University of Mosul
College of Dentistry

Extraction and Characterization of Newly Prepared Biomimetic Enamel Remineralizing Material

A DISSERTATION SUBMITTED BY

Amer Abd Aljabbar Sultan

To
THE COUNCIL OF COLLEGE OF DENTISTRY
MOSUL UNIVERSITY
AS A PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF PHILOSOPHY DOCTORATE
IN
DENTAL SCIENCE

SUPERVISED BY

Asst.Prof.
Dr. .Emaad Farhan Alkhalidy

Asst. Prof.
Dr. ***Mohanad Alalaff***

1444 A.H. **2023A.D.**

ABSTRACT

Aims of the study: the purposes of the current study were to prepare nano-sized hydroxyapatite from bovine bone, and evaluate these particles interms of: physiochemical characteristics, the ability to remineralize the artificial caries induced on human enamel surface, the microhardness of enamel subjected to the synthsized prepared nano-hydroxyapatite and the effect of enamel biomineralization on acid dessolusion resistance and pH control.

Materials and methods: The biomineralizing materials represented by nano-hydroxyapatite were extracted from raw natural origin materials (bovine bones) by dry calcination and plantary ball milling technique, the characteristics of this material were examined by, FTIR to determine the functional groups in the prepared materials, XRD to determine the Miller indicies and two theta angles and to calculate the particles size of the material, EDX to determine the chemical composition of the the material and the Ca/P ratio. To determine the effect of the prepared materials on human enamel, 105 upper premolars teeth were utilized for the study. The extracted material was mixed organic based materials and droped onto artificial induced enamel caries, FESEM observations before and after the remineralization of teeth carried out to determine the effect of remineralization, Vickers hardness

test to evaluate the effect of remineralization with the extracted material on the enamel microhardness, atomic absorption to determine the amount of trace elements in enamel before and after remineralization and acid resistance and pH control ability of enamel before and after remineralization.

In addition to biocompatibility assay test of the extracted hydroxyapatite nanoparticles by MTT Assay on human fetus liver cells to evaluate cell viability in the presence of the prepared substance.

Results: FT-IR results showed the charachteristical streching and bending reactions of the hydroxyapatite functional groups, in addition the FT-IR analysis resulted in bands at 562, 598, 960 and 1018 cm-1 that refers to the phosphate groups $(PO_4)^3$. The XRD results displayed multiple diffraction peaks that indicate polycrystalline structures of the nanoparticles that compose the powder. These elemental groups are considered a distinguished features of hydroxyapatite. All images released from the FESEM revealed clusters of nano-particles with hexagonal structures and different sizes ranging from 9 to 27 nanometers in dimension. The results reflected the significant role of the synthesized nano- HA in fortifying the enamel layer of human teeth. In addition, microhardness of caries induced enamel was restored to normal values after the application of the prepared nanoparticles which demonstrated the significancy of remineralizing material on enamel microhardness. Cell viability assay proved the biocompatibility of the prepared materials

in term of physiological cell function. Atomic absorption test showed an increase in the presence of trace elements after remineralization. In addition remineralized enamel had significantly higher acid resistance and bwtter pH control when compared to normal enamel.

Conclusions: It was concluded that it is possible to extract nano-sized hydroxyapatite materials from bovine bone by dry calcination technique, the natural origin of nano- HA had the potential to remineralize enamel that was subjected to artificial caries induction, and to enhance microhardness and scid resistance charachteristics of human enamel.

جامعة الموصل
كلية طب الاسنان

استخلاص وتوصيف مادة جديدة لإعادة تمعدن المينا بالمحاكاة الحيوية

اطروحة تقدم بها

عامر عبدالجبار سلطان

الى
مجلس كلية طب الاسنان
جامعة الموصل
كجزء من متطلبات نيل شهادة الدكتوراه/ فلسفة
في علوم طب الاسنان

باشراف

الاستاذ المساعد الدكتور عماد فرحان الخالدي **الاستاذ المساعد الدكتور مهند يقظان العلاف**

1444 هـ **2023 م.**

الخلاصة

أهداف الدراسة: كانت أغراض الدراسة الحالية هي تحضير هيدروكسيباتيت بحجم النانو من عظام الأبقار، وتقييم هذه الجزيئات من: الخصائص الفيزيائية والكيميائية ، والقدرة على إعادة تمعدن التسوس الاصطناعي الناجم عن سطح مينا الإنسان ، والصلابة الدقيقة للمينا المعرضة إلى نانو هيدروكسيباتيت المحضر المركب وتأثير تمعدن المينا الحيوي على مقاومة التحلل الحمضي والتحكم في درجة الحموضة.

المواد والطرق: تم استخلاص المواد المعدنية الحيوية المتمثلة في النانو هيدروكسيباتيت من مواد خام طبيعية المنشأ (عظام الأبقار) عن طريق تقنية التكليس الجاف وطحن الكرة النباتية ، تم فحص خصائص هذه المادة بواسطة FTIR لتحديد المجموعات الوظيفية في المحضرة. المواد ، XRDلتحديد مؤشرات Millerوزاويتين ثيتا ولحساب حجم الجسيمات للمادة ، EDXلتحديد التركيب الكيميائي للمادة ونسبة / Ca P.لتحديد تأثير المواد المحضرة على مينا الإنسان ، تم استخدام ١٠٥ ضواحك علوية للدراسة. تم خلط المواد المستخرجة من المواد العضوية وإسقاطها على تسوس المينا الصناعي ، تم إجراء ملاحظات FESEM قبل وبعد إعادة تمعدن الأسنان لتحديد تأثير إعادة التمعدن ، صلابة فيكرز, اختبار لتقييم تأثير إعادة التمعدن بالمواد المستخرجة على الصلادة الدقيقة للمينا والامتصاص الذري لتحديد كمية العناصر النزرة في المينا قبل وبعد إعادة التمعدن ومقاومة الأحماض وقدرة التحكم في الأس الهيدروجيني للمينا قبل وبعد إعادة التمعدن.

بالإضافة إلى اختبار التوافق الحيوي لجسيمات هيدروكسيباتيت النانوية المستخرجة بواسطة MTT Assayعلى خلايا كبد الجنين البشري لتقييم قابلية الخلية للبقاء في وجود المادة المحضرة.

النتائج: أظهرت نتائج FT–IR تفاعلات التمدد والانحناء الخاصة بالمجموعات الوظيفية هيدروكسيباتيت ، بالإضافة إلى أن تحليل FT–IR نتج عنه نطاقات عند ٥٦٢ و ٥٩٨ و ٩٦٠ و ١٠١٨ سم $^{-1}$ والتي تشير إلى مجموعات الفوسفات . $(PO_4)^3$ أظهرت نتائج XRD قمم حيود متعددة تشير إلى الهياكل متعددة البلورات للجسيمات النانوية التي يتكون منها المسحوق. تعتبر هذه المجموعات الأولية من السمات المميزة لهيدروكسيباتيت. كشفت جميع الصور الصادرة من FESEM عن مجموعات من الجسيمات النانوية ذات الهياكل السداسية وأحجام مختلفة تتراوح من ٩ إلى ٢٧ نانومتر في الأبعاد. عكست النتائج الدور المهم للنانو HA– المركب في تقوية طبقة مينا الأسنان البشرية. بالإضافة إلى ذلك ، تمت استعادة الصلابة الدقيقة

للمينا المستحثة للتسوس إلى القيم الطبيعية بعد تطبيق الجسيمات النانوية المحضرة والتي أظهرت أهمية مادة إعادة التمعدن على صلابة المينا الدقيقة. أثبت اختبار صلاحية الخلية التوافق الحيوي للمواد المعدة من حيث وظيفة الخلية الفسيولوجية. أظهر اختبار الامتصاص الذري زيادة في وجود العناصر النزرة بعد إعادة التمعدن. بالإضافة إلى ذلك ، كان للمينا المعاد تمعدنه مقاومة حمضية أعلى بشكل ملحوظ وتحكم أكبر في درجة الحموضة مقارنةً بالمينا الطبيعية.

الاستنتاجات: استنتج أنه من الممكن استخراج مواد هيدروكسيباتيت بحجم النانو من عظام الأبقار بتقنية التكليس الجاف ، فإن الأصل الطبيعي لـ nano-HA لديه القدرة على إعادة تمعدن المينا الذي تعرض لتحريض التسوس الاصطناعي ، وتعزيز الصلابة الدقيقة و خصائص مقاومة الأحماض لمينا الإنسان.