

# 预钙化处理提高钽的表面生物活性

王文凯, 胡树兵

(华中科技大学 材料成形与模具技术国家重点实验室, 湖北 武汉 430074)

**摘要:** 为提高钽的生物活性, 对钽进行了 NaOH 溶液碱处理, 利用模拟体液(SBF)浸泡实验探索碱处理的最佳浓度。碱处理后的钽又分别在 CaCl<sub>2</sub> 溶液和 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液中进行预钙化处理。钽经过 0.7 mol/L 的碱处理后, 在 SBF 中浸泡 2 周, 表面即可被羟基磷灰石覆盖。经预钙化处理后, 钽在 SBF 中浸泡 4 d, 表面即可覆盖一层羟基磷灰石, 说明预钙化大幅提高了钽的生物活性。其机理是预钙化处理可使样品表面迅速完成钙磷化合物的形核, 浸入 SBF 以后羟基磷灰石可以迅速长大。

**关键词:** 钽; 碱处理; 预钙化; 磷灰石

**中图分类号:** TB39; R319

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1002-185X(2019)07-2352-06

金属钽及其合金由于其良好的生物相容性、优异的耐腐蚀性、机械性能和易于加工成型等优点, 在生物医疗领域尤其是骨科得到了广泛关注<sup>[1-3]</sup>。国内外许多学者, 相继报道了多孔钽用于治疗股骨头坏死、髋关节置换术、脊柱椎间融合、修补骨缺损<sup>[4-7]</sup>等领域的成功事例。但是, 金属钽是一种生物惰性材料, 植入人体后, 在周围易包覆形成纤维组织, 无法与周围骨组织形成稳定的化学结合, 容易产生无菌性松动等问题。在生物植入材料中, 仅有一些陶瓷材料, 例如生物玻璃、磷灰石等可以与人体骨直接形成稳定的骨性结合<sup>[8]</sup>。但是由于陶瓷的断裂韧性差, 植入人体后无法替代缺损骨组织承受过大的载荷压力, 同时容易发生降解。因此, 利用金属植入材料的力学性能同时改善其表面的生物活性<sup>[9]</sup>, 是学者们研究的热点领域。有研究者提出了在金属钽表面制备生物活性涂层<sup>[10,11]</sup>, 通过活性涂层与周围骨组织形成化学结合, 从而提高钽植入物的稳定性。

目前, 利用等离子喷涂的方式在金属植入体表面制备羟基磷灰石涂层是研究较多的一种方法<sup>[12]</sup>。但是在这种工艺中, 羟基磷灰石粉末要被加热到将近 10000 °C, 在如此高的温度下, 粉末会发生熔化、分解, 再沉积到钽表面时, 羟基磷灰石的化学成分、结晶度都会与标准的羟基磷灰石发生偏离, 影响其生物活性。同时, 也存在涂层与基体结合强度不足的问题。有学者尝试利用激光熔覆<sup>[13]</sup>的方法在金属表面制备活性涂层, 虽然解决了涂层与基体的结合强度问题, 但是涂层的结构和

组成得不到有效控制, 同时在形状复杂的植入物的内部和孔隙无法制备均匀涂层。因此, 探索一种简单、高效的提高钽表面活性的方法是十分必要的。

据文献报道<sup>[14]</sup>, 植入物具备生物活性的必要条件是植入人体后能在其表面自发形成类骨磷灰石层。利用表面自发形成的羟基磷灰石 (HA) 促进成骨细胞的增殖、分化, 同时与骨组织形成骨性结合。通过将植入物浸泡在模拟体液中, 观察其表面是否有类骨磷灰石生成可判断植入物是否具备生物活性<sup>[14]</sup>。本研究通过简单、高效的碱处理和预钙化处理两步法, 在钽表面制备了一层生物活性涂层, 探索了碱处理提高钽生物活性最佳的工艺条件, 并对其进行了预钙化处理, 通过模拟体液浸泡实验验证其生物活性, 并与单一的碱处理样品作了对比。

## 1 实验

利用线切割将 2 mm 厚的钽板切成 10 mm×10 mm 规格。切好的样品分别用 800#、1200#、2000#耐水砂纸逐级打磨, 去除表面氧化层和油污, 然后依次在丙酮、乙醇、去离子水中超声清洗 15 min, 热风吹干。

将清洗后的钽片在温度为 60 °C 不同浓度的 NaOH 溶液中浸泡 24 h, 浸泡结束后, 一部分样品用去离子水润洗, 干燥保存, 并标记为 A 组; 另一部分样品继续进行预钙化处理, 标记为 B 组。

预钙化处理方法为: 将碱处理后样品用去离子水润洗后浸泡在 40 °C 饱和 CaCl<sub>2</sub> 溶液中 12 h, 取出样品,

收稿日期: 2018-07-15

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”计划)(2014CB046704)

作者简介: 王文凯, 男, 1992 年生, 硕士生, 华中科技大学材料学院, 湖北 武汉 430074, E-mail: wangwenkai1221@163.com

用去离子水润洗,继续在 1 mol/L 的  $K_2HPO_4$  溶液浸泡中 4 h。样品编号及工艺参数如表 1 所示。

利用场发射扫描电镜(Nova NanoSEM 450, 荷兰 FEI 公司)观察 A 组、B 组预处理后样品的表面形貌,用 EDX 分析表面元素成分。将预处理后样品分别在 36.5 °C 模拟体液中浸泡 4 和 14 d,利用场发射扫描电镜观察浸泡后样品表面生成物形貌,X 射线衍射仪(XRD-7000, 日本岛津公司)分析表面物相,傅里叶变换显微红外光谱仪(VERTEX 70, 德国 Bruker 公司)表征表面生成物的官能团。其中模拟体液浸泡实验按照 Tadashi Kokubo<sup>[14]</sup>报道的实验方法,每隔 2 d 更换 1 次模拟体液,浸泡所用模拟体液的体积  $V_s$ (mL)与样品的表面积  $S_a$ (mm<sup>2</sup>)关系为:  $V_s=S_a/10$ 。

## 2 实验结果

### 2.1 预处理后样品表征

钽经过预处理后的表面形貌见图 1。由图 1 可以发现, A1 表面无明显变化,仍可看出基体的打磨划痕,

A2 表面已生成一层凝胶层。随碱液浓度提高, A3 和 A4 样品表面凝胶层越来越厚,基体的打磨划痕逐渐被遮盖。当碱液浓度提升至 1 mol/L 时,凝胶层厚度增大到一定程度后出现了裂纹(图 1e),当经过 1.5 mol/L 的碱液处理后,裂纹增大,凝胶层开始发生脱落(图 1f)。

表 1 样品编号及处理过程

Table 1 Number and treatment process of samples		
Sample	Alkali treatment/mol·L <sup>-1</sup>	Pre-calcification
A1	0.1	No
A2	0.3	No
A3	0.5	No
A4	0.7	No
A5	1.0	No
A6	1.5	No
B1	0.5	Yes
B2	0.7	Yes

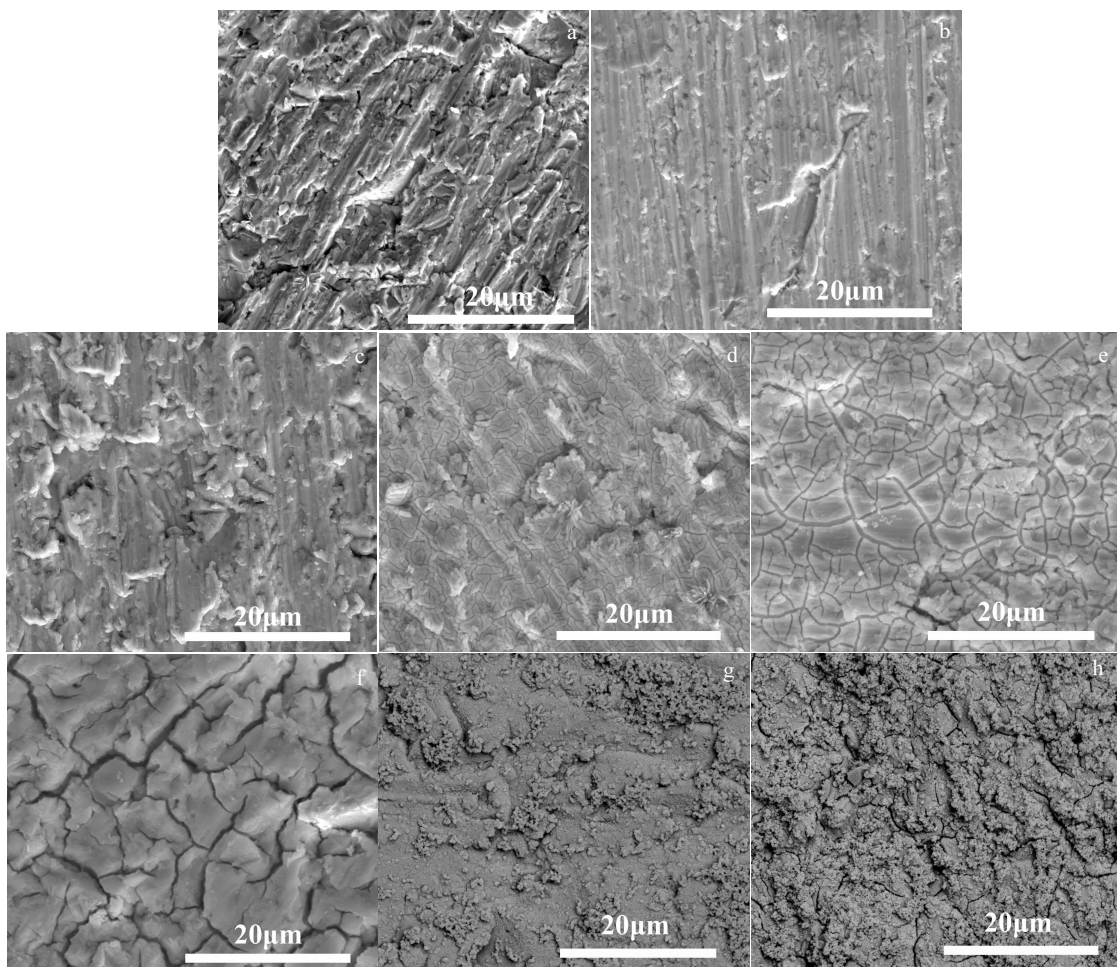


图 1 预处理后样品的 SEM 照片

Fig.1 SEM images of pretreated samples: (a) A1, (b) A2, (c) A3, (d) A4, (e) A5, (f) A6, (g) B1, and (h) B2

图 1g 和图 1h 为 B 组预钙化样品表面形貌。由图可以发现，碱处理后再经预钙化处理，在凝胶层表面生成了许多细小的微米级颗粒，B2 比 B1 表面具有更多的颗粒。颗粒物的 EDX 分析结果见表 2。表明微米级颗粒由 Ca、P、O 3 种元素组成，为钙磷氧化物。

预处理后 A 组样品的表面 EDX 面扫结果见表 3。从表中可以发现，样品表面层由 Ta、O、Na 3 种元素组成。有研究表明<sup>[15]</sup>，钽经过低浓度 NaOH 碱处理，会在表面形成钽钠氧凝胶层，当碱浓度升高 5 mol/L，表面生成物转变为钽酸钠晶体，钽酸钠晶体不具备生物活性。在本实验中，随着碱液浓度提高，表面层中钠元素的比例不断提高，钽含量降低。原因是低浓度

表 2 B 组样品表面颗粒物 EDX 元素成分

Sample	ω/%				at%			
	O	P	Ca	Ta	O	P	Ca	Ta
B1	41.29	23.69	5.33	29.70	70.85	21.00	3.65	4.51
B2	44.33	11.83	8.96	34.89	77.64	10.70	6.26	5.40

表 3 A 组样品表面 EDX 元素成分

Element	A1	A2	A3	A4	A5	A6
O	28.57	19.54	31.41	36.32	37.72	43.24
Na	6.40	9.16	13.01	16.04	20.77	23.27
Ta	65.03	71.30	55.58	47.64	41.50	33.49

碱处理表面凝胶层较薄，能谱射线可以穿透凝胶层到达基体，导致结果中含有钽基体成分，随碱处理浓度提高，凝胶层变厚，对基体影响越来越弱，所以钽的元素比例也逐渐降低。

2.2 样品表面活性表征

由预处理后样品表面形貌(图 1e 和图 1f)可以发现，经过 1.0 mol/L(A5)和 1.5 mol/L(A6)碱处理后的样品表面凝胶层发生开裂和脱落，不利于植入体的稳定性，所以仅对其余几组样品进行模拟体液浸泡实验，以对比样品的生物活性。

在 SBF 中浸泡 14 d 后样品表面形貌见图 2。A1 表面仅有少量颗粒物生成，元素成分为 Ca、O；A2 表面已经生成了一层新物质，但没有完全覆盖样品表面，且厚度较薄。A3、A4 表面生成物已完全覆盖样品表面，且有一定厚度，图中的生成物层开裂是由于表面生成物较厚，在制样过程中由于真空干燥所致。B1、B2 表面同样被新生物物质层完全覆盖。各样品表面生成物的钙磷原子比见表 4，其中除了 A1、A2 表面生成物钙磷比例与人体骨(1.66)相差较大，其余样品均接近 1.66。

经过 14 d SBF 浸泡后，样品表面生成物的 XRD 图谱见图 3。A3、A4、B1、B2 表面除了基体钽的峰外，均含有羟基磷灰石相。说明经过 14 d SBF 浸泡，样品表面均生成了一定厚度的羟基磷灰石层。A3 和 A4 表面还含有少量 Ca<sub>2</sub>Ta<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 相。

图 4 为样品表面生成物的红外吸收光谱图。波数为 601 和 1090 cm<sup>-1</sup> 的峰为 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 基团的红外吸收峰，

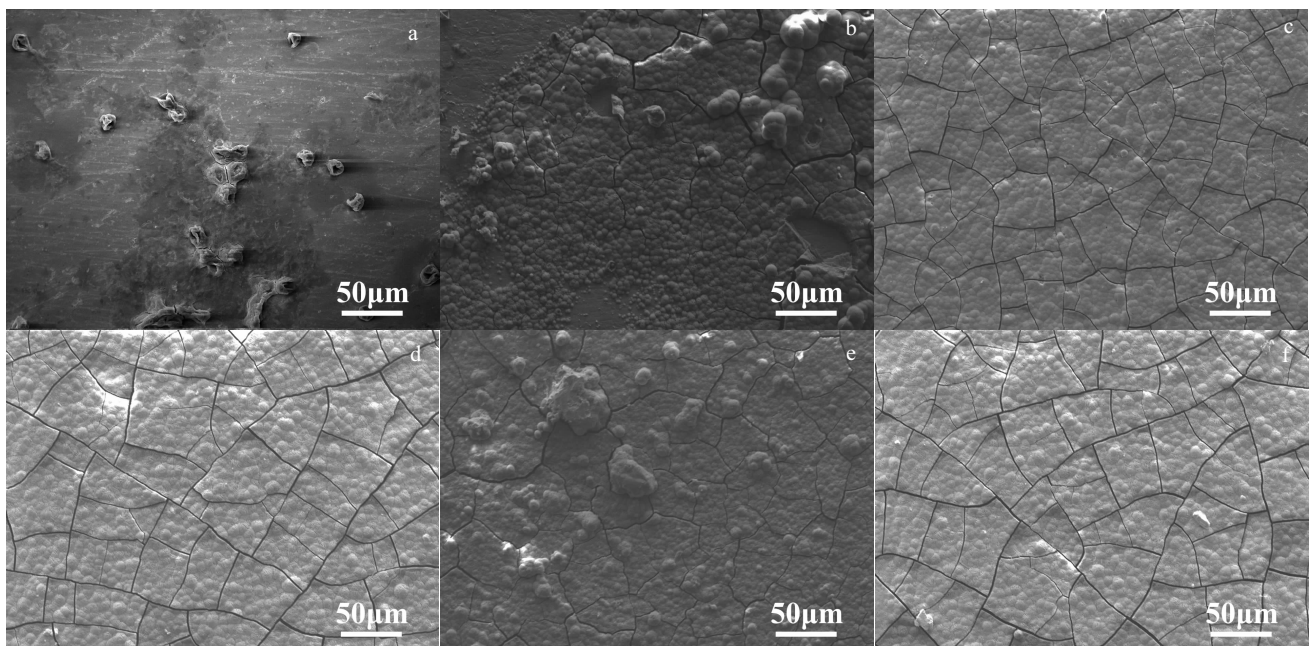


图 2 SBF 浸泡 14 d 后样品 SEM 形貌

Fig.2 SEM images of samples in SBF for 14 d: (a) A1, (b) A2, (c) A3, (d) A4, (e) B1, and (f) B2

表 4 样品在 SBF 浸泡 14 d 后表面 Ca/P 原子比

Table 4 Ca/P atomic ratio of samples surface in SBF for 14 d

Sample	A1	A2	A3	A4	B1	B2
Ca/P	Without P	8.37	1.84	1.78	1.72	1.71

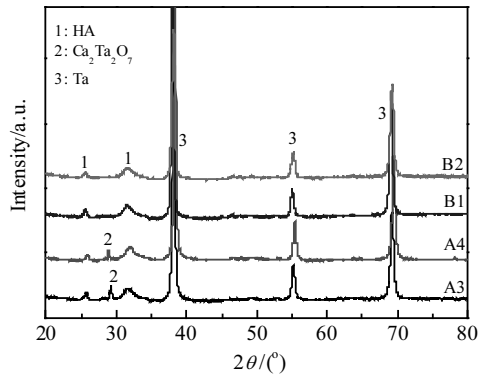


图 3 模拟体液浸泡 14 d 后样品 XRD 图谱

Fig.3 XRD patterns of samples in SBF for 14 d

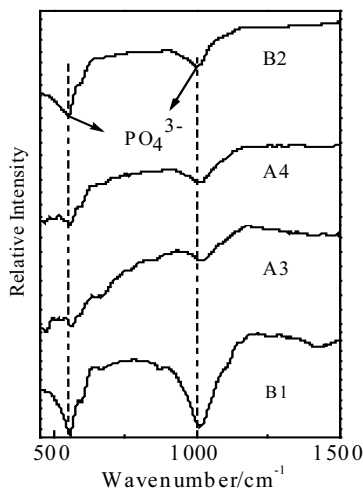


图 4 样品红外吸收光谱图

Fig.4 Infrared absorption spectrum of samples in SBF for 14 d

可判断 A3、A4、B1、B2 表面生成物均含有  $PO_4^{3-}$ ，结合图 3 的 XRD 结果可知， $PO_4^{3-}$  来自羟基磷灰石。由于 B 组样品表面生成的磷灰石层更厚，所以特征峰较 A 组样品更加明显。

为研究预钙化处理对钽表面生物活性的影响，将 A3、A4、B1、B2 分别在 SBF 中浸泡 4 d，观察表面生成物形貌。图 5 为样品在 SBF 中浸泡 4 d 后的表面形貌，生成物元素组成见表 5。

A3、A4 样品未经过预钙化处理，浸泡 4 d 后表面无类骨磷灰石层生成。生成物元素组成含有一定量钙

元素、无磷元素，说明在羟基磷灰石的形成过程中，钙元素最先在样品表面吸附，然后再吸附磷元素。这与表 4 中 A1 表面生成物无磷元素和 A2 表面生成物钙元素含量远高于磷元素的结果相吻合。

B1、B2 在 SBF 中浸泡 4 d 后，表面已被磷灰石层覆盖。B1 样品的表面生成物钙磷比为 1.7，B2 样品的表面生成物钙磷比为 1.8，均接近羟基磷灰石的 1.6。B2 样品表面能谱已经检测不到基体钽元素，说明 B2 样品表面的类骨磷灰石层最厚。

图 5e 和图 5f 分别为 B1 和 B2 表面类骨磷灰石的局部放大照片。从图中可以发现生成的类骨磷灰石并非致密结构而是一种纳米多孔形貌，纳米形貌有利于增大样品的比表面积，同时有利于细胞在其表面铺展生长，促进成骨细胞的增殖和分化<sup>[16]</sup>，缩短手术后愈合时间。

图 6 为样品在 SBF 浸泡 4 d 后表面生成物的 XRD 图谱。结果显示 B1 和 B2 表面生成物为 HA，而 A 组样品无 HA 形成。

综合上述实验结果证明，相比单一碱处理，预钙化处理后的钽具有更高的生物活性。

### 3 讨论

模拟体液浸泡实验是评价植入材料生物活性的一种简便、有效的方法。若材料在 SBF 中浸泡后，表面能生成一层类骨磷灰石，则证明这种植入材料具有生物活性。生成类骨磷灰石需要的时间越短，说明活性越大<sup>[14]</sup>。

A 组样品在 SBF 中浸泡 14 d 后，均有一定量的类骨磷灰石生成，随着碱处理浓度提高，生成的类骨磷灰石层越厚。但是当 NaOH 的浓度达到 1.0 mol/L 后，预处理后的样品表面生成物已经开始脱落，不再适合作为植入材料。所以，碱处理的浓度最好控制在 1.0 mol/L 以下，即 0.7 mol/L。

碱处理提高钽的生物活性的机理如图 7 所示：钽经过碱处理以后，会在表面生成一层钽钠氧凝胶层<sup>[15]</sup>，当样品浸入 SBF 中，凝胶层释放  $Na^+$ ，与  $H_3O^+$  发生置换，使样品表面形成 Ta-OH 官能团，同时置换反应导致模拟体液中  $OH^-$  浓度提高，增加了溶液中羟基磷灰石的离子活度，高的离子活度有利于羟基磷灰石的形核和生长<sup>[17]</sup>。Ta-OH 官能团带负电荷，通过库仑引力吸引带正电荷的  $Ca^{2+}$  从而形成钽酸钙，从表 4 能谱结果和图 3 的 XRD 结果可以发现钙元素优先被吸附，当  $Ca^{2+}$  积累到一定程度后，样品表面带正电荷，继而吸附  $PO_4^{3-}$ ，大量的  $Ca^{2+}$  和  $PO_4^{3-}$  相遇，生成磷酸钙盐，此时羟基磷灰石完成了形核过程。

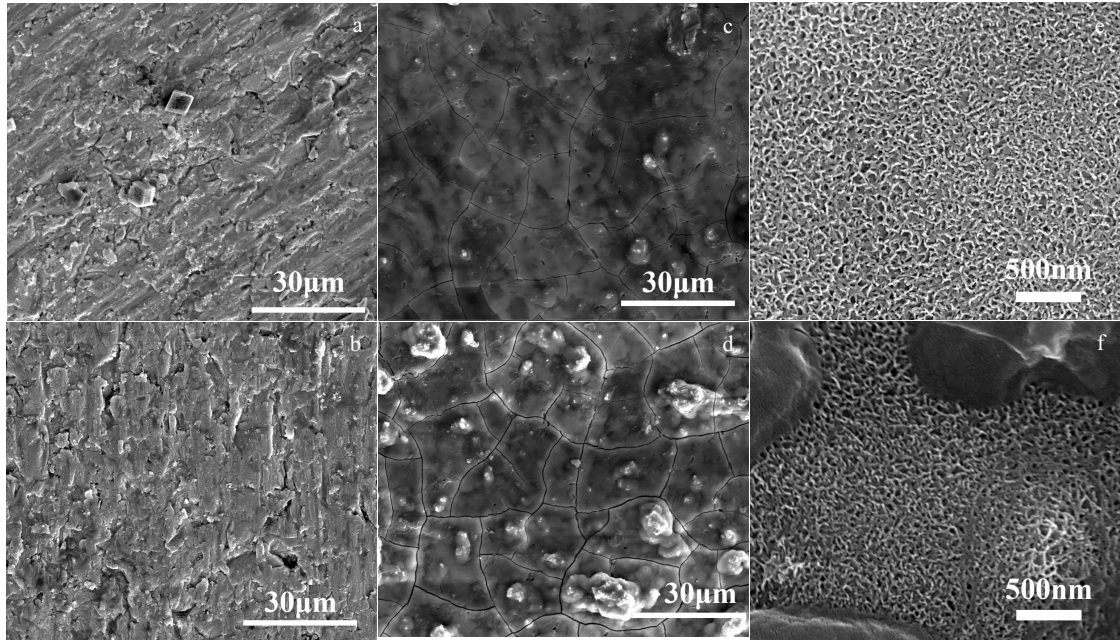


图 5 SBF 浸泡 4 d 后样品形貌

Fig.5 SEM images of samples in SBF for 4 d: (a) A3, (b) A4, (c, e) B1, and (d, f) B2

表 5 SBF 浸泡 4 d 样品表面元素成分

**Table 5 Composition of samples in SBF for 4 d (at%)**

Sample	Ca	P	C	O	Ta
A3	17.71	None	21.27	24.10	36.92
A4	19.17	None	None	46.04	34.79
B1	36.67	21.58	7.80	29.82	4.13
B2	38.22	21.23	7.36	33.19	None

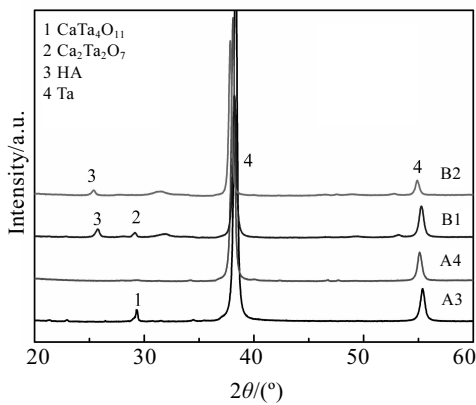


图 6 SBF 浸泡 4 d 后样品 XRD 图谱

Fig.6 XRD patterns of samples in SBF for 4 d

SBF 是羟基磷灰石的过饱和溶液<sup>[18]</sup>，一旦形核完成，羟基磷灰石在核的基础上就会自发生长。所以，提高钽生物活性的关键是让钽在 SBF 中最短时间内完成羟基磷灰石的形核过程。

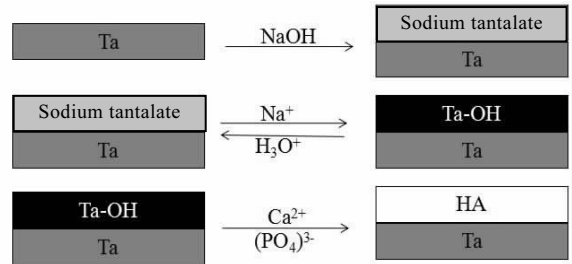
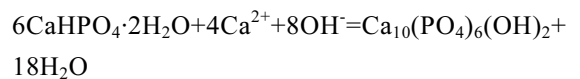


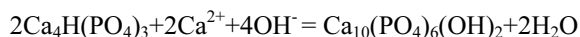
图 7 碱处理活化机理示意图

Fig.7 Mechanism of alkali treatment activation

碱处理后的预钙化，能使钽在该过程中迅速完成钙磷化合物的形核。在预钙化过程中，Ta-OH 官能团通过静电引力优先吸附带正电荷的 Ca<sup>2+</sup>，使样品表面形成正电荷。当继续用 1 mol/L 的 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 溶液浸泡时，表面立即吸引带负电荷的 HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>，从而使样品表面在短时间内完成钙磷化合物形核，形成钙磷颗粒物，如图 1g 和图 1h 所示。

SBF 是 HA 的过饱和溶液，在 SBF 中 HA 是热力学上最稳定的钙磷化合物，所以表面含有钙磷颗粒物的钽浸入 SBF 后，已形核的钙磷化合物会被诱导转变为 HA<sup>[18]</sup>，从而大大缩短了 HA 的形核时间，提高钽的生物活性。具体化学反应式如下：





从图 5 可发现, 经碱和预钙化两步处理的样品在 SBF 中浸泡 4 d, 其表面已完全被类骨磷灰石所覆盖。仅经过碱处理的样品, 其表面无新物质生成, 元素分析结果表明样品表面仅含有钙元素、无磷元素, 说明此时还未完成羟基磷灰石的形核过程。

据报道<sup>[14]</sup>, 钽在 SBF 中形成 HA 需 4 周时间, 经适当的碱处理后, 形成 HA 的时间可以缩短到 1 周。本研究中, 探索了对钽进行碱处理活化的最佳工艺参数, 同时进一步采用碱处理后加预钙化的方法, 使钽在 SBF 中浸泡 4 d 即在表面生成一层 HA, 使钽在更短时间内与周围骨组织形成骨性结合。此外, 钽表面生成的 HA 层是一种生物活性材料, 由图 5e 和图 5f 可以看出生成的 HA 具有纳米多孔结构, 据报道<sup>[15]</sup>, 纳米多孔形貌是植入体表面的一种理想结构, 它能促进成骨细胞的增殖和分化, 从而缩短手术后的愈合时间。

## 4 结 论

1) 综合考虑钽的生物活性和活性层稳定性, 对钽进行 NaOH 碱处理的最佳浓度为 0.7 mol/L。

2) 碱处理后的钽在 SBF 中形成 HA 时, 优先吸附钙元素, 其次吸附磷元素。

3) 预钙化后, 钽表面可形成许多钙磷颗粒物, 可大幅提高钽的生物活性。

### 参考文献 References

- [1] Guo Min(郭敏), Zheng Yufeng(郑玉峰). *Chinese Orthopaedic Journal of Clinical and Basic Research*(中国骨科临床与基础研究杂志)[J], 2013(1): 47
- [2] Geng Lixin(耿丽鑫), Li Qijia(李琪佳). *The Journal of*

- Practical Medicine*(实用医学杂志)[J], 2014(14): 2328
- [3] Ying Ming(应明). *Orthopaedic Biomechanics Materials and Clinical Study*(生物骨科材料与临床研究)[J], 2006(2): 1
- [4] Tsao A K, Roberson J R, Christie M J et al. *Journal of Bone and Joint Surgery*[J], 2005, 87(2): 22
- [5] Gruen T A, Poggie R A, Lewallen D G et al. *The Journal of Arthroplasty*[J], 2005, 20(3): 369
- [6] Wigfield C, Robertson J, Gill S et al. *British Journal of Neurosurgery*[J], 2003, 17(5): 418
- [7] Massè A, Aprato A, Turchetto L et al. *Techniques in Orthopaedics*[J], 2015, 30(4): 269
- [8] Jones J R. *Acta Biomaterialia*[J], 2015, 23: S53
- [9] Sailer I, Philipp A, Zembic A et al. *Clinical Oral Implants Research*[J], 2009, 20(4): 4
- [10] Fathi M H, Azam F. *Materials Letters*[J], 2007, 61(4-5): 1238
- [11] Roy M, Balla V K, Bose S et al. *Advanced Engineering Materials*[J], 2010, 12(11): B637
- [12] Khor K A, Gu Y W, Quek C H et al. *Surface & Coatings Technology*[J], 2003, 168(2):195
- [13] Lusquiños F, Pou J, Arias J L et al. *Journal of Applied Physics*[J], 2001, 90(8): 4231
- [14] Kokubo T, Takadama H. *Biomaterials*[J], 2006, 27(15): 2907
- [15] Miyazaki T, Kim H M, Miyaji F et al. *Journal of Biomedical Materials Research*[J], 2000, 50(1): 35
- [16] Zhang L, Webster T J. *Nano Today*[J], 2009, 4(1): 6
- [17] Kokubo T, Matsushita T, Takadama H et al. *Journal of the European Ceramic Society*[J], 2009, 29(7): 1267
- [18] Wang Yong(王勇), Gao Jiacheng(高家诚), Zhang Yaping(张亚平) et al. *Rare Metal Materials and Engineering*(稀有金属材料与工程)[J], 2004, 33(4): 397

## Enhancement of the Bioactivity of Tantalum by Pre-Calcification

Wang Wenkai, Hu Shubing

(State Key Laboratory of Material Processing and Die & Mould Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

**Abstract:** In order to improve the bioactivity of tantalum, NaOH solution was applied to tantalum, and the optimal concentration of alkali treatment was explored by simulating somatic fluid (SBF) soaking experiment. Alkali-treated tantalum was pre-calcified in  $\text{CaCl}_2$  solution and  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  solution. After tantalum was treated by 0.7 mol/L alkali and soaked in SBF for 2 weeks, the surface can be covered with hydroxyapatite. After pre-calcification, tantalum was soaked in SBF for 4 d, and then the surface can be covered with a layer of hydroxyapatite, indicating that pre-calcification substantially increases the bioactivity of tantalum. The mechanism is that pre-calcification can make the sample surface quickly complete the nucleation of calcium and phosphorus compounds, and hydroxyapatite can grow rapidly after immersion in SBF.

**Key words:** tantalum; alkali treatment; pre-calcification; apatite

Corresponding author: Hu Shubing, Ph. D., Professor, State Key Laboratory of Material Processing and Die & Mould Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, P. R. China, Tel: 0086-27-87540057, E-mail: hushubing@163.com