

Ảnh hưởng của sự bổ sung hydroxyapatite đến các tính chất của xi măng glass ionomer

Huỳnh Ngọc Minh^{1*}, Huỳnh Thị Hồng Hoa^{1,2}, Nguyễn Thị Cẩm Nhung¹, Lưu Trần Thiên An¹,
Nguyễn Vũ Uyên Nhi¹, Đỗ Quang Minh¹

¹Khoa Công nghệ Vật liệu, Trường Đại học Bách khoa, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Trà Vinh

Ngày nhận bài 10/6/2019; ngày chuyển phản biện 18/6/2019; ngày nhận phản biện 20/8/2019; ngày chấp nhận đăng 26/8/2019

Tóm tắt:

Xi măng glass ionomer (glass ionomer cement - GIC) là một trong những loại xi măng nha khoa lý tưởng, vì vừa dùng để trám bít, bảo vệ vị trí sâu răng, vừa có tác dụng ngăn ngừa sâu răng tái phát, nhưng có nhược điểm là độ bền cơ không cao. Hydroxyapatite (HA) có tính sinh học tốt, đồng thời có thể cải thiện đặc tính cơ học của vật liệu khi bổ sung với hàm lượng thích hợp. Bài báo này trình bày sự ảnh hưởng của việc bổ sung bột HA với 5%, 10%, 15% khối lượng vào thành phần bột thủy tinh đến độ bền nén của vật liệu GIC khi ngâm trong 3 môi trường: nước khử ion (DW), nước bọt nhân tạo (AS), dung dịch giả thể người (SBF) và các tính chất khác. Kết quả cho thấy khi bổ sung HA, thời gian làm việc, thời gian đóng rắn của vữa xi măng kéo dài hơn, độ đục của GIC đóng rắn tăng. Sự thay đổi độ bền nén theo thời gian ngâm trong 3 môi trường của mỗi mẫu GIC tương tự nhau, nhưng độ bền nén của mẫu ngâm trong SBF cao hơn trong DW và AS. Hàm lượng HA bổ sung 10% và 15% làm độ bền nén giảm so với mẫu đối chứng B. Với mẫu GIC HA05, sự bổ sung với lượng phù hợp 5% HA đã cải thiện độ bền nén mẫu GIC B và nhất là cường độ 28 ngày. Ảnh SEM và kết quả EDX cho thấy mẫu GIC HA05 đóng rắn có cấu trúc đặc chắc hơn và sự xuất hiện tinh thể đặc trưng dạng bông xốp của HA cùng với tỷ lệ Ca/P = 1,68 trên bề mặt mẫu được ngâm trong dung dịch SBF. Những kết quả này thể hiện vai trò của HA trong việc cải thiện độ bền nén và hoạt tính sinh học của vật liệu GIC.

Từ khóa: hydroxyapatite, khả năng hoạt tính sinh học, xi măng glass ionomer.

Chỉ số phân loại: 2.5

Giới thiệu

GIC là loại xi măng họ “glass polyalkenoate (GPC)”, với thành phần bao gồm bột thủy tinh có tính kiềm (calcium fluoroaluminosilicate) và dung dịch của polyalkenoic acid với nước, được trộn bằng phương pháp thích hợp để tạo thành hỗn hợp vữa, sau đó đóng rắn nhanh chóng [1, 2]. Như vậy, về cơ bản phản ứng đóng rắn của GIC khi trộn bột và chất lỏng là phản ứng trung hoà giữa một base và một acid. Dung dịch acid của phần lỏng GIC có độ pH < 1,0, khi trộn với bột, hoà tan phần bề mặt ngoài của các hạt bột thủy tinh silicate, giải phóng các ion Ca^{2+} , Al^{3+} , Na^+ và F^- ... hình thành một lớp ion kim loại trên hạt bột, các ion trong thủy tinh được phóng thích và di chuyển. Lúc này, gel silica được tạo thành, các cation Ca^{2+} liên kết với nhiều anion (OH^-) của chuỗi polyacrylic acid tạo thành các liên kết ngang giữa các mạch polymer, làm cho hỗn hợp đóng rắn lại. Một số ion kết hợp với polyacid có tác dụng gel hoá. Trong khoảng thời gian 24-72 giờ, các ion Ca^{2+} vẫn còn tiếp tục liên kết, các muối bị hydrate hoá làm hợp chất càng cứng chắc. Các nhóm carboxyl cũng có khả năng liên kết các ion Ca^{2+} trên mô răng. Quá trình này tạo nên sự liên kết hoá học thực sự ở bề mặt tiếp xúc giữa vật liệu và mô răng. Nước đóng một vai trò quan trọng trong toàn bộ quá trình đóng rắn [3]. Đầu tiên, nước cung cấp độ dẻo trong giai đoạn thao tác và nước tác động qua lại với polyacid để cắt đứt mỗi nối hydrogen bên trong của các nhóm

carboxylic có tính acid và làm chúng có hoạt tính cao hơn để tham gia phản ứng với các hạt thủy tinh, giải phóng nhiều ion. Tiếp theo, nước là môi trường cho việc vận chuyển ion cần thiết cho phản ứng đóng rắn acid-base và giải phóng fluoride. Ngoài ra, một phần nước cũng liên kết hóa học với các sản phẩm phản ứng và cung cấp sự ổn định cho vật liệu phục hồi.

GIC là vật liệu trám răng có tính tương hợp sinh học tốt, sự đóng rắn chủ yếu dựa trên phản ứng hóa học, có khả năng tạo liên kết hóa học với mô răng, màu sắc, độ trong mờ phù hợp với men răng, khả năng giải phóng fluoride tốt giúp bảo vệ cấu trúc răng hiện tại và ngăn ngừa sâu răng tái phát [4, 5]. Tuy nhiên, nhược điểm lớn nhất của vật liệu này là khả năng chịu lực và khả năng chống mài mòn do nhai không cao so với vật liệu amalgam và nhựa composite hiện đại, nhạy với độ ẩm. Do đó, GIC thường không được lựa chọn để trám răng vĩnh viễn, nhất là răng sâu, thường chỉ định trám răng trẻ em, người già. Đến nay, vật liệu GIC luôn là vật liệu lý thú cho cả các nhà nghiên cứu cũng như sản xuất vật liệu, vì bên cạnh những tính chất ưu việt của nó, còn nhiều vấn đề thu hút sự thay đổi và cải tiến. Thực tế đã cho thấy, GIC ngày càng được sử dụng rộng rãi như một loại xi măng dán mào, cầu răng; vật liệu trám cho răng sữa, răng vĩnh viễn ở mọi lứa tuổi; tái tạo cùi răng cho phục hình; chất bảo vệ tủy và trám lót do có nhiều cải tiến về độ bền cũng như đặc tính lý hóa, cơ học và sinh học [2, 6].

* Tác giả liên hệ: Email: hnminh@hcmut.edu.vn

Effects of hydroxyapatite supplementation on properties of glass ionomer cement

Ngoc Minh Huynh^{1*}, Thi Hong Hoa Huynh^{1,2},
Thi Cam Nhung Nguyen¹, Tran Thien An Luu¹,
Vu Uyen Nhi Nguyen¹, Quang Minh Do¹

¹Faculty of Materials Technology,
University of Technology, Vietnam National University, Ho Chi Minh City
²Tra Vinh University

Received 10 June 2019; accepted 26 August 2019

Abstract:

Glass ionomer cement (GIC) is one of the ideal dental cements because it is easy to use for filling, lining and adhesion restoration. GICs have good biocompatibility, caries prevention potential, chemical adhesion to mineralized tissues, but the disadvantage is poor mechanical properties. Hydroxyapatite (HA) has good biological properties, and could improve the mechanical properties of materials when added with the appropriate content. This paper will present the effect of adding HA powder at 5, 10, 15% mass into glass powder on the compressive strength of GIC materials when immersed in three environments: deionized water (DW), artificial saliva (AS), and simulated body fluid (SBF) and other properties. The results showed that when the HA powder was added, the working time and setting time of GIC mortar lasted longer, and the opacity of hardened GICs was increased. The change in compressive strength according to the curing time in three environments of each GIC sample was similar, but the compressive strength as of the sample soaked in SBF was higher than in DW and AS. The supplementary of HA at 10% and 15% content reduced the compressive strength as compared to the control sample B. With the GIC sample HA05, the suitable amount of HA addition at the 5% content improved the compressive strength, especially the 28-day strength. The apparent density of the sample HA05 was higher than that of control sample B. SEM images and EDX results showed that the cured GIC sample HA05 had a more dense structure and the appearance of characterized cotton crystal cluster of HA with the Ca/P ratio = 1.68 on the surface of the soaked sample in SBF. These results demonstrated the role of HA in improving the compressive strength and the bioactivity of GIC materials.

Keywords: bioactivity, glass ionomer cement, hydroxyapatite.

Classification number: 2.5

Nhiều tác giả nghiên cứu việc đưa các chất độn khác nhau như các loại bột kim loại (bạc, thép không gỉ...), các loại sợi carbon, sợi thủy tinh aluminosilicate hoặc các loại bột vô cơ (SiO_2 , Al_2O_3 , ZrO_2 , forsterite [7], HA, bột thủy tinh hoạt tính sinh học [8]) vào thành phần thủy tinh polyalkenoate để cải thiện tính chất cơ học và các tính chất khác của GIC. Ngoài ra, nếu GIC có hoạt tính sinh học thì các ứng dụng có thể của GIC sẽ trở nên rộng rãi hơn rất nhiều [8].

HA có công thức $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ với tỷ lệ canxi trên photpho là 1,67. HA có thành phần hóa học và cấu trúc tinh thể tương tự như apatite trong hệ xương của con người nên rất phù hợp để thay thế và tái tạo xương. HA đóng một vai trò quan trọng trong các ứng dụng chỉnh hình do các đặc tính dẫn truyền xương và hoạt tính sinh học thuận lợi của nó. GIC kết hợp với HA đã cho thấy sự cải thiện tính tương thích sinh học và tính chất vật lý. Các hạt HA trên bề mặt GIC tạo điều kiện cho phản ứng hoạt tính sinh học xảy ra khi tiếp xúc với các mô xương xung quanh. GIC còn cho thấy có sự tương tác với HA thông qua các nhóm carboxylate trong polyacid. Do đó, việc kết hợp HA với GIC không chỉ cải thiện khả năng tương thích sinh học của GIC, mà với tỷ lệ HA thích hợp còn có khả năng tăng cường các tính chất cơ học và không làm ảnh hưởng xấu đến các đặc tính khác [9, 10].

Trong đề tài C2017-20a-01 của chúng tôi về vật liệu GIC sử dụng bột thủy tinh hệ calcium fluoroaluminosilicate, nhiều nghiên cứu để cải thiện các tính chất của hệ vật liệu này đã được thực hiện, trong đó có việc bổ sung bột HA tổng hợp với các hàm lượng 0%, 5%, 10%, 15% vào thành phần bột thủy tinh. Bài báo này trình bày sự ảnh hưởng của việc bổ sung HA đến độ bền nén của vật liệu khi ngâm trong 3 môi trường: môi trường thứ nhất là môi trường ngâm đơn giản và được nghiên cứu phổ biến là nước khử ion (deionized water - DW), môi trường thứ hai là nước bọt nhân tạo mô phỏng môi trường miệng (artificial saliva - AS) và môi trường thứ ba là chất lỏng giả dịch thể người để mô phỏng môi trường dịch nước (simulated body fluid - SBF). Ngoài ra, các tính chất như thời gian đông rắn của vữa xi măng, mật độ biểu kiến, độ trong mờ, vi cấu trúc và khả năng hoạt tính sinh học trong dung dịch SBF của vật liệu GIC đóng rắn cũng được khảo sát.

Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Vật liệu

Hỗn hợp phối liệu nấu thủy tinh từ các hóa chất Al_2O_3 (Fuji Kasei - Nhật), SiO_2 (Toxolux - Hàn Quốc), AlPO_4 (Macklin - Trung Quốc), Na_3AlF_6 (Ganghua - Trung Quốc), CaF_2 (Ganghua - Trung Quốc) được trộn trong cối nghiền bi với tỷ lệ thích hợp. Phối liệu đồng nhất này được nấu chảy thành thủy tinh trong chén platin ở 1.300°C lưu 90 phút trong lò Carbolite-1600. Thủy tinh nóng chảy được làm nguội nhanh trong nước, sau đó sấy khô rồi nghiền đến độ mịn qua hết sàng $45\ \mu\text{m}$. Bột thủy tinh calcium fluoroaluminosilicate này được ký hiệu là bột B. Bột HA sử dụng để bổ sung vào thành phần bột thủy tinh B được tổng hợp theo phương pháp kết tủa từ dung dịch $\text{Ca}(\text{OH})_2$ và $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ kết hợp hấp thụ nhiệt, là sản phẩm của đề tài nghiên cứu B2012-20-09TD [11]. Các mẫu bột ký hiệu HA05, HA10, HA15 tương ứng là mẫu bột thủy tinh B được bổ sung thêm bột HA với tỷ lệ khối lượng lần lượt là 5%, 10%, 15%. Dung dịch lỏng có thành phần chính là dung dịch PAA ($M_w \sim 100.000$, nồng độ 35% trong nước của Sigma-Aldrich - Mỹ) được pha trộn với 5% Maleic acid (Trung Quốc), 5% Tartaric acid (Trung Quốc).

Tạo mẫu GIC

Vữa GIC được trộn để tạo mỗi viên mẫu ở $23 \pm 1^\circ\text{C}$ với tỷ lệ thể tích không đổi (1 muỗng lường bột/2 giọt lỏng), tỷ lệ khối lượng nguyên liệu của từng mẫu được trình bày ở bảng 3, quy trình tạo mẫu tham khảo theo ISO 9917-1:2007 [1]. Các mẫu GIC hình trụ tròn có đường kính $4,0 \pm 0,1$ mm và chiều cao $6,0 \pm 0,1$ mm được tạo hình trong khuôn thép không rỉ. Khi tạo hình mẫu để đo độ bền nén, bề mặt bên trong của khuôn được bôi trơn với dung dịch 3% paraffin trong ether dầu mỏ để vữa điền đầy khuôn và mẫu đã đóng rắn dễ tháo khuôn. Sau 30 phút kể từ lúc kết thúc trộn vữa xi măng, mở hai tấm đế trên và dưới của khuôn ra và dùng giấy mài SiC loại 400 grit mài hai đầu của các mẫu cho bằng phẳng và vuông góc với trục dọc của mẫu. Tiếp theo, mẫu được lấy ra khỏi khuôn và kiểm tra trực quan bằng mắt thường để loại bỏ các mẫu có các lỗ khí hoặc các cạnh bị nứt mẻ. Chuẩn bị mỗi tổ mẫu năm viên thử và ngay lập tức sau khi chuẩn bị mẫu xong, ngâm vào 5 ml dung dịch AS/DW/SBF chứa trong các ống nghiệm ly tâm bằng nhựa, đậy cón có nắp và lưu trữ trong tủ ẩm ở $37 \pm 1^\circ\text{C}$ trong các thời gian $23 \pm 0,5$ h (1 ngày), 7 ngày và 28 ngày. Thành phần các hóa chất để tạo của môi trường AS [12] và SBF bão hòa HA [13] lần lượt cho trong bảng 1 và bảng 2. Giá trị pH của 3 môi trường AS, DW và SBF lần lượt là 5,5; 7,0 và 7,4.

Bảng 1. Thành phần của 50 g nước bột nhân tạo AS [12].

Thành phần	Khối lượng để pha 50 g dung dịch AS
Carboxymethylcellulose sodium	0,5 g
Calcium chloride ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	0,0073 g
Sodium chloride (NaCl)	0,0422 g
Potassium chloride (KCl)	0,06 g
Sorbitol ($\text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6$)	1,5 g
Magnesium chloride ($\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,0026 g
Potassium monohydrogen phosphate (K_2HPO_4)	0,0171 g
Sorbic acid ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_2$)	0,025 g
Sodium benzoate ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NaO}_2$)	0,0295 g
Nước khử ion	47,8163 g

Bảng 2. Thành phần và thứ tự các hóa chất cần pha để tạo 1.000 ml dung dịch SBF [13].

Thứ tự	Tên hóa chất	Lượng
0	Nước cất	700 ml
1	NaCl	8,035 g
2	NaHCO_3	0,355 g
3	KCl	0,225 g
4	$\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	0,231 g
5	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,311 g
6	1,0 M - HCl	39 ml
7	CaCl_2	0,292 g
8	Na_2SO_4	0,072 g
9	Tris	6,118 g
10	1,0 M - HCl	0-5ml để điều chỉnh pH đạt $7,42 \pm 0,01$ tại $36,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$
11	Nước cất	Thêm vào để dung dịch đạt thể tích 1.000 ml ở 20°C

Thời gian làm việc và thời gian đóng rắn của vữa xi măng GIC

Theo tiêu chuẩn ISO 9917-1:2007 [1], thời gian làm việc là khoảng thời gian mà có thể thao tác với vữa GIC mà không ảnh hưởng xấu đến tính chất của nó. Trong nghiên cứu này, thời gian làm việc là khoảng thời gian được đo từ khi bắt đầu trộn vữa trong điều kiện nhiệt độ ($23 \pm 1^\circ\text{C}$), trộn vữa liên tục cho đến khi vữa mất tính dẻo ướt

và bắt đầu rơi ra.

Thời gian đóng rắn được xác định bằng dụng cụ đâm xuyên theo các tiêu chí và điều kiện đo được chỉ định trong tiêu chuẩn ISO 9917-1:2007. Thời gian đóng rắn là khoảng thời gian đo từ lúc kết thúc trộn vữa đến khi vật liệu đóng rắn, là lúc kim không thể để lại dấu tròn hoàn toàn ở nhiệt độ $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Các tính chất vật lý của các mẫu GIC đóng rắn

Màu sắc của các mẫu GIC đã đóng rắn được xác định theo giá trị không gian màu L^*a^*b bằng thiết bị Chroma Meter CR-400 Konica Minolta - Nhật. Thông tin về kênh L đại diện cho độ sáng (từ 0-100: màu đen đến màu trắng). Kênh a (từ -90 đến 70) mang thông tin màu xanh lá tới đỏ, kênh b (từ -80 đến 100) mang thông tin màu xanh dương tới vàng.

Độ trong mờ (translucency) ký hiệu TP là thông số trái ngược với độ đục (opacity), được đánh giá bằng độ sai biệt màu L^*a^*b của cùng một mẫu (dạng tấm mỏng có kích thước dài x rộng x dày = $15 \times 15 \times 1,5$ mm) khi mẫu đặt trên nền đen (b: black) và nền trắng (w: white) [14]. Độ trong mờ TP được tính theo công thức:

$$TP = \sqrt{[(\Delta L_{bw})^2 + (\Delta a_{bw})^2 + (\Delta b_{bw})^2]} \quad (1)$$

Trong đó $\Delta L_{bw} = L_b - L_w$, $\Delta a_{bw} = a_b - a_w$, $\Delta b_{bw} = b_b - b_w$ với L_b , a_b , b_b : các thông số màu của mẫu khi đặt trên nền đen; L_w , a_w , b_w : các thông số màu của mẫu khi đặt trên nền trắng.

Độ bền nén của mẫu GIC đóng rắn ở các ngày tuổi được xác định bằng máy đo cường độ Materials Testing Machine M350-10CT, Testometric, UK với tốc độ di chuyển piston $0,75 \pm 0,30$ mm/phút, tham khảo theo ISO 9917-1:2007.

Mật độ biểu kiến ρ_{bk} của các viên mẫu GIC đóng rắn được xác định bằng phương pháp Archimedes (cân thủy tĩnh):

$$\rho_{bk} = \frac{m_k}{m_k - m_A} \rho_N \quad (\text{g/cm}^3) \quad (2)$$

Trong đó: m_k : khối lượng của viên mẫu sau ngâm đã được sấy khô ở 60°C trong 3 giờ (g); m_A : khối lượng của viên mẫu sau ngâm được cân trong nước cất (g); ρ_N : khối lượng riêng của nước cất (g/cm^3) ở nhiệt độ môi trường.

Phổ nhiễu xạ tia X (XRD)

Thành phần pha của các mẫu bột thủy tinh B, bột HA tổng hợp và vật liệu GIC đã đóng rắn được xác định dựa vào phổ XRD (thiết bị D2 Phaser của hãng Bruker) với điều kiện đo: $K_{\alpha, \text{Cu}} = 1,5406 \text{ \AA}$, $2\theta = 10-70^\circ$, bước quét và tốc độ quét $0,02^\circ/0,5 \text{ s}$.

Phân tích vi cấu trúc bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM) và phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX)

Vi cấu trúc của các mẫu vật liệu bột (bột thủy tinh B, bột HA tổng hợp) hoặc mẫu xi măng GIC đóng rắn được phủ Pt dẫn điện và quan sát bằng kính hiển vi điện tử quét trên thiết bị FE-SEM, Model S-4800 (Hitachi High - Technologies Co., Tokyo, Nhật Bản) với các độ phóng đại $\times 1.000$, $\times 5.000$, $\times 10.000$, $\times 20.000$ ở hiệu điện thế 10 kV.

Thành phần nguyên tố trong một vùng vi mô của vật liệu được phân tích dựa trên phổ tán sắc năng lượng tia X (EDX: Energy-

dispersive X-ray spectroscopy) sử dụng thiết bị EDX Model H-7593 (Horiba, Vương quốc Anh).

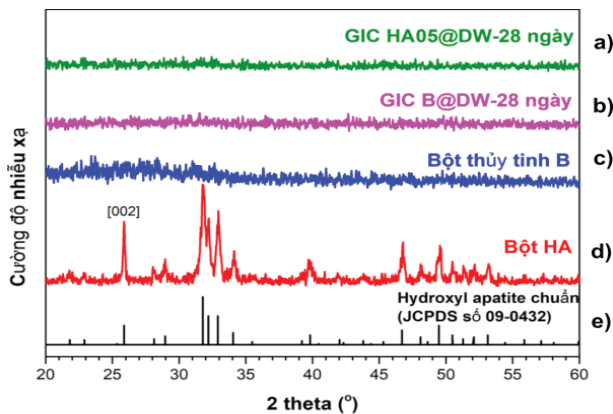
Thí nghiệm đánh giá khả năng hoạt tính sinh học trong dung dịch SBF

Mẫu GIC đóng rắn (với đường kính 6 mm và chiều cao 3 mm) sau 1 giờ sẽ được đánh bóng bề mặt bằng giấy nhám 400 grit, sau đó được rửa với nước cất. Ngâm mẫu trong 5 ml nước khử ion DW hoặc dung dịch SBF đựng trong ống nghiệm ly tâm đáy hình nón bằng nhựa trong 28 ngày ở nhiệt độ $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Sau thời gian ngâm, mẫu sẽ được lấy ra khỏi môi trường DW hoặc SBF và rửa qua nước cất, tiếp theo được sấy ở 60°C trong 3 giờ. Mẫu sau đó được phân tích SEM/EDX ở các vị trí khác nhau của bề mặt tiếp xúc dung dịch ngâm. Kết quả phân tích SEM/EDX của các mẫu GIC B, GIC HA05 ngâm trong môi trường DW và SBF sau 28 ngày được trình bày nhằm phản ánh sự thay đổi hình thái cấu trúc và thành phần hóa của bề mặt mẫu, đồng thời xem xét sự xuất hiện tinh thể của HA trên bề mặt mẫu GIC đã được ngâm trong dung dịch SBF.

Kết quả

Đặc tính của các vật liệu thành phần

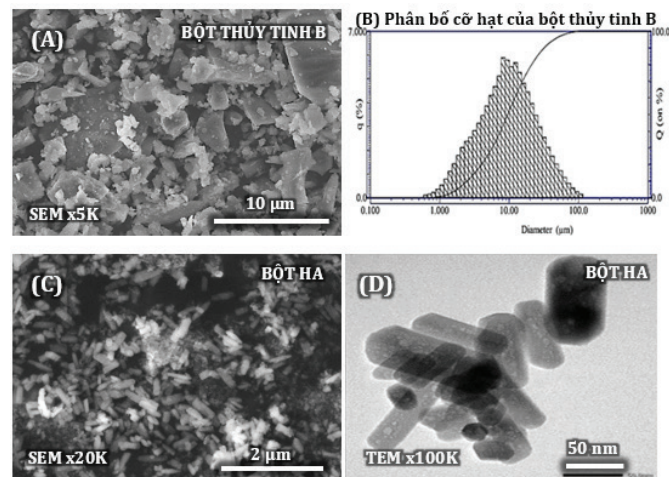
Bột thủy tinh B được phân tích phổ huỳnh quang tia X (XRF) cho kết quả thành phần các nguyên tố chính (% nguyên tử): Al: 25,6, Si: 22,9, Ca: 15,2, P: 10,7, F: 15,3, Na: 10,4. Kết quả phân tích XRD ở hình 1 cho thấy, phổ nhiễu xạ của mẫu bột thủy tinh B (đường c) không xuất hiện các đỉnh rõ ràng, sắc nét, chứng tỏ bột thủy tinh B có thành phần hầu như là pha vô định hình. Ảnh SEM (độ phóng đại 5.000 lần) ở hình 2A của mẫu bột thủy tinh B cho thấy các hạt thủy tinh có kích thước từ vài micromet đến khoảng 10-20 μm . Cỡ hạt trung bình (mean diameter) của bột B theo kết quả phân tích tán xạ laser (hình 2B) là 14,3 μm , phân bố từ 2,4-32,0 μm (khoảng tích lũy từ 10-90%).



Hình 1. Phổ XRD của các mẫu bột và mẫu GIC đóng rắn: a) GIC HA05 (bổ sung 5% bột HA vào bột B); b) Mẫu GIC B đóng rắn 28 ngày trong môi trường DW; c) Mẫu bột thủy tinh B; d) Bột HA nano và e) phổ chuẩn hydroxyapatite (JCPDS số 09-0432).

Mẫu bột HA tổng hợp sử dụng trong nghiên cứu này được kiểm tra đặc trưng pha tinh thể và kích thước tinh thể bằng phân tích XRD. Các đỉnh trên phổ nhiễu xạ mẫu bột HA ở hình 1 - đường d thể hiện sự phù hợp với đặc trưng phổ tinh thể HA chuẩn ((ICDD standard,

HA: JCPDS No. 09-0432) ở đường e). Bên cạnh đó, các đỉnh trên phổ khá rộng chứng tỏ mẫu bột HA ở dạng tinh thể kích thước nhỏ. Sử dụng phần mềm X'Pert High Score và công thức Scherrer dựa trên các thông số của đỉnh ở vị trí $2\theta \approx 25,83^\circ$ (tương ứng mặt mạng hkl [002]) tính được kích thước tinh thể HA khoảng 51,8 nm. Tuy nhiên, theo kết quả phân tích tán xạ laser của bột HA (sử dụng nước khử ion làm dung môi phân tán) cho cỡ hạt trung bình của bột HA lên đến 26,8 μm do các hạt HA cỡ nano kết tụ lại tạo thành các cụm hạt lớn. Điều này đã được thể hiện qua các ảnh chụp kính hiển vi điện tử quét SEM độ phóng đại 20.000 lần (hình 2C) và ảnh chụp kính hiển vi điện tử truyền qua TEM với độ phóng đại 100.000 lần (hình 2D) của mẫu bột HA. Kết quả trên các ảnh vi cấu trúc cho thấy, các hạt HA hình trụ có kích thước khá đều, chiều dài khoảng 100 nm, rộng 15-20 nm chứng tỏ bột HA sử dụng dạng hạt tinh thể nano.



Hình 2. (A) Ảnh SEM của mẫu bột thủy tinh B (độ phóng đại 5.000 lần); (B) Biểu đồ phân bố cỡ hạt (tán xạ laser) của bột thủy tinh B; (C) Ảnh SEM của mẫu bột HA tổng hợp (độ phóng đại 20.000 lần); (D) Ảnh TEM của mẫu bột HA tổng hợp (độ phóng đại 100.000 lần) [11].

Thời gian làm việc, thời gian đóng rắn của vữa GIC

Các thành phần bột khác nhau B, HA05, HA10 và HA15 được trộn với dung dịch lỏng với cùng một tỷ lệ thể tích có tỷ lệ khối lượng khác nhau cho trong bảng 3 và đánh giá khả năng làm việc của vữa xi măng. Kết quả ở bảng 3 và đồ thị biểu diễn ở hình 3 cho thấy thời gian làm việc và thời gian đóng rắn của GIC ở trạng thái vừa thỏa mãn điều kiện $90 \text{ giây} \leq t_{\text{đóng rắn}} \leq 360 \text{ giây}$ (ISO 9917-1:2007) và tăng theo hàm lượng HA bổ sung.

Bảng 3. Kết quả đo thời gian làm việc và thời gian đóng rắn của các mẫu hồ xi măng.

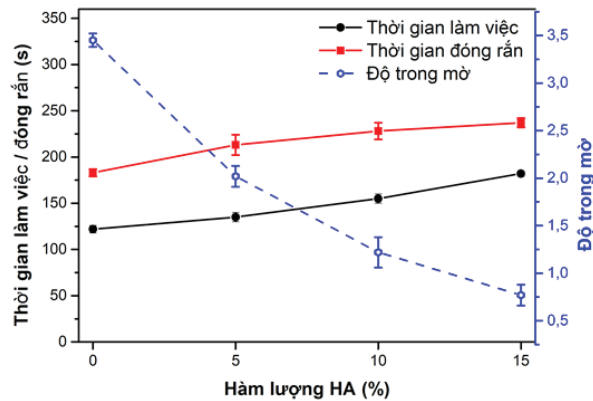
Mẫu	Tỷ lệ thành phần vật liệu			Thời gian làm việc (giây)	Thời gian đóng rắn (giây)
	Bột (g)	Lỏng (g)	Bột/Lỏng (g/g)		
B	0,283 $\pm$ 0,006	0,191 $\pm$ 0,008	1,48	122 $\pm$ 4	183 $\pm$ 4
HA05	0,255 $\pm$ 0,007	0,191 $\pm$ 0,008	1,34	135 $\pm$ 5	213 $\pm$ 11
HA10	0,238 $\pm$ 0,005	0,191 $\pm$ 0,008	1,25	155 $\pm$ 5	228 $\pm$ 9
HA15	0,225 $\pm$ 0,003	0,191 $\pm$ 0,008	1,18	182 $\pm$ 3	237 $\pm$ 5

Màu sắc và độ trong mờ của các mẫu GIC đã đóng rắn

Trong thành phần của GIC chưa có mặt các chất tạo màu, khi quan sát bằng mắt thường thì có màu trắng và có độ trong mờ khá giống nhau. Kết quả đo màu bằng thiết bị Chroma Meter theo không gian màu $L^*a^*b^*$ và giá trị độ trong mờ TP được trình bày ở bảng 4 cho thấy các thông số màu L^* , a^* , b^* của các mẫu GIC thay đổi không đáng kể. Tuy nhiên, khi tăng hàm lượng HA thêm vào, độ trong mờ TP của mẫu giảm, nghĩa là mẫu bị đục hơn.

Bảng 4. Các thông số màu CIE $L^*a^*b^*$ và độ trong mờ của các mẫu GIC sau khi đóng rắn 7 ngày trong môi trường DW.

Mẫu	Thông số màu			Độ trong mờ TP
	L^*	a^*	b^*	
B	86,81±0,08	-5,22±0,02	10,39±0,02	3,45±0,07
HA05	86,17±0,18	-4,81±0,02	10,01±0,03	2,02±0,11
HA10	86,78±0,16	-5,17±0,02	9,98±0,04	1,22±0,16
HA15	86,88±0,47	-4,25±0,02	10,34±0,08	0,77±0,11



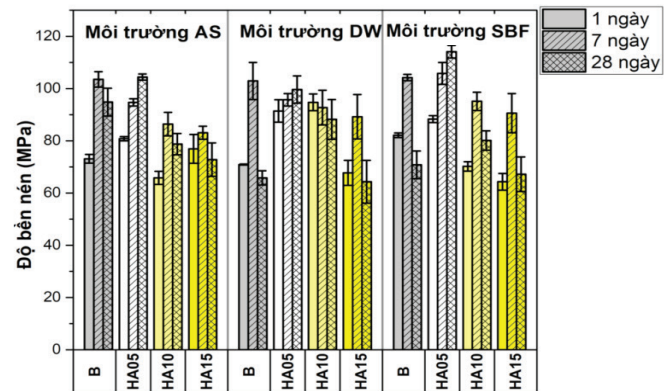
Hình 3. Đồ thị biểu diễn thông số thời gian làm việc, thời gian đóng rắn của hồ GIC và độ trong mờ của các mẫu GIC đã đóng rắn 1 ngày trong môi trường DW theo hàm lượng HA bổ sung vào bột thủy tinh B.

Độ bền nén của mẫu GIC trong 3 môi trường ngâm AS, DW và SBF

Kết quả đo độ bền nén của các mẫu GIC B, HA05, HA10, HA15 ngâm trong 3 môi trường sau 1, 7 và 28 ngày tương ứng với hàm lượng HA thêm vào bột thủy tinh 0%, 5%, 10%, 15% được trình bày ở bảng 5 và hình 4. Xu hướng thay đổi độ bền nén theo thời gian ngâm của từng mẫu trong 3 môi trường tương tự nhau: độ bền của mẫu sau 7 ngày ngâm tăng so với mẫu 1 ngày nhưng mẫu 28 ngày lại giảm, ngoại trừ mẫu HA05. Độ bền nén của các mẫu trong môi trường SBF cao hơn trong môi trường DW và AS. Khi xét theo sự thay đổi thành phần mẫu, với hàm lượng HA 10% và 15%, các mẫu HA10 và HA15 có độ bền nén giảm so với mẫu B. Tuy nhiên, mẫu GIC HA05 (bổ sung 5%) HA cho độ bền tăng so với mẫu GIC B và đặc biệt có cường độ 28 ngày không bị sụt giảm như các thành phần khác mà còn tăng giá trị. Vì vậy, mẫu GIC HA05 được lựa chọn phân tích thành phần pha XRD, vi cấu trúc SEM và phân tích EDX của mẫu ngâm trong SBF để so sánh với mẫu tham chiếu GIC B.

Bảng 5. Độ bền nén của các mẫu GIC đóng rắn trong các môi trường ngâm AS, DW, SBF ở tuổi 1 ngày, 7 ngày và 28 ngày.

Môi trường	Mẫu	Độ bền nén (MPa)		
		1 ngày	7 ngày	28 ngày
AS	B	73,1±1,6	103,5±3,0	94,8±5,3
	HA05	80,8±0,8	94,7±1,4	104,4±1,2
	HA10	65,8±2,5	86,4±4,5	78,7±4,1
	HA15	76,9±5,5	83,1±2,5	72,8±6,4
DW	B	70,9±0,2	102,9±7,1	65,8±2,7
	HA05	91,4±4,3	95,7±2,4	99,6±5,2
	HA10	94,7±3,2	92,7±6,6	88,2±7,6
	HA15	67,7±4,8	89,2±8,5	64,3±8,2
SBF	B	82,1±0,9	104,2±1,2	70,8±5,3
	HA05	88,3±1,3	105,8±4,2	114,1±2,4
	HA10	70,2±1,8	95,1±3,5	80,1±3,7
	HA15	64,3±3,2	90,6±7,5	67,2±6,6



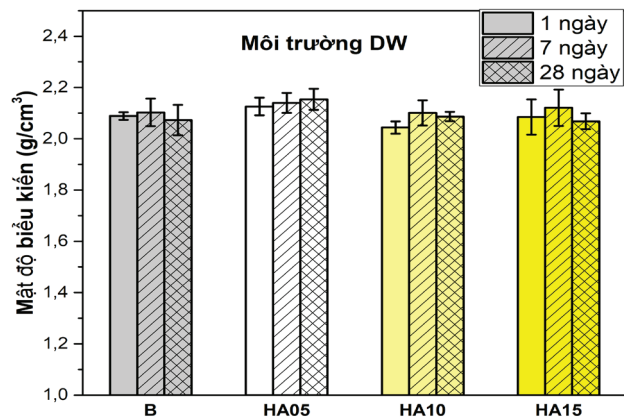
Hình 4. Độ bền nén của các mẫu GIC có bổ sung lần lượt 0%, 5%, 10%, 15% HA vào bột thủy tinh ở các tuổi 1, 7, 28 ngày lần lượt trong 3 môi trường AS, DW và SBF.

Mật độ biểu kiến của các mẫu GIC đóng rắn trong môi trường DW

Mật độ biểu kiến ρ_{bk} là thông số phản ánh độ đặc chắc của các mẫu GIC đã đóng rắn. Thông số này phụ thuộc vào khối lượng riêng, tỷ lệ của các pha rắn và mật độ lỗ xốp bên trong vật liệu. ρ_{bk} của các mẫu GIC ở các ngày tuổi trong các môi trường ngâm có sự thay đổi mặc dù không quá lớn nhưng xu hướng thay đổi khá tương đồng với giá trị độ bền nén. Bảng 6 và hình 5 trình bày giá trị đo và biểu đồ minh họa ρ_{bk} của các mẫu GIC trong môi trường DW ở các ngày tuổi.

Bảng 6. Mật độ biểu kiến của các mẫu GIC đóng rắn trong các môi trường ngâm DW ở tuổi 1 ngày, 7 ngày và 28 ngày.

Môi trường	Mẫu	Mật độ biểu kiến ρ_{bk} (g/cm ³)		
		1 ngày	7 ngày	28 ngày
DW	B	2,089±0,015	2,103±0,054	2,073±0,059
	HA05	2,126±0,034	2,140±0,039	2,154±0,041
	HA10	2,044±0,024	2,101±0,049	2,087±0,018
	HA15	2,085±0,069	2,121±0,071	2,068±0,031



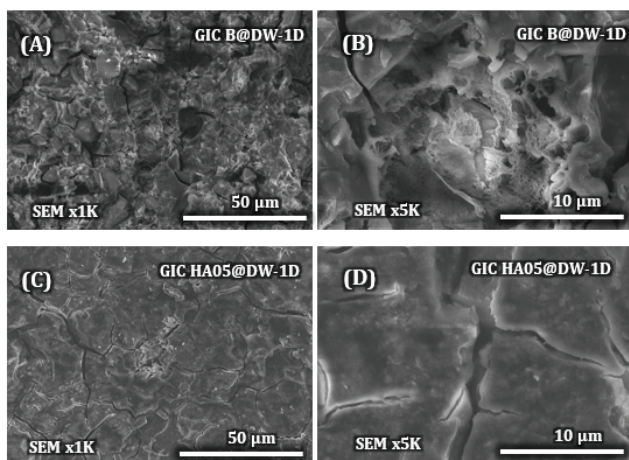
Hình 5. Biểu đồ mật độ biểu kiến các mẫu GIC đã đóng rắn ở 1 ngày, 7 ngày và 28 ngày trong DW.

Phân tích thành phần pha (XRD)

Kết quả phổ XRD ở hình 1 (đường a và b) cho thấy, thành phần pha của các mẫu GIC B và GIC HA05 chủ yếu là pha vô định hình. Mẫu GIC HA05 mặc dù trong thành phần nguyên liệu ban đầu có bổ sung bột HA với hàm lượng 5% kl bột thủy tinh nhưng phổ XRD vẫn không phát hiện các đỉnh đặc trưng của HA. Điều này có thể do bột HA ở kích thước nano cho phổ nhiễu xạ có cường độ thấp và hàm lượng HA nhỏ (~2,7%kl GIC) hoặc có thể là HA đã phản ứng trong quá trình đóng rắn của GIC.

Phân tích ảnh SEM chụp bề mặt các mẫu GIC đóng rắn

Dựa vào kết quả ảnh SEM ở hình 6 cho vi cấu trúc của 2 mẫu gồm GIC B (0% HA) và GIC HA05 (5% HA) sau khi ngâm trong DW 1 ngày, có thể thấy mẫu GIC HA05 có bề mặt mẫu bằng phẳng và đặc chắc hơn so với mẫu GIC B. Ở các ảnh có độ phóng đại 5.000 lần, biên giới của các hạt bột ở cả hai mẫu đã không còn nhìn thấy rõ, điều này cho thấy các hạt thủy tinh đã phản ứng tạo liên kết với dung dịch lỏng.



Hình 6. Ảnh SEM bề mặt các mẫu GIC B và GIC HA05 đóng rắn 1 ngày trong DW: A, B: GIC B (0% HA) ở độ phóng đại lần lượt 1.000 lần và 5.000 lần; C, D: GIC HA05 (5% HA) ở độ phóng đại lần lượt 1.000 lần và 5.000 lần.

Phân tích EDX các mẫu GIC đóng rắn

Kết quả phân tích EDX vùng bề mặt viên GIC tiếp xúc với môi trường ngâm của các mẫu được trình bày chi tiết ở bảng 7. Hàm lượng nguyên tố C trong các mẫu khác nhau phụ thuộc vào tỷ lệ tương đối giữa thành phần bột thủy tinh vô cơ và dung dịch lỏng polymer trong vùng phân tích. Khi được ngâm trong các môi trường, GIC sẽ giải phóng các ion trong thành phần ra môi trường hoặc hấp thu ngược lại các ion từ môi trường. Hai nguyên tố Ca và P có trong thành phần bột thủy tinh, trong thành phần dung dịch SBF và là hai thành phần chính của HA. Để thuận tiện so sánh, hàm lượng (P+Ca) được tính trên tổng hàm lượng các nguyên tố (F+Na+Al+Si+P+Ca) trong thành phần vô cơ. Mẫu GIC B sau khi ngâm 28 ngày trong môi trường SBF có hàm lượng (P+Ca) cao hơn mẫu ngâm trong DW. Điều này cho thấy có thể có sự hấp thu các ion P và Ca từ dung dịch SBF bão hòa HA lên bề mặt. So sánh mẫu GIC B và HA05 cùng ngâm trong SBF, mẫu HA05 có hàm lượng (P+Ca) cao hơn. Điều đặc biệt là mẫu HA05 này còn được tìm thấy các vùng bề mặt có cấu trúc dạng bông xốp, có tỷ lệ mol Ca/P=1,68, đặc trưng cho dạng HA vô định hình kết tụ trên bề mặt vật liệu hoạt tính sinh học khi ngâm SBF.

Bảng 7. Kết quả EDX phân tích thành phần nguyên tố tại các vùng trên bề mặt của mẫu GIC: GIC B@DW-28D: GIC B ngâm trong DW sau 28 ngày; GIC B@SBF-28D: GIC B ngâm trong SBF sau 28 ngày; GIC HA05@SBF-28D: GIC HA05 ngâm trong SBF sau 28 ngày.

Mẫu	GIC B@DW-28D	GIC B@SBF-28D	GIC HA05@SBF-28D
Vùng phân tích EDX			
Nguyên tố	% nguyên tử	% nguyên tử	% nguyên tử
C K	35,6	18,8	42,5
O K	45,3	49,0	44,5
F K	3,3	5,4	1,2
Na K	2,8	4,2	1,8
Al K	5,4	7,4	3,4
Si K	4,2	7,4	3,1
P K	1,8	3,8	1,3
Ca K	1,6	4,0	2,2
Tổng	100,0	100,0	100,0
$\frac{Ca+P}{F+Na+Al+Si+P+Ca}$	17,8	24,3	26,9
Ca/P	0,86	1,06	1,68

Thảo luận

Sự đóng rắn của vật liệu GIC thông qua phản ứng acid-base là quá trình liên tục thể hiện ở sự gia tăng độ bền nén theo thời gian từ 1 ngày đến 7 ngày và thậm chí với mẫu HA05 vẫn tăng ở 28 ngày. Tuy nhiên, việc mẫu tiếp xúc ngay với dung dịch ngâm sau 30 phút trộn vữa và trong khoảng thời gian ngâm kéo dài gây ra nở phồng, rửa trôi và khuếch tán các ion từ xi măng ra môi trường ngâm, làm suy yếu cấu trúc vật liệu [15] dẫn đến các mẫu GIC B, HA10, HA15 bị giảm độ bền nén ở 28 ngày.

Độ bền của xi măng được hình thành từ 2 kiểu liên kết cơ học và hóa học. Kiểu thứ nhất, liên kết cơ học liên quan đến sự tiếp xúc giữa các thành phần vật liệu và độ đặc chắc (mật độ) của vật liệu. Kiểu liên kết thứ hai là liên kết hóa học hình thành từ phản ứng giữa dung dịch

polymer acid và bột vô cơ có tính base (bột B là thủy tinh calcium fluoro alumino silicate hoạt tính hoặc hỗn hợp bột B và HA). Hơn nữa, HA cũng có khả năng trao đổi ion [16], nhiều kết quả nghiên cứu [10, 17, 18] đã chứng minh HA có khả năng phản ứng với GIC thông qua các nhóm carboxylate trong polyacid. Tuy nhiên, khả năng phản ứng phụ thuộc vào độ kết tinh, diện tích bề mặt riêng, độ xốp của bột HA [16]. Đặc điểm của bột HA sử dụng trong nghiên cứu này có dạng hình trụ rõ ràng, phổ XRD đặc trưng của dạng HA tinh thể. Việc bổ sung bột HA có kích thước hạt nhỏ dẫn đến sự phân bố rộng kích thước hạt của hỗn hợp bột thủy tinh và HA do các hạt nhiều kích thước khác nhau có khả năng sắp xếp xen vào nhau để lấp chỗ trống và do đó làm tăng mật độ xi măng, góp phần tạo khung chịu lực cho cấu trúc đá xi măng. Tuy nhiên, HA ở dạng tinh thể có khả năng phản ứng với GIC không cao, mặt khác, hạt HA có kích thước cỡ nano (dài ~100 nm, rộng ~15-20 nm), bề mặt riêng sẽ lớn hơn rất nhiều so với bột thủy tinh. Do đó, nếu trộn các mẫu bột khác nhau với dung dịch lỏng mà giữ cố định tỷ lệ khối lượng bột/lỏng = 1,48 như mẫu B (0% HA) thì các mẫu bột có bổ sung HA sẽ khó trộn, thiếu độ linh động để có thể điền đầy khuôn tạo hình. Việc trộn mẫu với cùng tỷ lệ thể tích bột to/lỏng cho trạng thái lỏng của các mẫu tương tự nhau nhưng làm giảm tỷ lệ khối lượng bột/lỏng khi tăng hàm lượng HA bổ sung. Như vậy, khi tăng lượng HA bổ sung, một phần bột thủy tinh B có khả năng phản ứng với dung dịch lỏng (PAA) bị thay bởi bột HA mịn hơn rất nhiều nhưng kém hoạt tính hơn và tỷ lệ pha lỏng nhiều hơn. Những điều này giải thích việc bổ sung HA làm cho thời gian làm việc, thời gian đóng rắn của vữa xi măng và độ đục của các mẫu GIC đóng rắn lớn hơn, độ bền nén, mật độ biểu kiến của mẫu HA10 và HA15 thấp hơn mẫu GIC B tham chiếu. Tuy nhiên, sự kết hợp một lượng HA 5% vừa đủ làm cải thiện mật độ và vi cấu trúc vật liệu GIC, thể hiện qua ảnh SEM và giá trị mật độ biểu kiến, từ đó có thể giúp tăng cường cơ tính của mẫu HA05. Mẫu GIC HA05 có độ bền nén ở các điều kiện cao hơn mẫu GIC B và độ bền ở 28 ngày không bị suy giảm mà vẫn tiếp tục tăng do cấu trúc đặc chắc làm hạn chế rửa trôi và khuếch tán các ion từ xi măng ra môi trường ngâm.

Độ bền nén của các mẫu trong môi trường SBF cao hơn trong môi trường DW và AS có thể được giải thích do hiện tượng trao đổi ion với môi trường ngoài. Các ion, nhất là ion Ca và ion P trong môi trường SBF có khả năng tích tụ lên bề mặt GIC đóng rắn, giúp gia tăng độ cứng bề mặt của vật liệu [19]. Kết quả phân tích SEM-EDX của HA05 ngâm trong SBF cho thấy, việc bổ sung HA ở dạng hạt nano có thể cung cấp các vị trí hình thành mầm HA trên bề mặt vật liệu [20], giúp HA dễ kết tủa hơn.

Kết luận

Khi bổ sung HA 5%, 10%, 15% kl vào thành phần bột thủy tinh, thời gian làm việc, thời gian đóng rắn của vữa xi măng kéo dài hơn, độ đục của GIC đóng rắn tăng. Sự thay đổi độ bền nén theo thời gian ngâm của mỗi mẫu GIC tương tự nhau trong 3 môi trường, độ bền trong SBF cao hơn trong DW và AS. Với hàm lượng HA 10% và 15%, các mẫu HA10 và HA15 có độ bền nén giảm so với mẫu B. Mẫu GIC HA05 với sự bổ sung lượng phù hợp 5% HA đã cải thiện độ bền nén mẫu GIC B và nhất là cường độ 28 ngày. Sự xuất hiện tinh thể đặc trưng dạng bông xốp của HA và tỷ lệ Ca/P = 1,68 trên bề mặt mẫu GIC HA05 được ngâm trong dung dịch SBF là minh chứng thể hiện vai trò của HA trong việc cải thiện hoạt tính sinh học của vật liệu GIC.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ kinh phí bởi Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh trong khuôn khổ đề tài mã số C2017-20a-01; và sự hỗ trợ của Phòng thí nghiệm trọng điểm vật liệu polyme và compozit, Phòng thí nghiệm công nghệ vật liệu - Trường Đại học Bách khoa TP Hồ Chí Minh. Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] International Organization for Standardization (2007), *ISO 9917-1:2007 Dentistry-water-based cements-Part 1: powder/liquid acid - base cements*.
- [2] S.K. Sidhu (2016), *Glass-ionomers in dentistry*, Springer.
- [3] R.L. Sakaguchi and J.M. Powers (2012), *Craig's Restorative Dental Materials*, Elsevier Health Sciences.
- [4] H. Kusumoto, S. Abolghasemi, B. Woodfine, R.G. Hill, N. Karpukhina, and R.V. Law (2016), "The effect of phosphate, fluorine, and soda content of the glass on the mechanical properties of the glass ionomer (polyalkenoate) cements", *J. Non-Cryst. Solids*, **449(C)**, pp.94-99.
- [5] J.W. Nicholson (2014), "Fluoride-releasing dental restorative materials: an update", *Balk. J. Dent. Med.*, **18(2)**, pp.60-69.
- [6] M. Khoroushi and F. Keshani (2013), "A review of glass-ionomers: From conventional glass-ionomer to bioactive glass-ionomer", *Dent. Res. J.*, **10(4)**, pp.411-420.
- [7] F.S. Sayyed, M.H. Fathi, H. Edris, A. Doostmohammadi, V. Mortazavi, and A. Hanifi (2014), "Effect of forsterite nanoparticles on mechanical properties of glass ionomer cements", *Ceram. Int.*, **40(7)**, pp.10743-10748.
- [8] T. De Caluwé, et al. (2017), "Addition of bioactive glass to glass ionomer cements: Effect on the physico-chemical properties and biocompatibility", *Dent. Mater.*, **33(4)**, pp.e186-e203.
- [9] Y.W. Gu, A.U.J. Yap, P. Cheang, and K.A. Khor (2005), "Effects of incorporation of HA/ZrO₂ into glass ionomer cement (GIC)", *Biomaterials*, **26(7)**, pp.713-720.
- [10] R.A.S. Alatawi, N.H. Elsayed, and W.S. Mohamed (2018), "Influence of hydroxyapatite nanoparticles on the properties of glass ionomer cement", *J. Mater. Res. Technol.*, pp.344-349.
- [11] Đỗ Quang Minh, Trần Phương Ngọc, Huỳnh Ngọc Minh, Đoàn Mạnh Tuấn, và Phạm Trung Kiên (2013), "So sánh kết khối hydroxyapatite ép nóng và không ép nóng", *Tạp chí Hóa học*, **4AB51**, tr.22-25.
- [12] M.A.M.P. Kashani (2013), *Effect of cation substitutions in an ionomer glass composition on the setting reaction and properties of the resulting glass ionomer cements*, University of Birmingham.
- [13] T. Kokubo and H. Takadama (2006), "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?", *Biomaterials*, **27(15)**, pp.2907-2915.
- [14] E. El-Meliegy and R. van Noort (2011), *Glasses and glass ceramics for medical applications*, Springer Science & Business Media.
- [15] F. Barandehfard, et al. (2016), "The addition of synthesized hydroxyapatite and fluorapatite nanoparticles to a glass-ionomer cement for dental restoration and its effects on mechanical properties", *Ceram. Int.*, **42(15)**, pp.17866-17875.
- [16] K. Arita, et al. (2011), "Hydroxyapatite particle characteristics influence the enhancement of the mechanical and chemical properties of conventional restorative glass ionomer cement", *Dent. Mater. J.*, **30(5)**, pp.672-683.
- [17] A.D. Wilson, H.J. Prosser, and D.M. Powis (1983), "Mechanism of adhesion of polyelectrolyte cements to hydroxyapatite", *J. Dent. Res.*, **62(5)**, pp.590-592.
- [18] A. Moshaverinia, S. Ansari, M. Moshaverinia, N. Roohpour, J.A. Darr, and I. Rehman (2008), "Effects of incorporation of hydroxyapatite and fluorapatite nanobioceramics into conventional glass ionomer cements (GIC)", *Acta Biomater.*, **4(2)**, pp.432-440.
- [19] K. Okada, S. Tosaki, K. Hirota, and W.R. Hume (2001), "Surface hardness change of restorative filling materials stored in saliva", *Dent. Mater.*, **17(1)**, pp.34-39.
- [20] A. Aljabo, E.A. Abou Neel, J.C. Knowles, and A.M. Young (2016), "Development of dental composites with reactive fillers that promote precipitation of antibacterial-hydroxyapatite layers", *Mater. Sci. Eng. C*, **60**, pp.285-292.