

◇技术与方法◇

牙源性多孔双相生物陶瓷的制备和性能研究

康林¹ 吴海珍¹ 王鑫¹ 陆钰¹ 甘朝兵¹ 王生杰¹ 杨晓勇²

摘要 收集临床上离体牙,经高温煅烧去除有机成分,将其与 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 溶液混合后再次煅烧,制得以羟基磷灰石(HA)和 β -磷酸三钙(β -TCP)为主要成分的双相陶瓷,磨碎过200目筛,用有机泡沫浸渍法制备多孔生物陶瓷,对材料进行物相分析、扫描电镜、孔隙率、元素分析和抗压强度检测。牙源性多孔陶瓷材料呈白色,主要物相为HA和 β -TCP,为大孔/微孔多孔网状结构,孔隙率为74.85%,Ca/P为1.62,抗压强度应为 (3.483 ± 0.321) MPa。

关键词 羟基磷灰石; β -磷酸三钙;有机泡沫;生物陶瓷

中图分类号 R 318;R 783.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)10-1482-03

生物陶瓷材料是指一种置入生物体内并且具有一定功能的陶瓷材料,其中,羟基磷灰石(hydroxyapatite, HA)具有骨传导性^[1],而 β -磷酸三钙(β -tricalcium phosphate, β -TCP)有骨诱导性^[2],将两者进行适量复合制得双相陶瓷生物骨(biphasic ceramic biologic bone, BCBB)具有很好的降解性能及传导成骨作用^[3]。目前国内外BCBB研究多数以猪椎骨为原材料合成制备, Kim^[4]通过煅烧牙齿制备生物材料用于修复骨缺损,证实其成分为HA,术后6~12周观察有新骨形成。赵玫等^[5]用离体牙成功制备出双相陶瓷材料,并通过兔胫骨缺损修复实验观察到成骨现象,表明了材料的成骨性,在此基础上改进工艺,采取有机泡沫浸渍法制备牙源性多孔双相生物陶瓷,增强材料的多孔性能,有望能成为一种更理想的生物陶瓷。

1 材料与方 法

1.1 实验材料 收集临床因各种原因(包括外伤、阻生智齿、牙周病等)拔除的离体牙齿,经过机械处理去除牙石、牙周膜、龋坏和牙髓。

1.2 主要仪器 KSL-4700X-S箱式炉(合肥科晶材料技术有限公司);TTR-III样品水平型大功率X射线粉末衍射仪(日本理学电机公司);SIRION 200肖特基场发射扫描电子显微镜(美国FEI公司);Optima 7300 DV电感耦合等离子体原子发射光谱仪(美国Perkim-Elmer公司);E3000 Instron电子动静态疲劳试验机(英国Instron公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 离体牙的准备 将处理好的离体牙浸泡于5%NaClO溶液中24 h,超声震荡洗涤3次,每次60 min,再用去离子水超声震荡洗涤3次,每次60 min。系列乙醇脱水,60℃烘干1 h。

1.3.2 煅烧过程 将处理好的牙齿置于高温煅烧炉中煅烧,控制煅烧时间和温度,800℃煅烧1 h,自然冷却后,置于0.1 mol/L $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (浓度选择参照Lin et al^[6]的方法)中浸泡24 h,60℃烘干1 h,再置于煅烧炉中800℃煅烧1 h,继续升温至1 150℃,2 h。冷却后在碾钵中手工碾磨,过200目筛,再置于球磨机中磨24 h,收集牙粉。

采取Schwartzwalder et al^[7]发明的有机泡沫浸渍法制备多孔陶瓷,选择50 ppi(pore per inch, ppi)的聚氨酯海绵作为泡沫体,将其裁剪成6 mm×5 mm×5 mm的长方体,浸渍于质量分数为10%的NaOH溶液中,在60℃的条件下,水解15 min。在清水中反复搓揉清洗,除去泡沫上残余碱液,烘干。

根据胡龙等^[8]研究,选用聚乙烯醇缩丁醛(Poly-vinyl butyral, PVB)为粘接剂,无水乙醇为溶剂,取10 g PVB溶于100 ml无水乙醇,磁力搅拌器搅拌4 h形成PVB胶,将40 g牙粉分散于280 ml无水乙醇中,加入16 ml PVB胶,搅拌2 h均匀后形成浸渍浆料。将裁剪好的聚氨酯海绵放入浆料中反复挤压后,去除多余浆料,室温干燥24 h,80℃干燥12 h,在高温煅烧炉中1 250℃下烧结3 h,随炉冷却。

1.4 性能检测

1.4.1 物相分析 对三段不同温度煅烧的材料用样品水平型大功率X射线粉末衍射仪进行物相分析,检测条件为:Cu靶,工作电压40 kV,电流200 mA,扫描范围20°~60°,扫描速度8.0000°/min,单

2014-04-28 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:41090372)

作者单位:¹安徽医科大学解放军临床学院口腔科,合肥 230031

²中国科技大学地球与空间科学学院,合肥 230026

作者简介:康林,男,医师,硕士研究生;

吴海珍,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者, E-

mail: 313808382@qq.com

色化。

1.4.2 扫描电镜 (scanning electron microscope, SEM) 观察 肖特基场发射扫描电子显微镜观察多孔样品的形貌表征, 测量其孔径大小。

1.4.3 孔隙率测定 采用液体静力称重法测定多孔陶瓷材料的孔隙率。具体过程: 选择形态规则的多孔样品, 用游标卡尺精确测量其体积, 记为 V_0 ; 称取制备好的多孔样品材料, 质量记为 W_0 ; 将 5 ml 的比重瓶装满去离子水称重, 记为 W_1 ; 将多孔样品浸入装满去离子水的比重瓶中, 再抽真空, 使水充满多孔材料的每一个孔隙, 然后加满水, 再称重得到 W_2 ; 多孔陶瓷材料的实际体积 V_1 用公式 1 计算; 孔隙率由公式 2 得出。取 10 个样品, 根据公式计算出孔隙率。

$$V_1 = (W_0 + W_1 - W_2) / \rho_{\text{水}} \quad \text{公式 1}$$

$$\text{孔隙率} = (V_0 - V_1) / V_0 \quad \text{公式 2}$$

1.4.4 元素分析 采取电感耦合等离子体原子发射光谱仪分析其元素组成, 计算钙磷比。

1.4.5 抗压强度测试 随机选择 10 块形状规则的多孔陶瓷样品, 游标卡尺准确测量其长、宽、高, 采用 Instron 电子动静态疲劳试验机测验材料的抗压强度。

2 结果

2.1 样品的物相分析 可以得知, 离体牙 800 °C 煅烧后主要物相为 HA, 在 1 150 °C 煅烧后成分发生了变化, 主要是 HA 和 β -TCP, 随着温度的升高, 在 1 250 °C 条件下, 样品中的 β -TCP 衍射峰明显增多。见图 1。

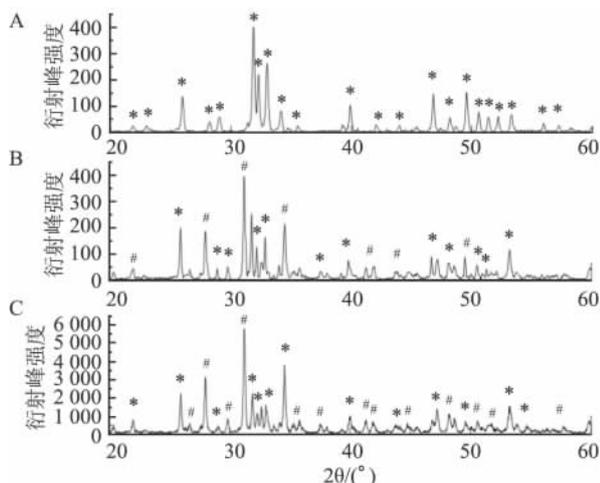


图 1 不同温度煅烧的样品 X 线衍射图样

A: 800 °C; B: 1 150 °C; C: 1 250 °C; * 代表 HA; # 代表 β -TCP

2.2 肉眼及 SEM 观察 肉眼观察到本实验制备的多孔陶瓷样品呈白色块状, 表面可见大小不一的

多孔结构, 见图 2A。SEM 观察此材料孔间相互连通, 构成网状结构, 孔径大小在 100 ~ 800 μm , 见图 2B。放大不同倍数 SEM 观察到内部还存在微孔结构, 孔径大小在 1 ~ 10 μm 范围内, 颗粒之间呈颈部连接特点, 见图 2C ~ F。

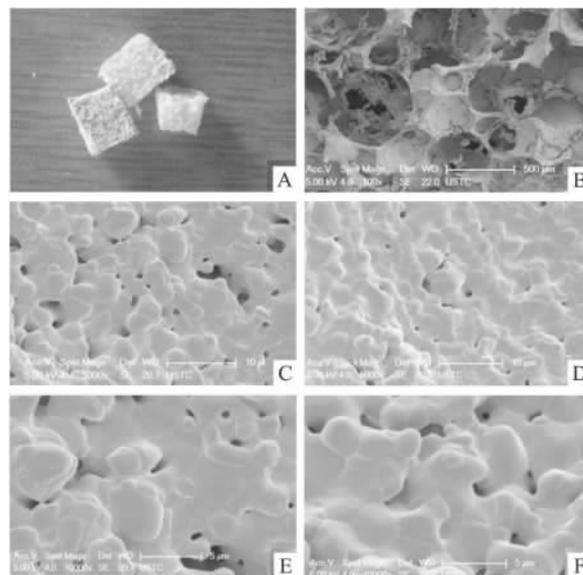


图 2 不同倍数下观察多孔陶瓷样品

A: 肉眼观察; B: SEM $\times 100$; C, D: SEM $\times 5\ 000$; E, F: SEM $\times 10\ 000$

2.3 孔隙率分析 根据上述公式可计算得到本实验制备的多孔陶瓷材料孔隙率为 74.85%。

2.4 元素分析 经检测得知 1 250 °C 煅烧而成的多孔陶瓷样品中 Ca 元素含量占 38.11%, P 元素含量占 18.27%, 可以得出 Ca 与 P 原子比为 1.62, 同时还检测到 K、Mg、Zn 等元素, 但未发现 C 元素。

2.5 抗压强度测试 检测出多孔样品抗压强度为 (3.483 ± 0.321) MPa, 实验结果还表明, 材料的抗压强度跟孔隙率有很大关联, 随着孔隙率增高, 多孔支架材料的机械强度会降低。

3 讨论

牙齿与骨组织的理化性质有着很大的相似, 均包含无机和有机成分, 其中无机相中 HA 占主要地位, 此外还包括 Na、Mg、F 等元素, 而有机成分大部分为胶原蛋白纤维, 可以考虑牙齿作为一种潜在的自体或同种异体骨修复材料。临床上, 因外伤、阻生、牙周病等因素拔除的大量离体牙往往作为医疗垃圾而被丢弃, 造成这宝贵的不可再生人体器官资源极大的浪费。针对口腔种植等手术过程中遇见的小范围骨缺损, 如果能利用离体牙制备出修复材料,

必然会开辟出一种新的修复途径。

赵玫等^[5]研究发现:离体牙 800 °C 煅烧后主要物相为 HA,这与牙齿本身的主要成分相符合,在 1 150°C 后主要为 HA 和 β-TCP,这是由于 HA 浸入 (NH₄)₂HPO₄ 后,溶液中的 HPO₄²⁻ 在 400 ~ 600 °C 可生成 P₂O₇⁴⁻,再次高温煅烧后 P₂O₇⁴⁻ 与 HA 中的 OH⁻ 反应产生 PO₄³⁻,从而出现 β-TCP 衍射峰。随着温度达到 1 250 °C,样品中的 β-TCP 衍射峰明显增多,说明高温下 P₂O₇⁴⁻ 进一步与 OH⁻ 反应产生 PO₄³⁻,从而使更多的 HA 转变为 β-TCP,由此可以制备出 HA/β-TCP 双相陶瓷材料。

研究^[9]表明,孔尺寸大于 200 μm 是骨传导的基本要求,200 ~ 400 μm 是最有利于新骨生长。这种大孔/微孔材料结构基本符合多孔生物陶瓷材料对孔结构的要求,其中,大孔足够大小的孔径允许骨组织长入,给血管长入提供理想的通道,可以发挥多孔生物支架的作用;微孔有利于组织液和营养成分的渗入,显著提高骨基质中液体的流动和扩散。其实,多孔结构是由有机泡沫的规格决定^[10],除了孔径大小和孔的内部连通性,孔隙率同样是骨长入方式和数量的决定因素^[11],孔隙率的大小应当满足骨单位细胞生长所需的空间,实验制备的多孔材料有着很高的孔隙率,完全符合有机泡沫浸渍制备多孔材料的特点,孔隙之间能相互贯通,有利于骨细胞生长。

实验得到材料的 Ca 与 P 原子比为 1.62,而 HA 的 Ca/P 原子比为 1.67,β-TCP 的 Ca/P 原子比为 1.5,可知牙源性双相陶瓷材料 Ca/P 介于上述两个数值之间,也接近于人骨 1.63 的 Ca/P,同时未检测到 C 元素,表明经过高温煅烧,材料完全去除了有

机成分,符合磷酸钙生物陶瓷材料的特征。此外,材料抗压强度维持在 (3.483 ± 0.321) MPa,而松质骨的抗压强度为 2 ~ 12 MPa,由此可知该材料力学性能良好,可以满足非承重区骨缺损的修复要求。

参考文献

- [1] Sadat-Shojai M, Mohammad A, Azizollah N, et al. Hydroxyapatite nanorods as novel fillers for improving the properties of dental adhesives: Synthesis and application [J]. *Dent Mater*, 2010, 26 (5): 471 - 82.
- [2] 孙昌, 孙康宁. 生物陶瓷在口腔医学领域的研究进展 [J]. *江苏陶瓷*, 2011, 44(4): 7 - 10.
- [3] Fellah B H, Gauthier O, Weiss P, et al. Osteogenicity of biphasic calcium phosphate ceramics and bone autograft in a goat model [J]. *Biomaterials*, 2008, 29(9): 1177 - 88.
- [4] Kim S G. Bone grafting using particulate dentin [J]. *Key Eng Mater*, 2007, 342 - 3: 29 - 32.
- [5] 赵玫, 吴海珍, 王鑫, 等. 牙源性双相陶瓷的研制及其骨缺损修复实验 [J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(6): 617 - 20.
- [6] Lin F H, Liao C J, Chen K S, et al. Preparation of beta TCP/HAP biphasic ceramics with natural bone structure by eating bovine cancellous bone with the addition of (NH₄)₂HPO₄ [J]. *J Biomed Mater Res*, 2000, 51(2): 157 - 63.
- [7] Schwartzwalder K, Somers A V. Method of making porous ceramic articles [P]. United States Patent: 3 090 094, 1963.
- [8] 胡龙, 赵畅, 徐雷. 结构仿生羟基磷灰石多孔陶瓷的制备及其性能研究 [J]. *生物骨科材料与临床研究*, 2011, 8(4): 4 - 7.
- [9] Lien S M, Ko L Y, Huang T J. Effect of pore size on ECM secretion and cell growth in gelatin scaffold for articular cartilage tissue engineering [J]. *Acta Biomater*, 2009, 5(2): 670 - 9.
- [10] 罗会涛, 赵婧, 范兴平, 等. 不同类型多孔结构生物材料支架制备及其性能优化 [J]. *中国材料进展*, 2012, 31(5): 30 - 8.
- [11] Stähli C, Böhner M, Bashoor-Zadeh M, et al. Aqueous impregnation of porous β-tricalcium phosphate scaffolds [J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(7): 2760 - 72.

Preparation and study of odontogenic and porous biphasic bioceramics

Kang Lin, Wu Haizhen, Wang Xin, et al

(Dept of Stomatology, The Clinical College of PLA Affiliated Anhui Medical University, Hefei 230031)

Abstract The detachment teeth were calcinated first time in order to remove the organic principle, and second calcinated with the aqua of (NH₄)₂HPO₄, then get biphasic bioceramics composed with Hydroxyapatite (HA) and β-tricalcium phosphate (β-TCP). After grinding through 200 mesh screen, the porous bioceramics was prepared by immersion method using organic foam. At the same time, a series of examinations were carried out including energy dispersion analysis of X-ray, scanning electron microscope, the porosity of scaffolds, elemental analysis and compressive strength. It showed that the ceramic was white and the main phase was HA/β-TCP, which presented reticular structure with macropore and micropore. The porosity of scaffolds was 74.85 percent and the calcium to phosphorus ratio of bioceramics was 1.62. The compressive strength could attain (3.483 ± 0.321) MPa.

Key words hydroxyapatite; Beta tricalcium phosphate; organic foam; bioceramics