

[文章编号] 1000-1182(2008)03-0241-03

含锌碳磷灰石的溶胶凝胶法制备及性能表征

江华洲, 施心畅, 廖运茂, 李 伟

(口腔疾病研究国家重点实验室, 四川大学, 四川 成都 610041)

[摘要] 目的 通过溶胶凝胶法制备含锌的碳磷灰石(Zn-CHA)涂层材料,并探讨锌离子取代反应对羟磷灰石物理化学性质的影响。方法 实验制备了锌离子取代量和钙磷比不相同的两组样本,其中钙足量组样本的钙磷比为1.67,锌离子取代4%的钙离子;钙不足量组的钙磷比小于1.67,锌离子取代8%的钙离子。采用X射线衍射仪(XRD)、傅立叶变换红外光谱仪(FTIR)对样本的物相结构和化学组成进行分析研究,并采用扫描电镜观察样本的表面形貌。此外,还采用原子吸收分光光度计(AAS)对样本的溶解特性与锌离子的关系进行研究。结果 X射线衍射分析表明样本中含有羟磷灰石相,傅立叶变换红外光谱分析结果表明样本为碳磷灰石,溶解实验表明钙不足量组和钙足量组样本中分别存在锌离子整合到羟磷灰石晶格内和吸附在羟磷灰石晶体表面两种情况。结论 研究表明含锌的碳磷灰石能够通过简单的溶胶凝胶法制备获得。

[关键词] 碳磷灰石; 锌离子; 涂层材料; 溶胶凝胶法

[中图分类号] R783.1 **[文献标识码]** A

The preparation and characterization of sol-gel derived zinc modified carbonated hydroxyapatite JIANG Hua-zhou, SHI Xin-chang, LIAO Yun-mao, LI Wei. (State Key Laboratory of Oral Diseases, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Objective To prepare zinc-modified carbonated hydroxyapatite (Zn-CHA) coating material via sol-gel method and explore the influence of zinc substitution on physical and chemical properties of biomaterial samples. Methods Two kinds of samples with different zinc content and Ca/P molar ratio were prepared. One was fabricated with 4% zinc and the Ca/P molar ratio was 1.67. Another was prepared with 8% zinc and the (Ca+Zn)/P molar ratio was 1.67. The coating samples were characterized by X-ray diffraction(XRD), Fourier transformed infrared spectroscopy(FTIR), scanning electron microscopy(SEM). Furthermore, the zinc ions releasing ability of the coating samples were investigated by atomic absorption spectroscopy(AAS). Results XRD results revealed that the coating samples contained hydroxyapatite phase. After determination by FTIR, the biomaterial samples were found to contain carbonate and resemble biological apatites. High homogeneous and porous surfaces of coating samples were observed in SEM micrographs. According to the results of dissolution test, zinc was incorporated into hydroxyapatite lattice structure or surface absorbed when calcium was insufficient or sufficient respectively. Conclusion The results demonstrate that phase-pure zinc-modified carbonated hydroxyapatite might be prepared through simple sol-gel method and have favorable antibacterial effect.

[Key words] carbonated hydroxyapatite; zinc; coating material; sol-gel method

羟磷灰石因为具有与天然骨组织相似的化学组成、较高的生物活性和生物相容性以及能够较快地促进新生骨组织沉积到种植体表面从而减少对周围骨组织的损伤等优点,被广泛应用于牙科和骨外科手术中^[1]。然而,具备了这些良好性能的羟磷灰石材料仍然不能满足临床应用的需要。种植体周围炎

是导致种植失败的重要原因。由于术后感染,如种植体颈部暴露、口腔内常驻菌群的存在等因素,使种植体表面细菌附着,形成生物膜,从而导致局部微环境pH值下降,使种植体周围骨组织被吸收,最终导致种植失败^[2-5]。为了解决这些问题,尝试通过对羟磷灰石进行改性而制备出具有抗菌性能的种植体表面涂层材料,从而达到临床应用的要求。体内的羟磷灰石实际上以类质同象的形式存在,其中钙离子常被镁离子、钠离子和铁离子等阳离子取代,磷酸根基团常与碳酸根基团或磷酸氢根基团发生替

[收稿日期] 2007-10-29; [修回日期] 2008-01-08

[基金项目] 四川省科技攻关基金资助项目(2006Z02-047)

[作者简介] 江华洲(1980-),男,广西人,硕士

[通讯作者] 李 伟, Tel: 028-85503494

换，而这些微量元素的替换会影响羟磷灰石的晶胞参数、结晶度、溶解性能等物理性质^[6]。锌离子天然存在于人体釉质和骨内，并在矿化过程中发挥重要作用。此外，锌离子还能在三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)介导的对炎性组织的反应中起促进作用^[7-9]。研究发现，碳磷灰石是人体中种类最丰富的磷灰石，而锌离子能与碳磷灰石中的钙离子发生取代反应^[10]。本研究通过溶胶凝胶法合成含锌的碳磷灰石材料，对该涂层材料的物理化学性质进行表征，并通过溶解实验分析样本的溶解特性，为开发具有抗菌性能的涂层材料提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 样本制备

实验制备两组锌离子取代量和钙磷比不同的含锌碳磷灰石(Zn-CHA)样本，钙足量组样本钙磷比为1.67，锌离子取代4%的钙离子；钙不足量组样本钙磷比小于1.67，锌离子取代8%的钙离子。准确称量一定量的 $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ 、 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 和 P_2O_5 ，分别溶于无水乙醇中配置成0.1 mol/L的前驱体溶液，室温下陈化3 d。按照一定比例将3种前驱体溶液依次加入到烧杯中，边搅拌边缓慢加入前驱体溶液，滴加完毕后继续搅拌0.5 h，然后置于室温下陈化3 d，待反应完全充分后获得羟磷灰石溶胶。本实验中选择载玻片作为涂层材料的载体。将载玻片浸泡于重铬酸盐溶液中24 h后，去离子水清洗干净，高温消毒灭菌备用。将载玻片缓慢地垂直浸泡在溶胶中，然后缓慢取出，于100 °C下烘干30 min，待样本冷却至室温后，再将样本缓慢地垂直浸泡于溶胶中，然后缓慢取出，于烘箱中烘干，重复5次后，在650 °C下热处理1 h得到羟磷灰石涂层样本。

1.2 X射线衍射、傅立叶变换红外光谱和扫描电镜分析

采用X射线衍射仪(X-ray diffraction, XRD)、傅立叶变换红外光谱仪(Fourier transformed infrared spectroscopy, FTIR)对样本的物相结构和化学组成进行分析研究，并采用扫描电镜(scanning electron microscopy, SEM)观察样本的表面形貌。用XRD测试Zn-CHA晶体物相，分析条件为Cu靶K线($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$)，扫描范围为 $10^\circ \sim 70^\circ$ ，步长 $0.2^\circ/\text{min}$ 。用jade5.0软件对X射线衍射数据进行分析处理，经多次测量取平均值，获得样本的结晶度和晶体尺寸。用FTIR测试Zn-CHA的化学组成，用SEM观察样本的表面形貌。

1.3 溶解实验

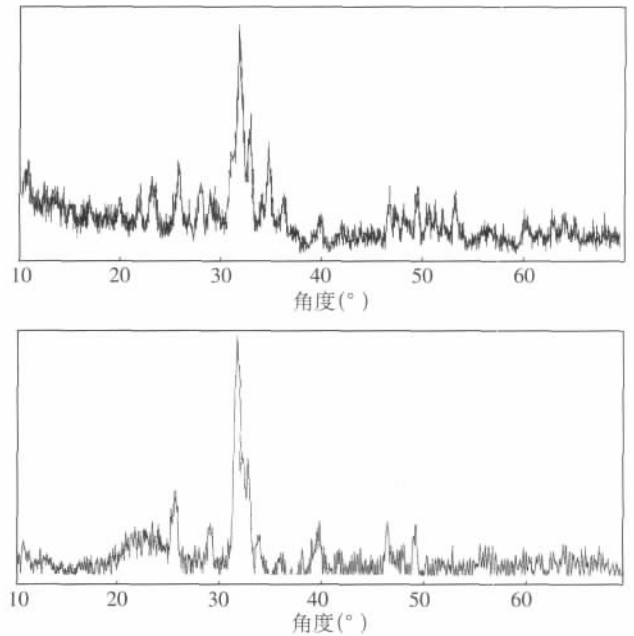
采用原子吸收分光光度计(atomic absorption

spectroscopy, AAS)对样本的溶解特性与锌离子的关系进行研究。将涂层材料于室温下浸泡于脑心浸液(brain heart infusion, BHI)溶液中1、3、7、14 d，经过多次测定取平均值，获得浸提液中锌离子的浓度。

2 结果

2.1 物相和化学组成

钙足量组和钙不足量组样本的X射线衍射图谱见图1。从图1可见，两样本的图谱基本一致，两样本均含有羟磷灰石的特征衍射峰，均未发现明显的杂相。表明发生锌离子取代反应后仍基本保持了羟磷灰石结构。钙足量组样本XRD图谱中氧化锌的峰比较明显，而钙不足量组样本XRD图谱中氧化锌的峰不明显。对比样本XRD图谱和标准卡片可以发现，样本的谱线发生了偏移。

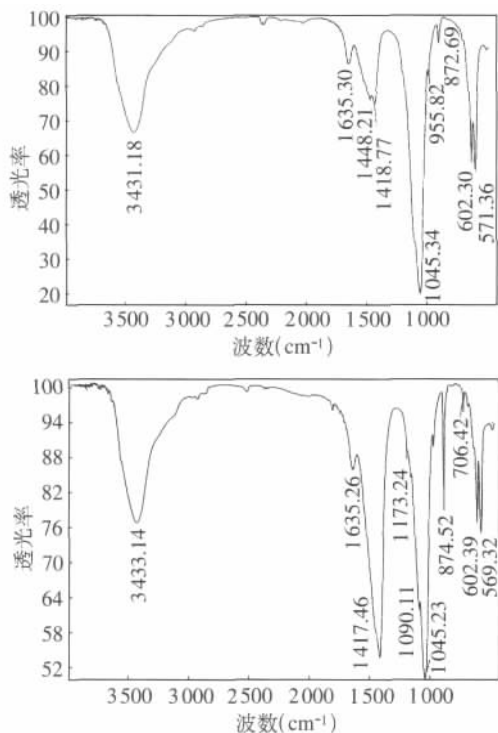


上：钙足量组；下：钙不足量组

图1 钙足量组和钙不足量组样本的XRD图谱

Fig 1 XRD spectra of the Zn-CHA coating samples

钙足量组和钙不足量组样本的FTIR图谱见图2。从图2可见，两样本均含有羟基基团、磷酸根基团和碳酸根基团。两样本的羟基基团和磷酸根基团的FTIR图谱基本一致，但是碳酸根基团却相差较大。在钙足量组样本中，在 1418.77 cm^{-1} 、 1448.21 cm^{-1} 、 1635.30 cm^{-1} 处观察到₃碳酸根基团，在 872.69 cm^{-1} 处可以观察到₂碳酸根基团；而钙不足量组样本中，在 1417.46 cm^{-1} 、 1435.26 cm^{-1} 处可以观察到₃碳酸根基团，在 874.52 cm^{-1} 处可以观察到₂碳酸根基团，而且样本中碳酸根强度将近是钙足量组样本的两倍。



上: 钙足量组; 下: 钙不足量组

图2 钙足量组和钙不足量组样品的FTIR图谱

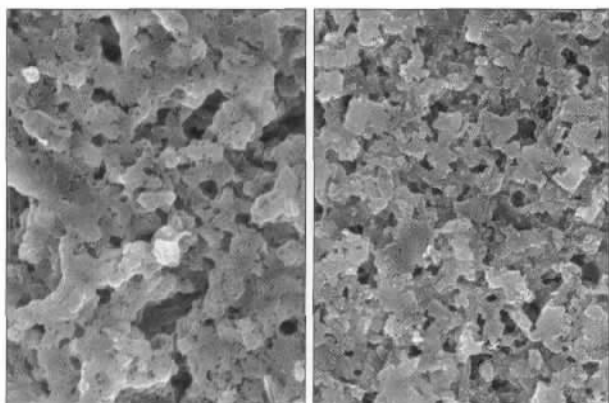
Fig 2 FTIR spectra of the Zn-CHA coating samples

2.2 结晶度和晶粒尺寸

钙足量组和钙不足量组样品的结晶度分别为85%、89%；钙足量组和钙不足量组样品的晶粒尺寸分别为18.4 nm、12.0 nm。锌改性后的羟磷灰石仍然有较好的结晶度，而晶体尺寸也达到了纳米级。

2.3 扫描电镜观察结果

钙足量组和钙不足量组样品的扫描电镜结果见图3。从图3可以看到两样本表面形貌无明显差异，都表现为均匀的Zn-CHA颗粒排列成微孔状结构。



左: 钙足量组; 右: 钙不足量组

图3 钙足量组和钙不足量组样品的SEM观察 SEM ×10 000

Fig 3 SEM micrograph of the Zn-CHA coating samples SEM ×10 000

2.4 溶解性

将涂层材料浸泡于BHI溶液1、3、7、14 d时，钙足量组中锌离子的质量浓度分别为4.7、5.1、7.4、

10.1 mg/L；钙不足量组中锌离子的质量浓度分别为7.0、8.3、9.0、10.5 mg/L。浸泡1、3、7、14 d后，钙足量组样本释放的锌离子量少于钙不足量组样本释放的锌离子量，但浸泡14 d时，钙足量组样本的锌离子释放量逐渐接近钙不足量组样本的锌离子释放量。

3 讨论

XRD图谱和FTIR图谱表明所制备的材料为含锌的碳磷灰石，并且锌离子的取代反应对羟磷灰石的晶体结构没有造成直接影响。虽然在XRD图谱上，两样本的谱线都发生了偏移，这是固溶原子半径和溶质原子半径不同所造成晶格畸变的结果，同时也间接证明了存在锌离子和碳酸根的取代反应。目前对锌离子的取代机制尚有争议^[11-12]。本实验认为在钙足量情况下，锌离子主要吸附于羟磷灰石晶体表面；而钙不足量情况下大部分锌离子进入羟磷灰石晶格。羟磷灰石独特的晶体结构决定了它的阳离子和阴离子容易发生取代反应而对晶胞的六方对称性不会造成太大的影响。因此，改性后羟磷灰石的物相没有发生明显变化，但是晶胞参数发生了改变。

在样本的XRD图谱中，钙足量组样本氧化锌的峰比较明显，而钙不足量组样本氧化锌的峰不明显。有文献报道，当锌离子的量大于1.20%时，能检测到氧化锌的物相^[13]。但在本实验中发现，在钙离子不足量的情况下，锌离子的量即使达到8%，也未发现明显的氧化锌的物相。原因可能是在钙离子不足量的情况下大部分锌离子进入晶体内部，而吸附在晶体表面的锌离子形成的氧化锌的量过少，无法检测出来。

浸泡1、3、7 d后，钙足量组样本释放的锌离子量少于钙不足量组样本释放的锌离子量，浸泡14 d后，钙足量组样本的锌离子释放量逐渐接近钙不足量组样本的锌离子释放量。可知钙足量组样本更容易释放出锌离子，是因为钙足量组样本中多数锌离子吸附于羟磷灰石晶体表面，而钙不足量组样本锌离子以进入羟磷灰石晶格为主，故锌离子释放程度较低。

研究发现较高的锌离子的量会影响羟磷灰石晶体形成^[7]。目前锌离子取代量大于5%的实验研究较少见报道。在本实验中，最大取代量达到8%，仍有较好的结晶度。其中一个可能的原因是使用溶胶凝胶法能在实验过程较好的调节实验参数。据报道锌离子对碳磷灰石的形成有一定的影响^[7]。红外光谱结果显示钙不足量组样本的碳酸根强度将近是钙足

度降低,从而降低了氟对大鼠切牙的毒性作用。可见硼对氟的拮抗作用在大鼠切牙的发育过程也有表现。从牙体上表现为釉质实质性缺损明显减少,但是仍有脱矿表现。分析其原因,氟牙症的发病机理复杂,本实验仅从一个方面对牙齿发育过程中对釉质矿化结晶成核起关键作用的釉蛋白进行硼对氟拮抗作用的初步研究。关于氟硼联合作用发挥最佳作用的剂量及给硼的方法有待进一步的研究。同时随着氟斑牙发病机理的深入研究,预防氟牙症的综合措施的探讨也将进一步展开。

[参考文献]

[1] 刘先玲,徐增光,陈荣安.硼对大鼠肠道氟吸收影响的研究[J]. 勐阳医学院学报,1996,15(3):124-126.
LIU Xian-ling, XU Zeng-guang, CHEN Rong-an. Effects of boron on intestinal fluoride absorption in rats[J]. J Yunyang Medical College, 1996, 15(3):124-126.

[2] Hu JC, Sun X, Zhang C, et al. A comparison of enamel and amelogenin expression in developing mouse molars[J]. Eur J Oral Sci, 2001, 109(2):125-132.

[3] 吕平,高学军,贾弘跬,等.釉蛋白在大鼠牙胚发育过程中的表达[J]. 中华口腔医学杂志,2004,39(5):414-417.
Lü Ping, GAO Xue-jun, JIA Hong-ti, et al. Enamelin transcriptional expression in developing postnatal rat tooth germ[J]. Chin J Stomatol, 2004, 39(5):414-417.

(上接第243页)

量组样本的两倍,这也证实了反应体系中锌离子对碳磷灰石的形成有促进作用。

本实验为抗菌材料的制备提供了一种新的思路。通过溶胶凝胶法在钙不足量的条件下能提高锌离子进入羟磷灰石的量,但是否能获得稳定持久的抗菌效果,还需要进一步的实验证明。此外,采用溶胶凝胶法制备出溶胶状态的抗菌涂层材料使用方便,适用于具有复杂表面的种植体。

[参考文献]

[1] Alexander H, Bruski JB, Cooper SL, et al. Biomaterials science: An introduction to materials in medicine[M]. New York: Academic Press, 1996:37.

[2] Quirynen M, De Soete M, van Steenberghe D. Infectious risks for oral implants: A review of the literature[J]. Clin Oral Implants Res, 2002, 13(1):1-19.

[3] Grivet M, Morrier JJ, Benay G, et al. Effect of hydrophobicity on in vitro streptococcal adhesion to dental alloys[J]. J Mater Sci Mater Med, 2000, 11(10):637-642.

[4] Bates DG, Navia JM. Chemotherapeutic effect of zinc on Streptococcus mutans and rat dental caries[J]. Arch Oral Biol, 1979, 24(10/11):799-805.

[5] Liljemark WF, Bloomquist C. Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases[J]. Crit Rev Oral Biol Med,

[4] 章魁华,于世凤.实验口腔病理学[M].北京:人民卫生出版社,2002:31-32.
ZHANG Kui-hua, YU Shi-feng. Experimental oral pathology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002:31-32.

[5] Vaziri ND, Oveisi F, Culver BD, et al. The effect of pregnancy on renal clearance of boron in rats given boric acid orally[J]. Toxicol Sci, 2001, 60(2):257-263.

[6] 杨光,仲来福.硼及其化合物危险度评定的研究进展[J].卫生毒理学杂志,2004,18(4):280-281.
YANG Guang, ZHONG Lai-fu. The research about toxicological review of boron and compounds[J]. J Health Toxicol, 2004, 18(4):280-281.

[7] 康龙丽,郭雄,许鹏,等.“硼复方”对过量氟实验大鼠血清脂质过氧化和RNA合成的影响[J].西安交通大学学报(医学版),2003,24(6):599-601.
KANG Long-li, GUO Xiong, XU Peng, et al. The effect of “borax compound” on lipid peroxidation and antioxidation in serum and RNA from experimental rats ingested with excess fluoride[J]. J Xi'an Jiaotong University(Medical Sciences), 2003, 24(6):599-601.

[8] 刘天麟,王强,徐志灵,等.过量氟对大鼠下切牙发育过程中釉蛋白表达的影响[J].华西口腔医学杂志,2006,24(4):297-299.
LIU Tian-lin, WANG Qiang, XU Zhi-ling, et al. Effect of over-dose fluoride on the expression of enamel in rat mandibular incisor[J]. West China J Stomatol, 2006, 24(4):297-299.

(本文编辑 王晴)

1996, 7(2):180-198.

[6] Mayer I, Featherstone JD. Dissolution studies of Zn-containing carbonated hydroxyapatites[J]. Cryst Growth, 2000, 219(1):98-101.

[7] Raul AB, Carlos AP, Aline YR, et al. Distribution and incorporation of zinc in biological calcium phosphates[J]. X-Ray Spectrometry, 2003, 32(5):387-395.

[8] Li C, Peoples RW, Li Z, et al. Zn²⁺ potentiates excitatory action of ATP on mammalian neurons[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90(17):8264-8267.

[9] Frank RM, Sargentini-Maier ML, Turlet JC, et al. Zinc and strontium analyses by energy dispersive X-ray fluorescence in human permanent teeth[J]. Arch Oral Biol, 1989, 34(8):593-597.

[10] Mayer I, Apfelbaum F, Featherstone JD. Zinc ions in synthetic carbonated hydroxyapatites[J]. Arch Oral Biol, 1994, 39(1):87-90.

[11] Tripathy NK, Patel PN, Panda A. Preparation, IR, and lattice constant measurements of mixed(Ca²⁺ Cu²⁺ Zn²⁺) hydroxylapatites[J]. Solid State Chem, 1989, 80(1):1-5.

[12] Ingram GS, Horay CP, Stead WJ. Interaction of zinc with dental mineral[J]. Caries Res, 1992, 26(4):248-253.

[13] Ito A, Ojima K, Naito H, et al. Preparation, solubility, and cytocompatibility of zinc-releasing calcium phosphate ceramics[J]. J Biomed Mater Res, 2000, 50(2):178-183.

(本文编辑 王晴)