MAO)是常見在鈦植體表面改質的方法。許多體外細胞培養的研究顯示，這些孔洞相連且富含鈣、磷成分的氧化鈦層可以增加細胞相容性。為了加速骨生成許多學者透過化學溶液浸泡或水熱法的方式在 MAO 氧化鈦的表面形成不同結晶的磷灰石析出。然而浸泡方式透過離子析出，附著，交換及結晶等步驟需要較長的反應時間；而水熱法析出的氫氧基磷灰石(HA)結晶尺寸達數十到數百個微米，且長時間高溫高壓的反應也使的氧化層的介面強度變弱。因此本研究透過微波/水熱方式，在短時間內可以製備具有微米等級的相連多孔氧化鈦表面並有奈米級的粗糙度。透過物化性質分析及細胞相容性評估，探討此表面改質方法的可行性。

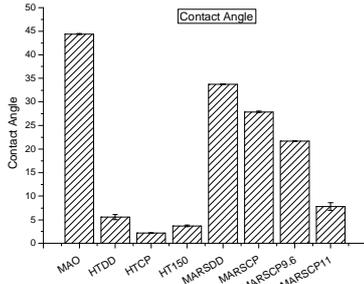
研究方法

經陽極氧化後的試片分別以不同的微波/水熱法條件進行後處理，並分別評估物化性質(親水性、微結構、相組成及氧化層強度)及生物相容性(細胞附著與細胞活性)。研究方法分述如下：

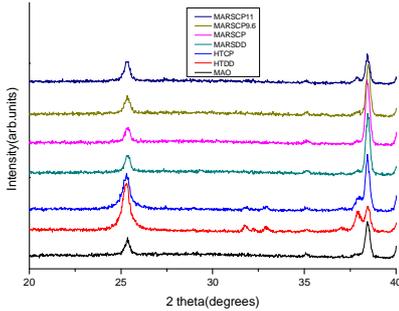
1. 陽極氧化與微波/水熱法條件:使用雙層反應槽外層連通於溫度控制循環水槽電解液組成: 500mL 的電解液內含 0.2M 醋酸鈣及 0.04M β -甘油磷酸鈉。使用直流電源供應器電壓 280V，固定電流 58mA，溫度 25°C，時間 3 分鐘。商用純鈦片(直徑 10mm)置於陽極。微波/水熱法使用 50mL 兩種溶液-純水(DD)及鈣磷溶液(10^{-5} M Ca(OH)₂ 及 10^{-5} M (NH₄)₂HPO₄)分別裝填於水熱反應罐中。反應罐中放入 MAO 試片進行 3 小時 250°C 水熱法 (Hydrothermal, HT)或 1 分鐘 200°C 微波水熱法 (MARS 5, CEM co. USA)。其中微波水熱法的鈣磷溶液並以 NaOH 調整 pH 值，分別為: 未調整 (MARS CP)、pH 值 9.6(MARS CP9.6)及 pH 值 11 (MARS CP11)。

2. 物化性質: 使用接觸角儀(FTA-125, FTA co., USA)，量測純水在不同表面形成的接觸角。使用低掠角 XRD 及 FESEM 進行微結構與相分析。使用 Quad 夾治具將接觸面積 2.7mm，長 12 mm 的拉伸棒(Quad Group, USA)經 150 度 C 一小時膠合於表面處理後的鈦試片表面。使用萬能試驗機 (AG-IC, SHIMADZU co., Japan)以 0.1mm/min 的速度拉伸得到氧化層介面強度。

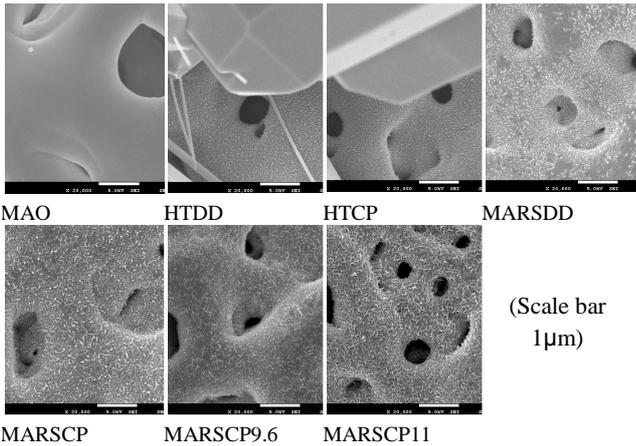
3. 生物相容性: 使用人類骨肉瘤細胞株 MG63 類骨母細胞培養在鈦片上，培養 4 及 24hr 使用 WST assay 分析其細胞活性(n=3)。另外一組，培養 6hr 後以 PBS 沖洗兩後，以 SEM 觀察細胞附著形態及附著數量。



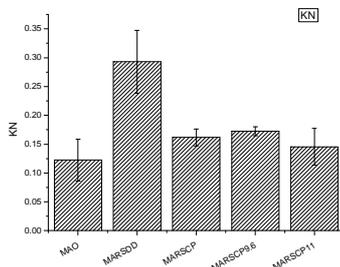
圖一、鈦片的接觸角在不同實驗條件下有明顯差異。



圖二、MAO 及經過 HT、MARS 處理後表面 XRD 分析圖。



圖三、SEM 觀察 MAO 及經過 HT、MARS 處理後表面。

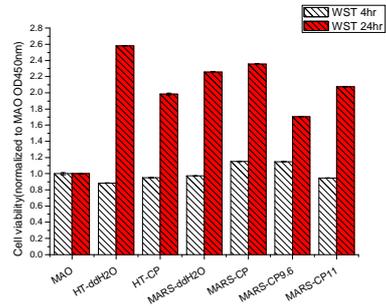


圖四、MAO 及經過 MARS 處理後的氧化層介面強度。

結果與討論

1. 接觸角量測結果(圖一)顯示水熱法處理的 MAO 鈦片有低於 10 度接觸角的超親水特性，而微波/水熱法組別親水性明顯比 MAO 組好，且 MARS CP11 也具有超親水性。由圖二可以發現

MAO 鈦的氧化層以 Anatase 為主要結構，經過水熱法可以明顯觀察到 HA 的析出相，但是微波水熱法並沒有很明顯的其他相結構。



圖五、細胞培養在鈦片經過 2 及 24hr 的細胞活性。

表一、顯微鏡下觀察附著細胞的數量及細胞展開的程度。

Sample codes	Adherent cell number and spreading percentage	
	Total cell number	Percentage of spreading
MAO	245.0±74.7	48.4%
HT	175.4±44.2	41.5%
MARSDD	280.6±84.1	75.7%
MARS CP	296.8±84.8	69.9%
MARS CP9.6	290.0±33.6	69.4%

2. HT 組別除了微米的 HA 六角柱狀析出，基地也充滿奈米結構。而 MARS 組表面充滿奈米結構，pH11 組別呈現棉絮狀明顯與其他組不同(圖三)。從圖四發現，經過 MARS 處理介面強度並沒有變差，MARSDD 組甚至達到最佳的強度，反之 HT 組經超音波震盪後皆脫落。

3. 經過 4h 培養的細胞活性各組間並無顯著差異，但經過 24h 後 HT 及 MARS 組皆較 MAO 組有較高的活性(圖五)。細胞經六小時後的貼覆能力以 MARS 組最佳，且細胞展開的程度最佳(表一)。

參考文獻

- [1] Lin CS, Chen MT and Liu JH (2008) J Biomed Mater Res A, 85:378-387.
- [2] Ishizawa H and Ogino M (1995) J Biomed Mater Res, 29:1071-1079.
- [3] Serro AP, Fernandes AC, Saramago B, Lima J and Barbosa MA (1997) Biomaterials, 18:963-968.
- [4] Zhu X, Son DW, Ong JL and Kim K (2003) J Mater Sci Mater Med, 14:629-34.
- [5] Chen CY, Fuh LJ, Huang HL, Hsu JT, Chen CC and Lin DJ (2012) The 9th World Biomaterials Congress, Chendu, China, June 1-5.