

基于 X 射线衍射的激光消融改变人牙本质表层晶体结构的研究

林琪, 林昱, 谢云德, 马忠雄*

福建医科大学附属口腔医院口腔黏膜科, 福建省口腔疾病重点实验室, 福建 福州 350002

摘要 利用 X 射线衍射仪(XRD)研究了 Er,Cr:YSGG 激光消融对人牙本质表层晶体结构的影响。采用不同能量密度的 Er,Cr:YSGG 激光消融人牙本质,然后利用 XRD 分析了激光照射前后牙本质无机物相羟基磷灰石(HA)的晶体结构、平均粒径及晶胞参数等的变化,结果发现:不同能量密度的激光照射后,牙本质无机物相 HA 颗粒的平均尺寸略微变小,但晶胞参数没有明显变化。基于 XRD 数据,用 Popa 模型的 Rietveld 全谱拟合得到了激光照射前后牙本质 HA 晶粒为长椭球形。用扫描电镜观察了激光照射后牙本质的表面形貌及微结构,发现牙本质的表面粗糙度明显增大,表面无玷污层,没有裂纹、碳化现象,未见到明显的熔融现象。本研究表明,Er,Cr:YSGG 激光消融人牙本质后无机物相没有改变,HA 晶粒没有发生重结晶,牙本质表面未见到大面积熔融现象。

关键词 医用光学; X 射线衍射; Rietveld 全谱拟合; 激光消融; 牙本质

中图分类号 R781 **文献标志码** A

doi: 10.3788/LOP57.231701

Study on Crystal Structure Change of Laser-Ablated Human Dentin Surface Based on X-Ray Diffraction

Lin Qi, Lin Yu, Xie Yunde, Ma Zhongxiong*

Department of Oral Mucosa, the Affiliated Stomatological Hospital, Fujian Medical University, Fujian Key Laboratory of Oral Diseases, Fuzhou, Fujian 350002, China

Abstract The purpose of this article was to estimate the effect of Er,Cr:YSGG laser ablation on the surface crystal structure of human dentin with X-ray diffractometer (XRD). Er,Cr:YSGG laser with different energy densities were used to ablate human dentin, and XRD was used to analyze the changes of crystal structures, average particle size, and lattice parameters of hydroxyapatite (HA) crystals before and after laser irradiation. The results show that the average size of HA particles in dentin inorganic phase decreased slightly after laser irradiation with different energy densities, but the cell parameters did not change significantly. Based on XRD data, the ellipsoidal HA grain morphology of dentin before and after laser irradiation were obtained by Rietveld full pattern fitting of Popa model. The surface morphology and microstructure of dentin after laser irradiation were observed by scanning electron microscopy. It was found that the surface roughness of dentin increased obviously, there was no stained layer on the surface, no carbonization phenomenon and crack, and no obvious melting phenomenon. This study showed that the inorganic phase did not change after Er,Cr:YSGG laser ablation of human dentin, HA grains did not recrystallize, and large area melting was not observed on the dentin surface.

Key words medical optics; X-ray diffraction; Rietveld full pattern fitting; laser ablation; dentin

OCIS codes 170.1850; 160.4236; 140.3500; 120.6810

收稿日期: 2020-05-06; 修回日期: 2020-05-17; 录用日期: 2020-05-20

基金项目: 福建省教育厅青年科研项目(JAT170256)

* E-mail: 372590301@qq.com

1 引言

人天然牙中的无机物主要由纳米级晶体组成^[1]。晶体能产生 X 射线衍射现象。由衍射原理可知,物质的 X 射线衍射谱峰与其内部的晶体结构有关。每种结晶物质都有其特定的结构参数(如晶体结构类型、晶胞大小和晶胞参数等),因而不同的结晶物质有不同的衍射谱峰。对目标样本的 X 射线衍射谱图与已知晶体物质的 X 射线衍射谱图进行对比分析,可以完成目标样品物相和结构的定性、定量分析^[2]。

钕激光依靠热机械效应去除牙体硬组织,与传统牙科手机切割相比有低噪、无震、无痛等优点,在牙科领域具有广阔的应用前景^[3]。在喷水冷却情况下选用较短脉宽的钕激光辐照牙体组织时,辐照区域产生的热量很少会传播到邻近正常牙体组织中^[4-5];然而,随着激光能量的增高,激光光能使得辐照区域温度升高,组织内压力增大,在提高硬组织消融效率的同时还会改变辐照区域组织的物理、化学性能;更高剂量下的激光辐照,还可能引起组织熔融,对牙体组织的物相及理化性能影响很大,从而影响牙体的后期修复^[6]。掺钕铬钇铝石榴石激光(Er,Cr:YSGG)目前被认为是钕激光家族热损伤最小的激光,它依靠局部微爆反应来消融牙本质,但其热机械过程对牙本质晶体结构造成的影响目前还缺乏研究。

本文采用 6.18~11.1 J/cm² 能量密度的 Er,Cr:YSGG 激光对牙本质进行消融,然后采用 X 射线衍射仪(XRD)得到了激光照射前后牙本质晶体及无机物的衍射谱图,分析了衍射峰数目、角度位置、相对强度次序以及衍射峰的形状^[7];之后采用扫描电镜(SEM)观察了激光辐照前后牙本质表层晶体微结构的改变。

2 实验与方法

2.1 样本选择

选取 10 d 内拔除的无龋、无损伤、无脱矿及无发育不良的人第三磨牙共 15 颗(患者年龄在 18~30 岁,患者知情同意),清洁后储存于 4 ℃ 的 T 溶液(含体积分数为 0.5% 的氯胺)中。

2.2 XRD 样本的制备及实验分组

将牙齿固定,在水冷却下用低速金刚石切片刀垂直于牙体长轴切除冠 1/3 牙釉质及牙根。再根据 XRD 样本的制备要求,平行于牙体长轴切取

1.0 mm 厚的牙本质片,共切取 3 颗牙齿,每颗牙齿切取 4 片。每个样本均用水砂纸进行打磨,然后进行抛光、超声波清洗。将同一颗牙的 4 个样本随机分组,分别用 0(空白对照),6.18,8.04,9.89,11.1 J/cm² 的激光进行面扫描。

2.3 SEM 样本的制备及实验分组

用低速金刚石切片刀切除冠 1/3 牙釉质及牙根,再垂直于牙体长轴切取 1 mm 厚的牙本质片,每一颗牙齿获得 1 片牙本质片,共切取 12 颗牙齿。每个样本均用水砂纸进行打磨,然后进行普通抛光和高度抛光,最后进行超声波清洗。采用随机区组设计方法,每个牙本质片按顺序均匀取 5 个部位,根据随机数字表随机分配,然后分别采用 0,6.18,8.04,9.89,11.1 J/cm² 的激光对每个样本表面进行线扫描。

2.4 能量密度的测量

本研究所使用的激光参数见表 1。

表 1 Er,Cr:YSGG 激光参数

Table 1 Er,Cr:YSGG laser parameters

Pulse frequency /Hz	Spot diameter / μm	Laser power (machine parameter) /W	Laser energy density (experimental parameter) /($\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$)
20	750	2	6.18
		2.5	8.04
		3	9.89
		3.5	11.1

调节激光器的功率,采用激光能量计精确测得激光的输出能量,然后根据(1)式所示的公式计算出实际的激光能量密度。

$$J = \frac{E}{\pi R^2}, \quad (1)$$

式中: E 为单位时间内激光的总能量; π 为圆周率; R 为激光的光斑半径。

2.5 激光辐照方法

使用波长为 2.78 μm 的 Er,Cr:YSGG 激光进行辐照,激光通过光纤直径为 750 μm 的 Tip 进行传输,Tip 到样品的距离为 1 mm,脉宽为 150 μs ,脉冲频率为 20 Hz。按照实验分组,用能量密度分别为 0,6.18,8.04,9.89,11.1 J/cm² 的激光对样本表面进行扫描,用步控电机光学台控制扫描速度为 1 mm/s。激光束在气/水比例为 60%/70% 的喷雾条件下垂直照射于样品表面。

2.6 晶体结构分析

使用 X'Pert PRO X 射线衍射仪进行晶体结构分析,实验温度为 20 °C,采用 CuK_α 辐射,管电压为 40 kV,管电流为 40 mA,扫描方式为连续扫描,扫描步长为 0.02°,扫描速率为 100 s/step,扫描 2θ 角范围为 20°~70°。

采用 Peakfit 软件中的 Pearson VII 函数对 XRD 衍射数据进行分峰。对原始数据进行平滑去本底和峰谱拟合后,可对重叠峰进行分解,获得各个单一谱峰的参数,包括衍射峰位置、半峰全宽(FWHM)。采用 Scherrer 公式可计算得到晶粒的平均尺寸,即

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos \theta}, \quad (2)$$

式中: D 为计算得到的晶粒的平均尺寸, nm; K 为形状因子, $K=0.89$; λ 为 X 射线的波长, nm; β 为扣除仪器宽化的衍射峰的半峰全宽(弧度单位制); θ 为布拉格衍射角。本文研究的是六方晶系羟基磷灰石(HA),故选取其具有代表性的互相垂直的(002)、(130)晶面进行分析。

激光照射前后牙本质的晶胞参数 a 、 c 可以根据六方晶系的晶胞参数计算公式求出^[8]。该公式的表达式为

$$\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2}, \quad (3)$$

式中: d 为衍射面的晶面间距; h 、 k 、 l 为衍射面的晶面指数。

2.7 表面形貌分析

样本进行常规干燥后,按照分组分别标记后进行离子表面喷金处理,然后采用 SEM(在 15 kV 加速电压下)观察激光照射前后牙本质表面的形态学改变,并拍片。

3 分析与结果

3.1 物相分析

XRD 分析结果表明,牙本质中的主要无机物相是由具有择优取向的六方晶系 HA(分子式为 $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$)构成的。图 1 中黑色虚线为测试得到的牙本质的 XRD 谱图,黑色实线为纯 HA 的标准谱图(ICSD-56312)。可以看出,牙本质的各主要特征衍射峰均与纯 HA 标准谱图中的衍射峰相对应。

不同能量密度(6.18, 8.04, 9.89, 11.1 J/cm²)的激光照射前后牙本质表面的 XRD 谱图如图 2 所示。可见,各衍射峰均较好地对应了纯 HA 标准

谱图中的主要特征衍射峰,且激光照射前后的峰形相似,激光照射后各衍射峰强度均轻微变低、变宽。

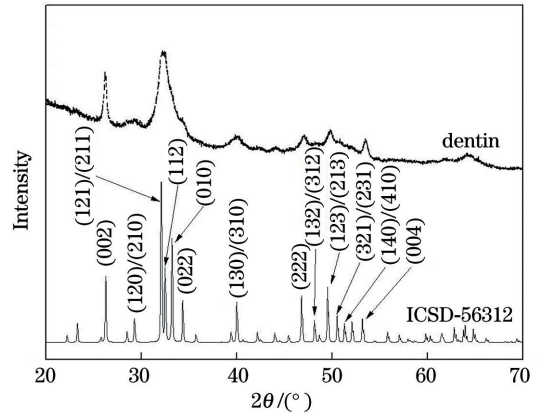


图 1 牙本质 XRD 谱图(虚线)及 HA(ICSD-56312)的标准谱图(实线)

Fig. 1 XRD pattern of dentin (dash line) and simulated XRD pattern of hydroxyapatite from ICSD-56312 (solid line)

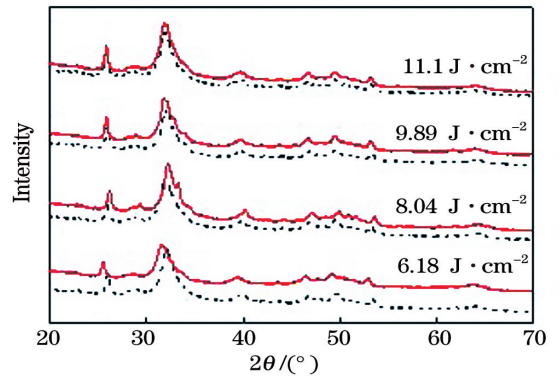


图 2 不同能量密度的激光照射前后牙本质的 XRD 谱图(虚线:激光辐照前;实线:激光辐照后)

Fig. 2 XRD patterns of dentin before (dash line) and after (solid line) laser irradiation with different energy densities

3.2 平均粒径

本文采用 Scherrer 公式计算了激光照射前后牙本质 HA 晶体的平均粒径,计算结果如表 2 所示。从表 2 中可以看出,激光照射后,HA 纳米颗粒(002)和(130)轴向尺寸均略有减小,这可能是由激光热效应使 HA 纳米颗粒轻微融化造成的。

基于对牙本质平均粒径的计算,本文采用 Popa 模型的 Rietveld 全谱拟合程序 MAUD 拟合得到了激光照射前后 HA 晶粒的形貌,两者差别不大。激光照射后 HA 晶粒的形貌,如图 3 所示。由图 3 可见,牙本质中的纳米 HA 颗粒为长椭球形。

表2 激光照射前后牙本质 HA 纳米颗粒(002)和(130)轴向尺寸

Table 2 Average particle sizes of HA nanocrystals before and after Er, Cr:YSGG laser irradiation at (002) and (130) positions

Laser energy density / ($\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$)	(002) axial size/nm		(130) axial size /nm	
	Before	After	Before	After
6.18	32.80 ± 4.9	30.25 ± 4.4	9.41 ± 3.9	8.31 ± 4.2
8.04	25.19 ± 5.2	22.90 ± 5.8	10.85 ± 2.4	8.2 ± 4.1
9.89	32.08 ± 4.7	29.68 ± 4.1	9.53 ± 2.7	7.58 ± 3.5
11.1	27.70 ± 4.5	22.60 ± 6.0	10.12 ± 2.6	9.13 ± 2.9

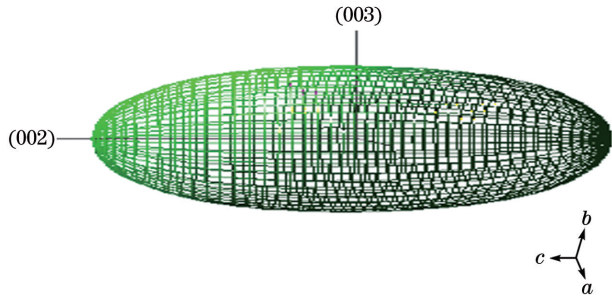


图3 Popa 模型拟合得到的激光照射后牙本质中纳米 HA 颗粒的形貌

Fig. 3 Crystallographically refined HA crystallite shapes after Er, Cr:YSGG laser irradiation using Popa model

3.3 晶胞参数

根据(3)式计算得到了激光照射前后牙本质中纳米 HA 的晶胞参数 a 、 c ，如表 3 所示。计算结果表明，激光照射前后的晶胞参数 a 、 c 值基本不变。

3.4 激光照射前后牙本质的表面形貌

激光照射前，牙本质表面平整、清洁，可见开放的牙本质小管口，牙本质小管开口较平、规则、清晰，如图 4(a)所示。牙本质表面边缘光亮部分为管周牙本质，其余部分为管间牙本质，两者之间的界限不清。在高倍镜(10000 \times)下可明显看到管周牙本质基质比管间牙本质基质更为致密，管口微隆起。

表3 激光照射前后牙本质中纳米 HA 的晶胞参数

Table 3 Lattice parameters of nano HA in dentin before and after Er, Cr:YSGG laser irradiation

Laser energy density/ ($\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}$)	Lattice parameter a /nm		Lattice parameter c /nm	
	Before	After	Before	After
6.18	0.945	0.944	0.688	0.689
8.04	0.944	0.943	0.688	0.688
9.89	0.944	0.945	0.688	0.689
11.1	0.945	0.944	0.688	0.689

能量密度为 6.18 ~ 11.1 J/cm^2 的激光辐照牙本质后，均能有效消融牙本质，如图 4(b)~(e)所示。随着激光能量密度增加，消融后的牙本质表面粗糙度增加，表面形态不规则，呈鳞状或片状外观，无玷污层及碳化现象，牙本质小管口均完全开放，未见小管栓塞、闭合现象。管周与管间牙本质边界始终清晰，牙本质小管口呈“袖口状”外观，未见牙本质表面大面积熔融现象；在高倍镜(10000 \times)下可以发现，管间牙本质表面有散在的玻璃状熔融物(熔融程度轻微)，而管周牙本质表面无明显的玻璃状熔融物，如图 4(d)~(e)所示。

4 讨论

4.1 激光照射后牙本质无机晶体的变化

激光辐照生物组织时，可能会发生组织气化、熔

融、喷射和高温分解等现象，这些都会导致生物组织的去除，即“组织消融”^[9]。Er, Cr:YSGG 激光的波长位于水和 OH^- 的吸收峰附近，该激光能够被水、HA 中的 OH^- 和胶原纤维吸收。激光辐照牙体硬组织时，其表层以下组织中的水分吸收激光能量后蒸发，通过微爆效应去除周围组织，从而达到切割的目的。研究表明，当激光作用于牙体硬组织的温度超过 400 $^\circ\text{C}$ 时，就会导致无机质分解，形成一种新的无机相^[10]。对后期修复过程而言，无机晶体物相和微结构的改变以及结晶度的增减，都会引起牙本质表面离子分布的改变，从而影响黏接剂与牙本质之间的化学反应模式，改变黏结效果^[11]。本文的 XRD 分析结果表明激光照射前后无机物相的峰形相似，说明激光照射前后牙本质的无机物相没有改变，都为 HA。这一结果说明 Er, Cr:YSGG 激光在

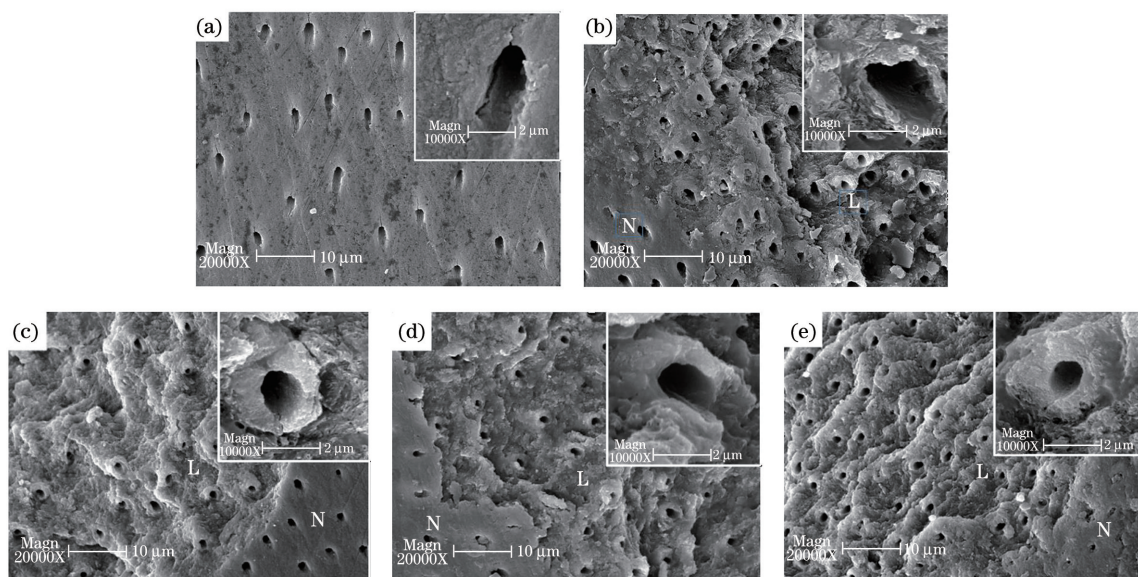


图4 激光辐照前后牙本质的SEM图像(N代表未经激光辐照的牙本质,L代表激光辐照后的牙本质)。(a)激光照射前; (b) 6.18 J/cm^2 激光照射后;(c) 8.04 J/cm^2 激光照射后;(d) 9.89 J/cm^2 激光照射后;(e) 11.1 J/cm^2 激光照射后
Fig. 4 SEM images of dentin before and after laser irradiation (N: dentin before laser irradiation, L: dentin after laser irradiation). (a) Before laser irradiation; (b) after laser irradiation with energy density of 6.18 J/cm^2 ; (c) after laser irradiation with energy density of 8.04 J/cm^2 ; (d) after laser irradiation with energy density of 9.89 J/cm^2 ; (e) after laser irradiation with energy density of 11.1 J/cm^2

$6.18, 8.04, 9.89, 11.1 \text{ J/cm}^2$ 下的光热效应导致的牙本质表面温度的升高程度,不足以改变牙本质的物相,而峰强的轻微降低、变宽可能与激光照射导致牙本质表面粗糙度增加有关。根据平均粒径的计算结果可知,HA纳米颗粒的尺寸仅有轻微的变小,这表明激光辐照后牙本质并没有因光热效应而出现HA颗粒变大的现象,从而进一步说明激光辐照后牙本质的HA颗粒没有发生重结晶,保持了正常牙本质纳米HA颗粒的形态。

依据吸附理论,黏接作用是黏接剂与被黏接分子在界面上相互作用而产生的。在对牙齿进行黏接修复时,牙本质表面的有机、无机成分均发挥着独特的作用^[12]。有学者对牙本质的黏接进行研究后认为,牙本质的HA颗粒可以通过化学吸附与树脂黏接剂产生牢固的黏结效果^[11]。本研究采用能量密度为 $6.18 \sim 11.1 \text{ J/cm}^2$ 的Er,Cr:YSGG激光进行辐照处理,未改变牙本质表面HA晶体的结构。目前,Er,Cr:YSGG激光辐照对牙本质HA晶体表面离子活性、化学吸附能力的改变,以及对后续黏接修复效果的影响还没有相关报道,需进行深入研究。

4.2 激光照射后牙本质表面形貌的改变

采用传统牙科手机切削牙本质时,机械摩擦产生的热量会使有机质变性,变性的有机质与切削后

的牙本质碎屑、唾液和细菌等形成混合物,继而借助钻磨压力贴附于牙体表面形成玷污层^[13]。Er,Cr:YSGG激光波长与水、HA吸收峰的位置接近,入射能量能被水雾中的水分子、牙本质中的水分子和HA中的羟基共同吸收,在此过程中牙体组织的内压力增大,最终通过微爆效应去除牙体硬组织。由两种不同的切割牙体组织的机制可知,激光消融可以有效避免玷污层的形成。

通过SEM观察发现,激光照射后的牙本质表面粗糙,牙本质小管口开放,呈“袖口状”。形成上述形貌特征的原因可能有二:一是管间牙本质比管周牙本质中的水分、有机质含量高,所以管间牙本质更易吸收激光能量,消融率比管周牙本质更高^[14];二是在管周牙本质和管间牙本质之间有一较清楚的交界面,此交界面被称为诺伊曼鞘(Neumann sheath)交界面,它可能也是形成“袖口状”凸起结构的原因。

激光照射后的牙本质表面粗糙度的增加使牙本质表面的黏接面积增大,有利于黏接树脂与牙本质表面形成机械嵌锁。另外,激光照射后,管周牙本质保留得相对完整,牙本质小管口无塌陷、增大现象,后续黏接修复形成的树脂突呈圆柱形,且较长和较密集,有利于抵抗充填体树脂收缩力的作用^[15]。然而,牙本质小管口开放除了具有有利于黏接剂与牙

本质界面更好地接触之外,还有不利的一面,如:可能会增大牙体修复术后牙髓的敏感反应。同时,有研究表明,当小管内的液体与黏接剂中的单体结合时,牙本质小管的开放会在一定程度上稀释或改变黏接单体的性质,从而降低黏接树脂在该部位的聚合程度,削弱牙本质的黏结强度^[16]。

采用 SEM 观察发现,激光照射后的牙本质表面微区有轻微的熔融现象。推测原因有二:一是因为富含有机质的管间牙本质,在激光辐照瞬间的高热高压作用下,其微区有机质发生了变性、凝固等改变,并覆盖在局部表面;2)瞬时的光热效应导致微区的 HA 晶体形貌发生了轻微改变。这些都有可能对后续的黏接修复造成影响。

5 结 论

采用能量密度分别为 6.18, 8.04, 9.89, 11.1 J/cm² 的 Er,Cr:YSGG 激光辐照人牙本质,不会明显改变无机 HA 颗粒的物相与晶胞参数;激光照射会造成牙本质表面粗糙度明显增大,且微区玻璃样发生改变,但没有造成牙本质表面的大面积熔融。本研究结果对牙科修复材料的黏接修复具有一定的参考价值。

参 考 文 献

- [1] le Geros R Z. Calcium phosphates in oral biology and medicine[J]. Monographs in Oral Science, 1991, 15: 1-201.
- [2] Xu Z Y, Peng X C, Zhao Y, et al. Damage characteristics of CaF₂ crystals with different planes irradiated by 355-nm pulse laser[J]. Chinese Journal of Lasers, 2019, 46(11): 1103001.
徐子媛, 彭小聪, 赵元安, 等. CaF₂ 晶体的不同晶面在 355 nm 脉冲激光辐照下的损伤特性[J]. 中国激光, 2019, 46(11): 1103001.
- [3] Fang C, Wang S B, Hui Y L, et al. Progress on erbium-doped mid-infrared laser [J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2019, 56(18): 180002.
方聪, 王思博, 惠勇凌, 等. 掺铒中红外激光器的进展[J]. 激光与光电子学进展, 2019, 56(18): 180002.
- [4] Kuscer L, Diaci J. Measurements of erbium laser-ablation efficiency in hard dental tissues under different water cooling conditions [J]. Journal of Biomedical Optics, 2013, 18(10): 108002.
- [5] Lukac N, Suhovršnik T, Lukač M, et al. Ablation characteristics of quantum square pulse mode dental

- erbium laser[J]. Journal of Biomedical Optics, 2016, 21(1): 15012.
- [6] Arbabzadeh F, Birang E, Nazem R, et al. A comparative study on micro hardness and structural changes of dentin floor cavity prepared by Er : YAG laser irradiation and mechanical bur [J]. Journal of Dentistry, 2013, 14(2): 73-77.
- [7] Liu H Y, Huang C Y, Huang M T, et al. Phase transition of plasmons induced by ultrashort laser pulses[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2018, 55(12): 121402.
刘鹤元, 黄翠莺, 黄梅婷, 等. 超短激光脉冲作用下等离激元“相变”特性研究[J]. 激光与光电子学进展, 2018, 55(12): 121402.
- [8] Warren B E. X-ray diffraction [M]. New York: Dover Publications, 1990: 21.
- [9] Le Q T, Bertrand C, Vilar R. Femtosecond laser ablation of enamel[J]. Journal of Biomedical Optics, 2016, 21(6): 065005.
- [10] Kalhori K A M, Fekrazad R. New findings on lasers in preventive dentistry [J]. Journal of Lasers in Medical Science, 2018, 9: 30.
- [11] Nurrohman H, Nikaido T, Takagaki T, et al. Apatite crystal protection against acid-attack beneath resin-dentin interface with four adhesives: TEM and crystallography evidence[J]. Dental Materials, 2012, 28(7): e89-e98.
- [12] Takahashi M, Nakajima M, Tagami J, et al. The importance of size-exclusion characteristics of type I collagen in bonding to dentin matrices [J]. Acta Biomaterialia, 2013, 9(12): 9522-9528.
- [13] Trivedi P, Dube M, Pandya M, et al. Effect of different burs on the topography of smear layer formation on the dentinal surface: a scanning electron microscope study[J]. The Journal of Contemporary Dental Practice, 2014, 15(2): 161-164.
- [14] Sui T, Dluhoš J, Li T, et al. Structure-function correlative microscopy of peritubular and intertubular dentin[J]. Materials, 2018, 11(9): 1493.
- [15] de Oliveira Ferraz L C, Ubaldini A L M, de Oliveira B M B, et al. Analytical method to estimate resin cement diffusion into dentin [J]. Journal of Biomedical Optics, 2016, 21(5): 055003.
- [16] Sartori N, Peruchi L D, Phark J H, et al. The influence of intrinsic water permeation on different dentin bonded interfaces formation [J]. Journal of Dentistry, 2016, 48: 46-54.