

氟基硅酸钙对碳酸饮料酸蚀后的牙釉质修复作用^{*}

董志红¹, 宋慧瑾¹, 朱晓东¹, 周长春², 聂志萍¹

(1. 成都大学 机械工程学院, 成都 610106; 2. 四川大学 国家生物医学工程研究中心, 成都 610064)

摘 要: 针对碳酸饮料对牙釉质的软化及脱矿, 选用氟基硅酸钙(F-CaSiO₃)生物活性材料进行修复。以可乐、苹果醋、冰红茶 3 种常规饮料对正常的牙釉质进行浸泡处理后, 在模拟人工唾液的环境中浸泡 30 min, 测试其硬度值的恢复状况。对酸蚀较严重, 口腔唾液难以自修复的牙釉质, 使用 F-CaSiO₃ 进行修复, 通过显微硬度仪、扫描电子显微镜(SEM)、X 射线衍射(XRD)和 X 射线能谱(EDS)进行测试分析。结果表明, 碳酸饮料在不同时间内均对牙釉质有一定的损害, 随时间的延长, 饮料对牙齿的脱矿越显著, 其中可口可乐表现为最严重, 浸泡 30 min 后钙磷摩尔比降到 1.32。在模拟口腔唾液中浸泡 30 min 后, 硬度值有一定的提高; 酸蚀严重的可口可乐样品, 通过模拟刷牙的形式使用 F-CaSiO₃ 进行修复, 在口腔唾液环境中仿生矿化 3 d 后, 表面形成一层矿化层, 成分和牙釉质基体接近, 钙磷比恢复到 1.58, 接近于牙釉质, 且表面硬度值优于酸蚀的牙釉质, 补充了矿物质的流失。F-CaSiO₃ 生物活性材料, 可作为一种修复牙齿脱矿的试剂, 保护牙齿及预防龋齿发生。

关键词: 牙釉质; 酸蚀; 氟基硅酸钙; 再矿化

中图分类号: TQ174.75

文献标志码: A

文章编号: 1007-9289(2016)01-0125-05

Repair of Fluoride-base Calcium Silicate on Carbonated Beverage Etched Enamel

DONG Zhi-Hong¹, SONG Hui-jin¹, ZHU Xiao-dong¹, ZHOU Chang-Chun², NIE Zhi-Ping¹

(1. School of Mechanical Engineering, Chengdu University, Chengdu 610106; 2. National Engineering Research Center for Biomaterials, Sichuan University, Chengdu 610064)

Abstract: To study the carbonated beverage soften and etched enamel and remineralization, fluoride-based calcium silicate(F-CaSiO₃) was used to repair etched enamel, enamel samples were treated with three types of normal carbonated beverage (Coca-Cola, apple juice, and black tea) for different time, then soaked in simulated oral fluid (SOF) for 30 min, and the microhardness was measured for these two group samples treated before and after by a micromhardness tester. Coca-cola treated samples for 30 min showed the lowest hardness value, and Ca/P molar ratio dropped to 1.32. Because it was difficult to self-repair in SOF for the serious etched enamel, F-CaSiO₃ was used to remineralization etched enamel by simulating to brush the teeth, and samples were soaked in SOF for 3 days to mimic mineralization and characterized by micromhardness tester, XRD, SEM, EDS. The results show that each carbonated beverage is harmful to enamel, the longer soaked in drinking, the more serious demineralization, and Coca-cola is the worst. Although in SOF for 30 min, treated enamel shows higher microhardness value compared with etched samples, their hardness cannot reach the original enamel's. Samples with Coca-cola etched 30 min are treated using F-CaSiO₃ and soaked in SOF for 3 days, a mineralized layer formed and its structure is similar to apatite compared with enamel, microhardness value of the mineralized layer is close to enamel's, and Ca/P molar ratio reaches 1.58. F-CaSiO₃ can be remineralization enamel and cariogenic prevention as a kind of agent.

Keywords: enamel; acidic etched; fluoride base calcium silicate; remineralization

收稿日期: 2015-10-21; **修回日期:** 2015-12-20; **基金项目:** * 国家自然科学基金(81201475)

通讯作者: 董志红(1978-), 女(汉), 副教授, 博士; **研究方向:** 生物材料及仿生矿化; **Tel:** (028) 8461 6169; **E-mail:** girllyuyao@163.com

网络出版日期: 2016-01-30 18:09; **网络出版地址:** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3905.tg.20160130.1809.036.html>

引文格式: 董志红, 宋慧瑾, 朱晓东, 等. 氟基硅酸钙对碳酸饮料酸蚀后的牙釉质修复作用[J]. 中国表面工程, 2016, 29(1): 125-129.
DONG Z H, SONG H J, ZHU X D, et al. Repair of fluoride-base calcium silicate on carbonated beverage etched enamel[J]. China Surface Engineering, 2016, 29(1): 125-129.

0 引 言

据世界卫生组织 2012 年报道,全世界 60%~90% 的学龄儿童和近 100% 的成年人患有龋齿。导致龋齿的原因有很多,如不健康饮食、口腔卫生不良等。而最直接破坏牙釉质、导致矿物质脱落的是酸性物质及糖的摄入^[1]。碳酸饮料不但多糖,且 pH 值大多均低于 4.5,可口可乐 pH 值低至 2.3,极易破坏牙釉质^[2]。因为牙釉质主要成分是含氟、氯的纳米羟基磷灰石无机矿物质,酸蚀后,轻者釉面软化,重者矿物质脱落,严重者牙本质外露,导致龋齿^[3]。而对于儿童及青少年,牙齿未矿化完全,经常喝碳酸饮料,更易破坏釉面结构。

牙齿中含微量的氟,可促进磷灰石在牙釉质表面沉积,加速釉面再矿化^[4];同时,氟化物可以抑制菌斑中细菌对糖的吸收,细菌产生酸的能力下降,减少对牙釉质的损害^[5]。氟基磷灰石晶体表面积变小,使牙齿比人体骨更加坚固,可提高外来物质的侵蚀。因此,经常保持口腔低浓度的氟化物,可预防龋齿^[6]。近年来,人们用含氟的化合物来抑制龋齿,促进牙齿再矿化。其结果发现,氟化硅和氟化银的抗龋齿能力较强^[7],而酸性氟磷酸盐和氟化钠却不能有效阻止酸性条件下牙釉质的矿物质溶解^[8]。而且过多的氟离子存在,会减少釉质蛋白的分泌,干扰成釉细胞的调控机制,减少釉基质丝氨酸蛋白酶的合成和分泌,最终导致氟牙症的发生^[9-10]。

钙硅基陶瓷材料具有较好的生物活性^[11],均可诱导磷灰石形成,作为口腔修复材料如生物玻璃、硅酸钙等,可进行根管填充^[12-13]、牙槽骨的修复^[14]以及牙本质的再矿化,治疗牙齿过敏症^[15-17],但这些修复均需要在临床上进行。对于日常的牙釉质修复及保护,是目前亟待解决的问题之一。对于生物材料直接作用于牙釉质进行仿生矿化,却报道甚少。

文中使用氟基硅酸钙体外模拟刷牙的形式修复酸蚀的牙釉质。选择常规的 3 种饮料:可口可乐、苹果醋和冰红茶对牙釉质酸蚀处理,口腔唾液浸泡及采用含氟硅酸钙材料对牙釉质进行仿生矿化修复,测试其力学性能变化及修复效果,为氟基硅酸钙在牙齿修复中的进一步应用研究提供试验基础。

1 材料与方法

1.1 样品的制备

收集临床上因正畸而拔掉的成人恒牙,用切

割机去除根部,牙冠超声清洗,纵向切割成大小为 3 mm×3 mm×2 mm 牙釉质样品,将釉面在不同粒度(800,1 200,2 000 号)的金刚砂纸上滴水进行抛光,去除表面层约 150 μm,最后用 0.4 μm 抛光膏在抛光布上进行抛光,将处理好的样品放在乙醇溶液中,超声清洗 3 min,去除表面的油脂和残渣,最后再用清水冲洗、烘干、备用。

氟基硅酸钙(F-CaSiO₃)粉体制自,其质量分数(ω/%)组成为 51.5 SiO₂,47.4 CaO,0.7 F,0.4 Na₂O。材料过筛后粒径尺寸小于 48 μm 备用。

市面上购置可口可乐(Coca-Cola)、苹果醋(Apple juice)和冰红茶(Black tea)3 种饮料。将制备好的牙釉质小片浸泡在 10 mL 的饮料中,浸泡不同时间(5,10,30 min)后取出,每组 3 个平行样,共计 27 个样品,测试其硬度值。将处理不同时间的上述样品浸泡在模拟口腔唾液环境中 30 min,再次测试样品的硬度值。

将酸蚀较严重的牙釉质样品(可口可乐处理 30 min)用清水冲洗后,用镊子夹住,放在玻板上,用牙刷蘸取 F-CaSiO₃ 浆料,以模拟刷牙的方式,在牙釉质表面刷 3 min 后用去离子水冲洗。然后将小瓶放在 36.5 ℃ 恒温震荡水浴中,每 24 h 换液。模拟口腔唾液的主要组成为(mmol/L):8.38 KCl; 0.29 MgCl₂·6H₂O; 1.13 CaCl₂·2H₂O; 4.62 K₂HPO₄; 2.40 KH₂PO₄; 使用 KOH 调节 pH 为 7.2,在使用期间,无沉淀生成^[18]。

1.2 样品表征

通过显微硬度仪、扫描电镜(SEM, JSM-6700F, JEOL)、X 射线衍射(XRD, Geigerflex)和 X 射线能谱(EDX, Oxford Instruments Co.)对样品的显微硬度及牙釉质的表面形貌进行分析,硬度测试每个样品取 3 个平行样,算取平均值±偏差(S. D.),最后进行统计学评估。

2 结果与分析

2.1 唾液恢复酸蚀牙釉质的显微硬度

牙釉质样品经过不同的碳酸饮料处理不同时间(5,10,30 min)对应的维氏硬度如图 1(a,b,c)所示,其结果为:正常的牙釉质样品(Original)显微硬度值为(367±2.5) MPa,经过 3 种不同饮料浸泡不同时间后,硬度值发生了改变。随着时间的延长,牙釉质表面的硬度值随之下降,且浸泡在

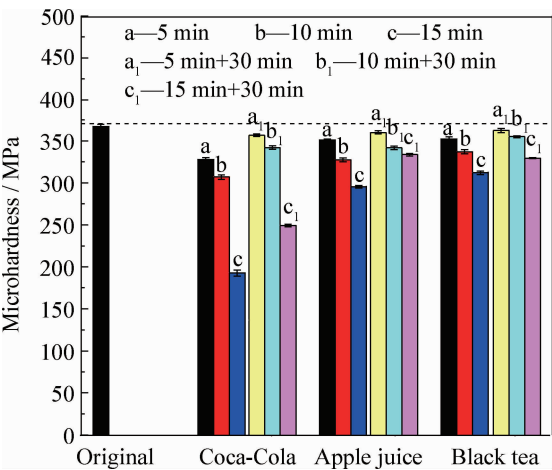


图 1 牙釉质样品经 3 种饮料处理不同时间后的硬度(a, b, c)及在模拟口腔唾液再浸泡 30 min 后的硬度(a₁、b₁、c₁)
Fig. 1 Microhardness of enamel samples treated with three beverages (a, b, c) and then soaked in simulated oral fluid for 30 min(a₁、b₁、c₁)

可口可乐中 30 min 后,牙釉质的硬度值降低严重,硬度值低至(193±3.8) MPa,而苹果醋和冰红茶浸泡后的牙釉质样品,硬度值降低较慢。当上述 3 种样品经模拟口腔唾液浸泡 30 min 后,

对应的硬度值为图 1(a₁, b₁, c₁),其牙釉质表面硬度值均有回升,且处理时间较短的牙釉质样品(5 min),硬度值和牙釉质原样接近,但仍均低于其正常的牙釉质硬度值,而可口可乐酸蚀程度较严重的样品,硬度值恢复最低。

2.2 F-CaSiO₃ 对酸蚀牙釉质的修复

经过切割后,抛光处理的牙釉质小片表面有细微的划痕(图 2(a₁)),高倍下观察,表面晶粒致密,钙磷摩尔比为 1.61。经过可口可乐中处理 30 min 后,表面形貌如图 2(b₁)所示。牙釉质的矿物质结构疏松,由于横纹处矿化程度稍低,呈现出鱼鳞状形貌,高倍下牙齿层叠状的交叉,釉柱间隙呈弧形边界清晰可见,且可观察到磷灰石柱状晶结构;钙磷摩尔比下降,其均值为 1.32(如图 2(b₂))。而经过 F-CaSiO₃ 处理后,浸泡在模拟口腔唾液中 3 d 如图 2(c₁))显示,表面形成均一的矿化层,高倍下观察到结构类似于蠕虫状的类骨磷灰石;其钙磷摩尔比升高,其值为 1.58(如图 2(c₂)),接近于牙釉质的钙磷摩尔比(1.61)^[19]。说明 F-CaSiO₃ 生物玻璃具有良好的生物活性,能快速诱导类骨磷灰石生成,修复酸蚀的牙釉质。

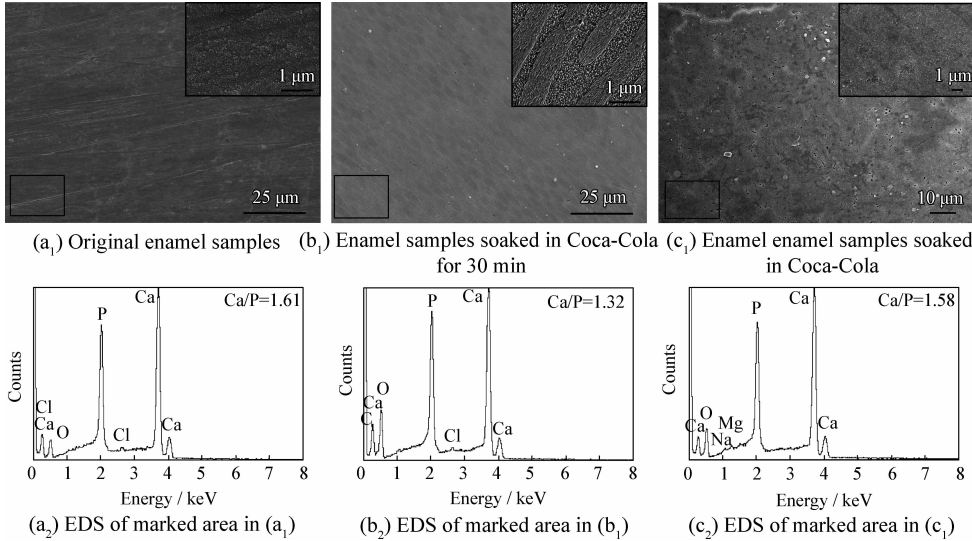


图 2 牙釉质经过不同处理后表面形貌及相应的 EDS

Fig. 2 Surface morphologies and corresponding EDS of enamel samples after treatment

为了比较牙釉质表面的矿化成分,通过 XRD 进行测试,结果如图 3 所示。F-CaSiO₃ 材料具有良好的结晶结构(曲线 a);牙釉质也表现出锐利的磷灰石晶型结构(曲线 b);当牙釉质样品在可口可乐中酸蚀 30 min 后,矿物质流失,峰型结构减弱甚至消失(曲线 c);而用 F-CaSiO₃ 处理

后,浸泡在模拟口腔唾液中 3 d,牙釉质晶体结构恢复到原来牙釉质结晶状态,形成磷灰石,表现出良好的修复效果(曲线 d)。

2.3 F-CaSiO₃ 修复酸蚀牙釉质的显微硬度

不同牙釉质样品的显微硬度测试结果如表 1

所示。经过 F-CaSiO₃ 矿化后的酸蚀牙釉质样品 (Coca-Cola 处理 30 min), 和牙釉质原样相比, 显微硬度接近, 优于酸蚀的牙釉质。

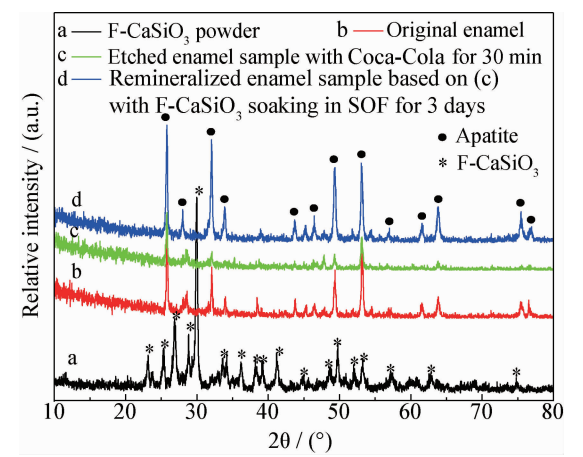


图 3 牙釉质经不同处理后的 XRD 图谱
Fig. 3 XRD patterns of enamel samples after treatment

表 1 不同的牙釉质样品的显微硬度

Table 1 Microhardness of different enamel samples (MPa)

Samples	Original	Etched	Remineralized
Vaules	367±2.5	193±3.8*	362±2.6*

* : Denotes significant difference from the original samples. $P<0.05$

3 讨论

碳酸饮料对牙齿的危害越来越显著, 尤其是对青少年, 其牙齿未矿化完全, 在酸性条件下矿物质很容易流失, 可口可乐对牙齿的危害在文中所选的 3 种饮料中尤为显著。牙釉质表面的矿物质软化和脱落, 最直接的就是硬度值下降。在日常生活中, 建议喝饮料时不要在口腔里停留太久, 最好的方式是用吸管直接吸, 尽量少接触牙齿。且喝了碳酸饮料后不要立即刷牙, 使得口腔内 pH 值在唾液循环作用下恢复到 7.4 左右, 即约在 1 h 后再刷牙; 或者饮完碳酸饮料后用清水漱口也是保护牙齿较好的方式。

当牙齿酸蚀严重后, 唾液中的有效矿化成分, 如 Ca²⁺、PO₄³⁻ 和唾液蛋白等浓度低不能及时修复。使用生物材料 F-CaSiO₃, 利用其较好的生物活性, 在模拟口腔唾液中, 粘附在牙釉质表面的晶粒, 诱导形核、结晶, 在牙釉质表面形成均一的类骨磷灰石晶粒, 由于氟离子的离子半径比

羟基小, 形成的氟基磷灰石 (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)F) 比羟基磷灰石 (Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂) 晶粒细小, 使矿化层更能抵制外来酸蚀物质的侵蚀, 在一定程度上也能增强牙釉质的力学性能。且氟是牙齿中的成分之一, 它能有效地抵抗龋齿。F-CaSiO₃ 在修复酸蚀牙釉质的过程中, 在模拟口腔唾液微环境下, 随着 Ca²⁺ 等与溶液中的 H₃O⁺ 迅速交换, SiO₂ 以 Si(OH)₄ 的形式溶于溶液中, 导致 Si-O-Si 键被溶解打断, Si-OH 在界面处形成, 彼此发生缩聚聚合形成富硅层, 为磷灰石的形成提供形核位点^[20]。随着 OH⁻ 和 CO₃²⁻ 从溶液中引入及 F⁻ 释放, 形成无定型的磷灰石层, 而 F⁻ 较小的半径优先结晶形核、长大, 形成致密的氟基磷灰石, 其溶解度 (KSP 6.5×10⁻⁶⁵ mol/L) 远低于羟基磷灰石 (KSP 7.36×10⁻⁶⁰ mol/L), 因此, F-CaSiO₃ 更易于抵制酸性物质的侵蚀^[21]。在修复 3 d 后, 即表现出良好的矿化能力, 力学性能也得到了提高, 接近于牙釉质的硬度值。而常规的氟化物 (如 NaF, CaF₂) 也会释放 F⁻ 促进磷灰石形核结晶, 但 NaF 无法控制释放速度, 会导致氟中毒^[22]。而 CaF₂ 的溶解度较低, 不能被广泛用于牙齿修复来诱导磷灰石形核。F-CaSiO₃ 在钙硅释放的同时, 氟离子随即释放、可控, 形成氟基磷灰石。因此, F-CaSiO₃ 可作为牙齿脱矿的快速修复试剂来修复酸蚀的牙釉质, 预防龋齿的发生。

4 结论

(1) 碳酸饮料均可导致牙釉质表面的矿物质软化、脱落, 力学性能下降, 3 种常规的市售饮料 (可口可乐、冰红茶和苹果醋) 中, 可口可乐对牙齿的酸蚀最严重。

(2) 尽管口腔唾液在一段时间内可修复脱矿的牙釉质, 但对酸蚀较严重的牙釉质自修复效果并不理想。

(3) F-CaSiO₃ 作为一种再矿化生物活性材料, 在模拟口腔微环境中, 较短时间内可诱导形成致密的矿化层, 其结构和牙齿结构类似, 修复脱矿的牙釉质。该材料有望对酸蚀的牙釉质进行仿生再矿化, 可作为牙齿修复的一种试剂。

参考文献

[1] EHLEN L A, MARSHALL T A, QIAN F, et al. Acidic beverages increase the risk of in vitro tooth erosion[J]. Nutrition Research, 2008, 28(5): 299-303.

- [2] OSULLIVAN E A, CURZON M E. A comparison of acidic dietary factors in children with and without dental erosion[J]. ASDC Journal of Dentistry for Children, 2000, 67(3): 186-192.
- [3] WONGKHANTEE S, PATANAPIRADEJ V, MANEENUT C, et al. Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials[J]. Journal of Dentistry, 2006, 34(3): 214-220.
- [4] ROBINSON C, CONNELL S, KIRKHAM J, et al. The effect of fluoride on the developing tooth[J]. Caries Research, 2004, 38(3): 268-276.
- [5] HAMILTON I R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria[J]. Journal of Dentistry Research, 1990, 69(2): 660-667.
- [6] HALA A, FRANK L, ESPERANZA ANGELES MM. Relative fluoride response of caries lesions created in fluorotic and sound teeth studied under remineralizing conditions[J]. Journal of Dentistry, 2015, 43(1): 103-109.
- [7] MURATA H, ISHIKAWA K, TENSHIN S, et al. Fluoridation of hydroxyapatite powder by ammonium hexafluorosilicate[J]. Careis Resaerch, 1996, 30(6): 465-470.
- [8] KAWASAKI A, SUGE T, ISHIKAWA K, et al. Ammonium hexafluorosilicate increased acid resistance of bovine enamel and dentine[J]. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2005, 16(5): 461-466.
- [9] 孙宏晨, 刘明, 欧阳楷, 等. 过量氟对大鼠切牙成釉细胞增殖与凋亡的影响[J]. 中华口腔医学杂志, 2003, 38(3): 217-219.
- SUN HC, LIU M, OUYANG K, et al. The effect of over-dose fluoride on the proliferation and apoptosis of rats incisor ameloblast[J]. Chinese Journal of Stomatology, 2003, 38(3): 217-219 (in Chinese).
- [10] PERROTT K W. Severe dental fluorosis and cognitive deficits [J]. Neurotoxicology and Teratology, 2015, 48, 78-79.
- [11] NONAMI T, NOMA H, NAKAJIMA S. Materials for living hard tissue replacements[P]. US 5344456 A, 1994-09-06.
- [12] RAWTIYA M, VERMA K, SINGH S, et al. MAT-based root canal sealers[J]. Journal of Orofacial Pain, 2013, 3(1): 16-21.
- [13] TAŞDEMİR T, ER K, ÇELİK D, et al. Bond strength of calcium silicate-based sealers to dentine dried with different techniques[J]. Medical Principles and Practice, 2014, 23(4): 373-376.
- [14] TEÓFILO J M, BRENTAGANI L G, LAMANO-CARVALHO T L. Bone healing in osteoporotic female rats following intra-alveolar grafting of bioactive glass[J]. Archives of Oral Biology, 2004, 49(9): 755-762.
- [15] VOLLENWEIDER M, BRUNNER TJ, KNECHT S, et al. Remineralization of human dentin using ultrafine bioactive glass particles[J]. Acta Biomaterialia 2007, 3(6): 936-943.
- [16] CURTIS A R, WEST N X, SU B. Synthesis of nanobio-glass and formation of apatite rods to occlude exposed dentine tubules and eliminate hypersensitivity[J]. Acta Biomaterialia, 2010, 6(9): 3740-3746.
- [17] LEE B S, CHANG C W, CHEN W P, et al. In vitro study of dentin hypersensitivity treated by Nd:YAP laser and bioglass[J]. Dental Materials, 2005, 21(6): 511-519.
- [18] AMAECHI B T, HIGHAM S M. In vitro remineralisation of eroded enamel lesions by saliva [J]. Journal of Dentistry, 2001, 29(5): 371-376.
- [19] DONG Z H, CHANG J, ZHOU Y, et al. In vitro remineralization of human dental enamel by bioactive glasses[J]. Journal of Materials Science, 2011, 46(6): 1591-1596.
- [20] GOUGH J E, JONES J R, HENCH L L. Nodule formation and mineralization of human primary osteoblasts cultured on a porous bioactive glass scaffold[J]. Biomaterials, 2004, 25(11): 2039-2046.
- [21] MOHAMMED N, LYNCH R J M, ANDERSON P. Effect of fluoride concentration on enamel demineralization kinetics in vitro[J]. Journal of Dentistry, 2014, 42(5): 613-618.
- [22] DENBESTEN P K. Biological mechanisms of dental fluorosis relevant to the use of fluoride supplements[J]. Community Dentistry and Oral Epidemiology, 1999, 27(1): 41-47.

(责任编辑: 常青)