

等离子体改性的4种口腔陶瓷的生物学性能研究

Biological Performance of Four Dental Ceramics Modified by Cold Plasma

苏葆辉/SU Bao-hui¹, 冉均国/RAN Jun-guo¹, 苏葆月/SU Bao-yue²

1. 四川大学生物医学工程中心, 成都 610065

2. 中国石油集团工程设计有限责任公司西南分公司, 成都 610017

1. Postdoctoral Station of Biomedical Engineering Center, Sichuan University, Chengdu 610065, China

2. China Petroleum Engineering (Southwest) Co., Ltd., Chengdu 610017, China

[摘要] 用等离子体活化改性口腔陶瓷材料 BGC、HA、 β -TCP 和双相磷酸钙陶瓷,并用模拟体液(SBF)中类骨磷灰石的形成、体外成骨细胞培养、SEM、XPS、XRD 等对其进行表征。结果发现:与活化改性前相比较,等离子体活化改性后的口腔陶瓷材料更有利于类骨磷灰石的形成,并能促进成骨细胞的增殖。活化机理是等离子体中丰富的高能、高活性的粒子轰击材料,使其被刻蚀和粗化,增加了表面的溶解性和提供了更多的活性位点,易使局部的钙、磷离子浓度达到过饱和,更有利于类骨磷灰石的成核和生长。表明等离子体改性提高了口腔陶瓷材料的活性。

[关键词] 口腔医学, 口腔材料, 低温等离子体, 类骨磷灰石

[中图分类号] R783.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-7857(2006)01-0031-04

Abstract: BGC, HA, β -TCP and biphasic calcium phosphate (β -TCP/HA) are modified by using the cold plasma technique in the present study. The study results come from the formation of bone-like apatite in SBF and results of osteoblast culture in vitro, SEM, XPS, and XRD. The results show that the formation of bone-like apatite on dental ceramics modified by cold plasma is easier than that of no modification and the growth of osteoblast can be promoted. The active mechanism is that impact on dental ceramics by means of the particles with high energy and high activity leads to rough and etched surface of ceramics, as well as the distortion of ceramics crystal, which increases solubility of materials and local concentration of Ca and P ions. It is helpful for the formation of bone-like apatite. It is shown that the modification using cold plasma technique can increase the activity of dental ceramics.

Key Words: stomatology, dental material, cold plasma, bone-like apatite

CLC Number: R783.1

Document Code: A

Article ID: 1000-7857(2006)01-0031-04

1 引言

自从美国 Hench 教授提出生物活性概念后, 提高硬组织修复陶瓷材料的生物活性就成为生物材料发展的一个重要方向。国内外科学家在材料“生物活化改性”和“提高材料的生物活性”上开展了广泛的研究。有的是改变材料的组成和结构来活化改性, 更多的是复合生物活性物质来增加生物活性。我们在不改变口腔陶瓷成分、结构和不引入生物活性物质的情况下, 只用等离子体处理口腔陶瓷来提高材料的生物活性。

材料表面类骨磷灰石的形成是研究材料生物活性的前沿课题。Gemine M 等报道, 磷酸钙陶瓷植入动物体后, 在表面首先形成类骨磷灰石层, 它对骨的形成起了非常重要的作用。Ducheyne P 报道, 材料表面形成的类骨磷灰石增强了细胞的黏附, 促进成骨细胞的功能。De Bruijn 等认为, 生物材料上类骨磷灰石层的形成, 是因为它具有骨诱导性的先决条件^[1-3]。通过 30 多年对生物活性材料界面骨形成机理的研究, 多数研究者认为, 具有生物活

性的含碳羟基磷灰石(HCA)表面层的形成是材料是否具有生物活性的关键因素^[4-6]。于是, 我们用低温等离子体改性后的口腔陶瓷在模拟体液中类骨磷灰石形成的能力来评价改性后材料的生物活性, 探讨活化改性机理。

2 实验

2.1 材料

材料为玻璃陶瓷(BGC)、羟基磷灰石(HA)、 β -磷酸三钙(β -TCP)和双相磷酸钙陶瓷(β -TCP/HA)。模拟体液(SBF)的配制: 模拟体液其主要成分与人体血浆的无机成分基本相同^[7], 用三羟甲基氨基甲烷和 1 ml 盐酸溶液, 调其 pH 为 7.4。其它还有 MIT 溶液、含 10% 胎牛血清 RPMI 1640 培养液、0.25% 胰蛋白酶、二甲亚砜(DMSO)(分析纯)。

2.2 设备

电容耦合射频等离子体装置(四川大学无机材料系自制); 光

收稿日期: 2005-06-24

作者简介: 苏葆辉, 女, 成都市一环路南一段 24 号四川大学生物医学工程中心, 副教授, 主要研究方向为口腔医学、生物医学工程;

E-mail: sbh1004@163.com

电子能谱测试仪:XSAM-800型,英国KRATOS公司;AL靶12KV $\times$ 5mA,真空度 1.0×10^{-5} Pa;Philips/MPD多功能粉末衍射仪,CaK α =1.5405Å,40Kv,40mA;石墨弯晶单色器,步长0.01s,每步停留时间0.5s,为增强X光的平行度和提高样品衍射强度,采用平行入射光路,衍射线使用平板式正比计数器接收;水浴恒温振荡器:SHY-2A型,江苏制造。二氧化碳孵箱:型号SHEL-LAB;倒置显微镜:型号,OLYMPUS IM;酶联免疫检测仪:DG3022。

2.3 方法

将口腔陶瓷颗粒0.5g装入专用模具内,用压机在10MPa下保持3min,制成 ϕ 10mm的圆片,然后在800℃下烧制,用粗砂纸磨平和粗化表面,便于等离子体活化改性和评价。将陶瓷片状材料置入低温等离子体反应器中,工作气体为N₂,NH₃,选用最佳工艺参数^[8]处理。处理后和未处理的同种片状材料置于30ml配好的1.5SBF(1.5SBF为SBF的浓度增加到150%)溶液中。37℃水浴震荡。7d、14d分别取出,用去离子水洗涤数次,80℃烘干待测。用扫描电子显微镜(SEM)观察浸泡前后、低温等离子体处

理前后样品表面的变化,浸泡后表面形成物的化学组成和相组成由X光电子能谱测试仪(XPS)和X射线衍射仪(XRD)测定,来研究类骨磷灰石的形成。用体外成骨细胞培养评价材料的生物学性能。

3 结果与讨论

3.1 口腔陶瓷在SBF中类骨磷灰石的形成机制

在模拟体液中磷酸钙陶瓷上形成类骨磷灰石的过程是一个先溶解、后沉积的过程。这一过程可分为以下两个阶段:①晶核形成阶段;②晶体生长阶段。第一阶段通常是一个非均匀成核过程,SBF的离子浓度相对于磷酸钙是过饱和的,其浓度足以使晶核生长变大,但不足以使磷酸钙晶核形成。只有磷酸钙陶瓷表面溶解出Ca²⁺、HPO₄²⁻、PO₄³⁻,使模拟体液中钙、磷离子浓度增加到一定值时才能形成晶核。因此材料表面类骨磷灰石形成的影响因素中,钙、磷离子的浓度是成核的关键因素之一。晶核一旦形成即迅速长大。

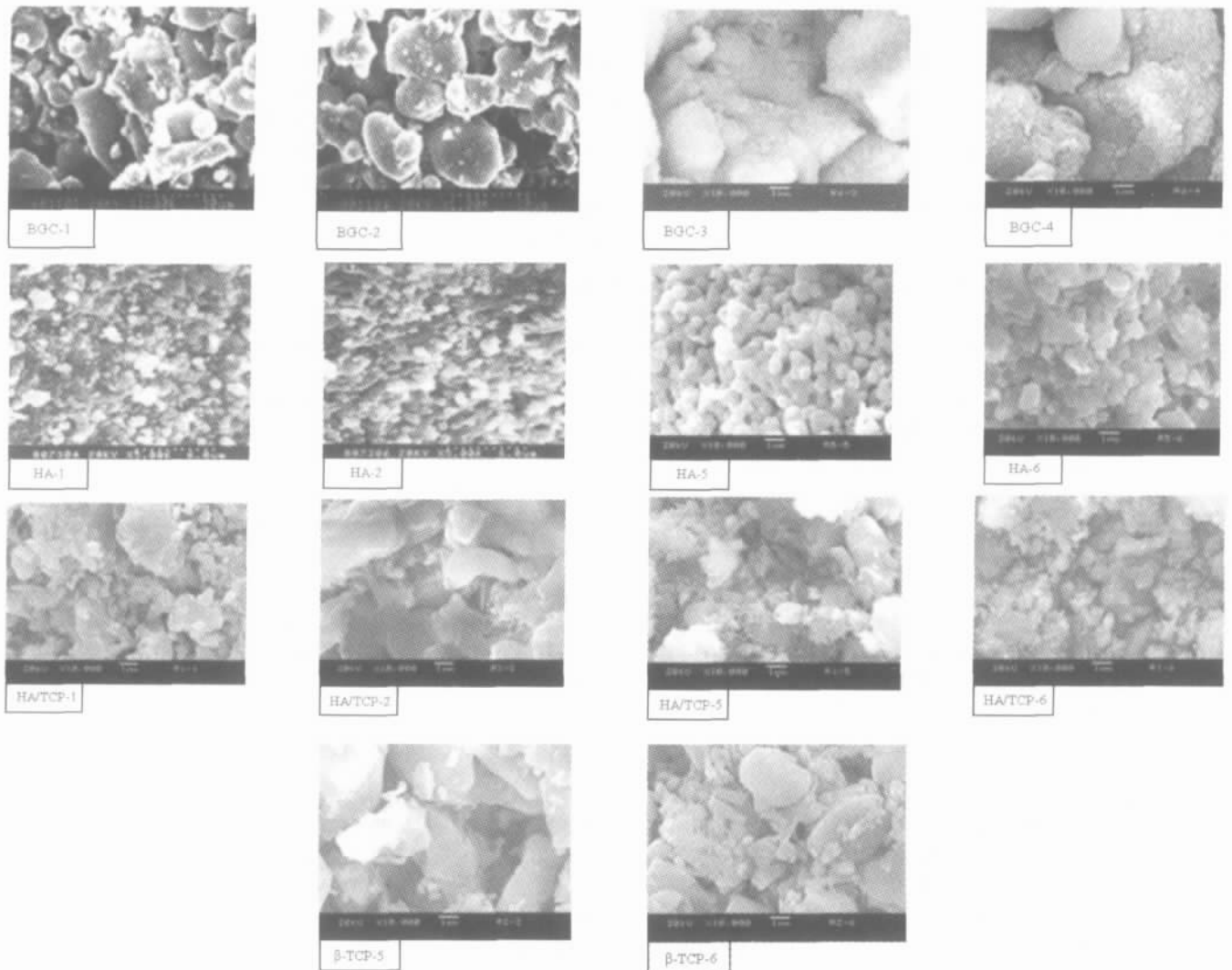


图1 BGC、HA、HA/TCP、 β TCP 的 SEM 图片

注:1.处理前;2.处理后;3.处理前,浸泡7d;4.处理后,浸泡7d;5.处理前,浸泡14d;6.处理后,浸泡14d

Fig.1 SEM pictures of BGC, HA, β TCP, HA/TCP

1.Before modification; 2. After modification; 3. Before modification, after immersion for 7 d; 4. After modification, after immersion for 7 d; 5. Before modification, after immersion for 14 d; 6. After modification, after immersion for 14 d.

3.2 等离子体处理前后和浸泡前后表面形貌的变化

许多研究表明,固相颗粒表面的原子溶解于液相,其溶解度是随温度和颗粒的形状、大小而改变的。液相对于小颗粒有较大的饱和溶解度,小颗粒先溶解,颗粒表面棱角和凸起部位也优先溶解。因等离子体轰击和刻蚀后的表面凹凸程度增大、粗糙度增加、颗粒减小,都有利于溶解度增加,提高了凹陷区域钙、磷离子浓度,促进了类骨磷灰石的成核和生长。

等离子体处理前后 BGC 表面形貌的变化如图 1 (BGC-1、BGC-2) 所示。从 SEM 照片中,我们发现:处理前 BGC 的晶粒之间结合得较致密,只有几个微米的小孔隙;处理后表面被刻蚀而变稀疏,小孔隙变大,生成许多 10~20 nm 的孔隙,形成凹凸不平的粗糙表面,增加了表面积,相应增加了表面能,有利于 BGC 中的硅灰石、磷灰石和玻璃相的溶解(降解),也为晶核的形成和晶体的生长提供了一个有利的环境。BGC 在 SBF 中浸泡前后表面形貌的变化如图 1 (BGC-3、BGC-4) 所示,浸泡 7 d 后,处理前的材料表面只有较少颗粒状沉积物;处理后材料表面孔壁晶粒上有很多粒状聚集团团的沉积物堆积在一起,并且在材料表面凹陷处沉积得更多。

等离子体处理前后 HA 表面形貌的变化如图 1 (HA-1、HA-2) 所示:处理前 HA 的晶粒之间结合得较致密;处理后表面被刻蚀而变稀疏,生成许多凹凸不平的粗糙表面。HA 在 SBF 中浸泡前后表面形貌的变化如图 1 (HA-5、HA-6) 所示:浸泡 14 d 后,处理前的材料表面只有极少颗粒状沉积物;处理后材料表面有很多的层状沉积物堆积在一起,并且在材料表面的凹陷处沉积物更多。

等离子体处理前的 β -TCP 在 SBF 中浸泡 14 d,如图 1 (β -TCP-5)。材料表面沉积类骨磷灰石较少,晶粒也比较小;而经等离子体处理后的材料如图 1 (β -TCP-6),表面生成许多晶粒较大的类骨磷灰石晶体,并且在材料表面凹陷处沉积了更多的晶体。

等离子体处理前后双相磷酸钙陶瓷表面形貌的变化如图 1 (HA/TCP-1、HA/TCP-2) 所示。材料处理后表面变稀疏,凹陷增大变粗糙。材料在 SBF 中浸泡前后表面形貌的变化如图 1 (HA/TCP-5、HA/TCP-6) 所示,浸泡 14 d,处理前的材料表面有较多的针状、棒状沉积物;处理后材料表面沉积了更多的针状、棒状沉积物,并且在材料表面的凹陷和裂纹处沉积物更多。

综上所述,经低温等离子体处理后的 4 种口腔陶瓷材料在 SBF 中浸泡形成的类骨磷灰石都比表面未改性的材料多。可见低温等离子体处理口腔陶瓷更有利于类骨磷灰石的形成,可使材料的生物学活性增强。

3.3 浸泡前后表面组成和结构的变化

3.3.1 用 XPS 评价等离子体活化改性的效果

结果见表 1。材料浸泡后 C 元素明显增加,浸泡后 C 元素包络峰可分解成 3 个峰,分别与 C-C、C-O、C-O-C 键相对应,而且等离子体处理后的材料比未处理的碳元素强度增加更明显(如 BGC:1 136.1 升为 2 522.5)。表明,材料浸泡后表面的化学成分发生了改变,其表面形成了含 CO_3^{2-} 的类骨磷灰石。XPS 测试结果也表明,经等离子体处理后的材料比未处理的材料表面形成的类骨磷灰石更多,表面改性提高了材料的生物活性,有利于骨的形成和生长。

表 1 口腔陶瓷在 SBF 中浸泡后的 XPS 的碳含量变化

Tbl. 1 Changes of XPS for dental ceramics after immersion in SBF

item	BGC		HA		β -TCP		β -TCP/HA	
	Area	%	Area	%	Area	%	Area	%
1	1 136.1	31	1 607.9	35	1 142.2	35	1 544.1	43
2	2 522.5	69	3 023.5	65	2 118.7	65	2 075.1	57

Note: 1. Before modification; 2. After modification

3.3.2 用 XRD 评价等离子体活化改性的效果

结果见表 2。

从等离子体处理前后的衍射线强度定性对比可以清楚地看

表 2 低温等离子体处理前后的口腔陶瓷的 XRD 结果

Tbl. 2 The results of XRD for dental ceramics before/after modification

item	Pos	Height	FWHM	d-spacing	Rel.int
BGC	1 29.032 5	10.39	1.283 4	3.073 15	18.31
	31.667 3	56.74	0.345 5	2.823 21	100.00
	32.883 5	45.28	0.396 7	2.721 52	79.81
	2 28.861 8	3.48	0.471 4	3.090 94	20.14
	31.689 2	17.30	0.543 1	2.821 31	100.00
HA	32.685 0	5.62	0.427 4	2.737 59	32.47
	1 31.828 3	50.27	0.501 1	2.809 29	100.00
	2 31.784 6	43.68	0.314 9	2.813 06	100.00
β -TCP	1 30.982 3	57.54	0.305 2	2.884 04	100.00
	2 31.010 4	28.31	0.265 0	2.881 49	100.00
β -TCP/HA	1 30.933 8	18.20	0.302 0	2.888 46	30.83
	31.757 9	59.04	0.342 0	2.815 36	100.00
	2 30.951 1	8.20	0.406 3	2.886 88	20.82
	31.753 3	39.39	0.318 7	2.815 76	100.00

Note: 1. Before modification; 2. After modification

出,处理后峰的强度减少明显,可以认为等离子体中高能粒子轰击使晶体中点阵内原子偏离理想位置,使衍射强度降低。说明点阵内存在点阵畸变应力(第三类应力),此类应力的影响与热运动使原子偏离理想位置对强度影响相类似。这种畸变应力产生的晶格缺陷活化了生物陶瓷的表面,一方面可增加材料的溶解性,使钙、磷离子浓度增加,有利于类骨磷灰石的成核和生长;另一方面晶格缺陷降低了成核自由能,提供了许多活化位点,有利于类骨磷灰石的成核和生长,说明等离子体处理能提高材料的生物学活性。

材料表面沉积物的 XPS、XRD 结果表明,陶瓷表面生成物是碳酸磷灰石,它对骨的形成和生长非常有利。

3.4 体外成骨细胞培养评价口腔陶瓷的生物学活性

体外成骨细胞增殖实验发现,培养 2 d 后,镜下可见材料周围有少许细胞游出,呈星形、三角形,并有明显的细胞突。培养 4 d 后,细胞数量明显增多,镜下细胞已布满整个视野;培养 6 d 后,细胞呈集落样生长,集落中心细胞密集,细胞界限不清,周围细胞呈放射状向四周扩散、增长,细胞借突起互相连接成网络状;培养 8 d 后,细胞增殖成复层鳞片状,材料在培养皿中被细胞固定,少量培养皿中有钙化结节出现。增殖实验结果见表 3。

表 3 BGC、HA 增殖实验结果

Tbl. 3 The results of osteoblast proliferation of BGC, HA

Item	2 d	4 d	6 d	8 d
BGC	1 0.16	0.20	0.27	0.53
	2 0.17	0.22	0.35	0.65
HA	1 0.09	0.10	0.13	0.24
	2 0.14	0.17	0.18	0.25

Note: 1. Before modification; 2. After modification

通过细胞形态学观察和增殖实验发现,随着体外培养时间的延长,成骨细胞的数量明显持续增加,这说明口腔陶瓷改性后对细胞无毒性,并且能促进细胞的增殖。同时,我们还发现改性后的材料比未改性的同种材料对成骨细胞的影响大,促进细胞增殖的数量多。统计学分析结果也显示了它们具有显著性差别,说明低温等离子体表面改性材料可使材料生物活性增强。

4 结论

1) 低温等离子体改性口腔陶瓷材料更有利于类骨磷灰石的

近50年博斯腾湖与孔雀河水盐演变过程

Differentiation of Water- salt- interaction in Bostan Lake and Peacock River in Recent Fifty Years

董新光/DONG Xin- guang, 钟瑞森/ZHONG Rui- sen, 刘 丰/LIU Feng

新疆农业大学水利与土木工程学院, 乌鲁木齐 830052

School of Water Conservancy and Civil Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China

[摘要] 系统地收集分析焉耆盆地近50年的水文、气象、水土开发、社会经济等地面数据,从盆地、绿洲区、湖泊湿地等各层次分析博斯腾湖的自然与人为作用的水盐过程。建立绿洲区水土资源开发利用与湖泊湿地演变的量化关系。认为博斯腾湖20世纪50年代就是一个微咸水湖,绿洲区近50年水土开发加剧了博斯腾湖的盐化程度;1982年博斯腾湖西泵站运行,使博斯腾湖由长期处于积盐状态转变为脱盐过程;孔雀河水质从0.45 g/L增加到0.89 g/L。

[关键词] 博斯腾湖,水盐平衡,水土开发,遥感 **[中图分类号]** P641

[文献标识码] A **[文章编号]** 1000-7857(2006)01-0034-04

Abstract: Systematically collecting and analysing the basic data of hydrogeology, meteorology, water- soil development and social economy, we research the interaction of water and salt of Bostan Lake in natural and artificial conditions in aspect of basins, oases, lakes and marshes. In order to establish the quantitative relations between water- soil resource development in oasis and the differentiation of lakes and marshes. We consider that Bostan Lake was a little salt- water lake in late 1950s, and the water- soil development of the oasis has aggravated the salinization in recent fifty years. Since the west pumping station was brought into use in 1982, the Bostan Lake which accumulated salt has begun to be desalted and the peacock river water quality has changed from 0.45 g/L to 0.89 g/L.

Key Words: Bostan Lake, water- salt balance, water- soil development, remote sensing **CLC Number:** P641

Document Code: A **Article ID:** 1000-7857(2006)01-0034-04

收稿日期: 2005-10-31

基金项目: 国家自然科学基金项目资助(40261008)

作者简介: 董新光,男,新疆乌鲁木齐市新疆农业大学水利与土木工程学院,教授,主要从事水资源利用与环境保护研究;

E- mail: xinguangdong@163.com

形成,从而提高陶瓷材料的生物活性。

2) 等离子体活化口腔陶瓷的机理为:①材料经低温等离子体处理后,表面粗化和活性增强,有利于溶解,提高了局域 Ca^{2+} 、 HSiO_3^- 、 HPO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 离子浓度,促进了类骨磷灰石的成核和生长;②材料经低温等离子体处理后,静畸变应力作用产生的晶格缺陷降低了成核自由能,使之成为成核的活性中心,有利于类骨磷灰石的形成。

3) 通过体外成骨细胞培养,证明低温等离子体改性口腔陶瓷能提高材料的生物活性。

(致谢:本课题得到了四川大学青年基金资助,谨表示感谢。)

参考文献(References)

- [1] EL- GHANNAM A E, DUCHEYNE P, SHAPIRO I. Effect of serum protein adsorption on osteoblast adhesion to bioactive glass and hydroxyapatite [J]. Journal of Orthopaedic Research.1999, 17: 340- 345.
- [2] GARCIA A J, DUCHEYNE P, BOETTIGER D. The effect of surface reaction stage on fibronectin- mediated adhesion of osteoblast- like cells to bioactive glass [J]. Journal of Biomedical - 34 -

Materials Research, 1998, 40(1): 48- 56.

- [3] EL- GHANNAM A, DUCHEYNE P, SHAPIRO I M. Bioactive material template for in vitro synthesis of bone [J]. Journal of Biomedical Materials Research, 1995, 20(3): 359- 370.
- [4] HENCH L L, WILSON J. Surface- active biomaterials[J]. Science, 1984, 226:630.
- [5] KOKUBO T. Bioactive glass- ceramics[J]. Properties and Application Biomaterials, 1991, 12:155- 163.
- [6] HENCH L L. The Challenge of Orthopaedic Materials. Current Orthopaedics, 2000El- ghannam AE, Ducheyne P, Shapiro I. Effect of serum protein adsorption on osteoblast adhesion to bioactive glass and hydroxyapatite [J]. Journal of Orthopaedic Research.1999, 17: 340- 345.
- [7] KOKUBO T, ITO S, YAMAMURO T, et al. Ca, P- rich layer formed on high- strength bioactive glass- ceramic A- WJ [J]. Biomedical Materials Research. 1990, 24: 331- 343.
- [8] 苏葆辉,冉均国,等.低温等离子体处理羟基磷灰石提高生物活性的研究[J].稀有金属材料与工程,2002,31(1):491.

(责任编辑 李慧政)