

طیف سنجی مادون قرمز و کاربرد آن در تحقیقات دندانپزشکی

دکتر مهرسیما قوامی لاهیجی^{۱†} - دکتر مرجان بهروزبخش^۲ - دکتر طاهره سادات جعفرزاده کاشی^۳

- ۱- دستیار تخصصی گروه آموزشی زیست مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران؛ عضو مرکز تحقیقات علوم و تکنولوژی در پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران
- ۲- استادیار گروه آموزشی زیست مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران؛ عضو مرکز تحقیقات علوم و تکنولوژی در پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران
- ۳- دانشیار گروه آموزشی زیست مواد دندان، دانشکده دندانپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران؛ عضو مرکز تحقیقات علوم و تکنولوژی در پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی تهران، تهران، ایران

A review of applications of fourier transform infrared spectroscopy in dental research

Mehrsima Ghavami-Lahiji^{1†}, Marjan Behroozibakhsh², Tahere Sadat Jafarzadeh Kashi³

1[†]- Ph.D Candidate for Dental Biomaterials, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; Member of Research Center for Science and Technology in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (dr.m.ghavami@gmail.com)

2- Assistant Professor, Department of Dental Biomaterials, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; Member of Research Center for Science and Technology in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Associate Professor, Department of Dental Biomaterials, School of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran; Member of Research Center for Science and Technology in Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

FTIR spectroscopic imaging is a chemical imaging method that can be employed to a broad range of applications. This powerful technique is suitable for determining the functional groups and chemical structures of the samples. The advantage of infra-red spectroscopy is that it can be used for various modes of physical samples. The aim of the current paper was to review the recent advances and the potential uses of Fourier Transform Infra-red Spectroscopy in dentistry via exploring related literature during 1960 till 2017 in Science Direct and PubMed databases. One of the most popular applications of infrared spectroscopy is to calculate the degree of conversion in the resin based dental materials. It has also been used to investigate the chemical structure of the teeth and bones, synthesis calcium phosphate, the diagnosis of microorganisms, and pathological conditions. In this paper, we mentioned the principles of this technique and recommend this method as a simple and fast way to determine the structure of the materials and their alteration.

Key Words: Fourier transform infrared, Dentistry, Chemical structure, Functional groups

Journal of Dental Medicine-Tehran University of Medical Sciences 2018;30(4):243-253

† مؤلف مسؤول: تهران - انتهای کارگر شمالی بعد از انرژى اتمی - دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران - گروه آموزشی زیست مواد دندان
تلفن: ۸۸۰۱۵۹۵۰ نشانی الکترونیک: dr.m.ghavami@gmail.com

چکیده

طیف سنجی مادون قرمز یک روش تصویربرداری شیمیایی است که می‌تواند در طیف وسیعی از کاربردها به خدمت گرفته شود. از مزیت‌های طیف سنجی مادون قرمز می‌توان به امکان استفاده از آن برای انواع نمونه‌ها در حالت‌های مختلف فیزیکی اشاره کرد. هدف از این مقاله، مروری بر دستاوردهای اخیر و کاربردهای مختلف طیف سنجی مادون قرمز در تحقیقات دندانپزشکی بود. جستجوی مقالات مرتبط در بازه زمانی سال‌های ۱۹۶۰ تا ۲۰۱۷ در پایگاه‌های داده ScienceDirect و PubMed انجام شده است. یکی از محبوب‌ترین کاربردهای طیف سنجی مادون قرمز محاسبه درجه تبدیل در مواد دندانی با بیس رزینی است. همچنین برای بررسی ساختار شیمیایی دندان و استخوان و کلسیم فسفات‌های مصنوعی و تشخیص میکروارگانیزم‌ها و حالت‌های پاتولوژیک هم به کار گرفته شده است. در این مقاله ما به اصول این تکنیک اشاره کرده‌ایم و این روش را به عنوان روشی ساده و سریع برای تعیین ساختار مواد و تغییرات آن توصیه می‌کنیم.

کلید واژه‌ها: طیف سنجی مادون قرمز، دندانپزشکی، ساختار شیمیایی، گروه‌های عاملی

وصول: ۹۶/۰۴/۲۵ اصلاح نهایی: ۹۶/۱۱/۲۰ تأیید چاپ: ۹۶/۱۱/۲۳

مقدمه

روش انتقال (transmission) و یا روش انعکاس (reflection) به

دست آورد (۳).

در روش انتقال، آشکار ساز شدت تابش مادون قرمزی که از نمونه عبور می‌کند (تابش منتقل شده) را اندازه‌گیری می‌کند و در روش انعکاس، آشکارساز اشعه مادون قرمز منعکس شده توسط نمونه را اندازه‌گیری می‌کند. امروزه روش‌های بازتاب مختلف مانند Attenuated Total Reflectance (ATR) انعکاس تضعیف شده کلی و specular reflectance منتشر و آینه‌ای وجود دارد. برای هر روش لوازم جانبی مناسب وجود دارد. انتخاب روش آماده‌سازی نمونه به ماهیت نمونه مورد بررسی بستگی دارد. به عنوان مثال در مورد مواد جامد مقدار کوچکی از مواد با پودر برمید پتاسیم مخلوط می‌شود. این ماده در منطقه مادون قرمز میانه قرار دارد و کاملاً ترانسپارنت است. در مورد نمونه‌های مایع نیز حبره‌های مخصوصی وجود دارد که پنجره شفاف برای تابش مادون قرمز دارد (۳).

ارتعاش‌های مولکولی را می‌توان به دو دسته ارتعاش‌های کششی (Stretching) و خمشی (Bending) تقسیم بندی نمود. ارتعاشات کششی شامل یک تغییر پیوسته در فاصله بین اتم‌ها در طول محور پیوند بین دو اتم می‌باشد. در حالی که ارتعاشات خمشی با تغییری در زاویه پیوند مشخص می‌شود (شکل ۱). طیف مادون قرمز را می‌توان به سه ناحیه مادون قرمز نزدیک (Near-IR) (۱۴۰۰-۴۰۰۰) و مادون قرمز میانه (Middle-IR) (۴۰۰-۴۰۰۰) و مادون قرمز دور (Far-IR) (۲۵-۴۰۰) تقسیم نمود. پرکاربردترین منطقه طیف مادون قرمز، ناحیه طیفی ۴۰۰-۴۰۰۰ cm⁻¹ می‌باشد که در گستره مادون قرمز میانه قرار دارد. زیرا در این بازه بیشتر ترکیبات معدنی و آلی جذب دارند (۲). روش دیگری به نام FTIR-ATR

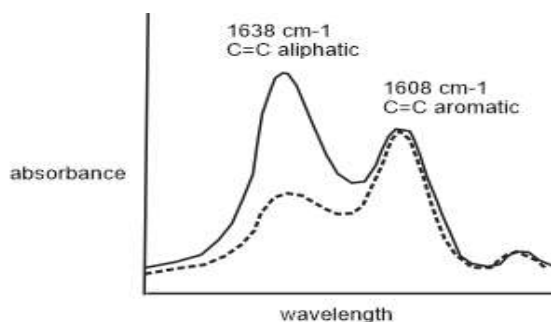
روش طیف سنجی مادون قرمز، یکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین تکنیک‌های طیف سنجی جهت شناسایی و اندازه‌گیری مولکول‌های مختلف می‌باشد. به کمک این روش می‌توان اطلاعات زیادی درباره ساختار ترکیب‌های آنالیز شده به دست آورد. بیشترین کاربرد طیف سنجی مادون قرمز در زمینه شناسایی گونه‌های مولکولی (مخصوصاً گونه‌های آلی) با استفاده از گروه‌های عاملی (Functional Groups) مربوط به آن‌ها است. به عبارت دیگر، به کمک طیف سنجی می‌توان گروه‌های عاملی مختلف موجود در ترکیبات مولکولی را شناسایی کرده و ساختار احتمالی ترکیب را حدس زد (۱). طیف سنجی مادون قرمز بر اساس اصل جذب تابش و بررسی جهش‌های ارتعاشی مولکول‌ها و یون‌های چند اتمی استوار است. این روش ارزشمند، برای تعیین ساختار و اندازه‌گیری نمونه‌های شیمیایی به کار می‌رود. FTIR بیشتر برای شناسایی ترکیبات آلی به کار می‌رود، زیرا ترکیبات آلی معمولاً پیچیده هستند و تعداد زیادی پیک‌های حداکثر و حداقل دارند که می‌توان با مقایسه آن‌ها اطلاعات زیادی به دست آورد (۲).

برای ثبت یک طیف از این دستگاه ابتدا یک طیف پس زمینه ثبت می‌شود که شامل جذب مولکول‌های موجود در هوا است. سپس نمونه در جایگاه مخصوص قرار گرفته و طیف دیگری ثبت می‌شود. این طیف شامل جذب هم مولکول‌های نمونه و هم مولکول‌های اتمسفر است. با تقسیم طیف نمونه به طیف پس زمینه تمام جذب موجود در پس زمینه حذف می‌شود به طوری که پیک‌های جذب در طیف نهایی صرفاً مربوط به نمونه است. هنگامی که یک نمونه بخشی از اشعه‌های مادون قرمز را جذب می‌کند، شدت تابش منتقل شده و منعکس شده کاهش می‌یابد. صرف نظر از منطقه طیفی که روی آن کار می‌کنیم، طیف را می‌توان با

۲-۱: نحوه محاسبه درجه تبدیل

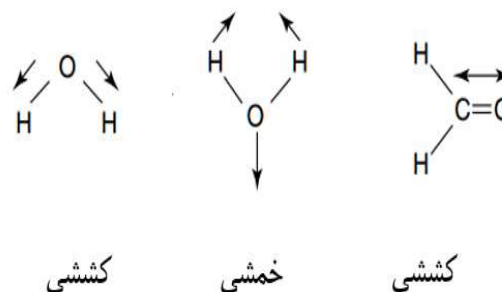
الف) کامپوزیت های با بیس متاکریلات: طی پلیمریزاسیون کامپوزیت های با بیس رزینی، واکنش پلیمریزاسیون رادیکال آزاد منومرهای دی متاکریلات ماتریکس پلیمری سبب می شود که ماده از حالت ویسکوز به حالت سفت شده (rigid) تبدیل شود. در واقع، طی پلیمریزاسیون باند دوگانه می شکند و فاصله بین مولکولی $0.4-0.3$ نانومتر بین زنجیره های پلیمری که با نیروهای جاذبه و اندروالسی کنار هم قرار گرفته بودند به باند یگانه کربن-کربن با طول 0.15 نانومتر تبدیل می شود. این امر سبب می شود که باندهای دوگانه کربنی آلیفاتیک انتهای زنجیره های متاکریلات با یکدیگر واکنش دهند و در نتیجه میزان باند دوگانه کربنی آلیفاتیک کاهش یابد (۱۰) که در شکل ۲ کاملاً مشهود است. در شکل ۳ نیز مولکول Bis-GMA که در بیشتر کامپوزیت های با بیس متاکریلات استفاده می شود و پیک های متناظر آن در در یک FTIR نشان داده شده است. برای بررسی باند دوگانه کربنی آلیفاتیک (1638 cm^{-1}) واکنش داده، به یک استاندارد داخلی نیازمندیم که مقایسه انجام بدهیم. معمولاً باند دوگانه کربنی آروماتیک (1608 cm^{-1}) برای این منظور استفاده می شود چرا که در حین پلیمریزاسیون تغییر چندانی نمی کند. در مطالعه ای که توسط Jafarzade Kashi و همکاران (۷) انجام گرفت از نسبت مساحت این دو پیک برای مقایسه درجه تبدیل سه باندینگ تجاری با یک باندینگ آزمایشگاهی استفاده شده است. درجه تبدیل (degree of conversion) از طریق فرمول زیر محاسبه می شود:

$$DC\% = 1 - \frac{(1638 \text{ cm}^{-1}/1608 \text{ cm}^{-1}) \text{ peak (area or intensity) after curing}}{(1638 \text{ cm}^{-1}/1608 \text{ cm}^{-1}) \text{ peak (area or intensity) before curing}} \times 100$$



شکل ۲- طیف FTIR قبل (خط ممتد) و بعد از پلیمریزاسیون (خط منقطع) (۳)

(Attenuated Total Reflectance) نیز وجود دارد که در آن اکسسوری مخصوصی به دستگاه FTIR وصل می شود. این روش آسان و سریع است. زیرا نیازی به آماده سازی و پودر کردن نمونه ها نیست. بنابراین نمونه اولیه تخریب نمی شود. این روش برای مایعات و ژل ها و خمیرها نیز مناسب است. شرط لازم برای ثبت مناسب طیف در این روش، تماس خوب بین سطح نمونه و کریستال ATR است (۴).



شکل ۱- ارتعاشات کششی و خمشی

کاربردها:

۱- اندازه گیری درجه تبدیل (degree of conversion) در مواد

با بیس رزینی:

تاکنون تکنیک هایی مانند طیف سنجی مادون قرمز و RAMAN (طیف سنجی رامان) و NMR (رزونانس مغناطیسی هسته ای) و DSC (کالریمتری روبشی افتراقی) و DTA (آنالیز حرارتی افتراقی) برای تعیین درجه تبدیل بکار گرفته شده اند. در بین این روش ها، طیف سنجی مادون قرمز یکی از شایع ترین روش هایی است که برای اندازه گیری درجه تبدیل در کامپوزیت ها استفاده می شود (۳).

۱-۱: انتخاب شدت و یا مساحت پیک های مربوطه

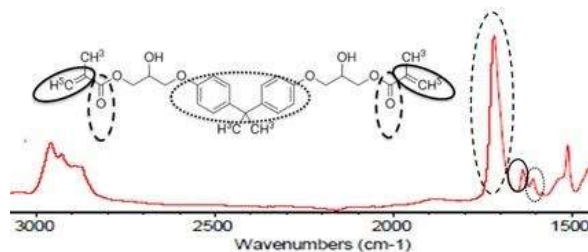
معمولاً در مقالات از نسبت باند دوگانه کربنی آلیفاتیک به آروماتیک، در حالت پلیمر به منومر استفاده می شود. در واقع میزان تغییر باند دوگانه آلیفاتیک نسبت به پیوند دوگانه آروماتیک سنجیده می شود. در بعضی مقالات برای تعیین این نسبت از مساحت پیک های مربوطه استفاده می شود (۷-۵)، در حالیکه در برخی مطالعات نیز از شدت پیک های مربوطه برای تعیین این نسبت استفاده شده است (۸،۹).

بررسی قرار گیرند. زیرا شدت این پیک در مورد چنین مخلوطی بسیار کم است. در چنین مواردی پیک 1715 cm^{-1} که منطبق با باند گروه کربونیل $\text{C}=\text{O}$ است، نتایج قابل اعتمادتری ارائه میکند. درجه تبدیل کمتری که در موارد استفاده از استاندارد داخلی 1715 cm^{-1} در مقایسه با استاندارد داخلی 1608 cm^{-1} به دست می‌آید، با cyclization اولیه که حین پلیمریزاسیون TEGDMA رخ می‌دهد قابل توضیح است. مولکول TEGDMA زنجیره کوتاه و انعطاف پذیری دارد که اجازه می‌دهد رادیکال‌های متاکریلاتی از یک انتها با متاکریلات انتهایی دیگر واکنش دهند و سبب کاهش تحرک زنجیره‌ای و باعث کند شدن copolymerization مولکول TEGDMA با Bis-GMA می‌شود. این واکنش یک پلیمر غیر هموزن (ناهمگن) تولید می‌کند که DC (درجه تبدیل) پایینی دارد که منجر به بهبود خواص مکانیکی نمی‌شود (۱۵، ۱۶).

۳-۱: حضور فیلرهای پیش پلیمریزه در کامپوزیت

بر اساس نظر Imazato و همکاران (۱۷) در سال ۲۰۰۱، مقادیر درجه تبدیل اندازه‌گیری شده در کامپوزیت‌های دندان‌ی واجد فیلرهای پیش پلیمریزه، در دو تکنیک (DTA و FTIR متفاوت است. این اختلاف به باند دو گانه کربنی واکنش نکرده ($\text{C}=\text{C}$) در ترکیب فیلری این کامپوزیت‌ها باز می‌گردد. زیرا این باند دوگانه حتی بعد از پلیمریزاسیون هم ثابت باقی می‌ماند و پیک بلندی در FTIR این کامپوزیت‌ها به واسطه وجود این باند دوگانه در فیلر مشاهده می‌شود و در نتیجه درجه تبدیل پایین‌تری محاسبه خواهد شد. درحالی که در DTA میزان درجه تبدیل فارغ از باندهای دوگانه در فیلر و با روش دیگری محاسبه می‌گردد. بنابراین می‌توان اینگونه نتیجه‌گیری کرد که صحت DTA در تعیین curing performance کامپوزیت‌های واجد فیلرهای پیش پلیمریزه بیشتر از FTIR است.

۳-۳-۱: تعیین باندهای دوگانه باقیمانده و نه مونومرهای باقیمانده درجه تبدیل پایین یکی از دلایل نشست و آزاد سازی مواد از کامپوزیت‌های پلیمریزه شده است. FTIR روش شناخته شده‌ای برای تعیین باندهای دوگانه باقیمانده است. تأکید می‌شود که میزان باندهای دوگانه باقیمانده به طور مستقیم با مقدار مونومرهای باقیمانده مرتبط



شکل ۳- مولکول BisGMA و پیک‌های مهم متناظر آن در طیف FTIR، پیک مشاهده شده در طول موج 1638 cm^{-1} که با خط ممتد نشان داده شده پس از پلیمریزاسیون کاهش می‌یابد.

(ب) کامپوزیت‌های با بیس سایلوران: درجه تبدیل در مورد کامپوزیت‌های با بیس سایلوران، با ارتعاشات کششی (stretching) مربوط به حلقه اپوکسی $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ در طول موج 883 cm^{-1} و باند رفرنس CH با طول موج 1257 cm^{-1} سنجیده می‌شود (۱۱). هرچند که از طول موج 1038 cm^{-1} برای باند CH که مربوط به سیلوکسان است نیز نام برده شده است (۹).

(ج) مواد دیگر با بیس رزینی: اندازه‌گیری درجه تبدیل در گلاس آینومرهای مدیفاید شده با رزین نیز طبق فرمولی مشابه فرمول بالا انجام شده است. در این مطالعات از پیک $\text{C}=\text{O}$ قوی با طول موج 1712 cm^{-1} بعنوان استاندارد داخلی (پیک رفرنس) استفاده شده است (۱۳-۱۲).

$$DC\% = 1 - \frac{(1638 \text{ cm}^{-1}/1712 \text{ cm}^{-1}) \text{ peak (area or intensity) after curing}}{(1638 \text{ cm}^{-1}/1712 \text{ cm}^{-1}) \text{ peak (area or intensity) before curing}} \times 100$$

۳-۱-۱: محدودیت‌ها و کنترل اندیکاسیون‌ها در محاسبه درجه تبدیل:

۳-۱-۱: مخلوط‌های غنی از TEGDMA

با وجود اینکه بیشتر مقالاتی که درجه تبدیل را با تکنیک FTIR اندازه‌گیری کرده‌اند از پیوند $\text{C}=\text{C}$ آروماتیک 1608 cm^{-1} به عنوان استاندارد داخلی استفاده کرده‌اند، این نکته را باید مد نظر داشته باشیم که در کامپوزیت‌هایی که از ترکیب مونومرهای فاقد زنجیره آروماتیک تشکیل شده‌اند، انتخاب این پیوند به عنوان استاندارد داخلی انتخاب مناسبی نمی‌باشد (۱۵). به صورت ایده‌آل، درجه تبدیل مخلوط‌های غنی از TEGDMA (با مقدار وزنی بیش از ۸۰٪ از TEGDMA) بهتر است با پیک استاندارد داخلی دیگری به غیر از 1608 cm^{-1} مورد

منومرهای واکنش نداده اتفاق می‌افتد. این حالت در مطالعات مربوط به توکسیکولوژی قابل بررسی است زیرا این منومرها و ترکیبات دیگر از مواد متاکریلاتی پلیمریزه شده نشت می‌کنند و ممکن است مشکلاتی در خصوص زیست سازگاری این مواد ایجاد کنند (۱۸).

۲- بررسی ساختار شیمیایی هیدروکسی آپاتیت

طیف سنجی مادون قرمز به عنوان روش معمولی برای تعیین حضور گروه‌های عاملی (۱۹) و به طور گسترده‌ای در بررسی آپاتیت‌های بیولوژیکی (دندان و استخوان) و مصنوعی و فسفات کلسیم‌های مرتبط استفاده می‌شود. (جدول ۱).

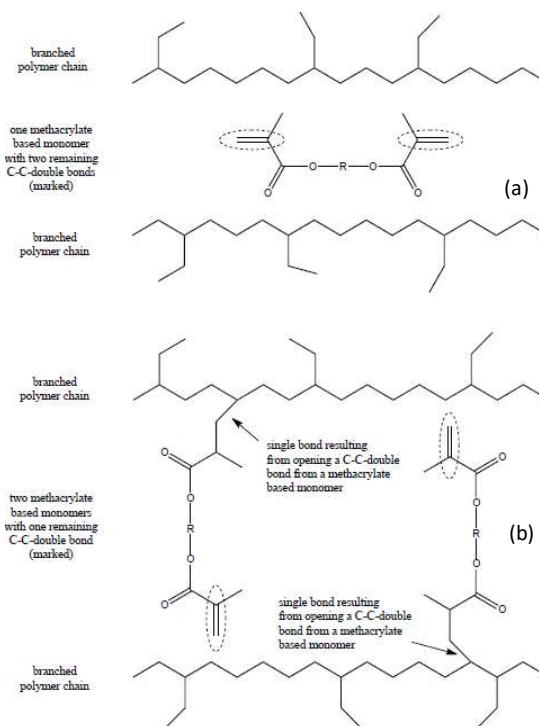
جدول ۱- پیک‌های متناظر با گروه‌های عاملی (۱۹)

| Characteristic bands | Absorption peaks (cm ⁻¹) |
|---|--------------------------------------|
| CO ₃ ⁻² (ν ₂) | ۹۶۰-۷۸۰ |
| CO ₃ ⁻² | ۱۴۱۵ |
| CO ₃ ⁻² (ν ₃) | ۱۵۵۰-۱۴۵۰ |
| Amide I | ۱۶۶۰ |
| Amide II | ۱۵۵۰ |
| Amide III | ۱۲۴۰ |
| PO ₄ ⁻³ (ν ₁) | ۹۶۰ |
| PO ₄ ⁻³ (ν ₃) | ۱۰۲۵ |
| PO ₄ ⁻³ (ν ₁) | ۶۰۴ |
| PO ₄ ⁻³ (ν ₁) | ۵۶۴ |

۲-۱: اثر سن روی ساختار شیمیایی دندان

هیدروکسی آپاتیت (HAP) یکی از اجزای اصلی دندان‌ها (۹۶٪ وزنی در مینای دندان) و استخوان‌ها (۷۰٪ وزنی) محسوب می‌شود و جایگزینی یون‌ها هم در آن اتفاق می‌افتد که عمدتاً کربنات می‌باشد. لذا ساختار و خصوصیات هیدروکسی آپاتیت کربناته توسط محققین مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است. مینای دندان‌های شیری و دائمی از جهت محتوای کربنات جایگزین شده: نوع A (کربنات بجای هیدروکسیل) و نوع B (کربنات بجای فسفات) توسط طیف سنجی مادون قرمز به صورت کمی بررسی شده است. Leventouri و همکاران (۲۰) در سال ۲۰۰۹ ساختار کریستالی آپاتیت دندانی را به

نیستند. درجه تبدیل کامپوزیت‌ها معمولاً در محدوده ۶۵-۵۵ درصد قرار دارد. این بدین معنا نیست که ۳۵-۴۵ درصد منومرها واکنش نداده باقی مانده‌اند. بلکه بدین معناست که ۳۵-۴۵ درصد باندهای دوگانه کربن واکنش نداده باقی مانده‌اند. در واقع به کمک FTIR قادریم که مقدار باند دوگانه C=C واکنش نداده را تشخیص دهیم. در مورد منومرهای با بیس متاکریلات دو حالت زیر با FTIR قابل شناسایی نیستند: ۱- تنها یکی از باندهای دوگانه C=C در مولکول دی متاکریلات در حین پلیمریزاسیون در تشکیل پیوند شرکت کند و دیگری واکنش نداده باقی



شکل ۴- FTIR در هر دو مورد، مقدار باندهای دوگانه واکنش نداده را یکسان تشخیص می‌دهد در حالی که در (a) هیچ یک در واکنش شرکت نکرده اند درحالیکه در (b) یکی از باندها در واکنش شرکت کرده‌اند. تصویر مدیفاید شده بر اساس Durner و همکاران:

(۱۸) Dental Materials. 2012

بماند. ۲- هیچکدام از باندهای دوگانه C=C در حین پلیمریزاسیون در تشکیل پیوند شرکت نکنند. همان طور که در شکل شماتیک ۴ نشان داده شده است، در هر دو مورد مقدار باندهای دوگانه واکنش نداده یکسان است در حالی که عواقب ناشی از آن‌ها یکسان نبوده و در مورد دوم نشت

شد. در این مطالعه تغییرات شیمیایی در قسمت معدنی و آلی گزارش شد که عمدتاً در قسمت آلی اتفاق افتاده بود.

مطالعات نشان داده‌اند که متعاقب تابش لیزر، محتوای آب و یون بی‌کربنات دندان کاهش می‌یابد. از آنجا که پیوند کربنات نقش مهمی در پیشگیری از پوسیدگی ایفا می‌کند، این موضوع حائز اهمیت ویژه‌ای به شمار می‌رود. Corre^a-Afonso و همکاران (۲۲) در سال ۲۰۱۲ تغییرات شیمیایی مینای دندان را متعاقب تابش لیزر با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز بررسی کردند. جذب کربنات در cm^{-1} ۱۶۰۰-۱۲۹۱ و جذب آب در cm^{-1} ۳۷۹۳-۲۶۵۲ در هر نمونه از مینای دندان قبل و پس از تابش لیزر CO_2 اندازه‌گیری شد. آن‌ها بعد از تابش لیزر کاهش معنی‌داری را در محتوای آب مشاهده کردند که با رهیدراتاسیون دندان درباره افزایش می‌یافت. نسبت کربنات به فسفات بعد از تابش لیزر نیز به واسطه کاهش کربنات کاهش می‌یافت.

۲-۳: اثر سفید کردن با مواد بلیچینگ روی ساختار شیمیایی دندان امروزه مواد بلیچینگ خانگی و انواعی که در مطب مورد استفاده قرار می‌گیرند، محبوبیت و جایگاه ویژه‌ای در دندانپزشکی یافته‌اند و تقاضا برای درمان‌های زیبایی و درمان محافظه کارانه دندان‌های تغییر رنگ یافته، افزایش چشمگیری داشته است. هرچند که اکثر مطالعات انجام شده در این مورد به اثرات جانبی درمان بلیچینگ اشاره نکرده‌اند (۲۳،۲۴)، نتایج متفاوتی نیز گزارش شده است. از جمله می‌توان به کاهش در محتوای کلسیم و همچنین کاهش نسبت کلسیم به فسفر دندان متعاقب استفاده از هیدروژن پراکساید ۳۰٪ (۲۵،۲۶) و افزایش بی‌نظمی سطح مینا و کاهش هاردنس (سختی) (۲۷) اشاره کرد. همچنین مطالعات نشان دادند که هر دو فاز آلی و غیر آلی، نقش مهمی در تغییرات ساختاری در دندان پس از سفید کردن ایفا می‌کنند (۲۸). بررسی مینای دندان که ساختاری بسیار مینرالیزه است امری دشوار است ولی FTIR این امکان را فراهم می‌آورد. Gokduman در ۲۰۰۵ (۲۹) گزارش کرد که درمان با پراکسید هیدروژن باعث تغییرات اساسی در ساختار مینای دندان نسبت به کاربامید پراکساید می‌شود. علاوه بر این، اجزای آلی دندان پس از درمان بلیچینگ تغییر می‌کند. در بافت مینای دندان پس از درمان غلظت بالای عامل سفیدکننده، فرکانس باندهای آمیدی به طور قابل توجهی تغییر می‌کند. با این حال، مشاهده

عنوان تابعی از سن بررسی کردند. آن‌ها دندان‌های بیماران ۵-۸۶ ساله را مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که ثابت a-lattice که در ارتباط با محتوای کربناتی در آپاتیت کربناته است با افزایش سن کاهش می‌یابد، در حالی که c-lattice به طور معنی‌داری تغییر نخواهد کرد. اندازه‌گیری Tg نشان داد که با افزایش سن افزایشی در محتوای کربنات اتفاق می‌افتد. طیف سنجی مادون قرمز نشان می‌دهد که جابجایی نوع A و B اتفاق می‌افتد ولی نوع B بیشتر اتفاق می‌افتد. افزایش محتوای کربنات به عنوان تابعی از سن را می‌توان از نسبت v_2CO_3 به v_1PO_4 در طیف مادون قرمز نتیجه گرفت. طیف FTIR از آپاتیت دندان از نمونه بیماران ۵-۸۶ ساله در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است. Heđzelek و همکاران (۲۱) در مطالعه‌ای مشابه نیز شدت باند جذب CO_3^{2-} در مینای دندان، عاج و جرم (calculus) را بررسی کردند. شدت این باند در عاج بر خلاف مینا و جرم دندان بالاترین میزان بود. که به علت وجود ۳۰٪ اجزای آلی و آبی در عاج است. بنابراین باند جذبی ناشی از مواد آلی در عاج قوی‌تر از مینا و عاج دیده شد.

۲-۲: اثر لیزر روی ساختار شیمیایی دندان

مطالعات فراوانی تأیید کرده‌اند که تابش لیزر روی مینای دست نخورده سبب افزایش مقاومت به اسید می‌شود. امروزه مطالعات در مورد خصوصیات طیف سنجی بافت‌های سخت دندان روی به افزایش است. روش طیف سنجی اطلاعاتی در مورد خصوصیات شیمیایی نمونه به دست می‌دهد و محتوای معدنی و آلی بافت دندان قابل بررسی است. علاوه بر این، از این طریق اندازه‌گیری کمی بافت‌های مینرالیزه و بررسی خصوصیات فیزیکی برای بررسی جنبه‌های کیفی قابل حصول است. طیف سنجی مادون قرمز نشان داده است که محتوای معدنی در مینای تحت تابش لیزر قرار گرفته، به نوع دیگری از هیدروکسی آپاتیت مدیفاً می‌شود. افزایش دمایی که بخاطر تابش لیزر اتفاق می‌افتد سبب تغییراتی در فازها می‌شود که یکی از این تغییرات تبدیل HAP (هیدروکسی آپاتیت) به β -TCP (بتا-تری کلسیم فسفات) است (۱۹). در مطالعه‌ای که توسط Antunes و همکاران (۱۹) در سال ۲۰۰۶ انجام شد، لیزر Nd:YAG با عرض پالسی معادل ۶ نانوثانیه و کمتر (پالس کوتاه) مورد استفاده قرار گرفت. باندهای آمیدی از ماتریکس کلاژنی و باندهای فسفات از بخش معدنی و باندهای کربنات بررسی

استفاده کردند. طیف سنجی نشان داد که فازی شیشه a-hopeite ($a\text{-Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) در غلظت‌های بالای ۱۰۷ ppm روی سطح مینا شکل گرفته است.

در نمونه مینایی کنترل، باند وسیعی در 1640 cm^{-1} مربوط به آب جذب شده و باند پهنی 3400 cm^{-1} مربوط به OH کششی در آپاتیت دیده می‌شود. با افزایش یون روی در محیط، باند 1640 cm^{-1} شدت بیشتری می‌یابد، در حالی که باند 3400 cm^{-1} به طول موج‌های پایین‌تر شیفت پیدا می‌کند. همچنین در طول موجهای 1068 cm^{-1} و 1148 cm^{-1} شانه‌ای در طیف FTIR مشاهده می‌شود که مربوط به جذب فسفات است. با افزایش یون روی طیف حاصله به فاز هوپیت شباهت بیشتری پیدا می‌کند. فاز غیر محلول هوپیت از آزاد سازی بیشتر یون فسفات از ساختار آپاتیت جلوگیری می‌کند. به این ترتیب نقش مثبت روی در خمیر دندان‌ها و عوامل درمانی در کاهش mineral loss مشخص می‌شود.

۲-۵: اثر برخی بیماری‌ها بر ساختار شیمیایی دندان:

Drita و همکاران (۳۳) در سال ۲۰۱۵ ساختار مینای کودکان سندرم داون را با طیف سنجی مادون قرمز و میکروسکپ الکترونی و آنالیز EDX بررسی کردند.

پیک قوی گروه Amide II در مینای دندان بیماران سندرم داون دیده شد که تأیید می‌کند ترکیب آلی بستر بیشتر شامل پروتئین کلاژن است. غلظت بالای ترکیب آلی بخاطر درجه پایین‌تر کلسیفیکاسیون در مینای دندان‌های کودکان سندرم داون دیده می‌شود. بر عکس، جذب کم باند آمیدی در مینای دندان کودکان سالم، ترکیب پایین‌تر ترکیبات آلی در این افراد را تأیید کرد. در سندرم داون بلورهای هیدروکسی آپاتیت از کریستال‌های مینای دندان سالم کوچک‌تر بودند، در حالی که ساختار مولکولی از حالت بیولوژیکی به آمورف یا ماده معدنی تغییر می‌یافت. به علاوه تفاوت معنی‌داری در مورفولوژی و ترکیب عنصری جرم بالای لته‌ای در بیماران مبتلا به سندرم داون و افراد سالم دیده شد.

۲-۶: بررسی کلسیم فسفات‌های مصنوعی

کلسیم فسفات‌ها جز عمده مواد معدنی استخوان و دندان و دیگر

شده است که این تغییرات ناشی از دو روش مختلف پلیچینگ، اثر ناچیزی در بافت عاج دارند. اثر غلظت‌های مختلف هیدروژن پراکساید (۳۰-۱۰ در صد) تو سط Bistey و همکاران (۲۸) در سال ۲۰۰۷ روی ساختار مینا بررسی شد. باندهای فسفات v1 و v2 بررسی شد و نشان داد که شدت تغییرات مینا متناسب با زمان و غلظت هیدروژن پراکساید است. یک هفته پس از درمان نیز برگشت خود به خودی در ساختار مینای دندان دیده نشد. طیف سنجی مادون قرمز برای مانیتور کردن تغییرات ساختاری و فرکانس و شدت باندها (پیوندها)ی مهم آمیدی، فسفات و کربنات در گروه‌های کنترل و تست استفاده می‌شود.

نتایج مطالعه Severcan و همکاران (۳۰) در سال ۲۰۰۸ نشان داد که هر دو روش پلیچینگ خانگی و office، اثرات ناچیزی بر ساختمان عاج دندان داشتند. پلیچینگ در مطب علاوه بر دمینرالیزاسیون بافت مینای دندان، کاهش در غلظت پلی ساکارید و پروتئین و نسبت مواد معدنی به پروتئین و استحکام باند هیدروژنی اطراف گروه‌های NH را به دنبال دارد در صورتی که در مورد روش پلیچینگ خانگی تغییرات معنی‌داری دیده نشد.

۲-۴: اثر دمینرالیزاسیون روی ساختار شیمیایی دندان

در مطالعه‌ای که توسط wang و همکاران (۳۱) در سال ۲۰۱۱ انجام شد تغییرات ساختار معدنی مینای تحت اسید قرار گرفته با FTIR-ATR بررسی شد. آسیب نسبی مینا پس از اکسپوزر به اسید سیتریک اتفاق می‌افتد. زیرا پیوندهای P-O-Ca در آپاتیت شکسته یا شل می‌شود. پس از برخورد طولانی مدت با اسید، تمام سطح درگیر می‌شود و بعد از قرار گیری در بزاق به طور نسبی بهبود می‌یابد. محدوده طیفی $900\text{--}1200\text{ cm}^{-1}$ که مربوط به باند کششی تتراهدرای PO_4 است، به شدت تحت تأثیر اسید قرار می‌گیرد و در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد که کاربرد بزاق مصنوعی به مدت چندین ساعت منجر به بازیابی نسبی آپاتیت eroded می‌شود. هرچند نمی‌تواند سبب توقف شکست پیوند P-O-Ca در مینایی که چندین بار در معرض اسید سیتریک قرار گرفته است شود.

Mohammed و همکاران (۳۲) در سال ۲۰۱۴ از تکنیک ATR-FTIR برای مطالعه اطلاعات ساختاری درباره تغییرات فیزیکی و شیمیایی که در طی دمینرالیزاسیون در حضور یون روی رخ می‌دهد

هرچند Termine و Posner در سال ۱۹۶۶ (۳۷) تنها دو شاخه شدن پیک فسفات در طول موج 600 cm^{-1} را برای برر سی ایندکس کریستالینیتی استفاده کردند. در این روش خطی بین قاعده پیک‌های 500 cm^{-1} و 700 cm^{-1} کشیده می‌شود تا منطقه جذب یون فسفات مشخص شود. ایندکس کریستالینیتی از این طریق قابل محاسبه است. بر اساس این روش، همانطور که در شکل ۵ نشان داده شده است، ارتفاع دو پیک فسفات نسبت به خط رسم شده محاسبه می‌شود. این دو عدد با هم جمع شده و به ارتفاع فرورفتگی بین این دو پیک تقسیم می‌شود (۳۵،۳۶).

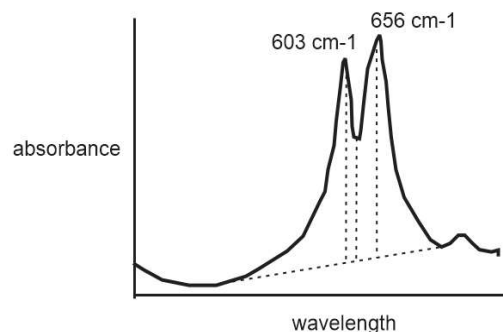
۳- تشخیص موارد پاتولوژیک

با توجه به خصوصیات شیمیایی فرآیندهای پاتولوژیک، روش طیف سنجی مادون قرمز رویکردی در حال ظهور برای تشخیص بیماریهای دهان و دندان نیز محسوب می‌شود. تغییراتی در طیف جذبی سلول‌های کشت داده شده دهان و دندان در حالت سالم، پیش سرطانی و سرطان متاستاتیک مشاهده شده است.

Fukuyama و همکاران (۳۸) در سال ۱۹۹۹ تفاوت‌های طیف FTIR (بافت کارسینوم سلول سنگفرشی دهانی و اپیتلیوم طبیعی لته را بررسی کردند. نیمی از نمونه‌های بافتی با FTIR و نیمه دیگر از نظر بافت‌شناسی بررسی شد. مشاهده شد که شانه‌ای که در طول موج در 1368 cm^{-1} دیده می‌شد در کارسینوم سلول سنگفرشی ناپدید می‌شد و پیک‌هایی که در طول موج $1083-1246 \text{ cm}^{-1}$ دیده می‌شوند، شیفت پیدا می‌کنند. علاوه بر این، Naurecka و همکاران (۳۹) در سال ۲۰۱۷ گزارش کرد علاوه بر تغییر در شدت باند فسفات، چندین تفاوت دیگر بین بافت‌های طبیعی و سرطانی وجود دارد. طیف FTIR این طول موج‌ها به طور قابل توجهی پایین تر از بافت نرمال است. تفاوت در بافت طبیعی، لکوپلاکیا و بافت سرطانی اغلب در طول موج 1030 cm^{-1} در بافت غنی از گلیکوژن یافت می‌شود که به ارتعاشات CH_2OH اختصاص داده می‌شود.

Chiu و همکاران (۴۰) در سال ۲۰۱۳، روش نوین تصویربرداری FTIR مبتنی بر جذب فیزیکی موم (wax-physisorption-based) را برای تشخیص حالت پیش سرطانی و سرطانی با موفقیت به کار گرفتند. در این روش اسلایدهای سلولی با غوطه‌وری در محلول زایلن

بافت‌های کلسیفیه فیزیولوژیک هستند. مطالعات بر روی آنالوگ‌های مصنوعی HA بسیاری از جزئیات ساختاری آن‌ها را نشان داده است. ساختار آنالوگ‌های هیدروکسی آپاتیت با روش‌های شیمیایی و فیزیکی مختلفی مورد بررسی قرار گرفته است. پراش پرتو ایکس (x-ray diffraction)، تکنیک انتخابی برای بررسی سایز کریستال‌ها است. در مقابل، اطلاعات ساختاری مربوط به مواد معدنی آپاتیت در حالت ماکروسکوپی و میکروسکوپی نمونه‌ها را می‌توان به آسانی از طیف سنجی IR دست آورد. Pleshko و همکاران (۳۴) در سال ۱۹۹۱ با استفاده از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل شدن کلسیم فسفات آمورف (ACP) را با گذشت زمان در محلول به حالت کریستالینه بررسی کرد. با گذشت زمان و افزایش کریستالینیتی، منطقه فسفات ν_1, ν_3 ($900-1200 \text{ cm}^{-1}$) در کلسیم فسفات آمورف از شکل یک پیک پهن به پیک‌های باریک تر تغییر می‌کرد. تغییر در این منطقه با تغییر سایز یونیت سل (سلول و حد) همراه بود. همچنین منطقه ν_4 ($500-700 \text{ cm}^{-1}$) از حالت یک پیک پهن به صورت دو شاخه در آمد و پیک‌های مشخصی دیده شد. در یک طیف FTIR، جابجایی (transform) از فرم هیدروکسی آپاتیتی که ساختار کریستالی ضعیف داشتند نسبت به HAP که به خوبی کریستالیزه شده شکاف تدریجی در باند فسفات (تقریباً در 600 cm^{-1} و $\nu_3, 1100 \text{ cm}^{-1}$) را نشان می‌دهد (۳۵).



شکل ۵- بخشی از طیف FTIR که برای محاسبه ایندکس کریستالینیتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. تصویر بر اساس Weiner و Bar-Yosef O کشیده شده است. Journal of Archaeological Science. 1990 (۳۶).

توسط مصرف دخانیات تشدید می‌شوند. در مطالعه‌ای که توسط Simsek Ozek و همکاران (۴۵) انجام شد، توانایی FTIR در افتراق بین بیماری پرپودنتیت مزمن و پرپودنتیت مهاجم با بررسی نمونه‌های بزاق بیماران مورد بررسی قرار گرفته است. طبق نتایج این مطالعه تغییرات معنی‌داری در میزان لیپید، اسید آمینه، اسید لاکتیک و محتوای اسید نوکلئیک در بیماران غیر سیگاری در گروه پرپودنتیت مزمن و پرپودنتیت مهاجم دیده شد. هرچند که بطرز معنی‌داری محتوای لیپید، اسید آمینه، اسید لاکتیک و محتوای اسید نوکلئیک کمتری در بیماران پرپودنتیت سیگاری نسبت به غیر سیگاری دیده می‌شد.

کاهش این مولکول‌ها ممکن است با افزایش گونه‌های اکسیژن و اکشن پذیر در بزاق این بیماران مرتبط باشد. این افزایش اکسیداسیون پروتئین و پروتئولیز در افراد سیگاری در مطالعات قبلی نیز اثبات شده بود (۴۶). علاوه بر تغییر در موارد ذکر شده، سطح تیوسیانات بزاقی نیز در هر دو گروه پرپودنتیت مزمن و مهاجم سیگاری نسبت به انواع غیر سیگاری افزایش یافته بود (۴۵). این یافته با نتایج مطالعه Kalburgi و همکاران (۴۷) همخوانی داشت که نشان داده بود سطح تیوسیانات بزاقی در بیماران سیگاری با پرپودنتیت مزمن افزایش یافته بود.

نتیجه‌گیری

در این مقاله مروری نمونه‌هایی از کاربردهای طیف سنجی مادون قرمز در تحقیقات دندانپزشکی مورد بررسی قرار گرفت. امید که استفاده از این مقاله راه را برای تحقیقات بیشتر در این مسیر بگشاید. دورنمای استفاده از روش آسان، دقیق و منطقی طیف سنجی مادون قرمز بسیار روشن بوده و نتایج امیدوارکننده‌ای که در مطالعات حاصل شده پژوهشگران را تشویق می‌کند که مطالعات بیشتری را با تمرکز بر کاربرد این روش در تحقیقات دندانپزشکی انجام دهند. پیش بینی نقاط عطف دیگری در یافته‌های دندانپزشکی به کمک این روش دور از انتظار نخواهد بود.

حاوی موم‌های پارافین و موم زنبور عسل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. میزان موم باقی مانده بعد از شستشو و زدودن موم‌ها از نمونه‌های سلولی اساس کار این روش است. از این مقدار به عنوان راهنمایی برای تعیین قدرت جذب فیزیکی که در حین ترانسفورمیشن بدخیمی (malignant transformation) تغییر می‌کند، استفاده می‌شود. نتایج حاصل از مطالعه، استفاده از این روش را برای غربالگری ضایعات پیش سرطانی دهان و بررسی تغییرات شیمیایی سرطان مناسب دانسته است.

در سال ۲۰۱۵ نیز Banerjee و همکاران (۴۱) با روشی مشابه بافت سالم را با لکوپلاکیای دهانی و کارسینوم سلول سنگفرشی مقایسه کرده است. این روش همچنین محتوای گلیکوژن و کراتین تغییر یافته را در برش‌های هیستوپاتولوژیک مشخص می‌کند که در تشخیص افتراقی بین لکوپلاکیای دهانی و کارسینوم سلول سنگفرشی مفید است.

۴- کاربردهای دیگر

طیف سنجی FTIR علاوه بر تشخیص حالات پاتولوژیک، برای بررسی واکنش گیرنده‌های سلولی با مواد ناقل شیمیایی و داروها و هورمون‌ها و همچنین تشخیص میکروارگانیزم‌ها نیز مورد استفاده قرار گرفته است (۴۲،۴۳).

Taha و همکاران (۴۴) در سال ۲۰۱۳، ۱۲۸ نمونه قارچی از دهان انسان‌های مبتلا به کاندیدیازیس، گاوهای مبتلا، مرغ مبتلا به میکوزیس و خاک آلوده به مدفوع کبوتر را از نظر فنوتیپی شناسایی کردند. FTIR در این مطالعه به عنوان ابزاری ساده و سریع و ارزان و حساس برای تشخیص و همچنین تمایز بین گونه‌های قارچ استفاده شده است.

بدون داده‌های کلینیکی، افتراق دادن بین پرپودنتیت مزمن و پرپودنتیت مهاجم در بعضی موارد مشکل است. هر دوی این بیماری‌ها

منابع:

- 1- Infrared Spectroscopy: Comprehensive training system of Nanotechnology; Available from: <http://edu.nano.ir/paper/390>.
- 2- Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Iran Nanotechnology Laboratory Network; 2006 [Available from: <http://nanolab.ir/index.php?actn=pv&lang=1&id=19>].
- 3- Moraes LGP, Rocha RSF, Menegazzo LM, Araújo EBd, Yukimito K, Moraes JCS. Infrared spectroscopy: a tool for

- determination of the degree of conversion in dental composites. *J Appl Oral Sci.* 2008;16(2):145-9.
- 4- Kazarian SG, Chan KA. ATR-FTIR spectroscopic imaging: recent advances and applications to biological systems. *Analyst.* 2013;138(7):1940-51.
- 5- Shadman N, Atai M, Ghavam M, Kermanshah H, Farzin Ebrahimi S. Parameters affecting degree of conversion of dual-

- cure resin cements in the root canal: FTIR analysis. *J Canad Dent Assoc.* 2012;78(3):163.
- 6- Jafarzadeh Kashi TS, Erfan M, Fazel Najafabadi A, Fatemi SM, Behroozibakhsh M, Hali H, et al. Degree of conversion of micro-hybrid, nano-hybrid andOrmocer composites using LED and QTH light-curing units. *J Dent Med.* 2012;25(2):85-90.
- 7- Jafarzade Kashi TS, Erfan M. Measuring the degree of conversion of scotchBond MP plus adhesive, Single Bond, Prompt L-Pop and experimental bonding resin. *J Dent Med.* 2005;18(1):21-9.
- 8- Czasch P, Ilie N. In vitro comparison of mechanical properties and degree of cure of bulk fill composites. *Clin Oral Investig.* 2013;17(1):227-35.
- 9- de Azevedo Miranda D PN, Bovi Ambrosano GM, Baggio Aguiar FH, Leite Lima DAN. Effect of light curing tip distance and immersion media on the degree of conversion, sorption and solubility of methacrylate and silorane-based composites. *JSM Dent.* 2013;1(2):1-7.
- 10- Goncalves L, Jaime Filho D, Guimarães JG, Poskus LT, Silva EM. Solubility, salivary sorption and degree of conversion of dimethacrylate-based polymeric matrixes. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;85(2):320-5.
- 11- Son S, Roh H-M, Hur B, Kwon Y-H, Park J-K. The effect of resin thickness on polymerization characteristics of silorane-based composite resin. *Restor dent endod.* 2014;39(4):310-8.
- 12- dos Santos RL, Pithon MM, Martins FO, Romanos MTV, Ruellas ACO. Evaluation of cytotoxicity and degree of conversion of glass ionomer cements reinforced with resin. *Eur J Orthod.* 2011;34(3):362-6.
- 13- Calixto LR, Tonetto MR, Pinto SCS, Barros ED, Borges AH, Lima FVP, et al. Degree of conversion and hardness of two different systems of the Vitrebond™ glass ionomer cement light cured with blue LED. *J Contemp Dent Pract.* 2013:244-9.
- 14- Dursun E, Nguyen J-F, Tang M-L, Attal J-P, Sadoun M. HEMA release and degree of conversion from a resin-modified glass ionomer cement after various delays of light activation. *Dent Mater.* 2016;32(5):640-5.
- 15- Collares FM, Portella FF, Leitune VCB, Samuel SMW. Discrepancies in degree of conversion measurements by FTIR. *Braz oral res.* 2014;28(1):9-15.
- 16- Elliott J, Lovell L, Bowman C. Primary cyclization in the polymerization of bis-GMA and TEGDMA: a modeling approach to understanding the cure of dental resins. *Dent Mater.* 2001;17(3):221-9.
- 17- Imazato S, McCabe J, Tarumi H, Ehara A, Ebisu S. Degree of conversion of composites measured by DTA and FTIR. *Dent Mater.* 2001;17(2):178-83.
- 18- Durner J, Obermaier J, Draenert M, Ilie N. Correlation of the degree of conversion with the amount of elutable substances in nano-hybrid dental composites. *Dent Mater.* 2012;28(11):1146-53.
- 19- Antunes A, de Rossi W, Zzell D. Spectroscopic alterations on enamel and dentin after nanosecond Nd: YAG laser irradiation. *Spectrochimica Acta Part A: Mol Biomol Spectrosc.* 2006;64(5):1142-6.
- 20- Leventouri T, Antonakos A, Kyriacou A, Venturelli R, Liarokapis E, Perdikatsis V. Crystal structure studies of human dental apatite as a function of age. *Int j biomater.* 2009;2009:698547.
- 21- Hędzielek W, Marcinkowska A, Domka L, Wachowiak R. Infrared spectroscopic identification of chosen dental materials and natural teeth. *Acta Physica Polonica A.* 2008;2(114):471-84.
- 22- Corrêa-Afonso AM, Bachmann L, de Almeida CG, Corona SAM, Borsatto MC. FTIR and SEM analysis of CO₂ laser irradiated human enamel. *Arch Oral Biol.* 2012;57(9):1153-8.
- 23- Tong L, Pang M, Mok N, King N, Wei S. The effects of etching, micro-abrasion, and bleaching on surface enamel. *J Dent Res.* 1993;72(1):67-71.
- 24- Ernst C-P, Marroquin BB, Willershausen-Zönnchen B. Effects of hydrogen peroxide-containing bleaching agents on the morphology of human enamel. *Quintessence Int.* 1996;27(1):53-6.
- 25- Rotstein I, Dankner E, Goldman A, Heling I, Stabholz A, Zalkind M. Histochemical analysis of dental hard tissues following bleaching. *J Endod.* 1996;22(1):23-6.
- 26- McCracken MS, Haywood VB. Demineralization effects of 10 percent carbamide peroxide. *J Dent.* 1996;24(6):395-8.
- 27- Attin T, Kielbassa A, Schwanenberg M, Hellwig E. Effect of fluoride treatment on remineralization of bleached enamel. *J Oral Rehabil.* 1997;24(4):282-6.
- 28- Bistey T, Nagy IP, Simó A, Hegedűs C. In vitro FT-IR study of the effects of hydrogen peroxide on superficial tooth enamel. *J Dent.* 2007;35(4):325-30.
- 29- Gökdoğan K. Effects of Hydrogen Peroxide Bleaching on Human Dentin and Enamel Microstructure and Function: Middle East Technical University; 2005.
- 30- Severcan F, Gökdoğan K, Dogan A, Bolay S, Gokalp S. Effects of in-office and at-home bleaching on human enamel and dentin: an in vitro application of Fourier transform infrared study. *Appl spectrosc.* 2008;62(11):1274-9.
- 31- Wang X, Mihailova B, Klocke A, Heidrich S, Bismayer U. Effect of artificial saliva on the apatite structure of eroded enamel. *Int J Spectrosc.* 2011;1-10.
- 32- Mohammed N, Mneimne M, Hill R, Al-Jawad M, Lynch R, Anderson P. Physical chemical effects of zinc on in vitro enamel demineralization. *J Dent.* 2014;42(9):1096-104.
- 33- Dritsa V, Sgouros D, Pissaridi K, Bochlogyros P, Kyriakidou M, Mamarelis V. Enamel Structure on Children with Down Syndrome-An FT-IR Spectroscopic Study: InTech;2015. 101-13p.
- 34- Pleshko N, Boskey A, Mendelsohn R. Novel infrared spectroscopic method for the determination of crystallinity of hydroxyapatite minerals. *Biophys J.* 1991;60(4):786-93.
- 35- Reyes-Gasga J, Martínez-Piñero EL, Rodríguez-Álvarez G, Tiznado-Orozco GE, García-García R, Brès EF. XRD and FTIR crystallinity indices in sound human tooth enamel and synthetic hydroxyapatite. *Mater Sci Eng C.* 2013;33(8):4568-74.
- 36- Weiner S, Bar-Yosef O. States of preservation of bones from prehistoric sites in the Near East: a survey. *J Archaeol Sci.* 1990;17(2):187-96.

- 37- Termine JD, Posner AS. Infra-red determination of the percentage of crystallinity in apatitic calcium phosphates. *Nature*. 1966;211(5046):268-70.
- 38- Fukuyama Y, Yoshida S, Yanagisawa S, Shimizu M. A study on the differences between oral squamous cell carcinomas and normal oral mucosae measured by Fourier transform infrared spectroscopy. *Biospectroscopy*. 1999;5(2):117-26.
- 39- Naurecka ML, Sierakowski BM, Kasprzycka W, Dojs A, Dojs M, Suszyński Z, et al. FTIR-ATR and FT-Raman Spectroscopy for Biochemical Changes in Oral Tissue. *Am J Analyt Chem*. 2017;8(03):180.
- 40- Chiu L-F, Huang P-Y, Chiang W-F, Wong T-Y, Lin S-H, Lee Y-C, et al. Oral cancer diagnostics based on infrared spectral markers and wax physisorption kinetics. *Anal Bioanal Chem*. 2013;405(6):1995-2007.
- 41- Banerjee S, Pal M, Chakrabarty J, Petibois C, Paul RR, Giri A, et al. Fourier-transform-infrared-spectroscopy based spectral-biomarker selection towards optimum diagnostic differentiation of oral leukoplakia and cancer. *Anal Bioanal Chem*. 2015;407(26):7935-43.
- 42- Wenning M, Scherer S. Identification of microorganisms by FTIR spectroscopy: perspectives and limitations of the method. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2013;97(16):7111-20.
- 43- Hosseini Shirazi SF, Farhadi E, Vakili Zahir N. A review of Infrared Spectroscopy and its application in medical sciences. *Res Med* 2006;29(4):379-86.
- 44- Taha M, Hassan M, Essa S, Tartor Y. Use of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) spectroscopy for rapid and accurate identification of Yeasts isolated from human and animals. *Int J Vet Sci Med*. 2013;1(1):15-20.
- 45- Simsek Ozek N, Zeller I, Renaud D, Gümüş P, Nizam N, Severcan F, et al. Differentiation of Chronic and Aggressive Periodontitis by FTIR Spectroscopy. *J Dent Res*. 2016;95(13):1472-8.
- 46- Su H, Gornitsky M, Velly AM, Yu H, Benarroch M, Schipper HM. Salivary DNA, lipid, and protein oxidation in nonsmokers with periodontal disease. *Free Radic Biol Med*. 2009;46(7):914-21.
- 47- Kalburgi V, Leburu S, Warad S. Saliva as a surrogate to explore the association between lipid profiles and chronic periodontitis: A case-control study. *Dent Res J (Isfahan)*. 2014;11(6):619.