

Mechanical and Anti-bacterial Properties of Dental Adhesive Containing Diamond Nanoparticles

Z. Ebadi¹, M. Atai^{2*}, and M. Ebrahimi³

1. Engineering Faculty, South Tehran Branch, Islamic Azad University,

P.O. Box: 11365-4455, Tehran, Iran

2. Iran Polymer and Petrochemical Institute, P.O. Box: 14965-115, Tehran, Iran

3. Department of Polymer Engineering and Color Technology, Amirkabir University of Technology,

P.O. Box: 15875-4413, Tehran, Iran

Received 6 March 2011, accepted 1 August 2011

ABSTRACT

The effect of nanoparticle diamond incorporated in an experimental dental adhesive formulation is evaluated by examining the mechanical properties and shear bond strength of the system. Diamond nanoparticles were incorporated into the dentin adhesive system in different concentrations of 0, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, and 1.0 weight percentages. The suspensions were ultrasonicated to facilitate the nano-particle dispersion in an adhesive solution containing ethanol, bis-GMA, UDMA, TMPTMA, HEMA and photo-initiator system. Diametral tensile strength, flexural strength, flexural modulus, depth of cure and microshear bond strength of the adhesive system were measured. The adhesive-dentin interface was then observed by scanning electron microscopy. The results were analyzed using one-way ANOVA at a significant level of $P > 0.05$. No significant difference was observed between the diametral tensile strength of the adhesive. At nanoparticle content level of 0.1% (by wt), however, 85% increase in flexural strength and 13% enhancement in flexural modulus were observed. Microshear bond strength test revealed 70% and 79% improvements of adhesion force in systems containing 0.1% and 0.2% nanoparticles, respectively. Although the neat diamond nanoparticles revealed antibacterial activity, the adhesive containing different percentages of the nano particles did not show any antibacterial activities when tested against, *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus Streptococcus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Saprophyticus*, *Enterococcus faecalis* bacteria.

(*)To whom correspondence should be addressed.

E-mail: m.atai@ippi.ac.ir

Key Words:

dental adhesive,
diamond nano-particle,
flexural strength,
microshear bond
strength,
antibacterial activity

بررسی خواص مکانیکی و ضدباکتری چسب دندان‌های حاوی نانوذرات الماس

زینب عبادی^۱، محمد عطایی^{۲*}، مرتضی ابراهیمی^۳

۱- تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران جنوب، دانشکده فنی، صندوق پستی ۴۴۵۵-۱۱۳۶۵

۲- تهران، پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران، صندوق پستی ۱۱۵-۴۹۶۶۵

۳- تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی پلیمر و تکنولوژی رنگ، صندوق پستی ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵

دریافت: ۸۹/۱۲/۱۶، پذیرش: ۹۰/۵/۱۰

چکیده

اثر نانوذرات الماس بر خواص مکانیکی و استحکام اتصال چسب‌های دندان‌های عاجی بررسی شد. سامانه چسبده عاجی آزمایشی با مقادیر ۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ درصد از ذرات نانوالماس تهیه شد. برای پخش بهتر نانوذرات محلول چسب به مدت ۳ min در معرض فراصوت قرار گرفت. محلول چسب حاوی مونومرهای ۲،۲- بیس [۴- (۲- هیدروکسی- ۳- متاکریلوکسی پروپیل) فنیل] پروپان (Bis-GMA)، یورتان دی متاکریلات (UDMA)، ۲- (هیدروکسی اتیل) متاکریلات (HEMA) و ۲- اتیل- ۲- (هیدروکسی متیل)- ۳،۱- پروپان دی ال تری متاکریلات (TMPTMA)، حلال اتانول و سامانه آغازگر نوری شامل کامفورکینون (CQ) و N^۱، N^۲ - دی متیل آمینواتیل متاکریلات (DMAEMA) بود. آزمون‌های استحکام کششی قطری، استحکام خمشی، مدول خمشی و آزمون عمق پخت و استحکام اتصال ریزبرشی برای بررسی خواص چسب انجام شد. هم چنین، سطح شکست در فصل مشترک چسب با کامپوزیت به وسیله دستگاه میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد. تحلیل آماری نتایج با استفاده از آزمون آماری ANOVA انجام شد. در آزمون استحکام کششی قطری، تفاوت معنی داری بین استحکام نمونه‌های چسب مشاهده نشد. استحکام خمشی نمونه شامل ۰/۱ درصد وزنی نانوالماس، به مقدار ۸۵٪ و مدول خمشی آن به مقدار ۱۳٪ افزایش یافت. در عین حال، آزمون اتصال ریزبرشی، افزایش چسبندگی به دندان را در مقایسه با چسب پایه، در ترکیب درصد ۰/۱ و ترکیب درصد ۰/۲ به ترتیب ۷۰ و ۷۹ درصد نشان داد. در آزمون ضدباکتری چسب‌ها، برای تعیین خاصیت ضدباکتری ماده نانوالماس به عنوان پرکننده چسب عاجی دندان، روی باکتری‌های پاتوژن مانند استافیلوکوک اورئوس و استرپتوکوکس گروه A (بتاهمولتیک) و باکتری‌های فرصت طلب مانند استافیلوکوک اپیدرمیدیس و ساپروفوتیکوس و باکتری مقاوم مانند انتروکوکوس فکالیس، به روش‌های پورپلیت و انتشار از قرص و کمترین غلظت بازدارنده رشد مقدار پاک‌سازی باکتری به وسیله ماده نانوالماس بررسی شد. در روش پورپلیت رشد باکتری برای نانوذرات الماس مشاهده نشد. اما، نمونه‌های چسب حاوی این نانوذرات خاصیت ضدباکتری نشان ندادند.

واژه‌های کلیدی

چسب دندان‌های،
نانوذرات الماس،
استحکام خمشی،
استحکام اتصال ریزبرشی،
فعالیت ضدباکتری

* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:

m.atai@ippi.ac.ir

مقدمه

گسترش روزافزون کامپوزیت‌های پلیمری در دندان پزشکی ترمیمی به عنوان ماده‌ای هم‌رنگ دندان که با حفظ زیبایی ظاهری خواص مکانیکی مناسبی را ارائه می‌دهند، این دسته از مواد را انتخابی عالی در دندان پزشکی ترمیمی قرار داده است [۱، ۲]. کیفیت و کارایی بالینی یک ترمیم کامپوزیتی به نحوه اتصال کامپوزیت به ساختار دندان بستگی دارد. وظیفه ایجاد اتصال مناسب بین کامپوزیت ترمیمی و ساختار دندان را چسب‌های دندان‌های دهه دارند [۳]. این چسب‌ها با توجه به بستری که به آن می‌چسبند، به دو گروه مینایی و عاجی دسته‌بندی می‌شوند. مینا ساختاری معدنی و حدود ۹۵ درصد هیدروکسی آپاتیت دارد و با استفاده از روش‌های آماده سازی هم‌چون حکاکی کردن با فسفریک اسید اتصال محکم و بادوامی را با چسب‌ها فراهم می‌کند. اما، ساختار عاج که ترکیبی از ۷۰ درصد مواد معدنی هیدروکسی آپاتیت و حدود ۳۰ درصد ماده آلی کلاژن و آب است، برخلاف مینای دندان بستری پویا و مرطوب است که برقراری اتصال پایدار و قابل اطمینان به آن مشکل است [۴-۷]. از اوایل دهه ۱۹۵۰ که چسب‌های دندان‌های شامل ترکیباتی چون گلیسروفسفریک اسید و مونومرهای دی‌متاکریلاتی معرفی شدند [۳]. تاکنون نسل‌های متفاوتی از سامانه‌های چسب برای فراهم کردن اتصال مناسب به عاج توسعه یافته‌اند. نسل‌های مختلف بر مبنای ساختار شیمیایی اجزای تشکیل دهنده، سازوکار ایجاد اتصال، تعداد مراحل اعمال چسب، کارایی بالینی و استحکام چسب طبقه‌بندی می‌شوند.

چسب‌های عاجی دارای اجزای مختلفی هستند که هر یک در چسبندگی به ساختار مرطوب عاج نقشی را ایفا می‌کنند. در این چسب‌ها مونومرهای چندآکریلاتی شبکه پلیمری سختی را پس از پلیمر شدن ایجاد می‌کنند که استحکام و دوام لایه چسب را فراهم می‌کند. مونومرهای آب دوست نظیر هیدروکسی اتیل متاکریلات (HEMA) در محلول چسب موجب ترشوندگی بهتر عاج و نفوذ مونومرهای آکریلاتی به آن می‌شود. حلال‌هایی چون اتانول و استون با آب مجاور شبکه کلاژنی جای‌گزین می‌شوند و مونومرها را به درون لایه کلاژن و توپول‌های عاجی می‌کشاند. چسب تهیه شده با این مواد، پس از آماده سازی سطح دندان، روی سطح اعمال می‌شود. چسب به لایه سطحی دندان که شامل الیاف کلاژن و توپول‌های عاجی است، نفوذ می‌کند. با پلیمر شدن مونومرهای چسب، اتصال محکمی با ایجاد گیرهای ریزمکانیکی با سطح دندان ایجاد می‌شود. افزون بر آن، ساز و کارهایی چون ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین مونومرهای چسب و الیاف کلاژن، جذب فیزیکی سطحی از راه نیروهای واندروالس و ایجاد پیوندهای یونی بین گروه‌های عاملی چسب‌ها و

یون‌های کلسیم ساختار دندان نیز باید در نظر گرفته شود. پس از اعمال چسب، کامپوزیت دندان‌های لایه چسب قرار می‌گیرد و با توجه به این که هم چسب و هم کامپوزیت از مونومرهای آکریلاتی تشکیل شده‌اند، با نفوذ مونومرها اتصال شیمیایی مناسبی بین کامپوزیت و چسب ایجاد می‌شود. بنابراین، لایه چسب به عنوان فصل مشترک بین کامپوزیت و ساختار دندان اتصال مناسبی را بین کامپوزیت و دندان فراهم می‌کند [۸، ۹].

یکی از راه‌های افزایش استحکام و خواص مکانیکی لایه چسب، استفاده از پرکننده‌ها در ابعاد نانومتر به عنوان عامل تقویت کننده است. از آن جا که پرکننده‌های تقویت کننده متعارف دارای ابعادی در محدوده میکرومتر هستند، افزودن این ذرات به محلول چسب مانع از نفوذ چسب به لایه کلاژن و توپول‌های عاجی می‌شود. بنابراین، استفاده از نانوذرات در چسب‌های دندان‌های هم‌چون سایر زمینه‌ها رو به گسترش است. مطالعاتی مبنی بر کاربرد نانوذرات تقویت کننده در سامانه‌های چسب دندان‌های گزارش شده است [۱۰-۱۴]. در کار حاضر، از ذرات نانوالماس که از خانواده کربن هستند و در محیط بافت‌ها و ارگان زنده از زیست سازگاری زیادی برخوردارند [۱۶-۱۹]، به عنوان پرکننده تقویت کننده در مقادیر مختلف به سامانه چسبده عاجی اضافه شدند و خواص مکانیکی و ضدباکتری توده چسب و استحکام اتصال آن به عاج دندان انسان بررسی شد.

تجربی

مواد

نمونه نانوالماس شرکت Plasma Chem آلمان، با خلوص بیش از ۹۷٪، اندازه ذرات ۴ nm و چگالی ۳/۱۸ g/mL تهیه شد. مونومرهای ۲،۲- بیس [۴- (۲- هیدروکسی - ۳- متاکریلوکسی پروپیل) فنیل] پروپان (Bis-GMA) و مونومر یورتان دی‌متاکریلات (UDMA) از شرکت Evonik (آلمان) تهیه شدند. ۲- اتیل - ۲- (هیدروکسی متیل) - ۳،۱- پروپان دی‌ال تری متاکریلات (TMPTMA) و اتانول از شرکت Merck (آلمان)، ۲- (هیدروکسی اتیل) متاکریلات (HEMA) از شرکت Fluka (آلمان)، کامفورکینون (CQ) و N، N' - دی‌متیل آمینواتیل متاکریلات (DMAEMA) از شرکت Aldrich آلمان تهیه شدند. کامپوزیت دندان‌های استفاده شده در این پژوهش Premise Composite A3/5 محصول Kerr آمریکا بود و از ژل فسفریک اسید ۳۷/۵٪ همان شرکت به عنوان عامل حکاکی عاج دندان استفاده شد. باکتری‌های مورد نیاز شامل سوش‌های باکتری

جدول ۲- فرمول‌بندی چسب عاجی پایه.

مقدار(درصد وزنی)	ماده
۱۴	Bis-GMA
۲۶	HEMA
۸	TMPTMA
۱۲	UDMA
۴۰	Ethanol

برای آزمون رزین‌های نورپخت اصلاح شد. برای این منظور از قالب‌های استوانه‌ای از جنس فولاد ضدزنگ با قطر ۶mm و ارتفاع ۳mm استفاده شد. محلول چسب حاوی درصد‌های وزنی مختلف از نانوذرات الماس پس از تبخیر حلال، داخل قالب‌ها ریخته شد. با اعمال نور به مدت ۴۰ s از هر دو سوی قالب، چسب‌ها پخت شدند. سپس، نمونه‌های پخت شده برای انجام آزمون از قالب خارج شدند. برای هر گروه ۵ نمونه آماده شد. نمونه‌ها پیش از آزمون ۲۴ h در آب مقطر ۳۷°C نگه داری شدند. سپس، سطح نمونه‌های آماده شده با کاغذ سمباده ساییده شد تا سطح صاف و یکنواختی به دست آید. هر نمونه با دقت به نحوی که قطر آن زیر فشار قرار گیرد، در دستگاه آزمون عمومی قرار گرفت. از سلول بار ۵ kN و سرعت ۱۰ mm/min برای انجام آزمون استفاده شد. استحکام کششی قطری (DTS) با استفاده از معادله (۱) محاسبه شد:

$$DTS = \frac{2P}{\pi DL} \quad (1)$$

که در آن P نیروی وارد شده در لحظه شکست به نیوتن، D قطر و L ضخامت نمونه به میلی متر است.

آزمون استحکام خمشی

این آزمون بر اساس استاندارد ISO 4049 2009 انجام شد [۲۱]. در این روش قالب‌های مکعب مستطیل شکل با ابعاد ۲۵×۲۵×۲ mm از جنس فولاد زنگ نزن تهیه شدند. نمونه‌های چسب فاقد حلال در این قالب‌ها ریخته و پخت شدند. نمونه‌های تهیه شده پس از پخت و نگه داری در آب مقطر به مدت ۲۴ h و سپس سمباده زنی، به شیوه خمش سه نقطه‌ای و با فاصله تکیه‌گاه برابر با ۲۰ mm مورد آزمون خمش سه نقطه‌ای قرار گرفتند. در این حالت از سلول بار ۲۰۰ N و سرعت ۰/۵ mm/min استفاده شد. سپس استحکام خمشی (FS)، از معادله (۲) محاسبه شد:

استافیلوکوک اورئوس، استافیلوکوک اپیدرمیدیس، استافیلوکوک ساپروفیتیکوس، ائروکوک فکالیس و استروپتوکوک از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند (جدول ۱).

دستگاه‌ها

در این پژوهش، دستگاه‌های پخت نوری مدل Kerr Optilux 501 ساخت آمریکا، آزمون مکانیکی یونیورسال SANTAM مدل STM-20 ساخت ایران و میکروسکوپ الکترون پویشی VEGAII TESCAN XMU ساخت جمهوری چک به کار گرفته شد.

روش‌ها

تهیه چسب

۱۰۰ g چسب عاج مورد استفاده مطابق با فرمول‌بندی جدول ۲ تهیه شد. سپس، نانوذرات الماس با مقادیر وزنی ۰/۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ درصد به چسب پایه افزوده شدند. مخلوط‌های حاصل هر یک به مدت ۳ min به وسیله کاونده فراصوت با توان ۵۰ درصد و پالس ۶ (هر پالس ۱ s) فراصوت‌دهی شدند. پس از آن عامل آغازگر (کامفورکینون) و فعال‌کننده نوری (دی متیل آمینواتیل متاکریلات) هر یک به مقدار ۰/۵ درصد به مخلوط‌ها اضافه شدند. برای انجام آزمون اتصال ریزبرشی، حدود ۲ g از هر مخلوط جدا شد و در یک ظرف تیره دربسته در یخچال نگه داری شد. سپس، بقیه مخلوط‌های حاوی درصد‌های مختلف پرکننده در گرم خانه خلاء در دمای محیط برای ۴۸ h قرار گرفتند تا اتانول آنها کاملاً تبخیر شود و به وزن ثابت برسند. آزمون خواص مکانیکی توده چسب روی نمونه‌های بدون حلال انجام شد.

آزمون استحکام کششی قطری

این آزمون بر اساس استاندارد ADA 27 انجام شد [۲۰]. این استاندارد

جدول ۱- مشخصات سوش‌های باکتری استفاده شده.

ردیف	سوش‌های باکتری	ATCC
۱*	استافیلوکوک اورئوس	۲۵۹۲۳
۲*	استافیلوکوک اپیدرمیدیس	۱۲۲۲۸
۳*	استافیلوکوک ساپروفیتیکوس	۱۵۳۰۵
۴	ائروکوکوس فکالیس	۱۹۴۳۳
۵	استروپتوکوک	۱۶۸۳

شماره‌های ستاره‌دار همه از یک جنس اما زیرگونه‌های متفاوتی هستند.

۰/۵ و ۱ درصد نانوالماس بودند. در هر گروه، ابتدا ژل فسفریک اسید ۳۷/۵٪ به مدت ۱۵ s در سطح عاج اعمال و سپس ۱۵ s با آب شست و شو داده شد. آب اضافه سطح با دمش هوا جدا شد، به طوری که مقداری رطوبت بر سطح عاج باقی بماند. در این مرحله با استفاده از برس کاملاً آغشته شده به سامانه چسب آزمایشی با غلظت نانوالماس مورد نظر، دو لایه روی سطح مواد معدنی زدوده عاج اعمال شد. پس از گذشت زمان ۱۵ s با استفاده از فشار ملایم هوا به مدت ۵ s حلال و مقدار اضافی چسب حذف شد تا سطحی با نمای شفاف روی عاج ایجاد شود. سپس، سطح دندان‌های آغشته به چسب به وسیله دستگاه پخت نوری به مدت ۱۰ s نور داده شد. در مرحله بعد، روی هر یک از قطعات عاجی متصل شده با توجه به مقدار سطح و عاج نمایان شده ۱ تا ۲ سیلندر پلاستیکی با قطر داخلی ۰/۸ mm و ارتفاع ۱ تا ۱/۵ mm که داخل آنها با استفاده از اسپاتول و نوک سوند، با کامپوزیت Premise (Kerr, USA) به دقت پر شده بود، قرار داده شد و سپس ۴۰ s با شدت نور ۶۰۰ mW/cm² پخت شد. به مدت ۱ h بعد سیلندرهای پلاستیکی به دقت با ایجاد برش عمودی تیغ بیستوری جدا شدند. پس از جداشدن این سیلندرهای پلاستیکی از اطراف کامپوزیت، نمونه‌ها به مدت یک هفته در آب مقطر و در دمای ۳۷°C نگه داری شدند. سپس، هر قطعه عاجی حاوی سیلندرهای رزینی با استفاده از یک چسب سیانوآکریلات به فک دستگاه آزمون عمومی برای انجام آزمون استحکام ریزبرشی متصل شد. یک سیم فلزی نازک و نرم با قطر ۰/۲ mm به شکل حلقه، به دور سیلندر رزینی قرار گرفت، طوری که حلقه فلزی نیمه پایین محیط سیلندر را دربر گرفته و در تماس با سطح دندان بود. هم چنین دقت شد تا حلقه فلزی در امتداد مسیر حرکت سلول بار قرار گیرد. نیروی برشی با سرعت بارگذاری ۱ mm/min اعمال شد تا نمونه‌ها شکسته شدند. داده‌ها در هر گروه ثبت و مقدار تنش وارد شده با توجه به سطح مقطع سیلندرهای رزینی بر حسب مگاپاسکال طبق معادله (۳) محاسبه شد:

$$P = \frac{P}{\pi r^2} \quad (3)$$

که در آن r شعاع سیلندر پلاستیکی مورد استفاده و P نیروی وارد شده در لحظه شکست است.

میکروسکوپی الکترونی پویشی

سطح شکست نمونه‌های حاوی ۰، ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۱ درصد وزنی نانوذره در آزمون اتصال ریزبرشی پس از پوشش دهی با طلا به

$$FS = \frac{3PL}{2bd^2} \quad (2)$$

که در آن P مقدار نیرو در لحظه شکست به نیوتن، L طول فاصله تکیه‌گاه‌ها معادل ۲۰ mm، b پهنا و d ضخامت نمونه بر حسب میلی‌متر است. مدول خمشی از شیب منحنی تنش - کرنش در ناحیه خطی محاسبه شد.

آزمون عمق پخت

این آزمون بر اساس استاندارد ISO 4049 2009 انجام شد [۲۱]. در این آزمون، قالبی استوانه‌ای شکل با ارتفاع ۶ mm و قطر ۴ mm روی یک صفحه شیشه‌ای قرار گرفت و با چسب مورد آزمون پر شد. سپس، از بالا به مدت ۴۰ s زیر تابش نور قرار گرفت. بلافاصله پس از کامل شدن تابش، نمونه از قالب جدا شد و مواد پخت نشده از بخش پایین با کاردک پلاستیکی جدا شدند. ارتفاع ماده پخت شده باقی مانده با ریزسنج اندازه‌گیری و مقدار به دست آمده بر ۲ تقسیم شد. این مقدار به عنوان عمق پخت گزارش شد.

اعمال چسب روی دندان و اندازه‌گیری اتصال ریزبرشی

این مطالعه به روش تجربی روی ۵۰ دندان پرمولر سالم انسان از بین دندان‌هایی که برای درمان ارتودنسی حداکثر ۴ ماه پیش از شروع آزمایش خارج شده و در سرم نمکی نگه داری شده بودند، انجام شد. یک هفته پیش از شروع آزمایش، دندان‌ها در محلول فرمالین ۱۰٪ نگه‌داری شدند [۲۲]. سپس، سطح تاج و ریشه دندان‌ها از هر نوع جرم و بافت نرم شد. تاج دندان‌ها از بخش اکلوزال (بخش جونده) با استفاده از صفحه برش دهنده (دستگاه برش بافت سخت Mecatome مدل T201A ساخت فرانسه) با زاویه ۹۰ درجه نسبت به محور طولی دندان و در محیط مرطوب ساییده شدند، به نحوی که عاج دندان با قطر حدود ۴ mm نمایان شد و هیچ نقطه‌ای از پالپ دندان باز نماند. سپس، با استفاده از یک قرص الماس عمود بر محور طولی هر دندان برش خورده اولیه، مجدداً به ضخامت تقریبی ۲ mm جدا شد. سطح صفحات دندان‌ها به دست آمده با کاغذ سیلیکون کاربید ۳۲۰ گریت و به دنبال آن ۶۰۰ گریت و در نهایت ۱۰۰۰ گریت در زیر جریان آب پرداخت شد تا سطحی کاملاً صاف ایجاد شود. از چسب شامل درصد‌های مختلف نانوالماس برای بررسی اتصال ریزبرشی استفاده شد. به این ترتیب ۶ گروه بررسی شدند و برای هر گروه ۱۰ نمونه آزمون شد. گروه اول سامانه چسب پایه و گروه‌های ۲ تا ۶ که حاوی سامانه چسب پایه و به ترتیب ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲،

وسيله ميكروسكوپي الكتروني پويشي مشاهده شد.

آزمون بررسی خواص ضدباکتری ذرات نانو الماس

برای تعیین خاصیت ضدباکتری ماده نانوالماس به عنوان پرکننده چسب عاجی دندان، مقدار پاک سازی باکتری به وسیله ماده نانوالماس روی باکتری‌های پاتوژن مانند *استافیلوکوک اورئوس* (*Staphylococcus Aureus*) و *استرپتوکوکوس* (*Streptococcus*) گروه A (بتاهمولیتیک) و باکتری‌های فرصت طلب مانند *استافیلوکوک اپیدرمیدیس* (*Staphylococcus epidermidis*) و *سپروفیتیکوس* (*Saprophyticus*) و باکتری مقاوم مانند *انتروکوکوس فکالیس* (*Enterococcus faecalis*)، به روش‌های پورپلیت (Pour plate) و انتشار از قرص و کمترین غلظت بازدارنده رشد (MIC) بررسی شد که هر یک از روش‌ها طبق شرایط زیر انجام شد.

روش پورپلیت

در روش پورپلیت ابتدا مقدار ۰/۵ g از پودر نانوالماس به محیط کشت نوترینت آگار (Nutrient agar) اضافه و در صفحه پخش شد. پس از سرد شدن ۰/۱ mL از ذخیره باکتری‌های *استافیلوکوک اورئوس*، *استافیلوکوک اپیدرمیدیس*، *استرپتوکوکوس* و *سپروفیتیکوس* در هر کدام از صفحه‌ها به طور جداگانه تلقیح و سپس به مدت ۲۴ h در انکوباتور ۳۷ °C نگه‌داری شد. پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ h، محیط کشت از نظر وجود تجمع‌های باکتریایی بررسی شد. باکتری *انتروکوکوس فکالیس* در محیط اسکولین آگار کشت داده شد (جدول ۳).

روش انتشار از قرص

در این روش، ابتدا از نمونه‌های چسب عاجی حاوی ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ درصد وزنی ذرات نانوالماس قرص‌های کوچکی به قطر تقریبی ۳ mm و ضخامت ۱-۲ mm تهیه شدند. این قرص‌ها برای انجام آزمون اثر ضدباکتری، در مقایسه با قرص‌های آنتی بیوگرام (حاوی پنی سیلین ۲۵ mg، سیپروفلوکسازین ۳۰ mg و سفتریاکسون ۳۰ mg) به عنوان نمونه‌های شاهد، در محیط مولر هیتون آگار حاوی باکتری‌های

جدول ۳ - مشخصات محیط‌های مورد استفاده در آزمون.

محیط	ساخت	شماره LOT
نوترینت آگار (Nutrient agar)	Merck	VM916450
آگار مولر هیتون (Muller hinton agar)	Merck	V381547
Tryptic soy broth	Merck	YK896238

استرپتوکوکوس، *استافیلوکوک* و *انتروکوکوس فکالیس* قرار داده شدند. پس از قرار گرفتن به مدت ۲۴ h در دمای ۳۷ °C در انکوباتور و پس از گذشت ۲۴ تا ۴۸ h محیط‌ها از نظر رشد باکتری کنترل شدند.

تعیین کمترین غلظت بازدارنده رشد (MIC)

مقدار مشخصی از تجمع‌های باکتریایی خالص تشکیل شده در محیط مولر هیتون آگار به حجم معینی ۱۰ mL از محیط کشت TSB (Tryptic soy broth) افزوده شد. پس از قرار گرفتن به مدت ۲۴ h در دمای ۳۷ °C محلولی به غلظت نیم مک فارلن (یعنی ۱۰۸ × ۱/۵ باکتری در هر میلی لیتر) تهیه شد. از این تعلیق، رقت‌های متفاوتی از باکتری تهیه و سپس نانوذرات الماس به آن افزوده شد.

محیط‌ها

یک نمونه روش تهیه محیط کشت

۳۴ g از محیط کشت در یک لیتر آب مقطر حل و جوشانده شد. سپس در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ °C، در فشار ۱۵ psi به مدت ۱۵ min استرون شد. پس از خروج محیط کشت از اتوکلاو و سرد شدن محیط کشت تا دمای حدود ۴۰ °C تا ۴۵ °C در پتری دیش‌های استرون تقسیم و ریخته شد (جدول ۳).

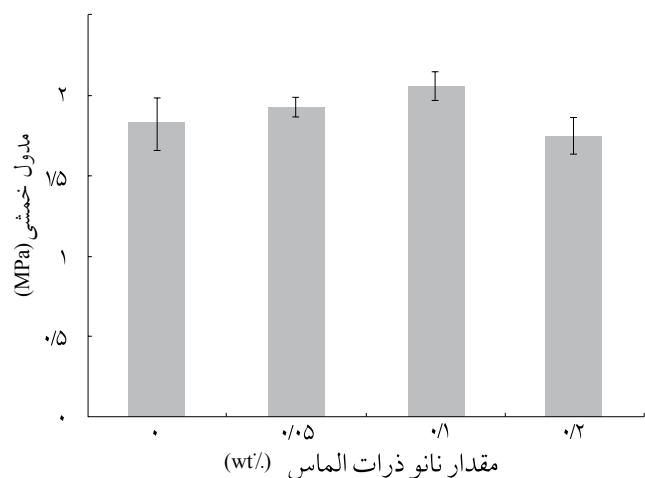
تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های آزمون‌های خواص مکانیکی (n=۵)، استحکام اتصال ریزبرشی (n=۱۰) و عمق پخت (n=۳) با استفاده از آزمون آماری ANOVA تک جهتی در حد رواداری $\alpha = 0/05$ مقایسه و به وسیله نرم افزار SPSS تحلیل آماری شدند.

نتایج و بحث

استحکام کشتی قطری

همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، در استحکام کشتی قطری سامانه چسبیده عاجی با افزایش ذرات نانوالماس به گروه چسب تغییر معنی داری ایجاد نشد ($P > 0/05$). این عدم اختلاف را می‌توان به مقدار کم نانوذرات مورد استفاده ارتباط داد. این روند در آن دسته از چسب‌های دندانی هم گزارش شده که در آنها از نانوذرات بوهمیت کمتر از ۰/۵ درصد وزنی استفاده شده است [۱۴].



شکل ۳- مدول خمشی برای چسب پخت شده حاوی مقادیر مختلف نانوالماس.

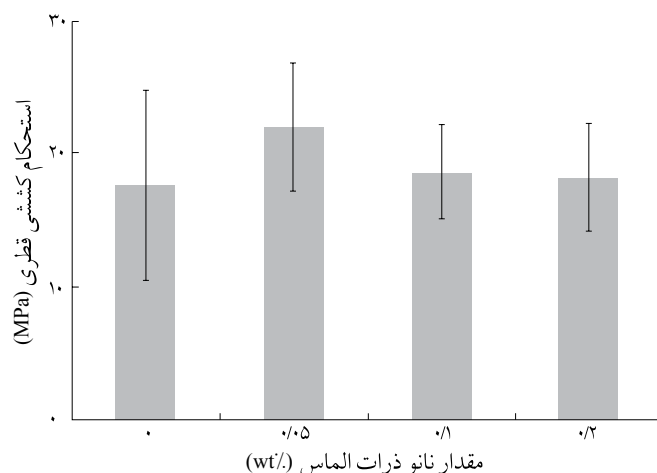
اما، استحکام خمشی هم‌چنان نسبت به چسب پایه بیشتر است ($P < 0/05$) که در واقع اثر تقویت‌کنندگی ذرات نانوالماس را نشان می‌دهد. نشان داده شده است که افزودن مقادیر اندک از نانوذرات الماس به پروتوزهای دندانی از جنس پلی متیل متاکریلات باعث بهبود چقرمگی شکست و استحکام ضربه پروتوزها می‌شود [۱۵]. افتی که در ترکیب درصد‌های بیش از ۰/۱ درصد در استحکام خمشی رخ داد، احتمالاً به دلیل افزایش مقدار تجمع و نیز کاهش عمق پخت به دلیل کدر بودن نانوذرات الماس است.

مدول خمشی

شکل ۳ تغییرات استحکام خمشی عامل چسبیده عاچی حاوی مقادیر مختلف نانوذرات الماس را نشان می‌دهد. با افزایش نانوذرات الماس به چسب پایه تا ۰/۱ درصد وزنی، مدول خمشی به مقدار ۱۳ درصد افزایش یافت ($P < 0/05$) که بیشترین مقدار مدول خمشی را دارد.

جدول ۴ - عمق پخت عامل چسبیده حاوی مقادیر مختلف ذرات نانوالماس.

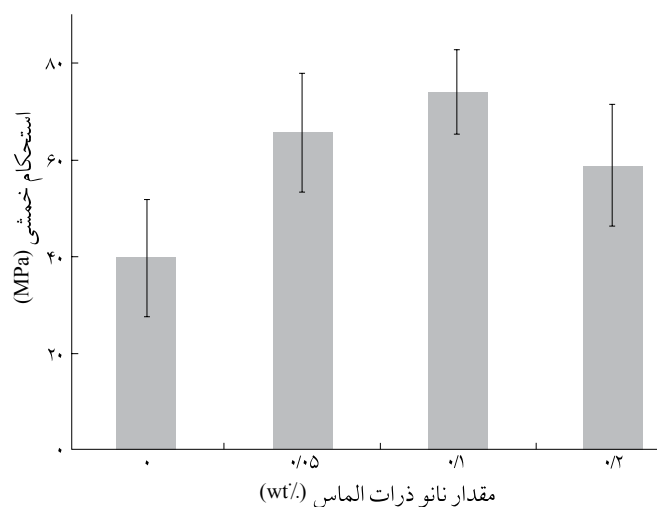
عمق پخت (mm)	ترکیب درصد
> ۳	۰
۲/۶	۰۵/۰
۱/۳	۱/۰
۷/۰	۲/۰
۵/۰	۵/۰
۲/۰	۱



شکل ۱- استحکام کششی قطری برای چسب پخت شده حاوی مقادیر مختلف ذرات نانوالماس.

استحکام خمشی

روند تغییرات مقدار استحکام خمشی عامل چسبیده عاچی حاوی مقادیر مختلف نانوذرات الماس، در شکل ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش ذرات نانوالماس به چسب پایه، استحکام خمشی بتدریج افزایش یافت. بیشترین افزایش، در ۰/۱ درصد نانوالماس مشاهده شد ($P < 0/05$). این مقدار افزایش نسبت به چسب پایه، ۸۵٪ بود. این روند در چسب‌های دندانی که در آن از نانوذرات هیدروکسی آپاتیت به مقدار ۰/۲ درصد وزنی استفاده شده است، هم گزارش شده است [۱۳]. با افزایش بیشتر نانوذرات الماس به مقدار بیش از ۰/۱ درصد وزنی، استحکام خمشی کاهش یافت که در ترکیب درصد ۰/۲ افت استحکام خمشی دیده می‌شود

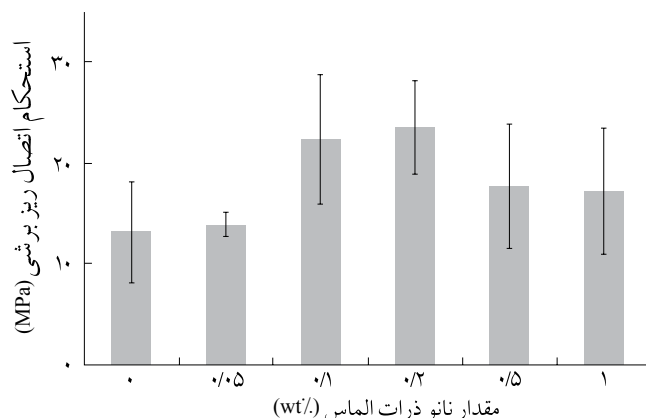


شکل ۲- استحکام خمشی برای چسب پخت شده حاوی مقادیر مختلف نانوذرات الماس.

افزایش می‌یابد. این افزایش در مدول به وسیله مدل‌های مختلف نشان داده شده است که در اکثر این مدل‌ها، افزایش مدول را بیشتر به مقدار پرکننده ارتباط می‌دهند [۲۳]. پس از ۰/۱ درصد وزنی با افزایش بیشتر نانوالماس، مقدار استحکام خمشی کاهش یافت و در ۰/۲ درصد وزنی کمترین مدول خمشی مشاهده شد. علت کاهش را می‌توان ناشی از اثر تضعیف‌کننده تجمع ذرات نانوالماس و مهم‌تر از آن به دلیل کاهش عمق پخت که به دلیل خاصیت کدر بودن نانوالماس ایجاد می‌شود، دانست.

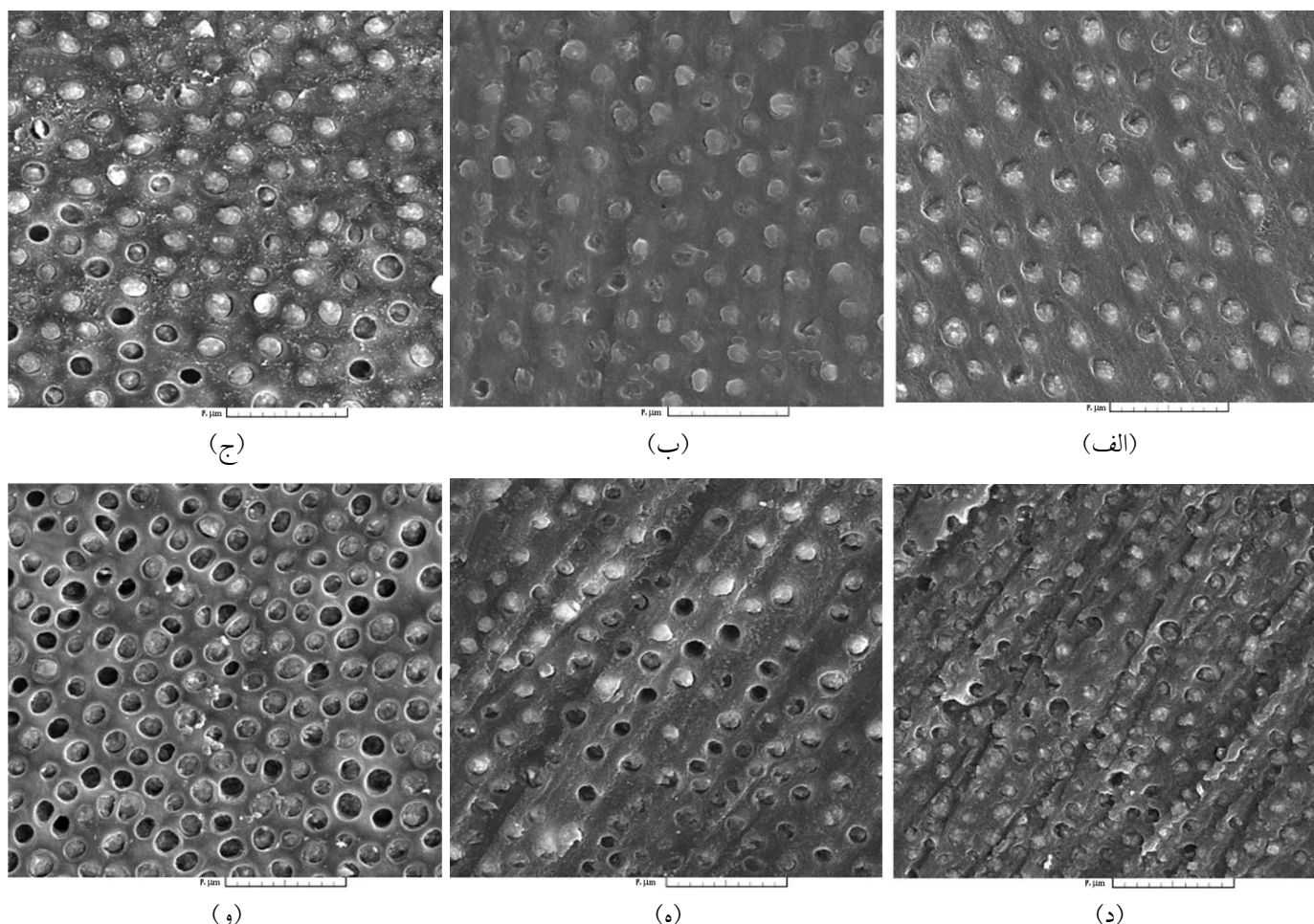
عمق پخت

نتایج حاصل از عمق پخت در جدول ۴ آمده است. عمق پخت برای ترکیب درصدهای ۰/۲ و ۰/۵ به ترتیب به مقدار ۷۶ و ۸۳ درصد کاهش یافت و برای ترکیب درصد ۱ به مقدار ۹۲ درصد کاهش یافت. دلیل اصلی افت خواص مکانیکی در ترکیب درصدهای بیش از ۰/۲



شکل ۴- استحکام اتصال ریزیرشی عامل چسبنده عاجی حاوی مقادیر مختلف نانوالماس.

با افزایش نانوذرات الماس که دارای مدول (بیش از ۱۰۰۰ GPa) [۱۶] بسیار بیشتری نسبت به رزین هستند، مدول کل کامپوزیت



شکل ۵- تصاویر SEM مربوط به سطح شکست در حد فاصل بین عاج - کامپوزیت در نمونه‌های شامل درصدهای مختلف وزنی نانوالماس: (الف) ۰٪، (ب) ۰/۰۵، (ج) ۰/۱، (د) ۰/۲، (ه) ۰/۵ و (و) ۱٪.

مطالعه میکروسکوپی سطوح شکست در آزمون استحکام ریزبرشی

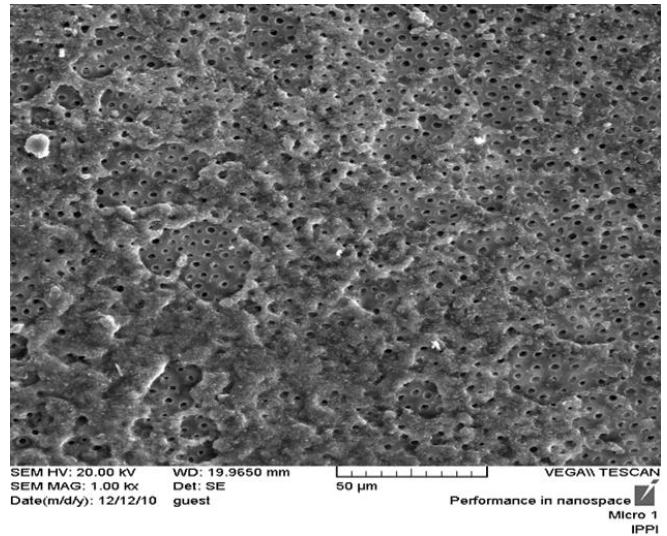
شکل ۵ تصاویر سطح دندان را پس از جدا شدن چسب از دندان در آزمون استحکام ریزبرشی نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در نمونه چسب پایه که فاقد نانوذرات الماس است (شکل ۵ - الف) و هم‌چنین نمونه‌هایی که درصد نانوذرات در آنها کم است (شکل‌های ۵ - ب تا د)، محلول چسب به درون توبول‌های عاجی (کانال‌های کوچکی هستند که در تمام ضخامت عاج تداوم دارند) نفوذ کرده‌اند. نفوذ چسب به داخل این توبول‌ها و سپس پخت آنها با پلیمرشدن نوری، گیرهای ریزمکانیکی را ایجاد می‌کند که موجب استحکام چسبندگی کامپوزیت به دندان می‌شود. بنابراین ترشوندگی سطح عاج و نفوذ چسب به درون توبول‌های عاجی به خوبی انجام شده است.

گیرهای مکانیکی ناشی از نفوذ چسب به درون توبول‌ها با افزایش نانوذرات الماس استحکام بیشتری می‌یابد که ناشی از افزایش استحکام توده چسب است. این امر در آزمون استحکام خمشی در شکل ۲ نشان داده شده است. بنابراین افزایش استحکام ریزبرشی را در چسب‌های شامل ۰/۱ و ۰/۲ نانوذره می‌توان به افزایش مقاومت توده چسب ارتباط داد.

در مقادیر بیش از ۰/۲ درصد نانوذرات به دلیل افزایش گرانبوری محلول چسب که ناشی از سطح مؤثر زیاد نانوذرات است ($350 \text{ m}^2/\text{g}$)، نفوذ محلول چسب به درون توبول‌های عاجی به خوبی انجام نمی‌شود که در شکل ۵ - ه و د مشاهده می‌شود. این شکل‌ها نشان می‌دهند، بخشی از توبول‌های عاجی به وسیله چسب پر نشده‌اند. بنابراین، گیر مکانیکی کاهش می‌یابد که افت استحکام ریزبرشی در مقادیر ۰/۵ و ۱ درصد وزنی را می‌توان با آن مرتبط دانست. پوشش

جدول ۵ - نتایج آزمون ضدباکتری نانوذرات الماس و چسب‌های شامل نانوذرات.

مشاهده	نمونه
عدم رشد باکتری	پودر نانوذرات الماس (روش پورپلیت)
رشد باکتری	قرص شامل ۰/۰۵ درصد نانوذرات الماس (روش انتشار از قرص)
رشد باکتری	قرص شامل ۰/۱ درصد نانوذرات الماس (روش انتشار از قرص)
رشد باکتری	قرص شامل ۰/۲ درصد نانوذرات الماس (روش انتشار از قرص)



شکل ۶ - تصویر SEM مربوط به عدم ترشوندگی مناسب سطح عاج به وسیله نمونه شامل ۱ درصد وزنی نانوالماس.

ذرات نانوالماس، کاهش در عمق پخت مونومرهای چسب دندان‌هاست. از آن جا که ذرات نانوالماس خاکستری رنگ هستند، مانع عبور نور می‌شوند و مقدار زیادی از مونومرها پخت نشده باقی می‌ماند و به علت پخت ناقص چسب، خواص مکانیکی به شدت افت می‌کند.

استحکام اتصال ریزبرشی

همان‌طور که در شکل ۴ دیده می‌شود، استحکام اتصال ریزبرشی در نمونه‌های چسب حاوی ۰/۱ و ۰/۲ درصد وزنی از نانوذرات الماس افزایش یافت ($P < 0/05$). این افزایش حدود ۸۰-۷۰ درصد نسبت به نمونه چسب پایه بود. افزایش مقدار استحکام اتصال ریزبرشی با افزودن نانوذرات الماس به چسب، اثر تقویت‌کنندگی این نانوذرات را نشان می‌دهد. گزارش شده است، افزودن نانوذرات به چسب‌های دندان‌ها، استحکام چسبندگی آنها را به ساختار دندان افزایش می‌دهد [۱۴-۱۲]. در مقادیر بیشتر از ۰/۲ درصد نانوذره استحکام اتصال ریزبرشی کاهش یافت ($P < 0/05$). افزایش تجمع نانوذرات و هم‌چنین افزایش گرانبوری سامانه چسبندگی می‌تواند مانع از نفوذ چسب به شبکه کلاژنی شود. بنابراین، گیر ریزمکانیکی که عمده‌ترین دلیل چسبندگی چسب‌های دندان‌هاست، کاهش می‌یابد. در نتیجه، مقدار استحکام اتصال ریزبرشی کم می‌شود. مشاهدات میکروسکوپ الکترونی کاهش نفوذ چسب به درون توبول‌های عاجی را به خوبی نشان می‌دهد.

با توجه به این که لایه اعمال شده چسب روی سطح عاج دارای ضخامتی بسیار کمتر از کمینه عمق پخت در آزمون عمق پخت است (ضخامت لایه چسب کمتر از ۵۰ میکرون است)، آزمون استحکام اتصال ریزبرشی برای درصدهای بیشتر از نانوذرات نیز انجام شد.

۰/۱ درصد نانوالماس، به مقدار ۸۵٪ و مدول خمشی آن به مقدار ۱۳٪ افزایش یافت. در عین حال آزمون اتصال ریزبرشی، افزایش چسبندگی به دندان را در مقایسه با چسب پایه، در ترکیب درصد ۰/۱ و ۰/۲ به ترتیب تا ۷۰ و ۷۹ درصد نشان داد.

مشاهدات میکروسکوپ الکترونی نشان داد، محلول چسب به درون توبول‌های عاجی نفوذ کرده است. نفوذ چسب به داخل این توبول‌ها و سپس پخت آنها با پلیمرشدن نوری، گیرهای ریزمکانیکی را ایجاد می‌کند که موجب استحکام چسبندگی کامپوزیت به دندان می‌شود. بنابراین ترشوندگی سطح عاج و نفوذ چسب به درون توبول‌های عاجی به خوبی انجام شده است. گیرهای مکانیکی ناشی از نفوذ چسب به درون توبول‌ها با افزایش نانوذرات الماس استحکام بیشتری پیدا می‌کند که ناشی از افزایش استحکام توده چسب است. این امر در آزمون استحکام خمشی نشان داده شد. بنابراین، افزایش استحکام ریزبرشی را در چسب‌های شامل ۰/۱ و ۰/۲ درصد نانوذره می‌توان به افزایش مقاومت توده چسب ارتباط داد. در مقادیر بیش از ۰/۲ درصد نانوذرات به دلیل افزایش گرانیوی محلول چسب که ناشی از سطح مؤثر زیاد نانوذرات است، محلول چسب به درون توبول‌های عاجی به خوبی نفوذ نمی‌کند. نتایج نشان می‌دهد، در درصد‌های زیاد پرکننده، پدیده تجمع ذرات و افزایش گرانیوی چسب رخ می‌دهد و نفوذ چسب به داخل توبول‌های عاجی و به درون لایه کلاژن کاهش می‌یابد، در نتیجه گیرمکانیکی کاهش پیدا می‌کند. مجموعه این عوامل باعث افت استحکام چسبندگی در مقادیر زیاد پرکننده می‌شود.

در بررسی خواص ضدباکتری نشان داده شد که گرچه نانوذرات به طور خالص خاصیت ضدباکتری نشان می‌دهند، اما هنگامی که به محلول چسب اضافه می‌شوند و کامپوزیتی را پس از پخت تشکیل می‌دهند، خاصیت ضدباکتری ندارند، بنابراین نمی‌توانند گزینه مناسبی برای ایجاد خاصیت ضدباکتری در چسب‌های دندان‌باشند. می‌توان انتظار داشت که حبس این ذرات درون ماتریس پلیمری مانع از تماس آنها با باکتری‌ها می‌شود و بنابراین خاصیت ضدباکتری در کامپوزیت‌ها مشاهده نمی‌شود.

مراجع

1. Powers J. and Sakaguchi R., *Craigs Restorative Dental Materials*, Mosby Elsevier, 2006.
2. Roberson T., Heymann H., and Swift E., *Sturdevant's Art*

نایکنواخت سطح عاج به وسیله چسب و عدم نفوذ آن به داخل توبول‌های عاجی در بزرگ‌نمایی کمتر در شکل ۶ به‌خوبی مشاهده می‌شود.

بررسی خاصیت ضدباکتری ذرات نانوالماس

روش پورپلیت

نتایج این آزمون نشان داد، ذرات نانوالماس به طور خالص قدرت و خاصیت ضدباکتری دارند و محیط را به طور کامل پاک سازی می‌کند که در جدول ۵ آورده شده است.

روش انتشار از قرص

کنترل محیط کشت، پس از گذشت ۲۴ تا ۴۸ h انجام شد. در این آزمون نمونه‌های چسب شامل نانوذرات الماس به شکل قرص در ترکیب درصد‌های مختلف تهیه و پخت نوری شدند. باکتری‌ها تا کناره قرص‌های حاوی نمونه‌های شامل مقادیر مختلف نانوذره رشد کردند، اما اطراف قرص‌های آنتی بیوگرام هاله عدم رشد مشاهده شد.

تعیین کمترین غلظت بازدارنده رشد (MIC)

کنترل محیط کشت، پس از قرار گرفتن در انکوباتور به مدت ۲۴ h در دمای ۳۷°C و گذشت ۲۴ تا ۴۸ h انجام شد. در این آزمون نمونه‌هایی به شکل قرص شامل درصد‌های مختلف از نانوذرات در محیط کشت قرار داده شده بودند. مشاهده شد، پس از گذشت ۲۴ تا ۴۸ h تمام باکتری‌ها رشد کردند و کدورت در محیط ایجاد شد. عدم قدرت پاک‌سازی محیط به وسیله نانوذرات احتمالاً به علت مقدار کم نانوذرات در این روش است.

نتیجه‌گیری

اثر افزودن نانوذرات الماس به چسب دندان‌های عاجی روی استحکام چسبندگی به عاج و خواص مکانیکی و هم‌چنین خواص ضدباکتری چسب بررسی شد. نتایج نشان داد، استحکام خمشی نمونه شامل

and Science of Operative Dentistry, Mosby St. Louis, 2002.

3. Roulet, J.F. and DeGrange M., *Adhesion: The Silent Revolution in Dentistry*, Quintessence, 2000.

4. Swift Jr E.J. and Perdigao J., Bonding to Enamel and Dentin a Brief History and State of Art, *Quint Int.*, **26**, 95-110, 1995.
5. Grayson W., Marshall Jr., Sally J.M., John H. Kinney, and Balooch M., The Dentin Substrate: Structure and Properties Related to Bonding, *J. Dent.*, **25**, 441-458, 1997.
6. Carlos A., Nascimento A.B., and Teixeira H.M., Response of Human Pulp Following Acid Conditioning and Application of a Bonding Agent in Deep Cavities, *Dent. Mater.*, **18**, 543-551, 2002.
7. Breschi L., Mazzoni A., Ruggeri A., Cadenaro M., Di Leonardo R., and De Stefano Dorigo E., Dental Adhesion Review: Aging and Stability of the Bonded Interface, *Dent. Mater.*, **24**, 90-101, 2008.
8. Van Landuyt K., Snauwaert J., De Munck J., Peumans M., Yoshida Y., Poitevin A., Coutinho E., Suzuki K., Lambrechts P., and Van Meerbeek B., Systematic Review of the Chemical Composition of Contemporary Dental Adhesives, *J. Biomater.*, **28**, 3757-3785, 2007.
9. De Munck J., Van Landuyt K., Peumans M., Poitevin A., Lambrechts P., Braem M., and Van Meerbeek B., A Critical Review of the Durability of Adhesion to Tooth Tissue: Methods and Results, *J. Dent. Res.*, **84**, 118-132, 2005.
10. Miyazaki M., Ando S., Hinoura K., Onose H., and Moore B.K., Influence of Filler Addition to Bonding Agents on Shear Bond Strength to Bovine Dentine, *Dent. Mater.*, **11**, 234-238, 1995.
11. Kim J.S., Cho B.H., Lee I.B., Um C.M., Lim B.S., Oh M.H., Chang C.G., and Son H.H., Effect of the Hydrophilic Nanofiller Loading on the Mechanical Properties and the Microtensile Bond Strength of an Ethanol-Based One-Bottle Dentin Adhesive, *J. Biomed. Mater. Res., B: Appl. Biomater.*, **15**, 284-291, 2005.
12. Atai M., Solhi L., Nodehi A., Mirabedini S.M., Kasraei S., Akbari K., and Babanzadeh S., PMMA-grafted Nanoclay as Novel Filler for Dental Adhesives, *Dent. Mater.*, **25**, 339-347, 2009.
13. Sadat-Shojai M., Atai M., Nodehi A., and Nasir Khanlar L., Hydroxyapatite Nanorods as Novel Fillers for Improving the Properties of Dental Adhesives: Synthesis and Application, *Dent. Mater.*, **26**, 471-482, 2010.
14. Abkhezr A., Atai M., Behnamghader A.A., Solhi L., and Ebadzadeh T., Properties of Dental Adhesives Incorporated with Boehmite Nano-particles, *Iran. J. Polym. Sci. Technol. (In Persian)*, **23**, 423-433, 2011.
15. Protopapa P., Kontonasaki E., Bikiaris D., Paraskevopoulos K.M., and Koidis P., Reinforcement of a PMMA Resin for Fixed Interim Prostheses with Nanodiamonds, *Dent. Mater. J.*, **30**, 222-231, 2011.
16. Shenderova O.A. and Gruen D.M., *Ultranano-crystalline Diamond, Synthesis, Properties, and Applications*, 2nd ed., William Andrew, 2006.
17. Krueger A., The Structure and Reactivity of Nanoscale Diamond, *J. Mater. Chem.*, **18**, 1485-1492, 2008.
18. Amaral M., Gomes M., Lopes M., Silva R.F., Santos J.D., and Fernandes M.H., Nanocrystalline Diamond as a Coating for Joint Implants: Cytotoxicity and Biocompatibility Assessment, *J. Nanomater.*, 1-9, 2008.
19. Yang L., Sheldon B.W., Webster T.J., Silva R.F., and Fernandes M.H., Orthopedic Nano Diamond Coatings: Control of Surface Properties and their Impact on Osteoblast Adhesion and Proliferation, *J. Biomed. Mater. Res.*, **91**, 548-556, 2009.
20. ANSI/ADA, Specification No.27, Direct Filling Resins, 1993.
21. ISO 4049, Dentistry-polymer-based Restorative Materials, 2009.
22. Lee J.J., Marbell A.N., Pimenta A.F., Leonard R., and Ritter A.V., Using Extracted Teeth for Research: the Effect of Storage Medium and Sterilization on Dentin Bond Strengths, *J. Am. Dent. Associat.*, **138**, 1599-1603, 2007.
23. Fu S., Feng X., Lauke B., and Mai Y., Effects of Particle Size, Particle/Matrix Interface Adhesion and Particle Loading on mechanical Properties of Particulate-polymer Composites, *Compos. Part B: Eng.*, **39**, 933-961, 2008.