

磷硅酸钙生物活性牙膏的功效研究

徐春生, 严来喜, 易瑞, 陈启坚
(广州市倩采化妆品有限公司, 广东广州, 510897)

摘 要: 概述了磷硅酸钙生物活性牙膏研发的背景, 介绍了磷硅酸钙生物活性牙膏制作的配方与工艺、稳定性测试、再矿化牙釉质功效测试、牙本质小管堵塞率测试、美白牙齿功效测试。经实验证明, 该牙膏具有修护牙釉质和牙本质、美白牙齿的显著效果。

关键词: 生物活性牙膏; 磷硅酸钙; 修护牙釉质; 牙本质小管堵塞率; 美白牙齿; 功效研究

作者简介: 徐春生, 硕士, 广州市倩采化妆品有限公司副总经理, 高级工程师, 长期从事口腔护理用品产品开发、工程技术方面的研究。E-mail: xcs6603@163.com。



生物活性物质, 是指能与生命体作用后产生各种生物效应的物质。用于牙膏的生物活性成分包括生物酶、活性肽、维生素、生物活性玻璃和其他生物活性制剂^[1]。

生物活性玻璃是一类能对人体组织进行修复、替代与再生、具有能使组织和材料之间形成键合作用的物质。其降解产物能够促进生长因子的生成、促进细胞的繁衍、增强成骨细胞的基因表达和骨组织的生长。是迄今为止唯一既能够与骨组织成键结合, 同时又能与软组织相连接的人工生物材料。作为骨缺损修复材料, 在安全性和临床有效性上已得到美国 FDA、欧共体以及中国国家药品监督管理局的认可。近 10 多年来, 生物活性玻璃在牙膏等口腔护理用品方面的应用研究得到了迅速发展^[2]。

传统的生物活性玻璃为磷硅酸钙钠 (45S5 玻璃), 相关的牙膏凭借良好的再矿化作用和抗菌效果, 在预防龋病、牙本质敏感和牙龈炎等方面问题有着良好的效果, 在美国问世后被誉为牙膏工业的又一次革命。考虑到磷硅酸钙钠 (45S5 玻璃) 碱性较大, 有较强的刺激性, 在作用于人体修复的同时可能会影响正常的细胞及组织, 导致不良反应事件的发生。经过相关企业和科研机构的进一步改进, 减少碱金属离子后的活性磷硅酸钙 (Calcium Phosphosilicate) 在我国问世, 并在我国牙膏行业得到了较好的推广^[3]。

无论是磷硅酸钙钠 (45S5 玻璃), 还是活性磷硅酸钙, 都需要与唾液接触才能直接生成牙齿修复所需要的活性羟基磷灰石成分, 这种反应必须在无水牙膏体系中进行, 才能确保其有效性。

笔者团队经过 5 年多的时间, 成功开发了磷硅酸钙生物活性牙膏, 该牙膏为羟丙基决明胶体系的无水牙膏, 以活性磷硅酸钙、单氟磷酸钠等为功效成分^[4], 具有修护牙釉质、堵塞牙本质小管、美白牙齿等功效, 现将相关的试验研究介绍如下, 为行业同仁后续的研究提供参考。

1. 实验部分

1.1 磷硅酸钙生物活性牙膏的制作

1.1.1 产品配方

见表 1。

表 1 磷硅酸钙生物活性牙膏试验配方

原料名称	用量百分比 (%)
甘油	55~65
聚乙二醇-12	3~6
丙二醇	3~6
糖精钠	0.2~0.3
单氟磷酸钠	0.8
尼泊金甲酯	0.1
羟丙基决明胶	0.6~0.9
聚乙烯吡咯烷酮	0.2~0.5
二氧化硅	15~20
二氧化钛	0.5~1.0
磷硅酸钙	5
月桂基硫酸酯钠	2.0~2.4
香精	1.0~1.2

1.1.2 制作工艺

(1) 按照组成原料的重量百分比称取各原料; (2) 将糖精钠、单氟磷酸钠、尼泊金甲酯用部分甘油溶解, 倒入配料锅中; (3) 将羟丙基决明胶、聚乙烯吡咯烷酮分别用丙二醇、聚乙二醇分散, 倒入配料锅中; (4) 将其余的甘油倒入配料锅中, 搅拌 30 分钟后, 制成牙膏胶水, 静置 24 小时后待用; (5) 将牙膏胶水加入牙膏制膏机中, 开慢慢速搅拌并抽真空; (6) 待真空度达到 -0.09MPa 时, 关闭真空泵, 将二氧化硅、二氧化钛、磷硅酸钙、月桂基硫酸酯钠吸入到牙膏制膏机中; (7) 开启真空泵, 真空度达到 $-0.09\sim-0.095\text{MPa}$ 时, 继续均质 30 分钟, 使膏体达到紧致状态, 然后关闭真空泵, 将香精通过真空泵吸入到牙膏

制膏机中；（8）开启真空泵继续均质乳化15分钟，即可制得所需的成品膏体。

1.2 牙膏稳定性测试

将按照1.1要求制作好的牙膏样品分别放置于常温三年、45℃的电热恒温干燥箱三个月、-8℃的冰箱一个月进行稳定性考核，定期取出检查软管内层及膏体外观、香味、pH值、稠度、菌落总数等变化情况。以此判定牙膏在保质期内的稳定性及包材相容性。

1.3 牙釉质再矿化功效测试

1.3.1 实验原理

龋齿是由于口腔微生物繁殖形成牙菌斑，菌斑内侧由于微生物分解有机物产生酸性物质，进而分解牙釉质，形成龋齿。正常或未脱矿前牙釉质表面排列整齐致密，未见微孔及凹凸不平的蜂窝状结构。酸化后可观察到牙釉质表面大量的微孔与凹凸不平的蜂窝状结构。再矿化后牙釉质表面微粒恢复排列整齐，微孔与凹凸不平的蜂窝状结构减少。可通过牙釉质再矿化程度评价样品的防龋功效。

1.3.2 实验材料

1.3.2.1 牙膏样品

按照1.1要求制作。

1.3.2.2 主要试剂及材料

离体牛牙釉质样本、人工唾液（远慕生物）、乳酸（国药）。

1.3.2.3 主要设备

扫描电镜（ZEISS）。

1.3.3 实验方法

1.3.3.1 测试方案

见表2。

表2 牙釉质再矿化功效测试方案

组别	模型	脱矿处理	再矿化操作		检测指标及方法
			再矿化	操作方式/频次	
空白对照 (BC)-脱矿前	离体牛牙	-	-	1.刷牙, 3min/次, 2次/d;	SEM图 (釉面形态, 釉面微孔隙面积)
阴性对照 (NC)-脱矿后		+	-	2.非处理期置于人工唾液。	
样品牙膏		+	+		

1.3.3.2 离体牛牙样本准备

选取新鲜小牛前牙，切割清除根部组织，经超声清洗后，储存至含双抗的PBS溶液中。筛选牙冠表面无裂痕、龋损、色斑的牙齿作为后续试验正式工具，以超声振荡清洗经抛光打磨后备用。

1.3.3.3 离体牛牙体外脱矿处理

配制1%乳酸溶液，将釉质样本完全随机分组，每组3颗重复，包括空白对照（BC）组、阴性对照（NC）组、样品牙膏组。阴性对照（NC）组和样品牙膏组样本分别浸泡于1%乳酸溶液中，每次2min，每天两次，共两周。间断期置于37℃人工唾液中。

1.3.3.4 离体牛牙体外再矿化处理

根据表2测试分组，样品牙膏组进行刷牙处理3min，阴性对照（NC）组置于5mL人工唾液中浸泡3min，每天2次重复操作，共处理4周。

1.3.3.4 釉质样品制作与检测

使用物理切割机将选取的样本切割成4mm x 4mm x 2mm体积的釉质方块，经超声振荡清洗后，室温下干燥。

在真空中喷金处理后，扫描电镜下观察样本釉质表面孔隙及釉柱的改变情况。

1.4 牙本质小管堵塞率测试

1.4.1 实验原理

牙本质过敏是一种常见的牙科疾病，其病状为牙齿对外部冷热酸甜等刺激会产生疼痛反应。造成牙本质过敏的原因有很多，经典理论认为牙本质敏感的根本原因是牙冠处牙釉质的缺损和牙龈退缩造成的牙根部位牙骨质缺失，从而导致牙本质暴露于外部环境中。治疗牙本质敏感的方法可以用封堵材料涂抹于牙本质表面，封闭暴露的牙本质小管。本实验用柠檬酸酸蚀去除牙本质片的污染层并模拟牙本质小管开放，建立重复性良好的牙本质敏感研究模型，从而客观准确地评价受试物封堵牙本质小管的效果。

1.4.2 实验材料

1.4.2.1 牙膏样品

按照1.1要求制作。

1.4.2.2 主要试剂及材料

离体牛牙牙本质片、柠檬酸（国药）、人工唾液（远慕生物）。

1.4.2.3 主要设备

扫描电镜（SEM）。

1.4.3 实验方法

1.4.3.1 牙本质片的制备

选取新鲜拔除无裂纹、无坏的离体牛牙，充分清洁干净后储存于10%甲醛溶液中备用。切割获得平坦的牙本

质暴露区，厚度控制在2 ~ 3mm。牙本质片抛光，形成均一、平整、光滑的表面，纯水超声波清洗。将牙本质置入10%柠檬酸酸蚀2分钟，大量用纯水冲洗后超声波清洗10min，酸蚀步骤连续操作3次，得到牙本质小管开放的牙本质片。

1.4.3.2 封堵试验处理

将牙本质片固定于载玻片上，每个牙本质片上放置对应的测试牙膏样品0.2g，均匀涂于牙本质片表面，纯水湿润，牙刷刷洗2min，静置2min，纯水轻轻冲洗以去除表面的测试样品。

对照组的牙本质片仅用牙刷蘸纯水刷洗，牙刷刷洗2min，静置2min。牙本质片处理后分别保存于人工唾液中，并存放于37℃恒温水浴箱中。连续刷洗7d，每天2次。

1.4.3.3 数据计算

牙本质片干燥处理后，每个牙本质片随机选择3个不同区域用扫描电子显微镜 (SEM) 进行观察 (放大倍数为2000倍)。计算出牙本质小管未封堵区域的面积，继而求出各实验组牙本质小管的封堵率 (Pluggingrate, PR)。

封堵率 (PR, %) = (对照组开放牙本质小管面积 - 实验组开放牙本质小管面积) / 对照组开放牙本质小管面积

1.5 牙齿美白功效测试

1.5.1 测试样品

按照1.1要求制作的实验样牙膏和空白对照样牙膏。

1.5.2 测试方法

1.5.2.1 染色液的配置

称取红茶2g，胃粘蛋白1g，加入热水200mL冲泡，茶水冷却过后用滤纸过滤掉茶叶。再将咖啡2g，酱油5mL，加入到过滤冷却好的茶水中充分溶解并混匀。

1.5.2.2 染色

把镶模块牙齿浸没在配置好的染色液里面，染色完成后冲洗干净表面的染色液并晾干使颜色附着稳固。染色完成后，用分光测色仪测量染色后牙齿的白度值 (L_1^*)。

1.5.2.3 刷牙处理

按照1:1.6 (牙膏 : 水) 的比例称取一定量的实验样牙膏和去离子水，搅拌均匀成牙膏浆备用，对对照样牙膏浆的制备方法相同。设定刷牙仪往返频率为100r/min，往各个浆料杯加入适量待测牙膏浆，使其浸没牙齿模块。启动机器，往返刷牙800次。结束后冲洗并擦干表面水分，于10min内测量牙齿的白度值 (L_2^*)。

2. 结果与讨论

2.1 牙膏稳定性考核结果与讨论

牙膏样品稳定性考核数据见表3。

表3 牙膏稳定性测试数据

指标	考核前	常温 (36个月)	-8℃ (1个月)	45℃ (3个月)
外观	正常	正常	正常	正常
香味	正常	正常	正常	正常
pH值	9.81	9.51	9.62	9.43
稠度	12	27	18	24
菌落总数	<10cfu/g	<10cfu/g	<10cfu/g	<10cfu/g

该牙膏为羟丙基决明胶体系的无水牙膏，与传统增稠剂卡波姆相比，羟丙基决明胶具有良好的后增稠效果和稳定性，复配聚乙烯吡咯烷酮后，进一步提高了膏体的挺括度、分散性和稠度，有效改进了刷牙时口感清爽度。无水牙膏中没有水的存在，所用液相成分又具有一定的抗菌作用，所以不会感染微生物，安全性更好。

2.2 牙釉质再矿化功效测试结果与讨论

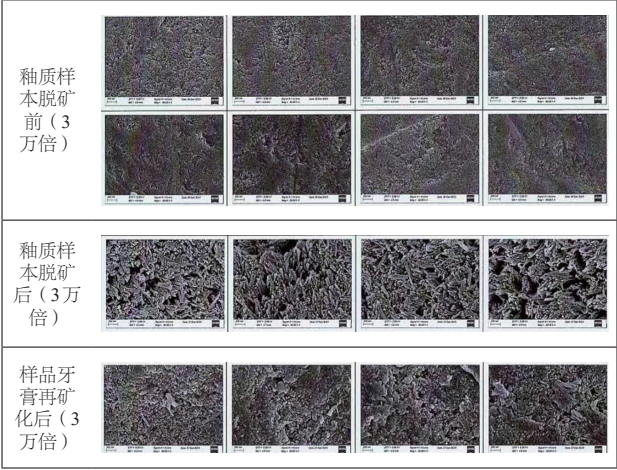
各组离体牛牙的釉质样本进行扫描电镜的测试结果见表4。

该牙膏功效成分为单氟磷酸钠 (0.10%，以氟计) 和磷硅酸钙 (5%)，以此保障该牙膏对牙釉质再矿化的显著效果。

单氟磷酸钠具有以下三个方面的作用：(1) 氟可以直接抑制口腔中细菌生长所需要的能量代谢，抑制细菌向牙面黏附，抑制细菌代谢过程中多种酶的活性，使细菌生长、代谢紊乱或停止。(2) 氟能够替代牙釉质结构中的羟基磷灰石中的羟基，形成氟磷灰石，从而降低牙釉质表面的溶解度，增强对酸的抵抗力。(3) 氟可以促进唾液中的钙、磷在牙齿表面附着，有助于牙齿萌出后釉质的继续成熟，也有助于龋齿病变部位被破坏的磷灰石的恢复，促进龋损的再矿化。

与传统的生物活性玻璃 (磷硅酸钙钠) 相比，磷硅酸钙具有三个方面的优点：(1) 磷硅酸钙的 pH 值范围为 7.4 ~ 9.8，生物活性玻璃的 pH 值范围为 11 ~ 13。生物活性玻璃为强碱性体系，用于牙膏有较强的刺激性，在作用于人体时修复的同时会损伤正常的细胞及组织。磷硅酸钙材料温和无刺激，用于牙膏没有细胞毒性。(2) 磷硅酸钙比表面积可达 300 m²/g 以上，是生物活性玻璃 (比表面积 1.5 ~ 2.0 m²/g) 的近 300 倍；超大比表面积可更加促进羟基磷灰石的原位形成，促进牙齿及骨修复，更利于细胞攀爬，组织有序生长。

表4 釉质样本扫描电镜照片



2.3 牙本质小管堵塞率测试结果与讨论

各组离体牛牙的牙本质片的测试结果见表5。

表5 牙本质片样本扫描电镜照片

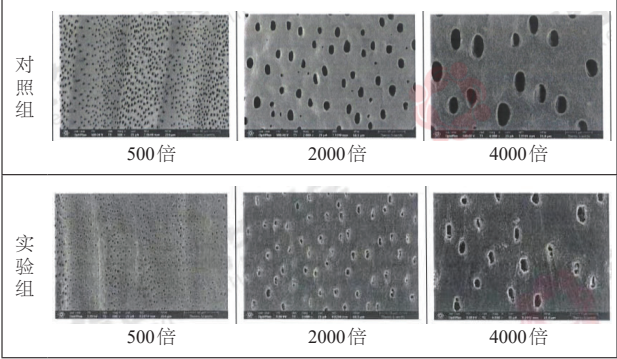


表5照片显示，对照组牙本质小管完全开放且形态清晰，实验组发现牙本质表面被大量沉积物覆盖，一部分牙本质小管被颗粒状的沉积物所封堵，而且结合紧密、均匀。经图像分析软件统计，牙本质小管封堵率达到了65%。由此说明该牙膏还具有一定的抗牙齿过敏作用。

2.4 牙齿美白功效测试结果与讨论

刷牙前后牙齿白度值见表6。

羟丙基决明胶除具有增稠作用以外，还能够通过羟基基团与茶等使牙齿染色物质成分中含有的主要官能团形成O—H···O氢键，发生络合反应，从而使该牙膏还具有减轻牙齿外源性色斑、美白牙齿的效果。如表6所示，各样品牙膏的ΔL*值均大于对照组牙膏的ΔL*值，且两组ΔL*值比较有统计学意义(P<0.0001)，由此说明，该牙膏美白牙齿的效果得到了较好的验证。

3. 研究结论

采用羟丙基决明胶体系的无水牙膏配方，以活性磷硅

表6 牙齿白度值测试数据

组别	样品组			对照组		
	L ₁ *	L ₂ *	ΔL*	L ₁ *	L ₂ *	ΔL*
组1	33.58	36.89	3.31	37.95	39.50	1.55
组2	36.28	40.99	4.71	32.59	33.55	0.96
组3	37.38	41.45	4.07	32.30	33.32	1.02
组4	43.54	46.70	3.16	38.96	39.31	0.35
组5	36.16	39.67	3.51	38.08	39.62	1.54
组6	38.38	42.95	4.57	39.76	41.08	1.32
组7	42.85	45.89	3.04	33.37	34.93	1.56
组8	40.56	44.82	4.26	35.17	36.15	0.98
平均值	38.59	42.42	3.83	36.02	37.18	1.16
P值	<0.0001			<0.0001		

酸钙(5%)、单氟磷酸钠(0.10%，以氟计)为主要功效成分，所研发的牙膏已经通过了广州市质量监督检测研究院的备案检验和毒理学试验。

实验研究表明：(1)该牙膏经过三年的室温考核、三个月的热考核、一个月的冰箱考核，膏体和包材都保持正常状态，微生物及其他相关指标也稳定合格。(2)基于离体牛牙，采用乳酸进行造模处理，与对照组相比，采用样品牙膏处理后的釉质样本表面微粒排列整齐致密，微孔及凹凸不平的蜂窝状、纤维结构明显改善。由此说明，该牙膏可以通过促进牙齿再矿化和防止牙齿进一步脱矿，修复牙釉质，达到防龋功效。(3)对照组牙本质小管完全开放且形态清晰，实验组发现牙本质表面被大量沉积物覆盖，一部分牙本质小管被颗粒状的沉积物所封堵，而且结合紧密、均匀。经图像分析软件统计，牙本质小管封堵率达到了65%。由此说明，该牙膏对牙本质小管具有封堵效果，具有一定的抗牙齿过敏作用。(4)样品组牙膏刷牙后牙齿白度的提升是对照组的三倍以上，由此说明，该牙膏具有减轻牙齿外源性色斑、美白牙齿的功效。

参考文献

[1] 李鸣宇. 生物型牙膏[J]. 牙膏工业, 2004(03): 14-15.
[2] 许静, 胡永志, 李江平. 生物活性玻璃在口腔护理用品中的应用[J]. 企业科技与发展, 2014(11): 80-81.
[3] 胡方, 何亚茜, 汪林, 等. RegeSi再生硅材料对乳牙釉质早期龋再矿化的实验研究[J]. 口腔护理用品工业, 2023, 33(04): 32-35.
[4] 徐春生, 陈丽娜, 刘东辉, 等. 羟丙基决明胶在无水牙膏中的应用研究[J]. 口腔护理用品工业, 2021, 31(05): 6-8.

Study on the Efficacy of Calcium Phosphosilicate Bioactive Toothpaste

Xu Chun-sheng, Yan Lai-xi, Yi Rui, Chen Qi-jian
(Guangzhou Qiancai Cosmetic Co., Ltd, Guangzhou, Guangdong, 510897)

Abstract : This article firstly provides an overview of the development of calcium phosphate silicate bioactive toothpaste. Then, it not only discusses the formula and process for the production of calcium phosphate silicate bioactive toothpaste, but also introduces stability tests, remineralization enamel efficacy tests, dentin tubule blockage rate tests, as well as the whitening efficacy of the products. Experimental results have shown that this toothpaste has apparent effects including repairing enamel and dentin as well as whitening teeth.

Keywords : bioactive toothpaste; calcium phosphate silicate; repairing enamel; blockage rate of dentinal tubules; whitening teeth; efficacy research

