文章编号：0465-7942(2026)02-0040-05

# 种植体钛表面载纳米铋的羟基磷灰石涂层构建

钟 雪，宋宇航，旺 珍，张 溪
(天津医科大学口腔医院 口腔修复科，天津 300070)

**摘要：**为了探索出一种简便、绿色的方法制备出化学性质稳定的纳米铋(BiNPs)，利用新型溶菌酶相转化产物(phase-transited lysozyme，PTL)一步法对钛片进行改性，在此基础上构建载纳米铋的羟基磷灰石复合涂层，使种植体表面兼具良好的抗菌及促成骨性能．借助扫描电子显微镜(scanning electron microscope，SEM)、能量色散X射线光谱仪(energy dispersive X-ray spectrometer，EDS)、X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy，XPS)及接触角测量仪等表征手段，对复合涂层的表面形貌、元素构成及表面特性进行了系统研究，同时采用透射电子显微镜(TEM)对纳米铋颗粒的形态与尺寸分布进行了观测分析．各表征实验结果表明，经PTL改性的钛表面成功加载了羟基磷灰石和纳米铋的复合涂层，润湿性测试表明，载涂层的钛片表面亲水性显著增强，电子显微镜揭示了样品的微观结构特征以及粒径为30-40 nm的BiNPs球形粒子．综上所述，利用抗坏血酸可成功制备纳米铋，并在PTL改性后的钛表面构建出载纳米铋的羟基磷灰石复合涂层，为后续预防种植体周围炎、促进种植体表面成骨提供材料学基础．

**关键词：**纳米铋；羟基磷灰石；钛种植体；溶菌酶相转化产物；表面改性
**中图分类号：**R783.3　　**文献标识码：**A

## 0 引　　言

种植手术的严重并发症之一是种植体周围炎，常导致种植体周围骨质结合不良从而发生种植体脱落，且治疗较为困难[1]．为减少种植体周围炎的发生，学者们尝试通过种植体表面改性加载功能涂层，从而起到抑制细菌大量繁殖的作用，并促进种植体周围骨组织形成，缩短骨整合时间[2]．

近年来，随着金属纳米材料的相关研究逐渐深入，越来越多的金属纳米粒子被应用在种植体表面涂层中[3]，而纳米铋(Bismuth nanoparticles，BiNPs)相较于其他金属纳米粒子，具有良好的生物相容性，且在较低浓度下即可表现稳定且广谱的抗菌效果[4]．羟基磷灰石具有与人体骨骼和牙齿较为接近的化学组成，是良好的生物活性材料，其骨诱导能力有利于种植体周围早期骨整合的进行[5]．

为了改变纯钛的生物惰性，首先利用本课题组前期研究的溶菌酶相转化产物(phase-transited lysozyme，PTL)一步法对其进行表面改性[6]，为纯钛表面提供了多种功能基团以及正电荷[7]，这为构建复合涂层奠定了基础．然后通过简便安全的新方法制备出纳米铋，在改性后的钛表面通过仿生矿化及静电吸附的原理构建载纳米铋的羟基磷灰石涂层，对材料进行一系列的表面表征及观察分析，为后续进行体外抗菌与细胞实验提供依据，以达到预防种植体周围炎、促进种植体表面成骨的目的．

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

钛片，陕西宝鸡泰宇鑫金属材料有限公司；五水硝酸铋、二水氯化钙，上海阿拉丁生化科技股份有限公司；抗坏血酸，生工集团化学试剂有限公司；溶菌酶，沪慧上海生物科技有限公司；三(2-羧乙基)膦盐酸盐(TCEP)，安徽酷尔生物工程有限公司．

### 1.2 试样制备

**1.2.1** 光滑钛片的制备：圆形钛片样品(12 mm×1 mm)经碳化硅砂纸打磨后超声清洗30 min，烘干后进行高压

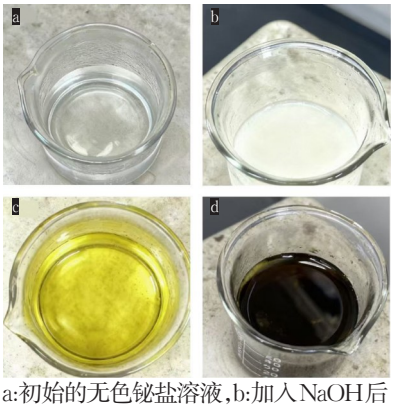
**收稿日期：**2025-08-20
**基金项目：**天津市卫生健康科技项目(TJWJ2022QN023)；天津市科学技术局项目(23JCYBJC00350)
**作者简介：**钟 雪(1990-)，女，天津人，主治医师，研究方向：口腔种植体表面改性．
**通讯作者：**张 溪(1985-)，女，天津人，副教授，研究方向：口腔医学．E-mail：xizhang@tmu.edu.cn

蒸汽灭菌备用.

**1.2.2** 仿生矿化溶液配制:称取8.010 g NaCl、0.068 g KCl、0.424 g $K_2HPO_4·3H_2O$、0.344 g $CaCl_2·2H_2O$、1.0 mol/L HCl 39 mL,依次加入去离子水中,37 ℃下磁力搅拌至粉末完全溶解,加入TRIS–base调整溶液pH值至7.4,配制成过饱和钙化溶液(SCS),置于50 mL离心管中备用.

**1.2.3** 纯钛表面PTL改性:在室温下,分别取溶菌酶溶液和TCEP溶液按1∶1的体积比混合,即可获得 PTL.随后,将磨光的钛片浸入该混合溶液之中,孵育2 h,无菌去离子水冲洗后干燥备用,所得样品简记为Ti–PTL.

**1.2.4** 纳米铋合成:将1 mol/L甘氨酸溶液加热至(70±5) ℃,持续剧烈搅拌,再加入一定量的$Bi(NO_3)_3·5H_2O$晶体,加入NaOH溶液调节pH值至9.此时溶液从透明变为浑浊的白色(图1a、b).搅拌3 min后,加入微量的2,3–二巯基丙醇(BAL),混浊的白色外观迅速变为半透明的亮黄色(图1c);搅拌悬浮液并立即加入聚乙烯吡咯烷酮(polyvinylpyrrolidone,PVP),滴加5 mol/L抗坏血酸,悬浮液迅速变为深黑色(图1d),继续剧烈搅拌约10 min.将黑色悬浮液冷却至室温后离心洗涤冻干成粉.最后,将BiNPs粉末加入透明质酸溶液中,可见固体粉末溶解,4 ℃避光保存.




a:初始的无色铋盐溶液,b:加入NaOH后变为浑浊的白色;c:当加入BAL时,溶液变为半透明的黄色;d:加入PVP抗坏血酸后,溶液立即变为黑色

**图1 纳米铋制备过程中溶液的颜色变化**

**Fig.1 The color changes of the solution during the preparation of nanobismuth**

**1.2.5** 纯钛表面PTL诱导羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)涂层的制备:将PTL改性后的钛片浸泡在0.02 mol/L氯化钙溶液中,每隔12 h更换新溶液,反复4次.干燥后再将钛片置于SCS中,首先在4 ℃下浸泡24 h后获得晶种,然后转移至37 ℃恒温箱中浸泡4 d获得羟基磷灰石(HA)涂层[8],每2 d更换矿化溶液,最终用去离子水清洗试样表面,室温下干燥,获得Ti–PTL–HA(如图2).

**1.2.6** 钛表面载纳米铋的羟基磷灰石复合涂层构建:在Ti–PTL–HA表面滴加含BiNPs的透明质酸溶液,室温下干燥,从而获得Ti–PTL–HA–BiNPs.整个制备流程如图3所示.



**图2 浸泡SCS溶液后的钛片表面**

**Fig.2 Surface of titanium sheet after soaking in SCS solution**

### 1.3 XPS元素分析

通过X射线光电子能谱技术(XPS,Kratos Analytical Ltd., UK)对各组钛片试样的表面成分及结构进行细致分析,通过不同元素对应的峰强度值用软件XPSPEAK version 4.1来计算出样品所含元素的百分比.样片在测试前在真空干燥箱内干燥24 h.

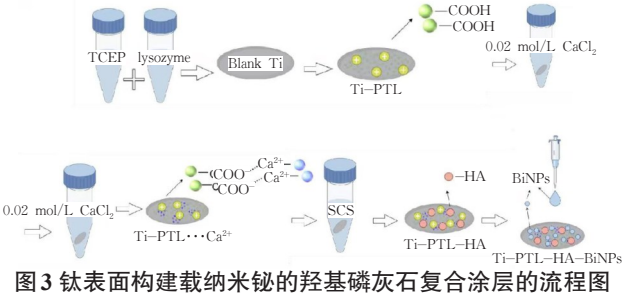



**图3 钛表面构建载纳米铋的羟基磷灰石复合涂层的流程图**

**Fig.3 Flow diagram of the construction of a nanobismuth-loaded hydroxyapatite coatings on titanium surface**

### 1.4 SEM和EDX检测

采用场发射扫描电子显微镜(FE–SEM)对经过干燥喷金处理的实验样品表面微观形貌进行表征分析,并借助能量色散X射线光谱仪(EDX)对负载有涂层的钛基材特定点位元素组成进行检测与成分鉴定.

### 1.5 纳米铋溶液的TEM表征

通过微量移液器吸取BiNPs溶液并以悬滴方式将其沉积于碳膜铜网上,避光条件下经室温静置干燥后,制备成透射电镜样品.最终借助TEM对所得纳米铋颗粒的尺寸特征与微观形貌进行表征分析.

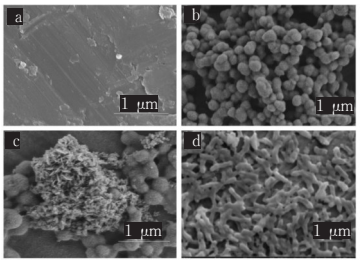
### 1.6 接触角实验

使用JC2000D1型号的动态接触角测量仪(Micaren,中国)测定各样品在标准温度条件下的表面润湿性.一般选取3个不同位置来检测并取平均值,数据以平均值±标准差给出,各组之间采用单因素方差分析及SNK检验进行分析(SPSS),$P<0.05$时被认为差异具有统计学意义.

## 2 结　果

### 2.1 钛表面涂层的SEM和EDX结果

SEM结果如图4所示,与表面较为光滑的纯钛对照组(图4a)相比,经过PTL改性的钛片表面可观察到串珠样的微观结构(图4b),直径约0.2–0.4 μm;在Ti–PTL–HA表面可见羟基磷灰石呈重叠交织的片状晶体形态(图4c); Ti–PTL–HA–BiNPs表层呈现出层叠分布的颗粒状形貌及多层次孔隙结构,同时,通过图5所示的EDX扫描分析,显示Bi元素已有效负载于涂层中,可证实扫描电镜观察到的图像为透明质酸包裹的BiNPs,同时Ca/P=1.66,符合羟基磷灰石的钙磷比,证明钛片表面成功加载了羟基磷灰石涂层.




a: pristine Ti; b: Ti–PTL; c: Ti–PTL–HA;d:Ti–PTL–HA–BiNPs

**图4 试样扫描电镜照片**

**Fig.4 SEM images of surface morphology of Ti discs**

### 2.2 钛表面涂层的XPS分析

各组试样的XPS结果如表1和图6所示,Ti–PTL(图6b)相较纯钛组(图6a),在P2p及S2p能级区域呈现特征性吸收峰,这些信号源自PTL层中的TCEP,证明PTL成功改性钛表面,同时纯钛的Ti2p3波峰消失,证明PTL覆盖钛表面.经过螯合钙离子并在SCS溶液中浸泡后,如图6c所示,在Ti–PTL–HA样本表面可观察到Ca2p信号峰的出现,说明PTL改性后的钛表面成功利用仿生矿化法制备出羟基磷灰石.在Ti–PTL–HA–BiNPs 组(图6d)中,纳米铋的特征峰Bi4f被检测到,证实了纳米铋被成功加载到涂层表面.

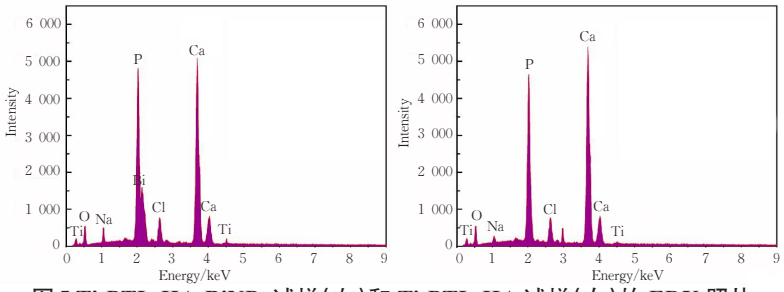



**图5 Ti-PTL-HA-BiNPs试样(左)和 Ti-PTL-HA 试样(右)的 EDX 照片**

**Fig.5 EDX images of the samples: Ti-PTL-HA-BiNPs (left) and Ti-PTL-HA (right)**

**表1 XPS检测各个试样表面元素成分**

**Table 1 XPS detects the elemental composition on the surface of each specimen**

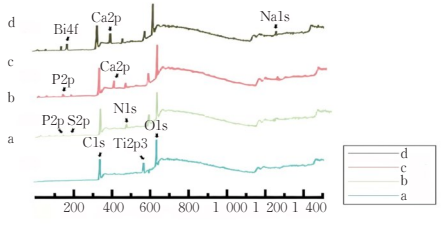
| | C/% | O/% | N/% | Ti/% | Na/% | S/% | Ca/% | P/% | Bi/% |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ti | 47.6±0.2 | 38.7±0.2 | 4.1±0.1 | 10.6±0.3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Ti–PTL | 61.3±0.3 | 19.8±0.2 | 18.3±0.1 | 0 | 0 | 0.8±0.1 | 0 | 0.1±0.3 | 0 |
| Ti–PTL–HA | 49.4±0.2 | 29.4±0.3 | 9.4±0.2 | 0 | 0 | 0 | 7.3±0.3 | 4.3±0.3 | 0 |
| Ti–PTL–HA–BiNPs | 45.2±0.2 | 25.5±0.1 | 11.7±0.3 | 0 | 2.1±0.02 | 0 | 5.4±0.2 | 1.7±0.2 | 8.4±0.2 |

### 2.3 TEM结果

TEM结果见图7显示,纳米铋粒子为均匀完整的球形结构,粒子边界成毛玻璃样,粒径在30–40 nm左右.

### 2.4 接触角实验结果

各组样品的接触角测量结果如图8所示.相比于纯钛组,PTL改性后钛片接触角变小,在经过完整的涂层加载,试样表面显示出更小接触角角度,这表明所制备的涂层具有较好亲水性.




a:pristine Ti; b:Ti–PTL; c:Ti–PTL–HA; d:Ti–PTL–HA–BiNPs

**图6 试样的XPS波谱**

**Fig.6 The composition and compound analysis detected by XPS**

## 3 讨　论

目前,医学研究主要集中于铋纳米粒子的抗菌治疗[9],但其在口腔医学中应用较少.通常BiNPs的合成需要特殊设备或控制条件[10].研究者提出了一种可在常规实验室条件下进行合成的方法[11],即通过加热甘氨酸溶液,铋离子先与BAL形成螯合物,再经硼氢化钠还原生成纳米铋颗粒,同时引入PVP,以提升产物的分散性与稳定性[11].然而,硼氢化钠易燃易爆的危险特性,限制了该方法的推广应用.本研究采用抗坏血酸作为还原剂,构建了更为安全可控的纳米铋制备体系,不到1 h就可合成符合标准的纳米铋.透射电镜结果显示,纳米铋粒子边缘呈毛玻璃样,这是由于其被有机物包裹,易在粒子

表面形成较厚覆盖层,导致图像模糊.在纳米铋的液相制备工艺中,每一步颜色转变均对应特定的化学反应阶段,可概括为[12]:水不溶性硝酸铋易溶于甘氨酸溶液从而释放出$Bi^{3+}$(透明溶液),加入NaOH调节pH值呈碱性环境会降低$Bi^{3+}$的溶解度(溶液变为浑浊白色),然而碱性环境使BAL能够快速螯合$Bi^{3+}$,促进高溶解度的铋–BAL复合物形成(溶液由浑浊白色变为透明黄色).最后,在分散剂PVP的稳定作用下,抗坏血酸还原$Bi^{3+}$为$Bi^{0}$,成核生长为BiNPs(深黑色).各阶段的颜色变化可作为工艺调控直观判断依据.

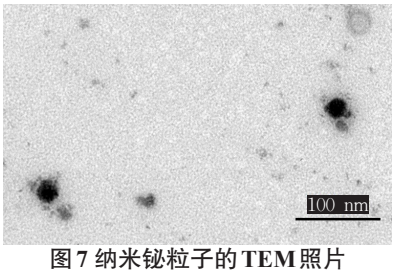
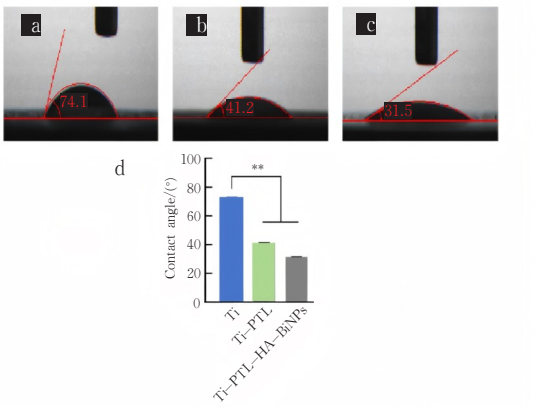



**图7 纳米铋粒子的TEM照片**

**Fig.7 The image of the BiNPs by TEM**

本课题组前期研究证实,在37 ℃的标准模拟体液(SBF)中浸泡相应时长,便能在螯合$Ca^{2+}$的PTL改性Ti表面上生成一层羟基磷灰石薄膜[13].本研究采用过饱和矿化溶液(SCS)替代标准模拟体液(SBF)可以有效减少矿化时间.过饱和度是晶体结晶的核心驱动力,SCS的钙磷离子浓度更高,体系过饱和度显著提升,不仅降低了HA晶体的成核自由能,还可持续为晶体生长提供充足的钙磷离子源,减少离子扩散的能阻,基于此双重作用,HA晶体的生长速率加快,晶体尺寸也随之增大,从而有效提升HA涂层的制备效率.

螯合的钙离子与PTL表面的羧基相连,随后浸泡在SCS溶液中,为钛片表面提供了充足的钙磷离子,这是进行仿生矿化的原料基础[14].BiNPs是通过溶解在携带有负电荷的透明质酸溶液中,通过静电吸附的作用,与PTL表面的负电荷相互吸引,从而将BiNPs加载到涂层表面.接触角测量实验结果证明,构建的复合涂层相较纯钛表面,接触角明显变小,亲水性明显提高,而种植体骨整合速度与种植体的亲水性密切相关,亲水性越高,骨整合速度越快[15].




a:pristine Ti;b:Ti–PTL;c:Ti–PTL–HA–BiNPs;
d:接触角测量的统计学分析(**$P$<0.01)

**图8 各个试样表面的接触角照片**

**Fig.8 Pictures of contact angle on the surface of each specimen**

本研究在种植体钛表面构建载纳米铋的羟基磷灰石复合涂层,旨在实现其抗菌及促成骨的协同功能.BiNPs的抗菌作用与HA的骨诱导作用并非孤立存在,而是通过"微环境调控–功能互补"形成协同效应.一方面,BiNPs可通过多种途径[16]抑制细菌增殖与生物膜形成,避免炎症微环境对成骨过程的抑制,为HA发挥骨诱导功能营造稳定的微环境;另一方面,HA作为天然骨基质的主要无机成分,可通过与成骨细胞表面整合素结合,间接调控成骨相关基因(如*Runx2*、*OCN*)的表达,促进细胞黏附、增殖与骨基质矿化,进一步封闭种植体–骨界面,减少细菌再次侵入的通道,反向强化抗菌效果[17].二者形成的"抗菌护成骨、成骨助抗菌"协同循环,是实现种植体长期临床成功的关键.

## 参 考 文 献

1 Roccuzzo A, Imber J C, Salvi G E, et al. Peri–implantitis as the consequence of errors in implant therapy[J]. Periodontol 2000, 2023, 92(1): 350–361.

2 Wu H, Chen X, Kong L, et al. Mechanical and biological properties of titanium and its alloys for oral implant with preparation techniques: A review[J]. Materials, 2023, 16(21): 6 860–6 880.

3 Parnia F, Yazdani J, Javaherzadeh V, et al. Overview of nanoparticle coating of dental implants for enhanced osseointegration and antimicrobial purposes[J]. J Pharm Pharm Sci, 2017, 20: 148–160.

4 Albadr R J, Taher W M, Aawan M, et al. A review on the potential use of bismuth nanoparticles in oral health[J]. Microb Pathog, 2025, 198: 107131.

5 Hu Z, Wang X, Xia W, et al. Nano–structure designing promotion osseointegration of hydroxyapatite coated ti–6Al–4V alloy implants in diabetic model[J]. J Biomed Nanotechnol, 2019, 15(8): 1 701–1 713.

6 Zhong X, Song Y, Yang P, et al. Titanium surface priming with phase–transited lysozyme to establish a silver nano–particle–loaded chitosan/hyaluronic acid antibacterial multilayer via layer–by–layer self–assembly[J]. Plos One, 2016,

11(1): e0146957.
7 Wu Z, Yang P. Simple multipurpose surface functionalization by phase transited protein adhesion[J]. Advanced Materials Interfaces, 2014, 2(2): 1400401.
8 施 兰. 多孔钛表面羟基磷灰石涂层的仿生制备及生物活性研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2018.
9 Neamati F, Kodori M, Feizabadi M M, et al. Bismuth nanoparticles against microbial infections[J]. Nanomedicine (Lond), 2022, 17(27): 2 109–2 122.
10 Wei B, Zhang X, Zhang C, et al. Facile synthesis of uniform–sized bismuth nanoparticles for CT visualization of gastrointestinal tract *in vivo*[J]. ACS Appl Mater Interfaces, 2016, 8(20): 12 720–12 726.
11 Vazquez–Munoz R, Arellano–Jimenez M J, Lopez–Ribot J L. Fast, facile synthesis method for BAL–mediated PVP–bismuth nanoparticles[J]. MethodsX, 2020, 7: 100894.
12 Vazquez–Munoz R, Arellano–Jimenez M J, Lopez–Ribot J L. Bismuth nanoparticles obtained by a facile synthesis method exhibit antimicrobial activity against staphylococcus aureus and *Candida albicans*[J]. BMC Biomed Eng, 2020, 2: 11–22.
13 Ha Y, Yang J, Tao F, et al. Phase–transited lysozyme as a universal route to bioactive hydroxyapatite crystalline film[J]. Advanced Functional Materials, 2018, 28(4): 1704476.
14 Zhang X, Wu L, Feng G, et al. Mineralization of calcium phosphate on two–dimensional polymer films with controllable density of carboxyl groups[J]. J Mater Chem B, 2022, 10(20): 3 793–3 797.
15 Wang R, Li J, Bi Q, et al. Crystallographic plane–induced selective mineralization of nanohydroxyapatite on fibrous–grained titanium promotes osteointegration and biocorrosion resistance[J]. Biomaterials, 2025, 313: 122800.
16 Albadr R, Taher W, Alwan M, et al. A review on the potential use of bismuth nanoparticles in oral health[J]. Microbial Pathogenesis, 2025, 198: 107131.
17 Bi Q, Song X, Chen Y, et al. Zn–HA/Bi–HA biphasic coatings on Titanium: Fabrication, characterization, an–tibacterial and biological activity[J]. Colloids and Surfaces B–Biointerfaces, 2020, 189: 110813.

# Construction of Nanobismuth–Loaded Hydroxyapatite Coatings on Titanium Implant Surface

Zhong Xue, Song Yuhang, Wang Zhen, Zhang Xi

(*Department of Prosthodontics, School and Hospital of Stomatology, Tianjin Medical University, Tianjin* 300070, *China*)

**Abstract:** A straightforward and eco–friendly approach was aimed to be developed for the production of chemically stable nanosized bismuth (BiNPs). By employing an innovative one–step PTL (phase–transited lysozyme) method for the modification of titanium substrates, a hydroxyapatite composite coating loaded with nanosized bismuth was successfully constructed, thereby endowing the implant surface with both excellent antibacterial and osteoconductive properties. A comprehensive analysis of the surface morphology, elemental composition, and surface characteristics of the composite coating was conducted using various characterization techniques, including scanning electron microscopy (SEM), energy–dispersive X–ray spectroscopy (EDX), X–ray photoelectron spectroscopy (XPS), and contact angle measurement. Additionally, transmission electron microscopy (TEM) was used to observe and analyze the shape and size distribution of the BiNPs. The results of these characterization experiments showed that the titanium surface modified with PTL successfully supported the composite coating of hydroxyapatite and BiNPs was successfully supported by the tianium surface modified with PTL. A significant enhancement in the hydrophilicity of the coated titanium surface was indicated by the wetting tests. The microstructural features of the sample were unveiled by electron microscopy, and it was revealed that the BiNPs are spherical particles with a diameter of 30–40 nm. In conclusion, ascorbic acid proved effective for synthesizing bismuth nanoparticles, which were successfully incorporated into a hydroxyapatite matrix on PTL–modified titanium surfaces. A materials science foundation for preventing peri–implantitis and promoting osteogenesis on implant surfaces has been established.

**Keywords:** nano bismuth; hydroxyapatite; titanium implant; phase–transited lysozyme; surface modification

**[责任编辑: 孙丹]**