

## سنتر کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت حاصل از پوسته تخم مرغ و عصاره آویشن به عنوان بیومواد دندان

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۸

کد مقاله: ۴۵۲۰۶

رعنا محمدی<sup>۱</sup>، پریسا قسمتی<sup>۱</sup>، مرضیه آزادفلاح<sup>۲\*</sup>،  
رقیه حیدری<sup>۴</sup>

### چکیده

بیومواد دندان (زیست مواد دندان) موادی هستند که برای جایگزینی تا ترمیم و بازسازی انساج تخریب شده دندانها و بافتهای مجاور به کار می روند. بیومواد دندان به صورت موضعی و سیستمیک در بدن بیمار التهاب، آلرژی و یا سمیتی ایجاد نمی کند. طیف وسیعی از مواد، زیست مواد دندان (بیومواد دندان) را تشکیل می دهند که این مواد شامل سرامیک، فلزات (تیتانیوم) و نیز موادی به اسم کامپوزیت هستند. بیوسرامیک ها (زیست سرامیکها) مواد سرامیکی خنثی هستند که هیچ ماده ای را آزاد و جذب نمی کنند و سازگار با بدن هستند که امروزه با مشخص شدن خواص مطلوب آنها به عنوان بیو مواد کاربرد وسیعی در زمینه های مختلف بیوپزشکی یافته اند. دسته ای از بیوسرامیکها به اسم "سمان های کلسیم فسفات" علاوه بر دندانپزشکی در ارتوپدی هم کاربرد دارند که سبب تحریک استخوان سازی می شوند و معروفترین آنها "هیدروکسی آپاتیت" است. در این پروژه تحقیقاتی هیدروکسی آپاتیت از پوسته دروریکتنی تخم مرغ که پسماند غذایی محسوب می شود، تولید شد. برای تایید این ماده از طیف XRD و FT-IR و تصاویر FESEM استفاده شد که به طور کامل مطابقت داشت. همچنین با ترکیب این ماده با عصاره آویشن از خاصیت هم افزایش بهره برده و به کامپوزیت تولید شده خاصیت ضد باکتریایی نیز افزوده شد تا به عنوان بیومواد دندان برای ترمیم دندان ها استفاده شود. این ماده از مواد دروریکتنی و ارزان قیمت و با کارایی بالا تهیه شده است.

واژگان کلیدی: هیدروکسی آپاتیت، پوست تخم مرغ، عصاره آویشن، بیومواد، دندان

۱- پژوهشگر تیم پژوهشی لنترن، شرکت البرز نانو تجهیزرایان، البرز، ایران و پژوهشگر مجتمع آموزشی سلاله البرز، ایران

۲- کارشناسی ارشد شیمی دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

۳- دکتری مهندسی مواد دانشگاه بین المللی امام خمینی قزوین، قزوین، ایران (نویسنده مسئول)

Marziyeh.azadfalalah@gmail.com

۴- دکتری تخصصی سلولی- تکوینی گیاهی دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

یکی از مشکلات عمده مردم در دنیا ایجاد دندان درد و پوسیدگی دندان و آسیب به دندان است؛ برای رفع این مشکل روش های مختلفی وجود دارد که از جمله ی این روش ها میتوان به استفاده از ایمپلنت های دندانی و پر کردن دندان ها اشاره کرد. در چند دهه گذشته، تحقیقات روی ایمپلنت های مهندسی شده در کاربردهای زیست پزشکی امیدوارکننده نشان داده است (موسوی، ۲۰۰۹). ایمپلنت ها مواد زیستی (بیو مواد) هستند که به صورت پیوند شده با اندام یا ساختار بدن مورد استفاده قرار میگیرد، بیومواد دارای طیف وسیعی از کاربردها، و یکی از مهمترین کاربردها بیومواد در زمینه پزشکی ترمیم عیوب استخوانی است. تنها در ایالات متحده آمریکا سالانه 600000 پیوند استخوان انجام می شود که آن را به دومین ماده کاشته شده در جهان تبدیل می کند (مارینو و همکاران، ۲۰۱۰).

پیوند استخوان با توجه به منبع ایمپلنت به سه دسته اتوگرافت (که از محل های مختلف بیمار برداشته می شود)، آلوگرافت (بافت استخوانی از شخص دوم و محل مشترک برداشته می شود) و جایگزین کردن بیومواد متنوع تقسیم می شود. بیومواد جایگزین شده به جای استخوان به ۴ دسته تقسیم میشود:

۱. فلزات (مانند تیتانیوم، استیل ضد رنگ)
۲. سرامیک و شیشه (آلومینا، کلسیم فسفات ها)
۳. پلیمرها (پلی لاکتیدها، کلاژن ها، کیتوسان)
۴. ترکیبی از مواد فوق تحت عنوان کامپوزیت (هیدروکسی آپاتیت تقویت شده با کربن، فلزات پوشش داده شده با هیدروکسی آپاتیت) (اوشیدا و ایماو ۲۰۱۵) (چن و همکاران، ۲۰۰۴).

از بین مواد فوق هیدروکسی آپاتیت که یک کلسیم فسفات معدنی است به علت توانایی در برقراری پیوند قوی با بافت ها به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد (چن و همکاران، ۲۰۰۴). هیدروکسی آپاتیت ها برای بدن قابل تحمل هستند و در بدن واکنشهای ناخواسته، آلرژی و سمیتی ایجاد نمی کنند. از هیدروکسی آپاتیت علاوه بر ساخت انواع گرفت ها، در تهیه پوشش های ایمپلنت برای استخوان سازی مطلوب تر و نیز ساخت داربست در مهندسی بافت استفاده می شود.

هیدروکسی آپاتیت جز اصلی استخوان و دندان انسان را تشکیل می دهد و می توان به صورت شیمیایی و به وسیله ی استخراج این ماده را از منابع طبیعی تهیه کرد. از جمله منابع طبیعی مورد استفاده برای تولید و استخراج هیدروکسی آپاتیت می توان به استخوان های حیوانات، فلس های برخی از حیوانات، انواع صدف های دریایی اشاره کرد که نتایج قابل قبولی داشتند (هورتا و همکاران، ۲۰۱۹). از دیگر سو، استفاده از مواد دور ریز برای تولید مواد ارزشمند در سال های اخیر توجه بسیاری از متخصصان را به خود جلب کرده است. از جمله ضایعات غذایی میتوان به پوسته تخم مرغ اشاره کرد که به علت وجود ۹۴٪ کربنات کلسیم در ساختار خود میتوان آن را به عنوان منبع بالقوه برای تولید هیدروکسی آپاتیت در نظر گرفت. طبق آمار های ارائه شده در سال حدود ۲۵۰۰۰۰ تن پوسته تخم مرغ تولید می شود که در مقایسه با دیگر منابع مقدار چشمگیری خواهد بود. از سوی دیگر در دسترس بودن و ارزان قیمت بودن آن، پوسته ی تخم مرغ را به منبع مناسبی برای تولید هیدروکسی آپاتیت تبدیل کرده است (روحیتا پانیک و همکاران، ۲۰۱۴).

به طور کلی استفاده از هیدروکسی آپاتیت در زمینه ارتوپدی و دندانپزشکی به طور قابل توجهی رو به افزایش است؛ حال آنکه با استفاده از منبع ارزان قیمتی همچون پوسته تخم مرغ برای تولید هیدروکسی آپاتیت می توان کمک شایانی به کاهش هزینه مواد اولیه در فرآیند اولیه دندان کرد.

همچنین باکتری مولد پوسیدگی دندان استرپتوکوکوس موتانس نام دارد. این باکتری به طور طبیعی در محیط دهان وجود داشته و در اثر ایجاد شرایط مناسب می تواند با ترشح اسید موجب تخریب بافت دندان شود. تحقیقات زیادی درباره اثر مواد مختلف بر این باکتری انجام شده است که غالباً مواد غیرطبیعی را شامل می شوند. در تحقیقی درباره اثرات گیاهان درمانی، اسطوخودوس و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) بر روی باکتری های *Pseudomonas aeruginosa*، *Staphylococcus aureus* و *Klebsiella pneumoniae* که در سال ۲۰۱۴ انجام شد، مشاهده شده است که هر ۳ اسانس دارای اثر مهارکننده بر روی باکتری های بیماری زا هستند؛ اما اسانس گیاه آویشن شیرازی دارای اثر بهتری در مهار باکتری ها نسبت به اسانس گیاهان دیگر داراست (گاوانچی و همکاران، ۲۰۱۴). بنابراین وجود عصاره گیاه آویشن در ترکیب با هیدروکسی آپاتیت حاصل از پوست تخم مرغ یک ترکیب ارزان قیمت، ضد باکتری و بدون حساسیت ایجاد می کند که برای تقویت و جلوگیری از پوسیدگی دندان ها بسیار مناسب است (مکجی و هارولد، ۲۰۰۴).

در این پروژه تحقیقاتی تلاش شد تا با منبع پوسته تخم مرغ و کاهش هر چه بیشتر مواد اولیه استفاده شده در واکنش، هیدروکسی آپاتیت را تولید کرده و در ضمن ترکیب آن با عصاره آویشن که به علت وجود تیمول در ساختار خود دارای خاصیت ضد باکتری بوده و در درمان التهاب لثه و عفونت لثه تاثیر قابل توجهی دارد، کامپوزیت اولیه مناسبی را جهت استفاده در صنعت دندان

پزشکی تولید کرد. همچنین از آنجایی که، مطالعات متعددی در ارتباط با ترکیبات فیزیکی و شیمیایی گیاه آویشن به عنوان گیاه ضد میکروب و سنتز هیدروکسی آپاتیت صورت گرفته است، با این وجود، اطلاعاتی چندانی در جهت اثرات هم افزایی آن‌ها به عنوان مواد بیودندانی در دسترس نیست، در این طرح برای اولین بار ترکیب عصاره گیاه آویشن و هیدروکسی آپاتیت حاصل از ضایعات دورریختنی پوست تخم مرغ برای کاهش آسیب های دندانی تهیه شد و اثرات هم افزایی آنها بررسی شد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- عصاره گیری از گیاه آویشن شیرازی

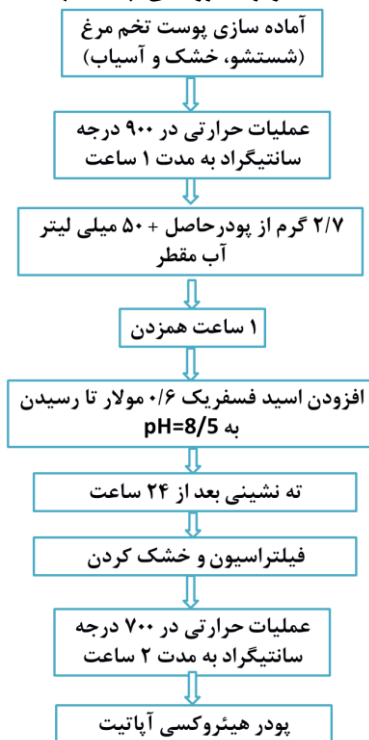
گیاه آویشن شیرازی از پژوهشکده گیاهان دارویی استان البرز تهیه و عصاره گیری با استفاده از روش روتاری انجام شد. به منظور عصاره گیری در ابتدا برگ و ساقه خشک شده گیاه به قطعات یک سانتی متری تقسیم شدند. طی انجام آزمایش دمای دستگاه در حد ملایم ۳۵ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد و سپس ۱۰۰ گرم از گیاه خشک شده با ۵۰۰ میلی لیتر محلول ۹۰ درصد حجمی اتانول-آب در بالن دستگاه سوکسله قرار گرفت. در ادامه طی ۴۸ ساعت به تدریج حلال بر اثر حرارت بخار شد و با تکرار این عمل به مرور کلیه مواد موثره گیاه جدا شده و وارد حلال شد، پس از این مرحله حلال حاوی عصاره صاف شده و به داخل بالن دستگاه روتاری منتقل گردید سپس دستگاه را در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ دور در دقیقه و زمان ۱ ساعت قرار داده شد تا حلال آن جدا شود. سپس عصاره جمع آوری و در دستگاه آون فن دار هوشمند در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و عصاره پودری شکل به دست آمد که به یک ظرف تیره رنگ منتقل و توسط فویل کاملاً پوشانده شد و در یخچال نگهداری گردید.

### ۲-۲- تهیه هیدروکسی آپاتیت

در این طرح از روش استخراج شیمیایی برای تهیه هیدروکسی آپاتیت از پوست تخم مرغ استفاده شد. مواد مصرفی شامل پوسته تخم مرغ جمع آوری شده در منزل، آب مقطر و اسید فسفریک ( $H_3PO_4$ ) مرک آلمان است. ابتدا پوست تخم مرغ جمع آوری شد، غشای داخلی آن جدا شد، خشک شد و به قطعات کوچکتر تبدیل شد. سپس داخل آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه و دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده شد و در ادامه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ دقیقه خشک شد. توسط آسیاب خانگی به شکل پودر درآمد. پودر پوسته حاصله در دمای ۹۰۰ درجه سانتی‌گراد داخل کوره الکتریکی دانشگاه صنعتی امیرکبیر به مدت یک ساعت تحت عملیات حرارتی قرار گرفت. سپس به ازای هر ۲/۷ گرم از پوسته عملیات حرارتی شده، ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد و به مدت یک ساعت تحت دمای محیط هم زده شد. در ادامه محلول ۰/۶ مولار از اسید فسفریک تهیه شد و تا زمانی که PH به ۸/۵ برسد به محلول پوسته و آب افزوده شد. محلول واکنش به مدت ۲۴ ساعت تحت دمای محیط قرار گرفت و ته‌نشینی اتفاق افتاد. بعد از ۲۴ ساعت به مدت نیم ساعت همزده شد و مجدد به مدت ۲۴ ساعت استراحت داده شد تا ته‌نشینی به خوبی اتفاق بیفتد. سپس محلول توسط کاغذ صافی واتمن و قیف بوخنر فیلتر شد و با آب مقطر شسته شد و در نهایت تحت دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت در آون خشک شد. ماده از آون خارج شد و مجدد برای ۲ ساعت داخل کوره با دمای ۷۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و در نهایت هیدروکسی آپاتیت سنتز شد. در شکل ۱ تصویر هیدروکسی آپاتیت سنتز شده قابل مشاهده است. شکل ۲ فلوجارت تهیه هیدروکسی آپاتیت را به نمایش می‌گذارد.



شکل ۱- تصویر هیدروکسی آپاتیت تهیه شده.



شکل ۲- فلوجارت تهیه هیدروکسی آپاتیت از پوسته تخم مرغ.

## ۳-۲- تهیه کامپوزیت هیدروکسی آپاتیت و عصاره آویشن

پس از مرحله تغلیظ عصاره، ۱ گرم هیدروکسی آپاتیت که به صورت پودری است به عصاره تغلیظ شده آویشن با غلظت ۵۰ میلی گرم بر لیتر اضافه شد. ترکیب حاصله داخل آون به مدت ۸ ساعت داخل آون قرار گرفت و پودر ترکیب شده با عصاره حاصل شد.

## ۴-۲- نمونه‌گیری و نگهداری نمونه‌ها

در این مطالعه باکتری استرپتوکوکوس موتانس از مرکز درمانی دانشگاه شهید بهشتی تهیه شد و در فریزر ۳۰- درجه سلسیوس نگهداری شد.

برای تست میکروب کشتی ابتدا باید از باکتری نیم مک فارلند آماده کرد تا مشخص شود چه تعداد از باکتری‌ها روی محیط کشت قرار می‌گیرند و پس از آن به روش کشت چمنی از مک فارلند ساخته شده روی محیط کشت Nutrient Agar برده می‌شود. برای این کار ابتدا یک لوپ را با گرفتن در معرض شعله چراغ الکلی استریلیزه کرده و با استفاده از آن مقداری از باکتری درون محلول سالیین (محلول حاوی ۱۰۰ سی سی آب و ۰/۹۸ نمک NaCl) ریخته می‌شود. سپس با روش مشاهده مقدار کدر بودن محلول سالیین حاوی باکتری و استاندارد مک فارلند مقایسه می‌شوند. در مرحله بعد با استفاده از سواپ محلول سالیین که حاوی باکتری موردنظر است به طور یکدست روی محیط کشت Nutrient Agar پخش می‌شود.

با استفاده از سرسمپلر روی اگر چهار چاهک ایجاد می‌شود که یکی از آنها به عنوان شاهد و مابقی به عنوان نمونه تکرار مورد استفاده قرار می‌گیرند. ۱۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰٪ به چاهک شاهد اضافه شده و سپس از محلولمان به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک نمونه انتقال داده می‌شود. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون، هاله عدم رشد مورد بررسی و اندازه‌گیری قرار می‌گیرد. اگر قطر هاله عدم رشد ۲ سانتی متر یا بیشتر بود نتیجه مثبت تلقی می‌گردد. همه تست‌ها با ۳ بار تکرار و به همراه نمونه شاهد انجام می‌گیرند.

مورفولوژی هیدروکسی آپاتیت با کمک میکروسکوپ الکترونی MIRA 3 TESCAN شرکت بیم گستر تابان مورد مطالعه قرار گرفت. بررسی گروه‌های عاملی هیدروکسی آپاتیت به کمک آزمون مشخصه یابی FTIR دانشگاه امیرکبیر انجام شد. دستگاه طیف سنخ مورد استفاده، مدل AVATAR شرکت THERMO آمریکا بوده و به شیوه عبوری مورد استفاده قرار گرفت. برای شناسایی نمونه‌های جامد، پودر سنتز شده به نسبت ۱ به ۸۸۸ با پودر پتاسیم بروماید مخلوط شده و قرص های شفاف از آنها با استفاده از دستگاه پرس برای انجام آزمون آماده شدند. به منظور بررسی فازی هیدروکسی آپاتیت از آزمون پراش اشعه ایکس با طول موج  $(\lambda=1.54187\text{\AA} \text{ Cu K}\alpha)$  استفاده شد.

## ۳- بحث و نتایج

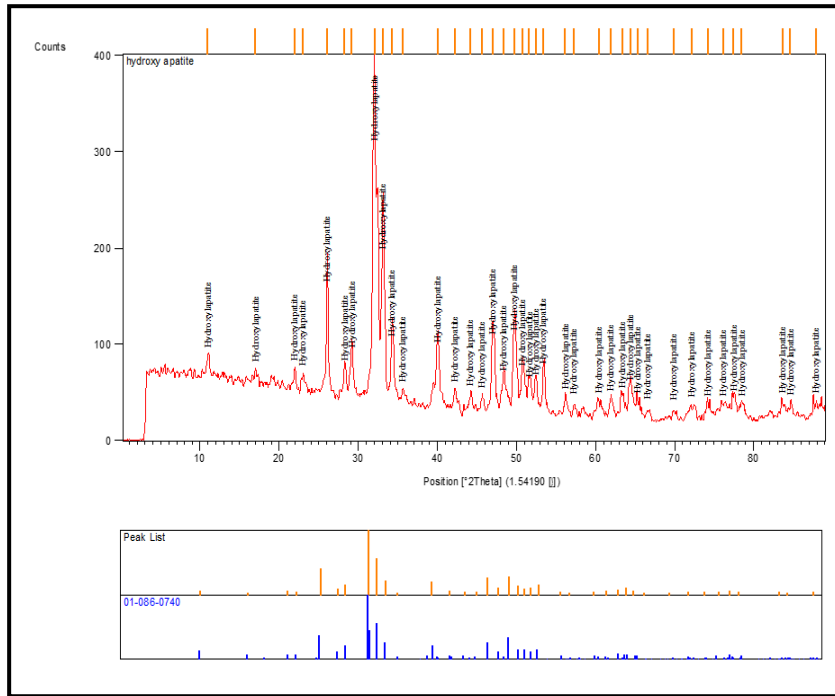
### ۱-۳- بررسی خواص هیدروکسی آپاتیت تولید شده

#### ۱-۱-۳- آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD)

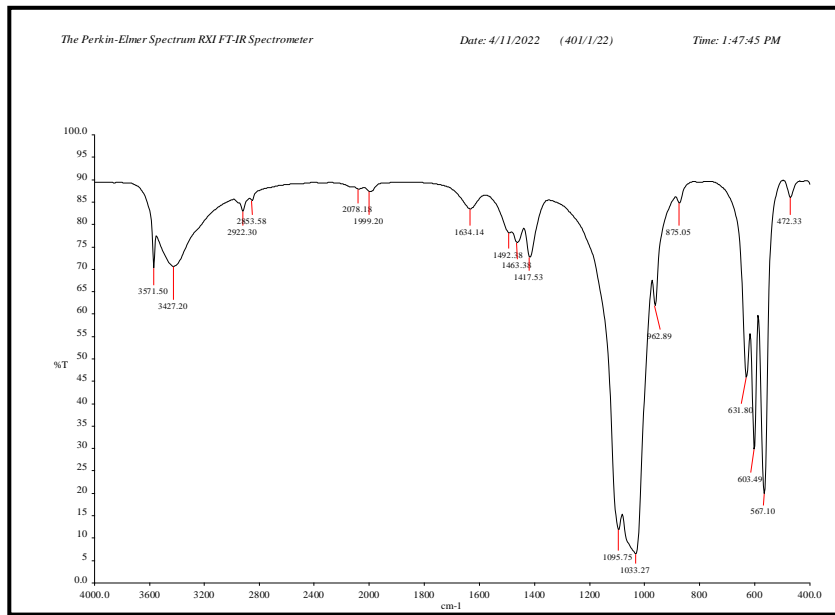
برای تایید سنتز صحیح هیدروکسی آپاتیت از آنالیز پراش اشعه ایکس (XRD) دانشگاه امیرکبیر مدل EQUINOX3000 استفاده شد. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود الگوی XRD هیدروکسی آپاتیت سنتز شده با الگوی XRD نمونه اصلی مطابقت دارد. پیک های موجود در زاویای بین ۱۰ تا ۸۵ درجه مطابقت کامل با شماره کارت مرجع (۰۷۴۰-۰۸۶-۰۱) به وضوح قابل مشاهده است و تشکیل ماده با خلوص بالا را اثبات می‌کند.

#### ۲-۱-۳- آنالیز طیف مادون قرمز تبدیل فوریه (FT-IR)

برای تایید پیوندهای تشکیل شده در هیدروکسی آپاتیت، آنالیز FT-IR توسط دانشگاه خوارزمی کرج انجام شد. شکل ۴ طیف FTIR مربوط به نمونه هیدروکسی آپاتیت را نشان می‌دهد. طبق نتایج حاصل از طیف FT-IR نمونه سنتز شده مشخص می‌شود که نوار جذبی در ناحیه  $1410\text{Cm}^{-1}$  تا  $1460\text{Cm}^{-1}$  مربوط به گروه  $\text{CO}_3^{2-}$  می‌باشد. همچنین نوار جذبی موجود در ناحیه  $1070\text{Cm}^{-1}$  و  $1090\text{Cm}^{-1}$  به گروه  $\text{PO}_4^{3-}$  تعلق دارد. نوار جذبی موجود در ناحیه  $3400\text{Cm}^{-1}$  به گروه OH تعلق دارد. این سه نوار جذبی اصلی‌ترین مشخصه ساختار هیدروکسی آپاتیت را نشان می‌دهند که در طیف نمونه سنتز شده به وضوح قابل مشاهده است و تشکیل این ماده را اثبات می‌کند.



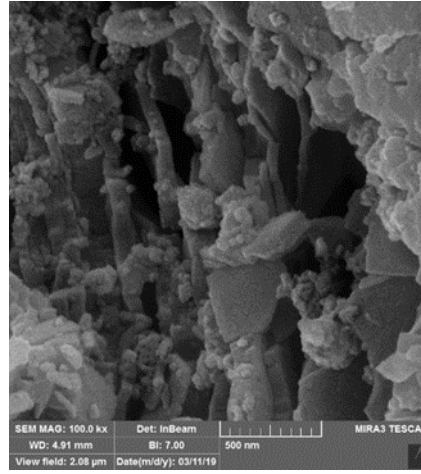
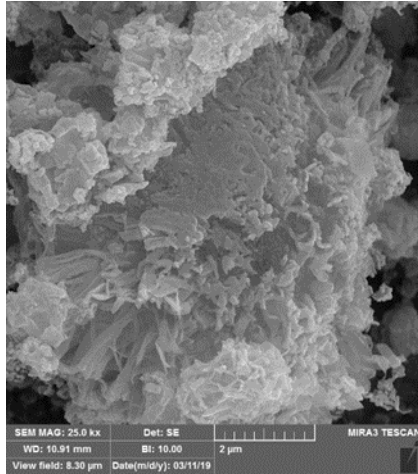
شکل ۳- آنالیز XRD مربوط به نمونه هیدروکسی آپاتیت.



شکل ۴- طیف FTIR هیدروکسی آپاتیت

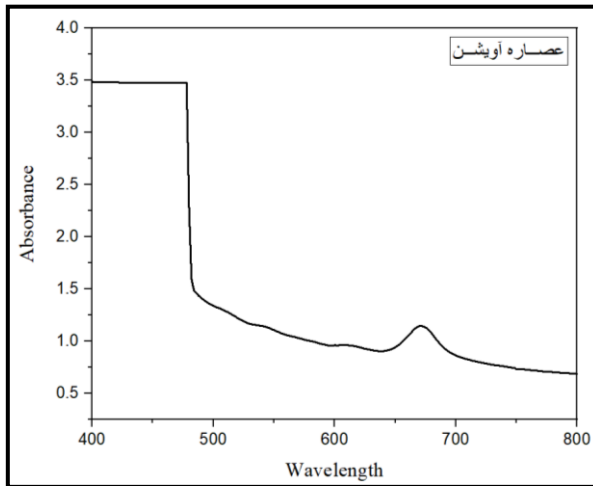
### ۳-۱-۳- آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM)

برای بررسی مورفولوژی سطحی هیدروکسی آپاتیت از دستگاه میکروسکوپی الکترونی روبشی گسیل میدانی استفاده شد. برای سطح هیدروکسی آپاتیت، ابتدا سطح آن را با پوششی از طلا پوشانده و سپس عکسبرداری و مورد مطالعه قرار گرفت. مورفولوژی و ساختار منافذ هیدروکسی آپاتیت در بزرگنمایی‌های مختلف در شکل ۵ نشان داده شده است.



شکل ۵- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (FESEM) هیدروکسی آپاتیت در بزرگنمایی های مختلف

### ۲-۳- آنالیز طیف مرئی - فرابنفش آویشن



شکل ۶- طیف نور مرئی- فرابنفش عصاره آویشن شیرازی

آنالیز uv-visible با توجه به میزان عبور و جذب، غلظت مواد در یک نمونه تعیین می شود، که در شکل ۶ برای عصاره آویشن شیرازی انجام شده است و همانطور که ملاحظه می شود دو پیوند جذبی برای این نمونه در طول موج حدود ۳۱۴ و ۶۶۶ نانومتر دیده می شود. [۳و۴].

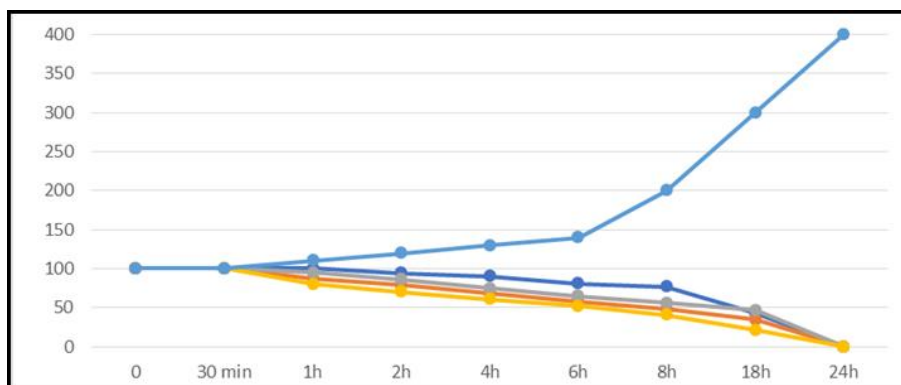
با توجه به جدول ۱ اثر سینرژیسم دو ترکیب عصاره هیدروالکلی آویشن و هیدروکسی آپاتیت سنتز شده با استفاده از پوسته تخم مرغ حاوی کربنات کلسیم اثر مهاری بیشتری بر روی رشد باکتری استرپتوکوکوس موتانس نشان داد. به علاوه، افزایش در قدرت مهاری هیدروکسی آپاتیت نسبت به کاربرد آویشن به تنهایی مشاهده شد.

جدول ۱: میانگین قطر هاله عدم رشد استرپتوکوکوس موتانس در دیسک آغشته به آویشن، هیدروکسی آپاتیت و ترکیب هر دو

انحراف معیار	میانگین	گروه های آزمایشی
6/48	19/32	آویشن
2/67	22/50	هیدروکسی آپاتیت
1/06	29/0	آویشن/هیدروکسی آپاتیت
F=10.3	P<0.001	نتیجه آزمون

### ۴-۳- نتایج تست سنجش زمان کشته شدن باکتری Time killing assey

بررسی سنجش زمان کشته شدن باکتری برای باکتری استرپتوکوکوس موتانس انجام گرفت و در این تست از آنتی بیوتیک ایمینم به عنوان کنترل منفی استفاده شده است و کنترل مثبت نیز بررسی رشد باکتری به تنهایی در محیط کشت مورد بررسی انجام گرفت و در نهایت از گیاه آویشن و هیدروکسی آپاتیت و همچنین اثر سینرژیسم گیاه آویشن و هیدروکسی آپاتیت نیز مورد بررسی قرار گرفت.



شکل ۲- زمان گذشته شدن استرپتوکوکوس موتانس در زمان‌های مختلف پس از در معرض قرار گرفتن با عصاره هیدروالکلی آویشن و هیدروکسی آپاتیت. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (SEM $\pm$ mean) بیان شده است.

پوسیدگی دندان شایع‌ترین بیماری مزمن در جهان می‌باشد. با وجود اینکه، امروزه از میزان و شدت آن کاسته شده است ولی همچنان تعداد زیادی از کودکان و بزرگسالان، پوسیدگی و از دست دادن دندان را تجربه می‌کنند. پوسیدگی دندان یک بیماری عفونی ناشی از کلونیزاسیون باکتری‌هاست که با دکلسیفیکاسیون بخش غیر آلی دندان شروع شده و با تولید پلاک‌های دندانی موجب تخریب ماتریکس آلی دندان می‌شود (دین و همکاران، ۲۰۱۱). استرپتوکوکوس‌های دهانی جزء مهمی از مجموعه پلاک-های دندانی هستند و از مهم‌ترین اعضای این مجموعه استرپتوکوکوس موتانس است که در مطالعات اپیدمیولوژیک متعددی با پوسیدگی مرتبط دانسته شده است و پیشنهاد می‌شود که نقش اصلی را در آغاز پوسیدگی ایفا می‌کند (پینخام و همکاران، ۲۰۰۳). با توجه به بروز مقاومت نسبی به عوامل بیوساید و به علاوه آنتی‌بیوتیک‌ها در میان میکروفلور طبیعی دهان به ویژه استرپتوکوک‌های گروه ویریدانس و رویکردهای اخیر طب به بهره‌گیری از گیاهان دارویی، در پیشگیری و درمان بیماری‌ها به واسطه عوارض جانبی کمتر، معین شده است (هممیلتون و بودن، ۲۰۰۳).

هیدروکسی آپاتیت به عنوان یک ماده رزمینرالیزه کننده هنگام کاربرد در سطح مینای دندان شناخته شده است. نانوهیدروکسی آپاتیت شبیه‌ترین ترکیب به بافت دندان خواص، است. ویژگی‌هایی چون سازگاری زیستی پتانسیل رزمینرالیزاسیون و کاهش ریزش، ضد میکروبی در حفرات دندان باعث شد تا این ماده در تحقیقات جدید مورد توجه بسیار قرار گیرد. نانوذرات هیدروکسی آپاتیت با دارا بودن نسبت سطح به حجم بالاتر موثرتر از ذرات بزرگتر هیدروکسی آپاتیت هستند. در سال‌های اخیر تکنولوژی نانو با کوچک کردن سایز ذرات و کنترل خواص این مواد از نظر شکل و توزیع ذرات، کلسیم و را فراهم کرده که احتمال دارا bioactive فسفات‌های بسیار بودن پتانسیل نفوذ بیشتر در تخلخل‌های ریز ناحیه دمنرالیزه شده به عنوان ماده رزمینرالیزه کننده بالقوه را دارند (جونز و همکاران، ۲۰۰۸).

در سال ۲۰۱۱ تیسکوپ و همکاران پژوهشی را تحت عنوان بررسی اثرات خمیردندان حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت بر روی رزمینرالیزاسیون مینا و عاج را انجام دادند. نتایج این مطالعه نشان داد خمیردندان حاوی نانوهیدروکسی آپاتیت در مقایسه با خمیردندان حاوی آمین فلوراید به طور مشخصی بر روی رزمینرالیزاسیون عاج و مینا تاثیر معنی‌داری داشت (تسکوپ، ۲۰۱۱).

در بسیاری از مقالات و مطالعات، خاصیت آنتی‌باکتریالی و ضد عفونی‌کنندگی آویشن اثبات شده است و در تحقیقی درباره اثرات گیاهان درمانی، اسطوخودوس و آویشن شیرازی بر روی باکتری‌های *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* که در سال ۲۰۱۴ انجام شد، مشاهده شده‌است که هر ۳ اسانس دارای اثر مهارکننده بر روی باکتری‌های بیماری‌زا هستند؛ اما اسانس گیاه آویشن شیرازی دارای اثر بهتری در مهار باکتری‌ها نسبت به اسانس گیاهان دیگر داراست (گاونجی و همکاران، ۲۰۱۴). بنابراین وجود این گیاه در ترکیب با هیدروکسی آپاتیت حاصل از پوست تخم مرغ یک ترکیب ارزان قیمت، ضد باکتری و بدون حساسیت ایجاد می‌کند که برای تقویت و جلوگیری از پوسیدگی دندان‌ها بسیار مناسب است.

در مطالعه‌ای دیگر با عنوان بررسی آثار ضد باکتریایی عصاره‌های نعناع، شیرین بیان، پونه، بابونه و آویشن بر هلیکوباکتر پیلوری نوری زاده و همکاران گزارش کردند که عصاره آبی و هیدروالکلی نعناع و آویشن بیشترین اثر ضد هلیکوباکتر پیلوری را نشان دادند (نوری‌زاده، ۲۰۰۴).

با توجه به گزارشات فراوان در ارتباط با اثرات زیان بار هیپوکالریت سدیم از جمله سمیت، بو و تغییر رنگ و عوارض جانبی کلروهگزیدین که شامل Desquamations و درد در مخاط دهان و نیز تغییر رنگ در مطالعه‌ی حاضر با در نظر گرفتن اینکه استرپتوکوکوس موتانس در ایجاد پوسیدگی دندان نقش مهمی دارند گیاه آویشن که سرشار از تیمول می‌تواند ترکیب مناسبی جهت

سنتز کامپوزیت‌های هیدروکسی آپاتیت باشد به علاوه، روش پیشنهادی استفاده همزمان از آویشن و پوسته تخم مرغ به عنوان منبع غنی از کربنات کلسیم در کنار سایر روش‌های موجود در پیشگیری از پوسیدگی دندان حائز اهمیت است (آدامس و همکاران، ۲۰۰۶).

#### ۴- نتیجه‌گیری

در این طرح از پسماند غذایی پوسته تخم مرغ ماده‌ای ارزشمند هیدروکسی آپاتیت تولید شد. علاوه بر این استفاده از مواد شیمیایی در مسیر سنتز به حداقل رسید و تنها با استفاده از مسیر کلسینه کردن و حلال آب سنتز انجام شد. سنتز هیدروکسی آپاتیت توسط آنالیزهای XRD و FT-IR و FESEM تایید شد. در مرحله دوم با توجه به تاثیر قابل توجه گیاه آویشن در درمان عفونت‌های باکتریایی که بر کسی پوشیده نیست و ترکیب آن با هیدروکسی آپاتیت از خاصیت هم‌افزایی بهره‌جسته و کامپوزیتی تهیه شد که علاوه بر عدم سمیت (به علت خاصیت هیدروکسی آپاتیت) دارای خواص درمانی جهت جلوگیری و درمان عفونت باکتریایی نیز هست. برای تایید عصاره از آنالیز UV-VISIBLE استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده‌ی این بود که استفاده همزمان از هیدروکسی آپاتیت منشا گرفته از پوسته‌های دور ریختنی تخم مرغ و عصاره هیدروالکلی آویشن نسبت به کاربرد به تنهایی هر یک از ترکیبات هیدروکسی آپاتیت و آویشن می‌تواند منجر به توقف رشد و حتی سبب از بین رفتن کامل باکتری‌ها شود. بنابراین، می‌توان پیشنهاد کرد که از این ترکیبات ارزشمند در جهت ضد عفونی کردن و نیز به عنوان عاملی ضد پوسیدگی و پلاک دندان بهره برد.

#### منابع

- [1] Mosby's, "Mosby's Medical Dictionary," (St. Louis, MO: Mosby/Elsevier, 2009).
- [2] J. T. Marino and B. H. Ziran, Orthopedic Clinics of North America, 41,15-26 (2010).
- [3] Y. Oshida and K. Imai, "Bone-graft substitute", (Hydroxyapatite: Synthesis and Applications, New York: Momentum Press, 2015)
- [4] A. R. Zorzi and J. B. Miranda, "Types of bone grafts," (Bone Grafting, ed: InTech, 5, 2012).
- [5] Q. Z. Chen, C. T. Wong, W. W. Lu, K. M. Cheung, J. C. Leong and K. D. Luk, Biomater, 25, 4243-4254, (2004).
- [6] Horta M, Aguilari M, Moura F, Campos J, Ramos V, Quizunda A. Synthesis and characterization of green nanohydroxyapatite from hen eggshell by precipitation method. Materials Today: Proceedings. 2019;14:716-21.
- [7] Rujitanapanich S, Kumpapan P, Wanjanoi P. Synthesis of hydroxyapatite from oyster shell via precipitation. Energy Procedia. 2014;56:112-7.
- [8] McGee, Harold (2004). McGee on Food and Cooking. Hodder and Stoughton. p. 70. ISBN 978-0-340-83149-6.
- [9] Gavanji S, Larki B, Bakhtari A. The effect of extract of Punicagranatum var. pleniflora for treatment of minor recurrent aphthous stomatitis. Integr Med Res 2014;3:8390. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213422014000213>
- [10] Nurizadeh E, Mirzapur T, Ghasemi K, Razavi SM, Latifi S. The antibacterial effects of chamomile extracts and thyme oregano, mint and licorice on Helicobacter pylori. Sci J Med Daneshvar Shahed Univ 2004, 11 (52): 67-72
- [11] Dean JA, Avery DR, Mc Donald RE. Dentistry for the Child and Adolescent. 9th ed. London: Mosby, 2011:177-204
- [12] Pinkham JR, Casamassimo PS, Fields HW, Mc Tigue DJ, Nowak AJ. Pediatric Dentistry. 4th ed. London: Mosby, 200:199-203, 225-30
- [13] Hamilton IR, Bowden GH. Oral microbiology, Encyclopedia of microbiology. San Diego: Academic Press, 2000: 466-480
- [14] Adams LK, Lyon DY, McIntosh A, Alvarez PJ. Comparative toxicity of nano scale TiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> and ZnO water suspensions. Water Sci Technol 2006; 54:327-334
- [15] Jones N, Ray B, Ranjit KD, Manna AC. Antibacterial activity of ZnO nanoparticle suspensions on a broad spectrum of microorganisms. FEMS Microbiol Lett 2008; 279: 71-76
- [16] Tschoppe P, Zandim DL, Martus P, Kielbassa AM. Enamel and dentine remineralization by nanohydroxyapatite toothpastes. J Dent 2011; 39: 430-437