

UNIVERZITET U BEOGRADU

STOMATOLOŠKI FAKULTET

Milica D. Dervišević

**UPOREDNA ANALIZA BOJE I
FLUORESCENCIJE ZUBA I KOMPOZITNIH
MATERIJALA**

doktorska disertacija

Beograd, 2021

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF DENTISTRY

Milica D. Dervišević

**A COMPARATIVE ANALYSIS OF COLOR AND
FLUORESCENCE OF TEETH AND DENTAL
COMPOSITE MATERIALS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2021

Mentori:

Dr Aleksandar Todorović, red. prof
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Dr Miroslav D. Dramićanin, red. prof
Univerzitet u Beogradu, Fizički fakultet
Naučni savetnik, Institut za nuklearne nauke Vinča

Članovi komisije:

Dr Aleksandra Špadijer-Gostović, vanredni prof
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Dr Branka Triković, doc
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Dr Katarina Radović, doc
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Dr Tatjana Savić-Stanković, doc
Univerzitet u Beogradu, Stomatološki fakultet

Dr Bećko Kasalica, red. prof
Univerzitet u Beogradu, Fizički fakultet

Datum odbrane: _____, Beograd

ZAHVALNOST

Pre svega zahvalna sam Bogu na mudrosti i upornosti kojima me je blagosloveno vodio kroz ovaj istraživački put i kroz život uopšte. Zahvalna sam i počastvovana što sam imala priliku da učim od najboljih.

Od srca želim da zahvalim svom mentoru Prof. dr Miroslavu Dramićaninu koji mi je pružio priliku da rastem i razvijam se kao istraživač u Institutu „Vinča“. Strpljivo je podelio sa mnom svoju viziju, inspiraciju i ohrabrujuće savete; sve što je bilo neophodno za izradu moje doktorske disertacije. Počastvovana sam što sam imala priliku da radim sa takvim stručnjakom i velikim čovekom.

Ne postoji dovoljno velika zahvalnica Prof. dr Aleksandru Todoroviću. Reči nisu dovoljne da zahvalim na bezrezervnoj podršci izuzetnom mentoru i uzoru još iz studentskih dana. Hvala na nesebičnom, pravom poslovnom i prijateljskom mentorstvu, kakvo samo roditelj može da pruži ili u ovom slučaju mentor u punom smislu te reči.

Dr Dragici Manojlović zahvaljujem na neprocenjivom doprinosu izradi ovih istraživanja. Njena podrška mi je značila na više različitih nivoa. Počastvovana sam i zadovoljstvo mi je što sam imala priliku da učim iz njene široke ekspertize i da se koristim njenim znanjima iz stručne oblasti. Entuzijazam kojim odiše i velika ljubav prema nauci iznedrile su neprocenjive ideje; one su mi bile vetar u leđa i zaslužne su za najveći deo sprovedenih istraživanja.

Veoma sam zahvalna prof. dr Aleksandri Špadijer-Gostović, doc. dr Branki Trifković, doc. dr Katarini Radović, doc. dr Tanji Savić i prof. dr Bečku Kasalici što su prihvatili da budu članovi komisije za odbranu ove doktorske disertacije i što su me u toku njene izrade usmerili na izmene određenih detalja.

Kolegama iz Laboratorije „Gama“ želim posebno da zahvalim na indirektnom doprinosu ovoj disertaciji jer su stvorili zdravo radno okruženje u kome je prijatno raditi i neprekidno se usavršavati kako na profesionalnom tako i na ličnom nivou.

Hvala Dr Bojani Milićević što mi je posvetila svoje vreme i podelila sa mnom svoje stručne ali i prijateljske savete.

Posebnu zahvalnost iskazujem Dr Ivani Zeković i Dr Lei Lenhardt koje su mi, uprkos svojim mnogobrojnim obavezama, u više navrata pomagale oko merenja uzoraka i statističke obrade podataka.

Mojoj dragoj kolegici Dr Milici Sekulić hvala na mudrim savetima, ohrabrenju i svojoj pomoći u laboratoriji i van nje.

Hvala stomatološkoj grupi „Dental Net“ i prof. dr Vesni Miletić koja mi je nesebično otvorila vrata svoje laboratorije i svojim stručnim savetima uticala na poboljšanje metodologije ovih istraživanja.

Želim da zahvalim svojim roditeljima, sestri i zetu. Hvala vam na pomoći i podršci koju ste mi pružili svih ovih godina. Hvala mom divnom suprugu na beskrajnom razumevanju i ljubavi. Hvala mojoj deci koja su mi obogatila život i čije je rođenje bilo podsticaj za završetak ovog rukopisa. Hvala mojim prijateljima koji su uvek bili tu za mene. Bez vas sve ovo ne bi bilo moguće.

Disertaciju posvećujem svojim roditeljima. Hvala na svemu. Volim vas.

Dr Milica D. Dervišević

U Beogradu, 2021.

UPOREDNA ANALIZA BOJE I FLUORESCENCIJE ZUBA I KOMPOZITNIH MATERIJALA

Rezime

Kompozitni materijali predstavljaju materijal izbora za direktnu i indirektnu izradu i reparaciju zubnih i gingivalnih nadoknada u savremenoj protetici. Iako su mnogo korišćeni, ovi materijali još uvek ne predstavljaju idealnu zamenu za zubna tkiva i gingivu jer, pored brojnih prednosti, imaju i određene nedostatke. Jedan od glavnih nedostataka je promena boje i fluorescencije kompozita prilikom izlaganja različitoj hrani i napicima koji se svakodnevno konzumiraju. Usled prebojavanja estetske nadoknade, moraju se vrlo često korigovati ili zameniti novim. Poslednjih godina, istraživanja su usmerena ka smanjenju razlike u boji između kompozitnih materijala i tvrdih i mekih zubnih tkiva ne samo u momentu izrade već i u funkciji vremena i pronalasku „idealnog“ estetskog materijala.

Cilj istraživanja u disertaciji je bio da se ispituju boja i fluorescencija kompozitnih materijala različite protetske namene i uporede s bojom i fluorescencijom zuba, kao i da se ispita stabilnost boje i fluorescencije kompozitnih materijala.

U prvom delu istraživanja su ispitivani komercijalni kompozitni materijali namenjeni direktnoj i indirektnoj izradi i reparaturi zubnih nadoknada i rekonstrukciji veštačke gingive. Kompoziti koji se primenjuju u stomatološkoj protetici i implantologiji potapani su u različitim vremenskim intervalima u svakodnevne često konzumirane napitke: kafa, čaj, crveno vino, gazirani napitak, rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene, destilovana voda, razne vrste piva, energetska pića i prirodni sokovi. Korišćenjem spektrofotometra izmereni su difuzni refleksijski spektri uzoraka, podaci su analizirani u CIEL*a*b* sistemu boja i urađena je PCA (Analiza glavnih komponenta) dobijenih spektara. Merenjima na spektrofluorimetru dobijeni su fluorescentni spektri kompozitnih uzoraka, pomoću kojih su napravljeni konturni grafikoni EEM (ekscitaciono-emisione matrice) i izračunat je procenat ukupne promene fluorescencije. Nakon početnih merenja, utvrđena je početna homogenost boje i fluorescencije testiranih kompozita. Početne koordinate boje, površinska hrapavost i fluorescencija variraju između kompozita različitih proizvođača čak i kod podudarnih nijansi prema ključu boja. Dobijeni rezultati nakon potapanja uzoraka su pokazali da je prebojavanje kompozita intenzivnije u rastvorima koji imaju veću apsorpciju u vidljivom delu spektra. Glavne promene u difuznim refleksijskim spektrima potiču od prebojavajućih supstanci koje se apsorbuju u plavoj spektralnoj regiji. Zbog toga je primetan opšti trend povećanja b^* vrednosti za sve ispitivane rastvore kao posledica smanjenja plave nijanse. Stoga, kompoziti deluju žućkasto-crvenkasti nakon prebojavanja. Klinički neprihvatljive vrednosti promene boje su pokazali kompoziti izloženi crvenom vinu, čaju i kafi, dok je prebojavanje izazvano gaziranim napitkom, rastvorom za svakodnevno održavanje oralne higijene i destilovanom vodom, golim okom neprimetno. Kod prebojavanja čajem i kafom glavni doprinos ukupnoj promeni boje dolazi od promene u zasićenosti boje. Kod prebojavanja crvenim vinom, ukupnoj promeni boje u približno podjednakom odnosu doprinose promene zasićenosti i svetline. Sva ispitivana piva su prebojila kompozit, tamnija više od svetlijih. Prirodni sokovi uzrokuju veće prebojavanje kompozita od energetskih pića, među njima najviše sok od aronije. Kompoziti boje zuba za indirektnu izradu nadoknada su ispoljili veću stabilnost boje u poređenju sa kompozitima za direktnu izradu. Kompoziti za rekonstrukciju gingive, iako se polimerizuju ekstraoralno, pokazali su veću sklonost ka prebojavanju u poređenju sa kompozitima boje zuba, što bi proizvođači kompozita trebalo da uzmu u obzir prilikom daljeg usavršavanja ovih kompozita. Uspostavljen je kriterijum ili mera koja definiše promenu ukupne fluorescencije nakon izlaganja prebojavajućim napicima. Ustanovljeno je da se oblik spektara karakteristične fluorescencije ne menja. S druge strane, intenzitet fluorescencije kompozita se značajno menjao u zavisnosti od vrste prebojavajuće supstance kojoj je bio izložen. Smanjenje ukupne fluorescencije kompozita nastaje zbog adsorbovanog sloja prebojavajućih pigmenta iz rastvora. S obzirom na to da kompoziti za rekonstrukciju gingive imaju značajan udeo ultraljubičaste fluorescencije koja se ne može uočiti (nije vidljiva), promena estetskih svojstava

nastala smanjenjem fluorescencije usled prebojavanja je manje izražena kod kompozita za rekonstrukciju gingive u odnosu na kompozite boje zuba.

Prezentovan je novi pristup u analizi prebojavanja kompozita baziran na statističkoj metodi PCA na osnovu koje se može otkriti koje su to prebojavajuće supstance u rastvorima što najviše doprinose prebojavanju kompozita. Promena optičkih svojstava je uglavnom uzrokovana apsorpcijom sledećih supstanci iz rastvora: kafa – melanoidini, čaj – tanini, crveno vino – antocijani, gazirani napitak – karamel boja E150d, rastvor za ispiranje usta – sintetska boja Brilliant Blue, piva – aromatične kiseline (triptofan, tirozin i fenilalanin) i riboflavin, sok od cvekle – triptofan, tirozin, betaksantin i betanin, sok od šargarepe – karotenoidi i retinol, sok od aronije – flavonoidi i antocijani, energetska pića – kafein, taurin, vitamin B i riboflavin. Utvrđivanje uticaja ovih pigmenata doprinosi razjašnjavanju mehanizama prebojavanja i može poboljšati efektivnost uklanjanja nastalih pigmentacija. Za razliku od konvencionalne CIEL*a*b* analize boje PCA analiza je pružila više kvalitativnih i kvantitativnih informacija o promeni boje kompozita.

Pokazane su razlike u intenzitetu promene boje kompozita u zavisnosti od vrste osvetljenja. Najveće promene boje su zabeležene kod volframske (A) i lampe visokog pritiska (HP). Boja uzoraka ne varira mnogo između dnevnih osvetljenja D65, D50 i D75. Promena u zasićenosti doprinosi skoro celokupnoj promeni boje.

Rezultati istraživanja pokazali su da se kompoziti iste nijanse (B1) različitih proizvođača različito prebojavaju. Nakon potapanja u rastvore svetliji niskokontrakcioni kompoziti su ispoljili veću prijemčivost za pigmente od konvencionalnih kompozita iste nijanse. Hrapavost površine nije uticala na prijemčivost za pigmente. Glavni proces odgovoran za prebojavanje i smanjenje fluorescencije kompozita je adsorpcija. Adsorbovana barijera od prebojavajućih supstanci iz rastvora posledično smanjuje emitovanje svetlosti i efekat fluoresciranja kompozita. Proces ponovnog poliranja u velikoj meri je uklonio prebojenosti i značajno obnovio optička svojstva kompozita. Različite nijanse kompozita istog proizvođača su se različito prebojile u rastvorima. Svetlije nijanse kompozita su ispoljile veću sklonost ka prebojavanju od tamnijih nijansi. Optička svojstva kompozita i njihova postojanost boje bi trebalo da bude različito razmatrana u odnosu na nijansu i proizvođača prilikom svakodnevnog odabira materijala u praksi.

U drugom delu istraživanja su ispitivani ekstrahovani prirodni zubi. Izmereni fluorescentni spektri zuba na spektrofluorimetru i njihova parafaktorska analiza (PARAFAC) su pokazali da je u dentinu prisutna različita raspodela i koncentracija fluorofora. Trodimenzionalnim prikazom fluorescencije prirodnih zuba utvrđene su emisije dominantnih fluorofora koje se u dvodimenzionalnom modelu ne otkrivaju. Izvršeno je dekomponovanje jednog trodimenzionalnog spektra u 2D modele na osnovu čega je utvrđeno koja grupa fluorescirajućih komponenata utiče na fluorescenciju zuba. Merenjem je utvrđen pojedinačan doprinos četiri komponente koje su se izdvojile. Iz tog razloga, u perspektivi, ova metoda može biti veoma korisna u cilju poboljšanja procedure određivanja boje zuba, tj. klasifikaciji zuba prema njihovoj fluorescenciji.

KLJUČNE REČI: kompozit, prebojavanje, fluorescencija, boja zuba, spektrofotometar, PCA, PARAFAC

NAUČNA OBLAST: Stomatološke nauke

UŽA NAUČNA OBLAST: Kliničke stomatološke nauke

A COMPARATIVE ANALYSIS OF COLOR AND FLUORESCENCE OF TEETH AND DENTAL COMPOSITE MATERIALS

Abstract

Contemporary prosthodontic composite is a material of choice for direct and indirect restorations of the missing tooth structures. Widely used, this material still doesn't meet all requirements of ideal dental material. One of its main esthetic failures is regarding the change of color and fluorescence, when exposed to daily consumed beverages, leading to the frequent need for restoration replacement. Latest research are conducted towards diminishing the difference between the color of composite and the color of the hard and soft tooth tissues, not only in the moment of placement, but in the long time interval and finding the „ideal“ esthetic material.

The goal of this research was to investigate the color and fluorescence of composite materials and tooth structures and to compare it with the color and fluorescence of natural teeth, as well as to investigate the stability of the color and fluorescence of composite materials.

In the first part of this research, commercial composite materials made for direct and indirect restorations in prosthodontics and implantology were evaluated. Composite samples made for the different prosthetic purposes were exposed to different beverages – coffee, tea, red wine, carbonated beverage, oral hygiene solution, distilled water, beer, energy drinks, natural juices. Spectrophotometric measurements provided diffuse reflectance spectra which were CIEL*a*b* color analyzed and PCA (Principal Component Analysis) analyzed. Spectrofluorometer provided fluorescent composite spectra from which EEM (excitation-emission) contour plots were made and the percentage of fluorescence decrease was calculated. Initial measurements showed that color and fluorescence were homogenous among tested composite samples. Initial color coordinates, surface roughness, and fluorescence vary among different composite manufacturers even with the same shade selection. According to the results from the first part of the investigation, staining of the composite was more intense for solutions that have higher absorption in the visible part of the spectrum. Main changes come from staining substances absorbed in the blue spectral region. Therefore, a general trend of higher b* values can be noticed as a consequence of the lowering of the blue spectral shade. That's the reason why composite samples appeared yellowish-reddish after staining. Tea, coffee, and red wine caused clinically unacceptable discoloration while color changes from carbonated drink, oral hygiene solution, and distilled water were acceptable under the perception limit. Regarding tea and coffee, the main discoloration contribution came mainly from the changes in chroma. In the case of red wine, chroma and lightness almost equally contributed to tooth color change. All tested beer solutions stained composite, darker more than lighter. Natural juices cause greater composite discoloration than energy drinks, the highest among them comes from Aronia juice. It was observed that tooth colored dental composite, used for indirect restorations, demonstrated higher color stability than those made for direct restorations. Though extraorally polymerized, gingival composites showed greater tendency to discoloration compared to the tooth colored ones. Manufacturers should take this into consideration regarding further improvement of these materials.

This research established the criteria that defined total changes in fluorescence after exposure to various discolorations. Fluorescent spectra of dental composite samples obtained from spectrofluorometer showed a decrease in the fluorescent signal after staining. This indicated a significant influence of tested solutions on the fluorescent properties of composites. The shape of the spectra remained the same, while the intensity significantly varied depending on the type of discoloration substance. Total fluorescence decrease is caused by the adsorbed pigment layer from tested beverages. Considering that pink composites have an amount of ultraviolet fluorescence, which is not visible, changes of esthetic properties caused by staining, induced decrease in fluorescence are less noticeable in pink composites compared to the tooth colored ones.

In this research, we presented a new approach in the analysis of dental composite discoloration based on the statistical method Principal Component Analysis (PCA). This analysis

helps in discovering which substances contribute to discoloration the most. Biochemical components responsible for dental composite staining processes were identified: coffee – melanoidins, tea – tannins, red wine – anthocyanins, carbonated drink - caramel color E150d, oral hygiene solution – synthetic color Brilliant Blue, beer – aromatic acids (tryptophan, tyrosine, and phenylalanine) and riboflavin, beet juice – tryptophan, tyrosine, betaxanthin and betanin, carrot juice – carotenoids and retinol, aronia juice – flavonoids and anthocyanins, energy drinks – caffeine, taurine, vitamin B and riboflavin. Identification of these pigments will help clarify the staining mechanisms and help the effectiveness of pigmentation removal. Unlike conventional CIEL*a*b* color analysis, PCA revealed more qualitative and quantitative data from the discoloration process.

Differences were showed in the intensity of color change, depending on the lighting conditions. The greatest difference was noticed for A (tungsten) and HP (high pressure) lamps. Composite samples color didn't vary a lot between daily lighting D65, D50, and D75. Changes in chroma mainly contributed to total color change.

Results in our study showed that despite the same shade declaration (B1), composite samples were discolored differently. Low shrinkage composites with higher L* (lightness) values, presented more pigment receptivity than conventional composites. Higher surface roughness values were found in samples that discolored more, but initial surface roughness was not the main factor. The main process responsible for discoloration and decrease in fluorescence is adsorption. Repolishing partially removed discolorations and renewed the optical properties of the samples. In the case of the same manufacturer but different shades, total color and chroma change was the highest with lighter shades and mostly in exposure to red wine. Indirect composite materials showed greater color stability compared to direct ones, while gingival composites manifested higher discoloration potential compared to tooth colored composites. Based on obtained results it can be concluded that optical properties of composites and their color stability should be differently considered regarding the shade and manufacturer during daily prosthodontic practice.

In the second part of this research extracted natural human teeth were examined. Fluorescent spectra obtained from spectrofluorometer and their parallel factor analysis (PARAFAC) showed different distribution and concentration of dentin fluorophores. With the threedimensional approach in fluorescence of natural teeth, the emissions of dominant fluorophores were extracted which couldn't be seen before in twodimensional models. Decomposition of one 3D spectrum into 2D models determined which fluorescent components group influence teeth fluorescence the most. From obtained measurements, four dominant fluorophores were extracted that are supposed to correspond to adequate dentine compounds. For that reason, in perspective, this method can be very useful in dental shade selection procedure to establish teeth classification based on their fluorescence properties.

KEY WORDS: composite, staining, fluorescence, tooth color, spectrophotometer, PCA, PARAFAC

SCIENTIFIC FIELD: Dental Sciences

SCIENTIFIC AREA: Clinical Dental Sciences

Sadržaj

I	UVOD	1
1.	BOJA ZUBA I KOMPOZITNIH MATERIJALA	2
1.1.	Boja u stomatologiji	2
1.2.	Izvori svetlosti	2
1.3.	Optičke karakteristike prirodnih zuba	4
1.4.	Određivanje boje zuba	5
1.5.	Kompozitni materijali u stomatološkoj protetici	5
2.	FLUORESCENCIJA ZUBA I KOMPOZITNIH MATERIJALA	7
2.1.	Fluorescencija zuba	7
2.2.	Fluorescencija kompozitnih materijala	8
2.3.	Fluorofore	9
3.	SPEKTROSKOPSKE TEHNIKE	11
3.1.	Difuzna refleksija	11
3.2.	Ekscitaciono-emisione matrice (EEM)	11
4.	ANALIZA SPEKTROSKOPSKIH PODATAKA	13
4.1.	CIEL*a*b* prostor boja	13
4.2.	Analiza glavnih komponenata	14
4.3.	Paralelna faktorska analiza – PARAFAC	15
II	PREGLED LITERATURE	16
5.	POSTOJANOST BOJE KOMPOZITNIH MATERIJALA	17
6.	POSTOJANOST FLUORESCENCIJE KOMPOZITNIH MATERIJALA	25
III	CILJEVI RADA I HIPOTEZE	28
IV	MATERIJAL I METOD	30
7.	ISPITIVANJE PROMENE BOJE I FLUORESCENCIJE KOMPOZITNIH MATERIJALA	31
7.1.	Priprema kompozitnih uzoraka	32
7.2.	Promena boje i fluorescencije kompozitnih materijala nakon izlaganja prebojavajućim napicima	35
7.2.1.	Promena boje i fluorescencije kompozitnih materijala namenjenih za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada	35
7.2.1.1.	Promene boje nakon potapanja u kafu, čaj, crveno vino, gazirani napitak i rastvor za ispiranje usta	35
7.2.1.2.	Promena boje i fluorescencije nakon potapanja u različite vrste piva	36
7.2.1.3.	Promena boje i fluorescencije nakon potapanja u različita energetska pića i prirodne sokove	37
7.2.1.4.	Promena boje i fluorescencije različitih kompozitnih materijala iste nijanse nakon potapanja u čaj	37
7.2.1.5.	Promena boje i fluorescencije istog kompozitnog materijala različitih početnih nijansi nakon potapanja u čaj i vino	37
7.2.2.	Promena boje kompozitnih materijala namenjenih za indirektnu izradu zubnih nadoknada u kafi, čaju i vinu	38
7.2.3.	Promena boje i fluorescencije kompozitnih materijala za izradu veštačke gingive u kafi, čaju i vinu	38
8.	ISPITIVANJE FLUORESCENCIJE ZUBA	39
V	REZULTATI	40
9.	REZULTATI ISPITIVANJA PROMENE BOJE I FLUORESCENCIJE KOMPOZITNIH MATERIJALA NAKON IZLAGANJA PREBOJAVAJUĆIM NAPICIMA	41
9.1.	Kompozitni materijali namenjeni za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada	41
9.1.1.	Potapanje u kafu, čaj, crveno vino, gazirani napitak, rastvor za svakodnevno ispiranje usta i destilovanu vodu	41
9.1.2.	Potapanje u različite vrste piva	47
9.1.3.	Potapanje u različita energetska pića i prirodne sokove	51
9.1.4.	Potapanje različitih kompozitnih materijala iste nijanse u čaj	56
9.1.5.	Potapanje istog kompozitnog materijala različitih početnih nijansi u čaj i vino	59

9.2.	<i>Kompozitni materijali namenjeni za indirektnu izradu zubnih nadoknada nakon potapanja u čaj, kafu i crveno vino</i>	61
9.3.	<i>Kompozitni materijali namenjeni za izradu veštačke gingive nakon potapanja u čaj, kafu i crveno vino ..</i>	62
10.	REZULTATI ISPITIVANJA FLUORESCENCIJE ZUBA	65
VI	DISKUSIJA	67
11.	DISKUSIJA REZULTATA ISPITIVANJA PROMENE BOJE KOMPOZITNIH MATERIJALA NAKON IZLAGANJA PREBOJAVAJUĆIM NAPICIMA	68
11.1.	<i>Promena boje kompozitnih materijala namenjenih za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada</i>	68
11.2.	<i>Promena boje kompozitnih materijala namenjenih za indirektnu izradu zubnih nadoknada.....</i>	73
11.3.	<i>Promena boje kompozitnih materijala namenjenih za izradu veštačke gingive</i>	73
12.	DISKUSIJA REZULTATA ISPITIVANJA PROMENE FLUORESCENCIJE ZUBA I KOMPOZITA	75
VII	ZAKLJUČCI	79
	LITERATURA	82

I Uvod

*„Svet fluorescencije je svet predivnih boja.
U mraku sve poznate boje našeg dnevnog sveta nestaju.
Jedino intenzivne sjajne nijanse fluorescentnih supstanci
Obasjane ultraljubičastim zrakom sjaje upadljivom jasnoćom.“
Sterling Gleason, 1960.*

1. BOJA ZUBA I KOMPOZITNIH MATERIJALA

1.1. Boja u stomatologiji

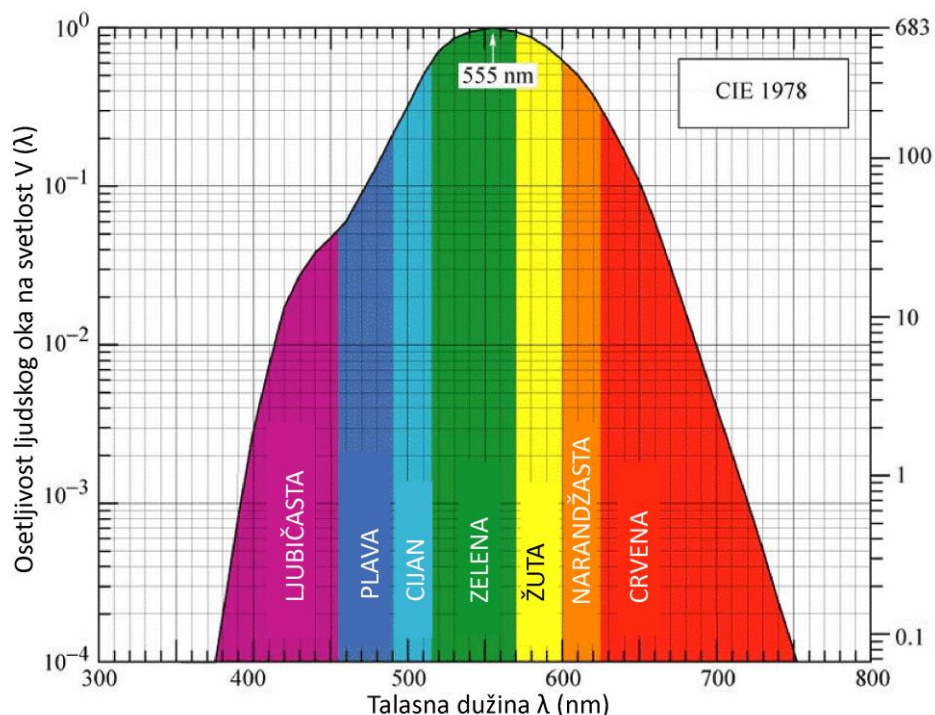
Boja je pojam koji se odnosi na određeni doživljaj fizičke karakteristike svetlosti, čija elektromagnetna kretanja – fotoni, prima oko i šalje u vidu električnih signala u deo mozga zadužen za interpretaciju podataka, a dolaze iz nekog izvora svetlosti ili se odbijaju sa površine neke materije [1]. Za pravilno određivanje boje važno je razumevanje psihofizičkih procesa nastanka boje. Da li će boja zubne nadoknade ostvariti pozitivan ili negativan utisak zavisi od brojnih faktora. Ne treba zanemariti činjenicu da je boja subjektivni doživljaj. U svakodnevnoj komunikaciji, pažnja posmatrača nije usmerena na svaki detalj pojedinačnog zuba već na celokupnu sliku koju čine udaljenost, simetrija, položaj, oblici, veličine, linije, ali i na utisak o boji zuba. Fenomen boje u stomatologiji se mora posmatrati kao kompleksan pojam [2, 3]. Boja se doživljava individualno i kao umetnička forma, ali teorija o boji je bazirana na naučnim principima i sadrži elemente fizike, fiziologije i psihologije [4]. Dugi vremenski period ljudi nisu mogli da razumeju „magiju“ čula vida, niti kako ono radi. Danas znamo da je boja svetlost određenih spektralnih osobina nastala refleksijom od objekata. Svetlost ima dualističku prirodu, čestičnu i talasnu. Ona se ponaša kao talas čija talasna dužina određuje boju svetlosti. S druge strane, interakcijom s molekulima, atomima i elektronima svetlost ispoljava i svoju korpuskularnu prirodu.

Prvi pokušaj da se sistematizuju dentalne boje zabeležen je 1933. godine od strane Clark-a koji se bazirao na Munsell-ovoj skali boja iz 1905. godine [5-7]. Težilo se ka tome da se boja izražava kroz cifre. Munsell-ov prostor boja nije bio pravilnog geometrijskog oblika, te to nije bilo moguće sve do 1978. kada je CIE (Comission National de l’Eclairage) razvio novi sistem CIEL*a*b* [8]. Tada je po prvi put postalo moguće da se boja izrazi numerički i da se izračunaju razlike, pri čemu se koristi formula koja kao rezultat daje – broj. Ova, takozvana, ΔE vrednost je postala dragocena u nauci o boji ali i u industriji boje, sve od tekstilne industrije do stomatologije [9].

1.2. Izvori svetlosti

Spektralna karakteristika osvetljenja igra bitnu ulogu u percepciji boje pa se prebojavanje estetskih materijala razlikuje pod različitim osvetljenjem i otežava određivanje boje zuba i nadoknada [10]. Izvor svetlosti predstavlja svaki objekat koji emituje elektromagnetne talase iz polja vidljivog dela spektra. Primarni izvor je onaj koji emituje sopstvene radijacije. Sekundarni izvor reflektuje deo radijacija drugog izvora. Svetlosni fluks je energija koju svetlosni izvor emituje u jedinici vremena. Od posebnog interesa je bela svetlost, ona koja sadrži sve talasne dužine u vidljivom delu spektra, i izvori bele svetlosti [11]. U zavisnosti od relativnog odnosa komponenata koje čine belu svetlost, diferenciraju se topla bela, neutralna bela i hladna bela svetlost. Nivo “topline” bele svetlosti naziva se temperatura svetlosti (sunčeva svetlost ima temperaturu oko 5600 K do 6000 K). Što je temperatura niža, svetlost je “toplija”; npr. topla bela svetlost ima temperaturu od 2700 K do 3000 K (deluje blago crveno), neutralna od 3000 K do 4100 K, a hladna bela od 4000 K do 6500 K (bela svetlost deluje blago plavo). Osim temperature, važna karakteristika izvora bele svetlosti je indeks oponašanja boje (color rendering index, CRI) koji predstavlja sposobnost izvora

svetlosti da reprodukuje sve boje na objektu i definiše se u procentima, od 0% do 100% reprodukcije boje koja se dobija pod prirodnim svetlom [12].



Slika 1. Osetljivost ljudskog oka na različite talasne dužine svetlosti

Na centralnom delu mrežnjače ljudskog oka postoje tri vrste foto-osetljivih čepića na crvenu, zelenu i plavu boju, dok su štapići raspoređeni po perifernom delu mrežnjače i odgovorni su za noćni vid. Primljene svetlosne informacije se odatle nervnim putevima šalju do optičkog centra u potiljačnom režnju kore velikog mozga. Zatim mozak obrađuje informacije i doživljava posmatrane pojave i objekte [13].

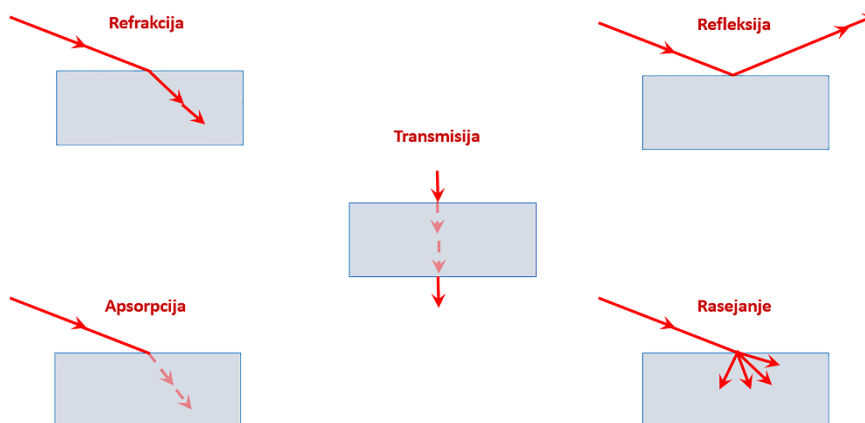
Vidljivi spektar je deo elektromagnetnog spektra koji uočava ljudsko oko. Elektromagnetno zračenje u ovom talasnom opsegu se naziva svetlost [14]. Ljudsko oko reaguje na talasne dužine od oko 380 do 750 nanometara (Slika 1). Pod dnevnim osvetljenjem prosečno ljudsko oko je najosetljivije na talasnu dužinu od 555 nm, tj. na zelenu boju. Funkcija spektralne osetljivosti ljudskog oka pod dnevnim osvetljenjem (fotopski vid) je definisana CIE funkcijom spektralne efikasnosti $V(\lambda)$, a u veoma retkim slučajevima spektralna osetljivost u mraku (skotopski vid). Prihvaćeno je da maksimumi ovih vrednosti idu do 1.

Metamerizam je fenomen u okviru koga se dva objekta iste boje, u uslovima istog osvetljenja vizuelno percipiraju u istoj boji, a u drugoj vrsti osvetljenja u različitim bojama, što dodatno otežava korektno određivanje boje nadoknada u stomatologiji. Dva objekta koja se posmatraju čine matamerički par (određivanje boje zuba pomoću ključeva za boje). U stomatološkoj protetici metamerizam se javlja kada se zubna nadoknada poredi sa prirodnim zubima u uslovima rasvete užarenim vlaknima, preporučene ili fluorescentne rasvete i manifestuje se kao različita vizuelna percepcija boje iste nadoknade. Jedini siguran način da se izbegne metamerizam je registrovanje krive spektralne refleksije. Objekti koji imaju identične krive spektralne refleksije, pod različitim vrstama osvetljenja, percipiraju se uvek isto, za razliku od objekata koji imaju različite krive spektralne refleksije.

1.3. Optičke karakteristike prirodnih zuba

Boja zuba se proteže od žute, preko sive do potpuno bele. Ona se razlikuje od pacijenta do pacijenta, od zuba do zuba i menja se sa starenjem pacijenta i promenom zdravlja njegovih zuba. Fiziologija prirodne boje zuba je takva da zavisi od interakcije svetlosti sa gleđi i dentinom [15]. UV-Vis regija je uska oblast elektromagnetnog zračenja (100–750 nm) u kojoj je prisutna značajna apsorpcija zračenja od strane molekula. Biološki sistemi predstavljaju složene molekulske medijume. Za takve medijume, interakcija sa svetlošću se može okarakterisati elektronskom polarizacijom molekula koji je pod uticajem električnog polja. Prilikom interakcije elektromagnetnog zračenja i zuba jedan deo svetlosti se reflektuje sa njegove površine, drugi se prostire kroz njega, gde se apsorbuje ili se posle višestrukih refleksija i rasejanja ponovo vraća u sredinu iz koje je došao, a treći prolazi, tj. transmituje kroz tkivo zuba [16]. Deo svetlosti koji se reflektuje je uglavnom mali. Najveći deo se apsorbuje, a ostatak se transmituje. Razlikujemo 5 pojava koje se javljaju prilikom interakcije svetlosti sa zubnim tkivom (Slika 2) i to su:

- ❖ Refleksija
- ❖ Refrakcija
- ❖ Transmisija
- ❖ Apsorpcija
- ❖ Rasejanje



Slika 2. Shematski prikaz interakcije svetlosti i materije

Privid primarne boje prirodnog zuba nastaje prelamanjem, refleksijom i apsorpcijom upadnih zraka svetlosti na bezbojnim kristalima hidroksiapatita gleđi i dentina. Jedan deo upadnih zraka svetlosti reflektuje se od površine zuba, a drugi deo se delimično apsorbuje. Najizraženiji efekat pri interakciji svetlosti i zuba je upravo rasejanje, koje potiče od heterogenih struktura zuba: makromolekula, ćelijskih organela i određene količine vode. Prilikom rasejanja svetlosti dolazi do širenja kolimisanog zraka svetlosti što ima za posledicu gubitak njegove početne usmerenosti kao i širenja fokusa svetlosnog snopa.

Primenu kolorimetrijskih sistema *in vivo* otežavaju brojne specifičnosti zuba: sjajnost, translucenost, fluorescentnost, nehomogenost strukture, nepravilan oblik, polihromatizam, relativno mala površina. U regiji gleđi dominiraju kraći talasi beličasto-plave boje, dok se u dentinu javljaju žuto-narandžasti talasi. Prostiranje svetlosti kroz zub zavisi od njegove mikrostrukture. Na svetlosno rasejanje najviše utiču bogato rasprostranjeni dentinski kanalići [17].

1.4. Određivanje boje zuba

Boja se najčešće određuje vizuelnim poređenjem (konvencionalno određivanje boje) različitih boja uzoraka iz ključa sa zubom [18]. U rutinskoj stomatološkoj upotrebi je Vitapan Classical Shade Guide (Vita Zahnfabrik H. Rauter GmbH & Co KG, Bad Säckingen, Germany) koji se sastoji od 16 uzoraka boja podeljenih u četiri grupe u odnosu na osnovnu boju, a unutar grupa raspoređenih po rastućoj zasićenosti (A prema D) [19]. Kasnije je razvijen i uveden u praksu Vita 3D Master Shade Guide [20]. Najpoznatiji spektrofotometar koji se koristi u kliničkim uslovima (instrumentalno određivanje boje) je VITA Easy Shade Compact (Vident, California, USA) koji za cilj ima eliminaciju uticaja okolnog okruženja i osvetljenja, ponovljivost rezultata, lako memorisanje i pouzdan prenos podataka. Kada se određena nijansa izabere, problem nastaje kada treba reprodukovati boju u nadoknadi. Nekoliko studija je pokazalo da je slojevitost bitan faktor kod opaknih i translucenčnih nijansi koji utiče na krajnji izgled restauracije [21]. Čak i tačno određena nijansa nije dovoljna, ukoliko nije dobro korelisana s debljinom i slojevitošću restauracije [22]. Određivanje tačne nijanse nadoknade je kompleksan zadatak i često rezultuje greškama u selektovanju [23, 24].

1.5. Kompozitni materijali u stomatološkoj protetici

Kompozitni materijali su našli primenu skoro u svim sferama svakodnevnog života: avioindustriji, autoindustriji, brodogradnji, proizvodnji gumenih pneumatika, medicini, konfekciji, komunikaciji, rekreaciji, proizvodnji hrane, itd. Nauka o materijalima definiše kompozit kao kombinaciju dva ili više gradivnih sastojaka različitih fizičko-mehaničkih svojstava, međusobno nerastvorljivih, unapređenih svojstava u odnosu na njegove osnovne komponente. Osnovna podela kompozita je na metalne, keramičke i polimerne kompozite. Od sedamdesetih godina prošlog veka, kada su uvedeni u upotrebu, dentalni kompoziti se intenzivno istražuju i unapređuju.

U stomatološkom smislu, kompozit je materijal koji se sastoji od organske matrice i neorganskog punioca, između kojih je organsko-neorgansko vezujuće sredstvo (silan). U sastav organske matrice ulaze: monomeri (metakrilati, silorani), inicijatori (kamforkinon, lucirin), inhibitori (butilhidroksitoluen) i pigmenti. U neorganskoj fazi nalaze se: punioci (staklo, silika, keramika, cirkonija...) i pigmenti (metalni oksidi Fe, Ti, Al-S-silikat).

Prvobitne podele kompozita su se zasnivale na veličini čestica punioca, odnosno hemijskom sastavu kompozita. Fizičko-hemijske osobine materijala su bitno poboljšane smanjenjem veličine i unapređenjem kvaliteta čestica punioca, poboljšanjem adhezije između punioca i organske matrice, a s uvođenjem polimera niske molekularne mase poboljšana je polimerizacija i olakšano rukovanje materijalom. Zbog toga je danas prihvaćena podela kompozita na: 1) makropunjene (10-50) μm , 2) mikropunjene (0.01-0.1) μm , 3) hibridne (0.01-5) μm , 4) mikrohibridne (0.01-1) μm , 5) nanopunjene (0.01-0.04) μm , 6) nanohibridne (0.01-1) μm . U odnosu na primenu, kompozite delimo na one za direktnu i indirektnu izradu nadoknada, među kojima se kao posebna vrsta izdvajaju kompoziti za indirektnu nadoknadu gingivalnog tkiva [25].

Kompoziti su već dugi niz godina dentalni materijali dobro pozicionirani u restaurativnoj stomatologiji, a sve se češće koriste u stomatološkoj protetici kao namenski i kao materijali širokog spektra upotrebe. Njihova primena u konvencionalnoj protetici je počela s pojavom fasetiranih krunica i tada je bila ograničena na fasetne materijale, dvostruke krune, inleje, onleje, okluzalne, palatinalne i vestibularne fasete. Njihova primena ponovo je postala aktuelna s razvojem implantologije, zbog izrade hibridnih radova, kao i zbog toga što podržavaju MIPP koncept (minimalno invazivne protetske procedure). Danas se koriste za izradu palatinalnih faseti (direktnih i indirektnih), table-top nadoknada, klasičnih estetskih faseti, inleja i onleja. Dentalni kompozitni materijali se upotrebljavaju za reparaciju kompozitnih, metalo-keramičkih nadoknada i reparaciju

rubu metalokeramičkih krunica. Ono što dentalne kompozite čini nezamenljivim u savremenoj protetici jeste njihova sposobnost prihvatanja i ravnomerne raspodele okluzalnog stresa (*engl.* stress breaking materials). Zbog brojnih prednosti i širokog polja indikacije u protetici, estetska svojstva dentalnih kompozita su privukla veliku pažnju stručne i naučne javnosti.

Boja je važna odlika gradivnih materijala [26]. Usklađenost boje zubne nadoknade sa bojom prirodnog zuba je jedan od činilaca koji presudno određuju estetsku prihvatljivost nadoknada. Na uspeh zubne nadoknade u pogledu estetskih kriterijuma utiče više faktora, kao što su optička svojstva kompozitnih materijala (osnovna boja, svetlina i zasićenost boje, translucencija, opacitet, fluorescencija), svojstva površine nadoknade (hrapavost, sjaj), debljina materijala i veličina zubne nadoknade [27]. Optička svojstva materijala predstavljaju kombinovani efekat refleksije, prelamanja, rasejavanja, apsorpcije i emisije svetlosti ultraljubičastih i vidljivih talasnih dužina. Sastavne komponente dentalnih kompozita u velikoj meri utiču na njihova optička svojstva. Male čestice punioca više rasejavaju svetlost od većih čestica punioca. Udeo punioca takođe utiče na prostiranje svetlosti kroz materijal [28]. Što je udeo punioca veći, svetlost sve teže prolazi kroz materijal. Kako bi se zadovoljili estetski kriterijumi neophodno je uskladiti optička svojstva zuba i zubne nadoknade u trenutku izrade, ali je takođe potrebno da se usklađenost optičkih svojstava na najbolji mogući način održi tokom vremena. Idealan materijal bi trebalo u potpunosti da oponaša estetska svojstva prirodnog zuba, što često nije moguće, s obzirom na to da je mikromorfologija kompozitnih materijala različita od složene strukture gleđi i dentina [29]. Na estetski doživljaj posmatrača, pored boje materijala, utiče i boja supstrata (gleđ, dentin, metal i različite legure metala). Jedan od osnovnih ciljeva u savremenoj stomatologiji je da se smanji razlika u boji između kompozitnih materijala i tvrdih zubnih tkiva. „Idealan“ materijal u estetskom smislu bi trebalo da kopira prirodnu translucenciju, opalescenciju i fluorescenciju zuba, ali i da se ta svojstva održe tokom vremena [30].

Ova doktorska disertacija pokušaće da dâ svoj doprinos razumevanju interakcije svetlosti i stomatoloških kompozitnih materijala i baviće se promenama boje i fluorescencije koje se dešavaju unutar samog kompozitnog materijala.

2. FLUORESCENCIJA ZUBA I KOMPOZITNIH MATERIJALA

2.1. Fluorescencija zuba

Luminescencija predstavlja emisiju elektromagnetnog zračenja iz materije, uglavnom vidljive svetlosti, nakon prethodne apsorpcije energije [31]. Do ove pojave dolazi kada je vreme između apsorpcije i emisije zračenja veće od trajanja perioda oscilacije zračenja. Na osnovu ovog procesa je moguće dobiti niz važnih podataka o biomolekulima kao što su karakteristične talasne dužine emitovane svetlosti, intenzitet emisije, itd. U osnovi se sve luminescentne tehnike zasnivaju na detekciji i analizi elektromagnetnog zračenja emitovanog iz materije, nastalog usled spoljašnjih energetske oscilacije. U zavisnosti od načina kojim je izvršena promena energetske stanja, postoji više vrsta luminescencije, od kojih je za zub i stomatološke kompozite najznačajnija fotoluminescencija [32, 33].

Prilikom prolaska svetlosti kroz molekul, deo svetlosti se apsorbuje, pri čemu elektroni prelaze iz osnovnog u viša energetska stanja. Tako pobuđen molekul se mora određenim mehanizmom osloboditi viška energije. Osnovno energetske stanje je stanje najniže potencijalne energije i ono je najčešće singletno (retko tripletno). Singletno stanje ima dva sparena elektrona sa različitim spin orijentacijama. Nakon apsorpcije fotona, najčešće iz ultraljubičastog ili vidljivog dela spektra, molekul prelazi na neki od vibracionih nivoa pobuđenog singletnog stanja. U osnovi, razlikuju se dva tipa energetske prelaza, dozvoljeni i nedozvoljeni. Dozvoljeni su prelazi elektrona sa višeg na niži vibracioni nivo, kao i prelazi sa osnovnog vibracionog nivoa $v = 0$ pobuđenog stanja na neki od vibracionih nivoa nepobuđenog energetske stanja. Nedozvoljeni prelaz je prelaz sa bilo kog vibracionog nivoa pobuđenog stanja na neki od vibracionih nivoa osnovnog energetske stanja. Ekscitovano singletno stanje je stanje prilikom koga ekscitovani elektroni popunjavaju molekulske orbitale formirajući parove elektrona sa spinovima u suprotnim smerovima. Pri prelasku u energetske ekscitovano stanje molekul počinje da vibrira i teži da se vrati u najniži vibracioni nivo pobuđenog stanja procesom koji se naziva vibraciona relaksacija. Relaksacija ili vraćanje molekula u stanje niže energije se može odigrati na dva načina: radijativno i neradijativno. Prilikom neradijativnog prelaza iz pobuđenog S_1 ili S_2 u osnovno S_0 stanje, relaksacija se javlja u vidu oslobađanja toplotne energije procesom koji se naziva interna konverzija. Kod radijativnog prelaza relaksacija se manifestuje kao fluorescencija [34]. Ona predstavlja proces emitovanja fotona prilikom relaksacije molekula iz najnižeg vibracionog nivoa ($v = 0$) pobuđenog singletnog stanja S_1 u najniži nivo ($v = 0$) singletnog stanja S_0 . Stanje u kome su elektroni nesparesni, tj. imaju isti spin, zove se tripletno stanje i ono je niže energije od odgovarajućeg singletnog stanja. Proces neradijativnog prelaza iz singletnog u tripletno stanje naziva se unutarsistemski prelaz. Nakon transfera u tripletno stanje, molekul brzo stiže do najnižeg vibracionog nivoa prvog pobuđenog tripleta procesom vibracione relaksacije. Sa T_1 molekul se na S_0 može vratiti emisijom fotona. Ova emisija se naziva fosforescencija. Ovo je proces koji traje duže nego fluorescencija, jer se elektron nalazi u spin „zabranjenom“ stanju.

Prva ispitivanja fluorescencije zuba datiraju iz 1950-ih i uglavnom se te studije citiraju i danas, tj. od tog perioda se ona nije detaljnije istraživala [35, 36]. Fluorescencija je pojava koja daje privid beline i svetlucanja zuba, a nastaje kao posledica apsorpcije zraka nevidljivog dela spektra (ultraljubičastih zraka) i njihove spontane emisije u zrake vidljivog spektra (manjih energija, tj. većih talasnih dužina, obično plavog). Kada UV svetlost (između 350 nm i 400 nm) pogodi tkiva, najpre se apsorbuje, a zatim emituje u vidljivom delu spektra većih talasnih dužina (između (410 - 500) nm) [31]. I gleđ i dentin fluoresciraju u plavičasto-beljoj boji [37]. Fluorescentni spektar prirodne gleđi poseduje maksimum luminescencije na 450 nm, dok dentin pokazuje maksimum na 440 nm. Zbog većeg sadržaja organskih supstanci dentin zuba je fluorescentniji od gleđi. Povećanjem stepena fluorescencije smanjuje se zasićenost boje i povećava se svetlina, jer se veća količina svetla vraća u oko posmatrača. Od posebnog značaja kod izrade nadoknada i oponašanja

boje prirodnih zuba je da tako postignuta svetlina nema negativan uticaj na stepen translucencije. Studije su pokazale da fluorescencija ne zavisi od boje zuba, pošto je boja emitovana sa fluorescentnog objekta uvek ista. Prirodni dentin se odlikuje različitim bojama i stepenom zamagljenosti. Prirodna gleđ pak može biti i transparentna i neprovidna. Svetlost se ne reflektuje samo od površine, već i iz dubine zuba, što zavisi od njegove transparentnosti, tj. transparentni elementi zuba istovremeno podležu jakom uticaju okoline. Zahvaljujući različitim svetlosnim karakteristikama, utisak boje se može značajno menjati. Što je telo transparentnije, svetlost prodire dublje, a boja je zagasitija. S povećanjem zamagljenja, siva komponenta se smanjuje, a svetla povećava [38].

U prvim objavljenim studijama triptofan i hidrokspiridin su istaknuti kao osnovne komponente odgovorne za fluorescenciju zuba [39]. Nešto kasnije *Fukushima i sar. (1987)*, su izdvojili hidroksiapatit-piridinolin kompleks. Ovi autori su skrenuli pažnju na neslaganje spektara dentina i triptofana i hidrokspiridina, jer oni imaju emisione pikove od (350 – 400) nm, redom, dok dentin ima pik na 440 nm. *Bosch i sar. (1995)* složili su se da zuba tkiva imaju različito optičko ponašanje, zavisno od emitovane talasne dužine, i da hidroksiapatit nema veliku ulogu u ovom fenomenu. Od tada su izolovani pirimidin, triptofan, hidrokspiridin, piridinolin, ditirozin i kompleks hidroksiapatita i piridinolina [37]. Ove studije ukazuju na to da je fenomen fluorescencije najverovatnije rezultat višestrukih komponenata, što optičko ponašanje zuba čini još više nepredvidivim.

UV spektar je podeljen na tri regije: kratki, srednji i dugi talasi. Dugi talasi (UVA (320–400) nm), poznatiji kao crna svetlost, su bliži vidljivom delu spektra i uglavnom su oni odgovorni za fluorescenciju. Talasi srednje dužine (UVB (290–320) nm) imaju kumulativni efekat i odgovorni su za opekotine kože, konjuktivitis i rak kože. Kratki talasi (UVC (100–290) nm) imaju antibakterijska i antivirusna svojstva, ali su jako opasni. Spektralni podaci se prikazuju kao emisioni spektri pomoću grafikona intenziteta (arbitrarne jedinice) i talasne dužine (nanometri) ili broja (cm⁻¹). Svetlost koju emituje luminescentna čestica se oslikava u vidu krive čiji vrh, udubljenja i širina zavise od karakteristika ekscitacije.

2.2. Fluorescencija kompozitnih materijala

Rani pokušaji u postizanju „prirodne fluorescencije“ estetskih stomatoloških materijala su podrazumevali unošenje malih količina uranijuma u sastav keramike, ali sada se takva praksa više ne primenjuje zbog njegove radioaktivnosti [40]. Umesto njega se uključuju druge luminescentne čestice. Iako se tačan sastav čuva kao tajna proizvođača, poznato je da se često koriste lantanidi (oksidni europijuma, cerijuma, terbijuma, iterbijuma, disprozijuma i/ili samarijuma), terbijumski kompleks PEMA (polietil metakrilat) ili aromatičnog kompleksa koji kompozitima i keramici daju veću „živost“. Na fluorescentna svojstva zuba i nadoknada utiče više faktora, među kojima su starenje, temperatura i izbeljivanje [32, 41]. Kompoziti izloženi ubrzanom starenju UV svetlošću ili termocikliranju, pokazali su značajno smanjenje fluorescencije [42]. Ovo se objašnjava svojstvom kompozita da apsorbuje vodu. Temperatura se ponaša kao katalizator, ubrzavajući proces degradacije polimernog matriksa [43]. Izbeljivanje hidrogen peroksidom takođe ubrzava starenje materijala. Izlaganje kompozita hrani i pićima uzrokuje promene optičkih parametara, značajno smanjujući intenzitet fluorescencije [44]. Često se u praksi kompoziti postavljaju slojevito, čime se još više otežava razumevanje ovog optičkog fenomena. Fluorescenciju daje poslednji sloj ili kombinacija poslednjih slojeva kompozita, rezultujući drugačijim nivoom fluorescencije. Pojedini autori sugerišu upotrebu silera, kako bi se zaštitila površina od prebojavanja, ali ovi preparati bi značajno uticali na smanjenje intenziteta fluorescencije [45].

2.3. Fluorofore

Fluorofore su molekuli kod kojih je apsorpcija svetlosti praćena emisijom u vidu fluorescencije. Apсорbovana energija, efikasnost transfera energije i vreme pre emisije zavise i od fluorofore i od njenog hemijskog okruženja. Emisioni spektar je obično oštrij nego ekscitacioni, veće talasne dužine i manje energije. Energije ekscitacije se kreću u opsegu od ultravioletne do vidljivog spektra, a emisiona energija se nastavlja od vidljivog spektra blizu infracrvene regije.

Većina biljnih i životinjskih tkiva poseduje svojstvo autofluorescencije pod ultraljubičastom svetlošću [46], među kojima je i zubno tkivo [41, 47-52]. Fluorescencija se može koristiti u određivanju razlike karioznog i nekarioznog dela zuba [53, 54]. Dentin pokazuje značajno veći intenzitet fluorescencije od gleđi, što je zbog prisustva triptofana i hidrosipiridina, s emisionim pikovima na (350 i 400) nm [39, 55, 56]. *Kvaal and Solheim (1989)* [41] su objavili da dentin i cement pokazuju crvenu fluorescenciju pod zelenim osvetljenjem i da se intenzitet fluorescencije smanjuje starenjem. Na fluorescenciju dentina utiču i mnoge druge fluorofore, kao što su umreženi kolagen, piridinolin [39] i hidroksiapatit-piridinolin kompleks [52]. Studije sugerišu da autofluorescencija dentina potiče od različitih fluorofora, ali da nema razlike u intenzitetu između vrsta zuba (sekutići, očnjaci, premolari i molari) kod iste osobe [37].

Fluorofore su pod uticajem sredine u kojoj se nalaze, te na njihovo ponašanje mogu uticati brojni uslovi okruženja. U heterogenim sistemima kao što je zub, na fluorescenciju zuba utiču raspodela i koncentracija svih prisutnih fluorofora, kao i biohemijske i biofizičke promene u njihovoj neposrednoj okolini. Svaka pojedinačna fluorofora ima jedinstven fluorescentni spektar u tačno definisanim uslovima okoline (pH, vlažnost, temperatura) i u precizno definisanim uslovima geometrije ekscitacija-detekcija. Kada je reč o fluorescenciji tkiva, mogu se razlikovati dve vrste fluorofora: egzogene i endogene. Egzogene fluorofore su fotosenzitivna jedinjenja koja se unose u organizam u vidu kontrastnih sredstava. Neke egzogene fluorofore, kao što su hematoporfirinski derivati (HpD), benzoporfirinski derivati (BpD) i ptalocijanin, koriste se kao tumor markeri, u fotodinamičkoj terapiji (PTD) [57] i terapiji kožnih kancera δ -aminolevulinska kiselina (5-ALA) [58]. Endogene fluorofore su molekuli koji su gradivni elementi tkiva s izraženim fluorescentnim svojstvima. Autofluorescentni procesi su svi procesi koji potiču od endogenih fluorofora, u koje se ubrajaju aromatične amino kiseline, strukturni proteini, lipidi, enzimi i koenzimi, vitamini i porfirini. Ekscitacioni maksimumi pomenutih fluorofora se kreću u intervalu (250–450) nm, što pripada UV/VIS spektralnom regionu, a emisioni maksimumi kreću u opsegu (280–700) nm, što je unutar UV/VIS/NIR spektralnog regiona (UV – ultraljubičasti spektar, VIS – vidljiv spektar, NIR – bliski infracrveni spektar). Najvažnije endogene fluorofore prisutne u humanom zubu, koje mogu proizvesti luminescentni efekat su: triptofan, umreženi kolagen, piridinolin, hidroksiapatit-piridinolin kompleks, hidrosipiridijum (Tabela 1).

Tabela 1. Ekscitacioni i emisioni maksimumi endogenih fluorofora zuba

Endogene fluorofore zuba	Ekscitacioni maksimum (nm)	Emisioni maksimum (nm)
triptofan	295	340–350
pepsin razgrađujuća forma kolagena	335	380
kolagenaza razgrađujuća forma kolagena	370	460
piridinolin	395	295

hidroksiapatit-piridinolin kompleks	430	510
hidroksipiridin	295	400

Triptofan pripada grupi aromatičnih aminokiselina. On se pobuđuje u UV oblasti (maksimum eksitacije je 295 nm), dok emituje u vidljivom delu spektra (maksimum emisije se kreće između 340 i 350 nm).

Kolagen i elastin su strukturni proteini, čije fluorescentne osobine potiču od njihovog umrežavanja („cross-link“). U literaturi su opisani eksitaciono-emisioni maksimumi dve forme kolagena: pepsin razgrađujuće forme (*engl.* pepsin-digestible collagen cross-links) i kolagenaza razgrađujuće forme (*engl.* collagenase-digestible collagen cross-links) Eksitacioni maksimumi pomenutih formi kolagena su oko 335 nm i 370 nm, dok emisioni maksimumi iznose oko 380 nm i 460 nm. Osim fluorofora, na fluorescenciju zuba utiču i komponente zuba, koje samo apsorbuju svetlost (tzv. hromofore) i one koje samo rasejavaju svetlost. [59-61]

3. SPEKTROSKOPSKE TEHNIKE

3.1. Difuzna refleksija

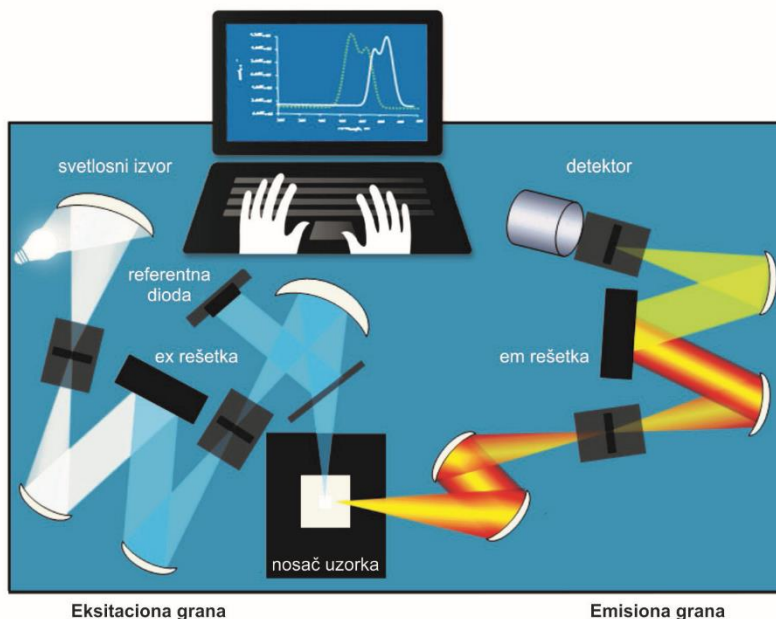
Spektroskopija se bavi proučavanjem interakcije elektromagnetnog zračenja sa materijom. Najčešće korišćeni uređaji za merenje boje u naučne svrhe su spektrofotometri [62]. Spektrometar je uređaj koji meri intenzitete apsorbovane i emitovane svetlosti na različitim talasnim dužinama. Spektrofotometar meri i relativni intenzitet apsorbovane ili reflektovane svetlosti na određenoj talasnoj dužini svetlosti. Sastoji se od izvora zračenja, monohromatora i detektora. Monohromator propušta željenu talasnu dužinu zračenja. Registrovanjem intenziteta zračenja koje je uzorak apsorbovao, propustio ili reflektovao, u zavisnosti od talasne dužine, nastaje spektar. U spektrofotometriji se koristi mnogo uži deo spektra zračenja koji se od izvora kontinualnog zračenja dobija pomoću monohromatora (optičke prizme ili difrakcione rešetke). Kombinacijom više detektora oblast istraživanja se širi od ultraljubičaste (220 nm) do bliske infracrvene oblasti (1400 nm). Kao referentni materijal se najčešće koristi barijum-sulfat (BaSO_4), za koji se smatra da reflektuje 100% svetlosti. Ukoliko elektromagnetni zraci padaju na površinu kompaktnog uzorka dolazi do: 1) direktne refleksije i 2) difuzne refleksije (jedan deo zračenja prodire u uzorak a zatim se reflektuje u svim pravcima). Za ispitivanje boje zuba je najčešće korišćena difuzno-refleksiona spektroskopija (DRS, *engl.* Diffuse Reflectance Spectroscopy). Difuzno-refleksioni spektrometar sakuplja reflektovano zračenje i usmerava na detektor. Merenje boje zuba se obično vrši u regiji vidljivih talasnih dužina (obično 350–800 nm), dok se apsorpcione spektralne karakteristike mogu pratiti u ultraljubičastoj, vidljivoj, infracrvenoj, mikrotalasnoj i radiofrekventnoj oblasti (200–1200) nm. Difuzna refleksija je neinvazivna metoda kojom se meri prostiranje svetlosti kroz tkivo, u cilju dobijanja informacija o biohemiji i morfologiji zuba. Svetlosni snop prolazi kroz površinu uzorka i biva rasejan ili apsorbovan u unutrašnjosti uzorka. Deo svetlosti koja je rasejana u uzorku, a zatim vraćena na površinu uzorka, smatra se difuznom refleksijom. Svojstva takve svetlosti (npr. intenzitet na određenoj talasnoj dužini) zavise od strukturnih i biohemijskih osobina uzorka. Međutim, prave mogućnosti difuzne refleksije još uvek nisu u potpunosti iskorišćene, zbog toga što veza između biologije zuba i fizike prostiranja svetlosti do sada nije potpuno razjašnjena. Razumevanje prirode ove veze bi dosta pojednostavilo optimizaciju pomenute metode u cilju dobijanja što tačnijih klinički značajnih informacija o ispitivanom zubu.

Spektroskopija se upotrebljava u astronomiji, medicini, hemiji, metalurgiji i drugim delatnostima zbog mogućnosti određivanja važnih hemijskih, fizičkih i drugih osobina materije. Spektroskop nalazi posebnu primenu u medicini, gde su istraživanja vršena na različitim vrstama tkiva: kolonu [63], plućima [64, 65], dojci [66-68], materici [69, 70], regiji glave i vrata [71, 72].

3.2. Ekscitaciono-emisione matrice (EEM)

Za merenje fluorescencije se koriste fluorescentni spektrometri [73]. Dizajnirani su da izmere refleksiju, apsorpciju ili transmisiju posmatranog objekta, dajući spektralnu krivu kao rezultat. Oni se sastoje iz nekoliko delova: izvora svetlosti, monohromatora ili sistema za selektivno razlaganje talasnih dužina, nosača uzorka i detektora. Na Slici 3. je dat uopšteni shematski prikaz klasičnog fluorescentnog spektrometra. Izvor svetlosti ili pobude mogu biti lampe ili laseri. Kod komercijalnih uređaja, kao izvor svetlosti se najčešće koriste lampe: halogena, ksenonska, živina, volframova i deuterijumska lampa. Kao izvor svetlosti se mogu koristiti i laseri različitih talasnih dužina, u zavisnosti od toga koja je talasna dužina potrebna za pobudu ispitivanog materijala. Takođe, izvor svetlosti mora biti velike optičke snage, zato što fluorescentni procesi daju male signale. Optički elementi koji selektivno propuštaju svetlost zovu se filteri ili monohromatori. Oni su neophodni ako se kao izvor svetlosti koristi lampa. Monohromator može da sadrži prizmu ili difrakcionu rešetku kao disperzioni element. U fluorescentnim spektrometrima danas se uglavnom

ugrađuju difrakcione rešetke. Kada se kao izvor svetlosti koristi laser nije neophodno koristiti filter ili monohromator na emisionoj strani uređaja.



Slika 3. Shematski prikaz fluorescentnog spektrometra

Emitovana svetlost iz ispitivanog uzorka se širi u svim pravcima, te je moguće izvršiti njenu detekciju pod bilo kojim uglom u odnosu na uzorak. Kada je detektor postavljen pod uglom od 22.8 stepeni u odnosu na pobudni snop svetlosti, merenje se vrši u tzv. „front-face” režimu. Pod tim uglom je najmanja količina rasejane svetlosti koja dospeva do detektora. Danas se najčešće koriste dva tipa detektora u UV/VIS spektralnom regionu: fotomultiplikatori i poluprovodničke fotodiode. Idealan detektor je onaj koji daje linearan odgovor u širokom opsegu, s malo šuma i velikom osetljivošću.

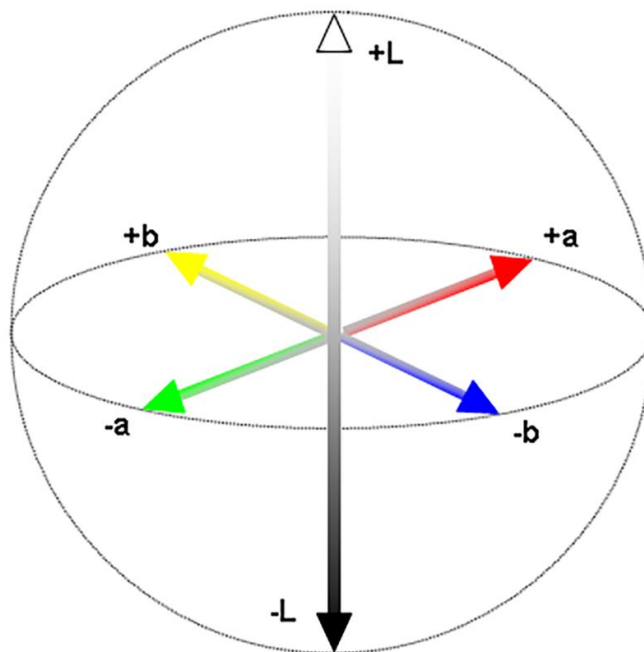
Skenirajući fluorescentni spektrometar omogućava merenje tri vrste spektara: emisionih, eksitacionih i sinhronih spektara. U eksitacionom režimu rada emisiona talasna dužina je fiksna, a pritom se menja eksitacija i kao rezultat se dobija eksitacioni spektar. Emisiona pretraživanja se vrše na fiksnoj eksitacionoj talasnoj dužini, pri čemu se meri intenzitet emisije u obliku emisionog spektra. Kada se istovremeno menja i eksitaciona i emisiona talasna dužina, a održava se konstantna razlika između njih, dobija se sinhroni spektar. Tehnika Eksitaciono-emisionih matrica (EEM) ima primenu već dugi niz godina. EEM je trodimenzionalni dijagram kojim se opisuje intenzitet fluorescencije u funkciji eksitacione i emisione talasne dužine. Tokom EEM skeniranja, ispitivani materijal se sukcesivno pobuđuje svetlošću različite talasne dužine. Svaku pobudu prati apsorpcija, a pritom se registruje spektar emisije sa pobuđenih stanja. Nakon serije merenja za različite pobude, dobija se EEM trodimenzionalni dijagram. Poslednjih decenija, fluorescentna spektroskopija je pokazala visoku mogućnost za analizu, karakterizaciju i modeliranje kompleksnih sistema koje sadrže fluorescirajuće supstance, kao što je sistem zuba [74]. Spektroskopske tehnike imaju multidisciplinarnu primenu; uspešno se mogu koristiti u kompleksnim sistemima iz oblasti fizike, biologije, medicine, biohemije. Dobijeni spektroskopski podaci ekstrahovani iz kompleksnog sistema kakav je gledno-dentinski sistem u ovoj disertaciji su modelirani primenom parafaktorske analize (PARAFAC) [75].

4. ANALIZA SPEKTROSKOPSKIH PODATAKA

4.1. CIEL*a*b* prostor boja

U svrhu razmene informacija „o nauci i umetnosti prostiranja svetlosti“, „Commission Internationale de l’Eclairage“ (CIE) je postavila standard boja 1931. godine, [5] sa kasnijim dopunama. One se nalaze u okviru tristimulusnih vrednosti (trodimenzionalnih) modela boja (prostora boja). Model boja je samo način opisivanja boje. Postoje brojni CIE prostori boja (CIE Lch, CIE XYZ...), svi su nezavisni od uređaja (kao što su monitori, printeri ili kompjuteri) i pokrivaju ceo vidljivi spektar u određenim uslovima osvetljenja (D65). Između 1976. i 1978. godine „Commission Internationale de l’Eclairage“ (CIE) je razvila novi sistem po imenu CIEL*a*b*, kada je po prvi put postalo moguće klasifikovati i uporediti boju numerički i izračunati razliku između dve boje koristeći formulu koja daje jedan broj (ΔE) kao vrednost razlike u boji [9].

$$\Delta E = [(L_1 - L_2)^2 + (a_1 - a_2)^2 + (b_1 - b_2)^2]^{1/2}$$



Slika 4. CIEL*a*b* sistem boja

Kvantifikatori promene boje: razlike u svetlini (ΔL^*), intenzitetima i pravcima zeleno-crvene koordinate (Δa^*) i plavo-žute koordinate (Δb^*) kao i ukupna promena boje (ΔE) i promena zasićenosti ΔC su izračunate korišćenjem sledećih formula:

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

gde je:

$$\Delta L^* = L^*_{\text{potopljen}} - L^*_{\text{nepotopljen}}$$

$$\Delta a^* = a^*_{\text{potopljen}} - a^*_{\text{nepotopljen}},$$

$$\Delta b^* = b^*_{\text{potopljen}} - b^*_{\text{nepotopljen}}$$

$$\Delta C = [(\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Prema ovom modelu L^* označava luminescenciju (svetlinu), dok su a^* i b^* komponente zasićenosti. Vrednosti svetline se kreću na vertikalnoj osi od 0 do 100, a^* komponenta na horizontalnoj osi od -120 do +120 (od zelene do crvene) i b^* komponenta na horizontalnoj osi od -120 do +120 (od plave do žute). Ove ose su postavljene međusobno pod pravim uglom koji je neutralan (sivi, crni ili beli) (Slika 4). Centar svake ose je 0 (neutralna). Model se bazira na principu da boja ne može biti u isto vreme i crvena i zelena, ili plava i žuta. U teoriji, ne postoje maksimalne vrednosti a^* i b^* , ali su u praksi obično numerisane od -128 do +127 (256 nivoa). CIEL*a*b* model boja obuhvata ceo spektar, uključujući boje koje su nevidljive ljudskom oku. Ovaj sistem se široko upotrebljava u mnogim industrijskim granama, pored fotografije i štampanja. Koristi se prilikom određivanja specifikacije različitih boja, farbi (uključujući tekstil, plastiku, itd), mastila za štampu i papir. Treba naglasiti da E nije proporcionalan parametar, odnosno on ne pruža informaciju da li je jedna nijansa tamnija ili svetlija od druge. L^* je mnogo značajniji parametar, zbog toga što ljudske oči mogu da primete promene u svetlini mnogo bolje nego što su u mogućnosti da primete promene u osnovnoj boji. $\Delta E = 0,3 - 0,5$ se smatra minimalnom razlikom koja je uočljiva ljudskim okom. $\Delta E = 1,1 - 2,1$ su vrednosti koje su uočljive, ali klinički prihvatljive prema *Barut cigil i sar. 2012.* [76]. Prema drugim autorima vrednosti $\Delta E < 1$ nisu uočljive za ljudsko oko, dok je $\Delta E > 3,3$ klinički neprihvatljivo [77, 78]. Prema *Stamenkoviću i sar.* referentne vrednosti $L < 2$ i $\Delta E < 3,3$ su klinički prihvatljive [30]. U ovoj disertaciji su uzete vrednosti analize praga kliničke prihvatljivosti koji su predložili *Paravina i sar. 2015.* za $\Delta E \leq 2,7$ [79].

4.2. Analiza glavnih komponentata

U većini objavljenih studija analize promene boje su vršene po principu ukupne promene boje (ΔE) pomoću (CIE) $L^*a^*b^*$, gde ΔE predstavlja najkraće rastojanje u CIEL*a*b* prostoru između boja koje se porede, ΔL promenu svetline, Δa promenu u crveno-zelenoj i Δb promenu u žuto-plavoj zasićenosti boje. CIE sistem primenjuje matematički model u određivanju boje zuba. Međutim, treba istaći da se opisivanje optičkih svojstava korišćenjem koordinate prostora boja vrši nakon kompresije podataka, što ima za posledicu da znatna količina značajnih informacija o površini materijala biva sakrivena ili se gubi. Sledstveno, analizi baziranoj na koordinatama boja mogu nedostajati neke informacije, kako bi sa velikom tačnošću identifikovala i objasnila obim efekata prebojavanja restaurativnih materijala. Poznato je da na doživljaj boje materijala utiču unutrašnja svojstva (fizičko-hemijska i morfološka) kao i spoljašnja (spektralne karakteristike svetlosti). Stoga je od značaja da se pronađe metod kojim bi se identifikovale unutrašnje promene usled prebojavanja. Jedna od predloženih metoda u ovoj disertaciji je PCA (Analiza glavnih komponentata) difuznih refleksionih spektara kompozita.

Analiza glavnih komponentata (*engl.* Principal Component Analysis – PCA) predstavlja analizu varijabilnosti određenog seta podataka [80]. PCA omogućava detaljan grafički prikaz podataka u cilju boljeg razumevanja veze između uzoraka i parametara. Ova metoda se vrlo uspešno primenjuje i daje odlične rezultate u situacijama kada se meri veliki broj parametara na puno uzoraka. PCA je našla veliku primenu u industriji i različitim oblastima naučnih istraživanja. Korišćenjem PCA moguće je klasifikovati nove genomske sekvence iz hromatografskih podataka ili identifikovati novi materijal analiziranjem spektroskopskih podataka. PCA može da da odgovor na pitanje zašto se određeni uzorci grupišu zajedno i zašto se različite grupe razdvajaju, kao i da uoči trendove među uzorcima. Osnovni princip rada PCA je transformisanje podataka u tzv. „glavne komponente“ (*engl.* principal components – PCs), tako da svaka komponenta doprinosi objašnjenju ukupne varijabilnosti sistema, dok prva glavna komponenta predstavlja izvor najveće varijabilnosti među podacima. Glavnom komponentom (PC) se definiše parametar koji najviše doprinosi varijabilnosti sistema [81]. Takođe, pokazuje se koji su parametri međusobno u korelaciji, kao i to da li određeni set parametara opisuje značajnu strukturu ili je u pitanju samo šum (random noise).

Osnovni cilj PCA je da se pri kombinovanju svih glavnih komponentata ekstrahuje što više informacija iz datog sistema podataka u što manjem broju glavnih komponentata, a ono što ostane pripisuje se šumu (*engl.* noise). PCA daje detaljan grafički prikaz u vidu dve mape: *grafikona sopstvenih vrednosti* koji predstavlja mapu uzoraka i *vektora sopstvenih vrednosti* koji daje mapu parametara (koeficijenata). Pažljivom interpretacijom izračunatih komponenti mogu se otkriti „trendovi“ ili skrivene strukture u analiziranim podacima koje su povezane s fenomenom koji se ispituje [82].

Prednost ove analize je mogućnost kompresije multivarijantnih podataka bez velikog gubitka informacija, što doprinosi pojednostavljenju numeričkih problema, omogućavajući lakšu vizualizaciju i interpretaciju podataka pomoću grafika rasutosti. Takođe, smanjenje dimenzija podataka koristi se u cilju razdvajanja značajnih informacija, sadržanih u podacima, od onih koje su manje bitne [83].

4.3. Paralelna faktorska analiza – PARAFAC

Višedimenzionalni podaci, dobijeni merenjem kompleksnog sistema kakav je zub, analizirani su multidimenzionalnom analizom PARAFAC (*engl.* Parallel Factor Analysis – PARAFAC) koja se vrši na matricama dimenzionalnosti većim od dva. Podaci dobijeni merenjem fluorescentnih spektara organizovanih u tri dimenzije, trodimenzionalne matrice, sadrže kao informaciju, u jednom slučaju, intenzitet fluorescencije u funkciji uzorka, talasne dužine ekscitacije i talasne dužine emisije, i, u drugom slučaju, u funkciji uzorka, talasne dužine emisije i vremena života. Kada se izmeri EEM fluorescentnog spektra za više uzoraka, ovi podaci su organizovani u trodimenzionalnu matricu veličine $I \times J \times K$, gde I predstavlja broj izmerenih uzoraka, a J i K broj talasnih dužina na kojima je izmerena emisija i ekscitacija, redom. Za obradu ove vrste podataka neophodna je primena višedimenzionalne analize [84].

Trodimenzionalni podaci se predstavljaju u obliku trodimenzionalne matrice (oblik kvadra). U ovom slučaju redovi i kolone se „menjaju“ terminom preseki (*engl.* slices) koji se odnosi na preseke nastale presecanjem matrice u različitim pravcima. Svaki horizontalni presek odgovara merenom uzorku, a svaki vertikalni i frontalni presek prikazuje podatke za određeni izmereni parametar prvog i drugog tipa, redom (kod podataka fluorescencije vertikalni bi odgovarali određenim talasnim dužinama emisije, a frontalni talasnim dužinama ekscitacije). PARAFAC se može smatrati ekstenzijom PCA metode na podatke višeg reda.

II Pregled literature

5. POSTOJANOST BOJE KOMPOZITNIH MATERIJALA

Kompozitni materijali, iako pokazuju dobre rezultate u kliničkoj primeni i dalje imaju određene probleme među kojima je prebojavanje [85]. Broj studija u dostupnoj literaturi na temu stabilnosti boje kompozita je značajno u porastu u poslednjih desetak godina. *Paravina i sar. (2004)* su izneli zaključak da je skoro nemoguće izvesti longitudinalnu kliničku studiju o kompozitima upravo zbog velikog broja novih kompozita koji se svake godine sve više i brže pojavljuju na tržištu [86]. Stabilnost boje podrazumeva otpornost na promenu boje usled unutrašnjih i spoljašnjih faktora. Unutrašnji faktori uključuju promene samog materijala koje zavise od njegove strukture i hemijskog sastava, kao i kvaliteta polimerizacije [87, 88]. Spoljašnji faktori dovode do prebojavanja materijala tokom njegovog izlaganja različitim medijumima [89]. U dinamičnoj sredini kakva je usna duplja kompozitni materijali su stalno izloženi termičkim promenama, dejstvu pljuvačke, hrane, raznih napitaka i drugih prebojavajućih supstanci [90]. Prebojavanje kompozitnih materijala može biti uzrokovano adsorpcijom i apsorpcijom pigmenata i prebojavajućih supstanci iz oralne sredine, kao i oksidacijom postojećih pigmenata usled prisustva oksidujućih agenasa u hrani i piću [91-93]. Promena estetskih svojstava je čest razlog zamene nadoknada, sa učestalošću od 16.9% – na drugom mestu posle sekundarnog karijesa (52.3%) [94]. Do sada su kompozitni materijali testirani na prebojavanje različitim pićima i hranom. Pokazano je da su svakodnevno konzumirani napici bitan faktor koji utiče na stabilnost boje kompozita [95-100]. Takođe, bitan faktor je i vreme izlaganja napicima [101, 102]. Međutim, prebojavanje kompozitnih materijala i mehanizmi prebojavanja još uvek nisu dovoljno istraženi. Stoga su potrebna dodatna istraživanja kako bi se proširilo znanje o prebojavanju nadoknada i kako bi se podigla svest javnosti o značaju promene estetskih svojstava nadoknada i samih zuba usled konzumacije različitih pića.

Analizom podataka iz literature, uočava se da je ukupna promena boje nadoknada (ΔE), prouzrokovana rastvorima koji se svakodnevno konzumiraju, često veća od klinički prihvatljivog praga ($\Delta E \leq 2.7$) [79, 103]. S druge strane, promene fluorescencije nadoknada usled njihovog prebojavanja je slabo dokumentovana u dosadašnjoj literaturi. Uzevši u obzir da prebojavanje uzrokuje promene u optičkim svojstvima materijala, očekivano je da dovodi i do promene fluorescentnih svojstava. Stoga, kada posežemo za najvišom estetikom u savremenoj stomatologiji, prvobitna fluorescencija estetskih materijala bi trebalo takođe da bude održana.

Prema dosadašnjim podacima iz literature, crveno vino, čaj i kafa su se pokazali kao često konzumirana pića koja mogu da prouzrokuju značajno prebojavanje zuba i promenu njihove fluorescencije [104]. Međutim, malo je podataka u literaturi koji opisuju biohemijske konstituente hrane i pića koji su odgovorni za efekte prebojavanja, uprkos činjenici da bi adekvatno znanje biohemijskih procesa do kojih tom prilikom dolazi moglo značajno pomoći i poboljšati efektivnost uklanjanja prebojenosti. Efekti raznih parametara u procesu prebojavanja, kao što su vrsta i koncentracija rastvora, dužina izlaganja i kvalitet površine materijala, evaluirani su deskriptivnim i/ili statističkim analizama kvantifikatora promene boje. U Tabeli 2. je dat pregled najčešće testiranih rastvora za prebojavanje kompozita i vrednosti promene boje koje su uzrokovali na potopljenim kompozitima.

Tabela 2. ΔE vrednosti različitih kompozita potapanih u svakodnevno konzumirane napitke

<i>Rastvor/Materijal/ [Referenca]</i>	<i>Vreme potapanja (dani)</i>	<i>ΔE</i>	<i>Rastvor/Materijal/ [Referenca]</i>	<i>Vreme potapanja (dani)</i>	<i>ΔE</i>
<i>Crveno vino:</i>			<i>Kafa:</i>		
Admira ^[76]	1; 30	5,95; 6,62	Admira ^[76]	1; 30	2,14; 2,99
Charisma ^[78]	7	22,5	Charisma ^[78]	7	27
Durafil ^[78]	7	30,7	Durafil ^[78]	7	24,9
Filtek P60 ^[76]	1; 30	7,69; 7,95	Esthet X ^[105]	14	3,67
Filtek P60 ^[106]	1	5,1	Filtek P60 ^[76]	1; 30	1,93; 4,88
Filtek P90 ^[107]	7	2,21	Filtek P60 ^[106]	1	4,3
Filtek Z250 ^[76]	1; 30	7,14; 8,47	Filtek P90 ^[107]	7	0,68
Filtek Z250 ^[77]	30	24,7	Filtek Z250 ^[76]	1; 30	5,89; 7,98
Filtek Z250 ^[106]	1	5,6	Filtek Z250 ^[105]	14	4,85
Filtek Z250 ^[107]	7	12,05	Filtek Z250 ^[77]	30	13,4
Filtek Z350 ^[107]	7	19,57	Filtek Z250 ^[106]	1	4,0
Filtek Supreme ^[106]	1	6,2	Filtek Z250 ^[107]	7	4,65
Filtek Supreme XT ^[76]	1; 30	8,67; 11,85	Filtek Z350 ^[108]	7	2,6
Filtek low shrinkage posterior ^[76]	1; 30	3,62; 5,06	Filtek Z350 ^[107]	7	5,42
Fuji II LC ^[78]	7	13,3	Filtek Supreme ^[106]	1	4,6
Fuji IX ^[78]	7	5,18	Filtek Supreme XT ^[76]	1; 30	5,03; 11,83
F2000 ^[78]	7	23,1	Filtek low shrinkage posterior ^[76]	1; 30	2,63; 4,32
Grandio ^[77]	30	19,5	Fuji II LC ^[78]	7	27,7
Grandio ^[106]	1	5,6	Fuji IX ^[78]	7	15,1
Gradia ^[104]	3	6,22	F2000 ^[78]	7	30,8
Photac Fil ^[78]	7	15,7	Grandio ^[77]	30	26,3
Siloran ^[77]	30	4,2	Grandio ^[106]	1	4,7
TetricEvoCeram ^[77]	30	30,9	Gradia ^[104]	3	6,61
Quadrant LC ^[106]	1	6,3	Photac Fil ^[78]	7	32,3
Venus Diamond ^[77]	30	16,1	Siloran ^[77]	30	6,1
			Surefill ^[105]	14	3,57
			TetricEvoCeram ^[77]	30	15,9
			Quadrant LC ^[106]	1	4,5
			Venus Diamond ^[77]	30	12,4
<i>Čaj:</i>			<i>Coca-Cola®:</i>		
Admira ^[76]	1; 30	1,92; 4,38	Admira ^[76]	1; 30	0,65; 1,52
Charisma ^[78]	7	14	Charisma ^[78]	7	6,07
Durafil ^[78]	7	9,74	Durafil ^[78]	7	2,60
Filtek P60 ^[76]	1; 30	1,22; 3,04	Esthet X ^[105]	14	1,10
Filtek P60 ^[106]	1	3,9	Filtek P60 ^[76]	1; 30	0,73; 1,43
Filtek Z250 ^[76]	1; 30	1,14; 3,46	Filtek P60 ^[106]	1	2,5
Filtek Z250 ^[77]	30	16,2	Filtek Z250 ^[76]	1; 30	0,61; 4,02
Filtek Z250 ^[106]	1	3,4	Filtek Z250 ^[77]	30	1,1
Filtek Suprime ^[106]	1	4,2	Filtek Z250 ^[106]	1	2,4
Filtek Suprime XT ^[76]	1; 30	2,50; 5,76	Filtek Suprime ^[106]	1	2,3
Filtek low shrinkage posterior ^[76]	1; 30	3,28; 2,29	Filtek Suprime XT ^[76]	1; 30	1,98; 2,12
Fuji II LC ^[78]	7	18,9	Filtek low shrinkage posterior ^[76]	1; 30	2,41; 4,88
Fuji IX ^[78]	7	14,6	Fuji II LC ^[78]	7	13,1
F2000 ^[78]	7	29,5	Fuji IX ^[78]	7	7,20
Grandio ^[77]	30	10	F2000 ^[78]	7	14,1
Grandio ^[106]	1	4,3	Grandio ^[77]	30	1,7
Gradia ^[104]	3	4,31	Grandio ^[106]	1	2,7
Photac Fil ^[78]	7	21,6	Gradia ^[104]	3	1,29

Siloran ^[77]	30	5,4	Photac Fil ^[78]	7	13,0
TetricEvoCeram ^[77]	30	15,7	Siloran ^[77]	30	2,0
Quadrant LC ^[106]	1	4	Surefill ^[105]	14	0,79
Venus Diamond ^[77]	30	9,1	TetricEvoCeram ^[77]	30	1,7
			Quadrant LC ^[106]	1	2,8
<i>Soja sos:</i>			Venus Diamond ^[77]	30	2,1
Charisma ^[78]	7	13,2			
Durafil ^[78]	7	12,2	<i>Sok od pomorandže:</i>		
Fuji II LC ^[78]	7	7,77	Grandio ^[77]	30	2,1
Fuji IX ^[78]	7	2	Filtek Z250 ^[77]	30	3,1
F2000 ^[78]	7	17,9	Siloran ^[77]	30	2,2
Photac Fil ^[78]	7	9,62	TetricEvoCeram ^[77]	30	1,6
			Venus Diamond ^[77]	30	1,6
<i>Mate čaj:</i>					
Filtek Z350 ^[108]	7	2,1	<i>Powerade®:</i>		
			Clearfil APX ^[109]	1; 6	3,01; 8,52
<i>Svinjska esteraza:</i>			Clearfil Majesty	1; 6	2,33; 4,95
Filtek P90 ^[107]	7	1,40	Posterior ^[109]		
Filtek Z250 ^[107]	7	0,60	Filtek Supreme ^[109]	1; 6	2,45; 6,62
Filtek Z350 ^[107]	7	0,85	Filtek Z 250 ^[109]	1; 6	2,67; 7,47
<i>Sok od grožđa:</i>			<i>Burn®:</i>		
Filtek Z350 ^[108]	7	11,2	Clearfil APX ^[109]		
			Clearfil Majesty	1; 6	3,83; 9,95
<i>Red Bull®:</i>			Posterior ^[109]	1; 6	2,91; 6,97
Clearfil APX ^[109]	1; 6	3,16; 8,75	Filtek Supreme ^[109]		
Clearfil Majesty	1; 6	2,55; 5,41	Filtek Z 250 ^[109]	1; 6	3,11; 8,77
Posterior ^[109]				1; 6	3,08; 9,24
Filtek Supreme ^[109]	1; 6	2,61; 6,70			
Filtek Z 250 ^[109]	1; 6	2,77; 8,46			

Održavanje kontrole kvaliteta u stomatologiji je od presudnog značaja za ispunjenje zahteva vrhunske estetike. *Paravina i sar. (2015)* su izveli multicentričnu studiju koja je za cilj imala da se odrede 50:50% prag primetnosti (PT) i 50:50% prag prihvatljivosti (AT) dentalne keramike pod simuliranim kliničkim uslovima. Beskontaktni spektrometar je korišćen za merenja 60 uzoraka podeljenih u 3 seta po 20 pari uzoraka (srednje ka svetlim, srednje ka tamnim i tamne nijanse). Pet grupa od po 35 stručnih posmatrača je učestvovalo u studiji. Za obradu podataka su korišćene CIEL*a*b* i CIEDE2000 formule. T-test je pokazao razlike između pragova prihvatljivosti, koje su takođe pokazane i između dve primenjene CIE formule [79].

Suliaman (2005) je detaljno opisao poznate uzroke prebojavanja zuba kao raznovrsne i složene, ali se oni uopšteno mogu podeliti na tri vrste: unutrašnje, spoljašnje i prodrle u unutrašnjost zuba [90]. Sastojci hrane i napitaka, kao i ostali hemijske supstance koje se mogu naći u usnoj duplji spadaju u spoljašnje faktore. Oni se talože na površini zuba ili u pelikuli (dentalnog plaka). Mrlje unutar dentina ili unutrašnje fleke u većini slučajeva su poreklom iz pulpe ili sistemskog porekla. Mrlje prodrle u unutrašnjost zuba su posledica prodiranja spoljašnjih mrlja u dentin preko pukotina na zubu.

Dietschi i sar. (1994) su nakon ispitivanja deset komercijalnih kompozita novije generacije (hibridni, mikrohibridni i mikropunjeni) ukazali da njihova otpornost na prebojavanje i dalje zavisi od njihove strukture i manipulacije [110]. Među materijalima koji su skloni prebojavanju nalaze se materijali za fasetiranje nadoknada [111], za izradu privremenih nadoknada (Trim II, Duralay; Alike, Luxatemp; Integrity) [112] kao i kompozitni cement [113] koji utiče na promenu doživljaja konačne boje bezmetalnih zubnih nadoknada. *Erdemir i sar. (2012)* su testirali prebojavanje nanostrukturisanih i mikrohibridnih kompozita uzrokovano sportskim pićima u periodu od 1 meseca

i pola godine. Sva pića su klinički značajno prebojila uzorke, ali je efekat svakog od pića pojedinačno zavisio od vrste rastvora, vremena izlaganja kao i od strukture samog kompozita [109].

UDMA kompoziti su otporniji na prebojavanje od onih koji kao organsku komponentu sadrže BIS-GMA. Kompoziti sa većim česticama punioca imaju veću sklonost ka prebojavanju usled hidrolitičke degradacije spoja organskog dela i punioca [114]. Ova studija je pokazala da je najveća apsorpcija vode prvog dana nakon potapanja uzoraka u čaj. Nakon 14 dana potapanja u čaj i kafu vrednosti promene boje su se skoro izjednačile. Kafa i čaj su prouzrokovali veće prebojavanje u donosu na ostale napitke, što je u skladu sa studijom *Bagheri i sar. (2005)*. Oni su ispitivali promenu boje kompozitnih materijala (Durafil[®] i Charisma[®]), kompomera (F2000[®]), konvencionalnog glasjonomera (Fuji[®] IX) i smolom modifikovanog glas jonomera (Fuji[®] II LC i Photac Fil[®]) nakon potapanja u crveno vino, kafu, čaj, soja sos i rastvor Coca-Cola[®]. Najmanje se prebojio Fuji[®] IX a najviše F2000[®] [78].

Vichi i sar. (2004) su ispitivali uticaj vode na tri strukturno različita kompozita i šest različitih nijansi. Nakon početnog merenja, uzorci su stajali 30 dana u vodenom kupatilu na 60 °C i odmah potom ponovo izmereni. Samo je jedan od testiranih materijala ostao otporan na prebojavanje u granicama klinički prihvatljivih vrednosti ($\Delta E < 3,3$). Na osnovu ove studije, može se zaključiti da starenje u vodi utiče na smanjenje otpornosti prema prebojavanju i promene u opaknosti materijala [115].

Oprečno tome *Arocha i sar. (2013)* objavljuju studiju u kojoj apsorpcija vode sama po sebi ne menja značajno boju kompozita [77]. Oni su ispitivali stabilnost boje silorana (Filtek Silorane) u odnosu 4 metakrilatna kompozitna materijala (Filtek[®] Z250[®], Tetric[®] EvoCeram, Venus[®] Diamond i Grandio[®]) nakon potapanja u različite medijume (kafu, crni čaj, crveno vino, đus, rastvor Coca-Cola[®] i destilovanu vodu). Svi materijali su pokazali značajnu promenu boje u odnosu na kontrolnu grupu (destilovana voda) gde je promena boje bila klinički prihvatljiva ($\Delta E < 3$). Crveno vino je izazvalo najveće promene boje, a najmanje Coca-Cola[®]. Siloran je pokazao veću stabilnost boje u odnosu na ostale testirane materijale. Hidrofilni karakter monomera TEGDMA je pokazan u studiji *Ertas i sar. (2006)* koji su ispitivali stabilnost boje 2 nanohibridna materijala (Grandio[®], Filtek[®] Suprime), 2 univerzalna (Z250[®] i Quadrant[®] LC) i jedan za bočne zube (Filtek[®] P60), nakon 24h potapanja u čaj, Coca-Cola[®] rastvor, kafu, crveno vino i destilovanu vodu. Kompoziti koji ne sadrže TEGDMA (Filtek P60[®] i Z250[®]) su pokazali manju promenu boje nego materijali koji sadrže ovaj monomer (Filtek[®] Suprime, Grandio[®] i Quadrant[®] LC) [106]. Testirane kompozite je najviše prebojilo crveno vino. Uticaj monomera TEGDMA istaknut je i u studiji *Barutçigil i sar. (2012)* koji su ispitivali spoljašnje i unutrašnje promene boje 5 kompozitnih materijala (silorana Filtek[®] LS Low Shrink Posterior Restorative, nano kompozit Filtek[®] Suprime XT, mikrohibridnih Filtek[®] Z250 i Filtek[®] P60 i ormocera Admira[®]). Testirali su njihovo prebojavanje u crvenom vinu, kafi, čaju, rastvoru Coca-Cola[®] i destilovanoj vodi nakon 24h i nakon mesec dana. Najveću stabilnost boje je pokazala Admira[®] a najmanju Filtek[®] Suprime XT, koji jedini poseduje u svom sastavu TEGDMA monomer, dok ga ostali materijali ne sadrže. Promena boje kod silorana nakon mesec dana u vodi je veća od klinički prihvatljive. Autori su zaključili da su svi testirani materijali podložni promeni boje, posebno nakon stajanja u crvenom vinu i kafi, a samo je siloran nakon stajanja u vodi postao vremenom belji [76].

Perez i sar. (2010) su ispitivali optička svojstva i translucenciju i takođe su uočili najmanju promenu boje nakon polimerizacije kod silorana. Promene u boji kod Silorana (Filtek[®] Silorane) izazvane su promenama u Δa i Δb koordinatama, koje su poredili sa dimetakrilatima (Filtek[®] Suprime, Filtek[®] Z250, Z100[®], Artemis[®], Tetric[®] EvoCeram Gradia[®] Direct), kod kojih promene uglavnom potiču od ΔL i Δb . Siloran je takođe pokazao značajno manju translucenciju u odnosu na ostale materijale [116]. Rezultati studije *Kang i sar. (2012)* su takođe pokazali da siloran poseduje bolju stabilnost boje [107]. Oni su poredili Filtek[®] P90 i dva dimetakrilatna kompozitna materijala (Filtek[®] Z250 i Filtek[®] Z350) nakon 7 dana potapanja u kafu, crveno vino, esterazu svinjske jetre i destilovanu vodu. Esteraza i destilovana voda nisu značajno prebojile, dok su kafa i crveno vino manje prebojile siloran u odnosu na dimetakrilate.

Kim i sar. (1996) su istakli da postoje značajne razlike u nijansama kompozitnih materijala u odnosu na odgovarajuće ključeve za boje. Najveće neslaganje nijansi je primećeno kod Z100 i Herculite XR kompozita. Uopšteno, L^* i b^* vrednosti su bile veće kod ključeva za boje u odnosu na iste nijanse kompozitnih uzoraka [117].

Brojne studije su ispitivale uticaj fotoinicijatora na boju kompozita [118-121]. Na osnovu njihovih rezultata, može se zaključiti da se žuta nijansa boje povećava sa povećanjem koncentracije fotoinicijatora [122]. Materijali koji sadrže TPO pokazali su značajno niže vrednosti a^* i b^* u odnosu na druge inicijatore i manje promene boje tokom polimerizacije u poređenju sa CQ materijalima [123]. *Schneider i sar. (2009)* su zaključili da veći udeo amina kao koinicijatora poboljšava svojstva polimera, ali takođe daje žuću boju kompozita kad je korišćen u kombinaciji sa CQ i CQ/PPD kao inicijatorima [124]. *Schin i sar. (2009)* sugerišu da OPPI može biti korišćen da zameni amin u CQ/amine sistemu kako bi poboljšao početnu boju kao i stabilnost boje materijala i smanjene žute nijanse [125]. *Furuse i sar. (2011)* su ispitivali uticaj različitih tercijernih amina (DMAEMA, CEMA, DMPT, DEPT i DABE) na stabilnost boje i translucenciju kod eksperimentalnih smeša BisGMA/TEGDMA (3:1). Materijal koji je sadržao DMAEMA je pokazao najbolja optička svojstva (nije pokazao crne i žute promene) a autori ističu da upotreba TPO inicijatora poboljšava stabilnost boje [126].

Luiz i sar. (2007) su potapali uzorke kompozita Charisma[®] nijanse A2 u sportska pića, jogurt, piće slično Coca-Cola[®] rastvoru i crveno vino na 7 dana. Merenja su vršena spektrofotometrom i analizirana u CIEL*a*b* sistemu boja. Klinički značajno prebojavanje se pokazalo kod uzoraka potapanih u crveno vino ($\Delta E > 3,3$), uzorci potapani u jogurt i piće slično Coca-Cola[®] rastvoru su bili u klinički prihvatljivim granicama ($1 < \Delta E < 3,3$), dok promena boje uzoraka potapanih u sportska pića nije bila vidljiva ljudskom oku ($\Delta E < 1$). Nije uočena hemijska reakcija između uzoraka i pića, što ukazuje na to da su promene u boji posledica procesa adsorpcije prebojavajućih komponenata iz pića [127].

Mikrotvrdoću različitih kompozitnih uzoraka (mikrohibridni, nanostrukturisani i keramikom-ojačani) nakon potapanja u različite vrste kafe ispitivali su *Awliya i sar. 2010. god.* Kao kontrolna grupa korišćeni su uzorci potapani u pljuvačku. Nisu pokazane razlike u mikrotvrdoći, ali su svi uzorci klinički značajno promenili boju, najviše oni potapani u espresso kafu [128].

Ayad i sar. (2007) su pratili prebojavanje tri glas jonomera (ojačan keramikom, ojačan smolom i klasični) i šest kompozita (nanostrukturisani, ormocer, tečni ormocer, mikrohibridni i tečni mikrohibridni). Ispitivanja su pokazala da kafa i čaj značajno više prebojavaju od Coca-Cola[®] rastvora, slično rezultatima pokazanim u ovoj studiji. Najstabilniji materijal na promenu boje u kafi i čaju je bio keramikom ojačan glas jonomer a u Coca-Cola[®] rastvoru nanostrukturisani kompozit [129].

Noie i sar. (1995) su ispitivali uticaj veštačkog starenja na smolaste kompozitne cemente. U studiji su korišćene tri nijanse tri različita cementa, i dvojno polimerizujuće i svetlosno polimerizujuće. Starenje je vršeno 179 sati, a merenja su dobijena spektrofotometrom. Porcelite[®] je pokazao najveću stabilnost boje, posle njega Optec[®] a zatim 3M[®]. Pet od ukupno šest nijansi 3M[®] cemenata su značajno promenile boju i postale tamnije prema žutoj boji. Dve svetlije nijanse Optec[®]-a i 3M[®]-a su promenile boju više nego tamnije nijanse. Većina razlika između svetlosno- i dvojno-polimerizujućih uzoraka je bila značajna, ali u granicama klinički prihvatljivih vrednosti [130].

Magne i sar. (1996) su skrenuli pažnju na klinički protokol i značaj svetline zuba i zasićenosti prilikom odabira odgovarajuće nijanse zubnih nadoknada [131].

Rytomaa i sar. (1988) su diskutovali o erozivnoj i prebojavajućoj sposobnosti pića koja su u svakodnevnoj upotrebi. Oni su napravili in vitro model svinjske zubne gleđi koji su izlagali rastvoru Coca-Cola[®] gaziranom napitku, pivu, soku od pomorandže, kafi sa šećerom i bez šećera, jogurtom sa ukusom jagode, maslenim mlekom, kiseloj vodi. Nakon izlaganja rastvorima, oni su te iste uzorke potapali u pljuvačku. Promene su pratili pod elektronskim mikroskopom. Zaključili su da pljuvačka nije značajno uticala na erozivne sposobnosti koje pića imaju na zubima [132].

Uticaj pH vrednosti na površinu materijala i sledstveno veću adsorpciju pigmenata *Fontes i sar. (2009)* su pokazali ispitivanjem nanopunjenog kompozita Filtek[®] Z350 [108]. Testirali su njegovu promenu boje nakon potapanja u kafu, sok od grožđa, lokalni energetski napitak i vodu. Samo je sok od grožđa značajno obojio uzorke iznad klinički prihvatljivog praga. Promena boje izazvana kafom i energetskim napitkom nije bila statistički značajna u odnosu na vodu.

Nuaimi i sar. (2014) su za cilj imali da ispituju promenu boje tri različita nanohibridna kompozita nakon izlaganja kafi i čaju tokom 30 dana. Merenja su vršena spektrofotometrom a rezultati izraženi CIEL*a*b* sistemom boja. Uz ograničenja in vitro studije Venus[®] Diamond je pokazao najveću stabilnost boje u čaju, dok je Ceram X[®] pokazao najveću otpornost na prebojavanje kafom. Zaključili su da ovi rastvori značajno utiču na promenu boje kompozita [133].

Uticaj polimerizacije na stabilnost boje kompozita je takođe često istraživan u dostupnoj literaturi. *Falkensammer i sar. (2013)* su u svom istraživanju koristili kolorimetar za procenu promene boje više različitih vrsta kompozita (dvojno polimerizujući self adhezivni cement, autopolimerizujući kompozit, dvojno polimerizujući kompozit, nanohibridni i mikrohibridni kompozit) nakon potapanja u crveno vino, crni čaj, hlorheksidin, sodu, ulje čajnog drveta i destilovanu vodu na 4 nedelje. Njihovi rezultati su pokazali veliku ukupnu promenu boje izazvanu crvenim vinom $\Delta E > 10$ a crnim čajem $\Delta E > 5.5$. Rastvori za ispiranje usta su prebojili uzorke u granicama kliničke prihvatljivosti. Dvojno polimerizujući kompoziti su pokazali značajno veću prijemčivost za prebojavajuće supstance [95].

Dos Santos i sar. (2010) su ispitivali uticaj lampi za polimerizaciju i prebojavajućih napitaka na nanopunjenom kompozitu Supreme[®] XT (3M) EDX analizom i SEM-om. Lampe korišćene u studiji su bile: XL 3000 (480 mW/cm(2)), Jet Lite 4000 Plus (1230mW/cm(2)) i Ultralume Led 5 (790 mW/cm(2)) a prebojavajući medijumi: veštačka pljuvačka, Coca-Cola[®], čaj i kafa. Uzorci su potapani po 5 minuta u periodu od 60 dana, tri puta dnevno. Između ovih perioda, uzorci su stajali u veštačkoj pljuvački. Kod uzoraka koji su stajali u veštačkoj pljuvački je homogeno razgrađen matriks, a na površini materijala se nataložio kalcijum. Na površini uzoraka potapanih u kafu su se nataložili joni, dok su se na površini uzoraka potapanih u čaj nataložili kalcijum, ugljenik, kalijum i fosfor. Coca-Cola[®] je uzrokovala taloženje kalcijuma, sode i kalijuma. Lampe za polimerizaciju nisu uticale na površinsku morfologiju testiranih kompozita ali testirani rastvori jesu, među kojima Coca-Cola[®] najviše [134].

Domingos i sar. (2011) su ispitivali uticaj svetlosti korišćene za polimerizaciju i prebojavajućih supstanci na stabilnost boje nanostrukturisanih kompozita. U istraživanju su korišćene tri različite lampe (halogena lampa, halogena lampa visoke snage i LED lampa) i 4 prebojavajuća medijuma (kafa, čaj, Coca-Cola[®] rastvor i veštačka pljuvačka) na period od 60 dana. Merenja su vršena spektrofotometrom i rezultati prikazani CIEL*a*b* koordinatama. Nisu pokazane razlike u promeni boje u odnosu na vrstu svetlosti korišćenu za polimerizaciju, a od svih napitaka kafa je pokazala najveću prebojavajuću sposobnost [135].

Janda i sar. (2005) su ispitivali uticaj lampi za polimerizaciju i vreme polimerizacije na stabilnost boje kompozita nakon suvog odlaganja, odlaganja u vodi i Suntest-a (EN ISO 7491). Ispitivani su kompoziti: Charisma[®], Durafill[®], Definite[®], Dyract[®] AP. Korišćene lampe u studiji su Translux Energy (20, 40 ili 60 sec) i Apollo 95E (3, 10 i 20 sec). Dobijeni su najbolji rezultati kod uzoraka polimerizovanih halogenim svetlom [102].

Eldiwany i sar. (1995) su izveli zaključak da dodatna svetlosna polimerizacija ne utiče značajno na promenu boje testiranih materijala. Clearfil[®] i True[®] Vitality su promenili boju više od Charisma[®], Conquest[®] C&B i Herculite[®] XRV. Autori su zapazili da nakon svetlosne polimerizacije, dodatno prosvetljavanje uzoraka ne izaziva značajne promene boje [136].

O uticaju ubrzanog starenja na promenu boje kompozita za indirektnu upotrebu su diskutovali *Nikzad i sar. (2012)* nakon što su uzorke in vitro izlagali UV starenju na 5 dana i poredili vrednosti sa grupama uzoraka potopljenih u kafu, čaj i Coca-Cola[®] rastvor na dve nedelje. Pokazali su da se boja kompozita za indirektnu upotrebu značajno menja nakon izlaganja ovim napicima [137].

Kolbeck i sar. (2006) su ispitivali pet kompozita za indirektnu izradu (Conquest Sculpture: Jeneric Petron, USA; Thermoresin LC: GC Corporation, J; Vita Zeta LC: Vita, G; Compo Plus: Degudent, G; belle Glass HP: SDS belle, G) i tri za direktnu izradu nadoknada (Definite: Degu Dent, G; Aristonp Hc: Ivoclar-Vivadent, FL; Spectrum TPH: De Trey Dentsply, G) koje su izlagali UV zračenju i nakon toga potapali u crveno vino. Kao kontrolna grupa služili su uzorci koji nisu bili zračeni. Uočeno je da UV zračenje može poboljšati otpornost ispitivanih kompozita na prebojavanje [138].

Quek i sar. (2018) su ispitivali promene boje kompozita za direktnu izradu (Filtek Z350XT), indirektnu izradu (Shofu Ceramage) i CAD/CAM (Shofu HC Block, Lava Ultimate, Vita Enamic) nakon potapanja u Coca-Cola[®] gazirani napitak, čaj, kafu, crveno vino i destilovanu vodu na 7 dana. Merenja su vršili spektrofotometrom. Svi testirani kompoziti su se prebojili u određenom iznosu. Crveno vino je izazvalo najveće promene u boji i translucenciji. Iako su CAD/CAM kompoziti pokazali bolju stabilnost boje u poređenju sa kompozitima za direktnu i indirektnu izradu, ipak su te promene bile u granicama iznad klinički prihvatljivih vrednosti. Oni su dali preporuku da se ograničenja ovih materijala u pogledu stabilnosti boje moraju uzeti u obzir prilikom izrade zubnih nadoknada [139].

Studija *Lee YK i sar. (2011)* je za cilj imala da uporedi promene u boji (ΔE) i koordinate boje (L^* , a^* i b^*) jednog kompozita za direktnu izradu (Estelite Sigma: 16 nijansi) i dva kompozita za indirektnu izradu (BelleGlass NG: 16 shades; Sinfony: 26 nijansi) nakon 5000 ciklusa termocikliranja. Merenja su vršena na spektrofotometru. Vrednosti ukupne promene boje su ostale u granicama klinički prihvatljivih vrednosti za sve testirane kompozite, dok su vrednosti koordinate boja L^* , a^* i b^* pokazale različitost u zavisnosti od vrste kompozita ($p < 0.05$). Kod indirektnih kompozita ΔE vrednosti su bile različite među različitim proizvođačima i nijansama. Autori su zaključili da kompoziti za direktnu i indirektnu primenu imaju sličnu stabilnost boje nakon 5000 ciklusa termocikliranja, ali da su njihove koordinate boje ipak različite [140].

Kim BJ i sar. (2008) su poredili dve vrste kompozita za indirektnu izradu nadoknada: BelleGlass[®] NG: 16 nijansi i Sinfony[®]: 26 nijansi sa odgovarajućim nijansama Vitapan[®] Classical ključa za boje. Za sve testirane materijale se može reći da su vrednosti svetline i zasićenosti bile u skladu s odgovarajućom grupom ključa za boje, ali ne i sa samom nijansom. Uočene razlike ΔE (14,7–23) su bile mnogo veće od klinički prihvatljivih vrednosti $\Delta E > 2,7$. Uočena neslaganja u nijansama između samih materijala i ključeva za boje se moraju uzeti u obzir prilikom izrade zubnih nadoknada [141].

Prema studiji *Quek i sar. (2018)* ni takozvani CAD/CAM kompoziti nisu otporni na prebojavanje [139].

Prilikom dizajniranja osmeha, odabir materijala za izradu nadoknada je od presudnog značaja koliko i razumevanje sastavnih delova osmeha, zuba, gingive i usana. Povlačenje gingive izaziva ne samo estetske probleme, već i probleme s održavanjem oralne higijene, nakupljanjem dentalnog plaka, govorom i osetljivošću zuba. Protetski pristup reprodukciji veštačke gingive podrazumeva upotrebu keramike, akrilata, silikona, poliamida i kompozitnih smola. Svaki materijal ima svoje prednosti i nedostatke kao i specifične indikacije [142-145]. Izrada gingivalnih nadoknada kompozitima pomaže u vraćanju prirodnijeg izgleda pacijenta. Prednost upotrebe kompozita nad ružičastim keramikama je u jednostavnosti direktne primene [143, 146].

Kao od kompozita boje zuba, od kompozita za rekonstrukciju gingive takođe se očekuje da održe boju stabilnom tokom vremena. Pod uslovima kakvi vladaju u usnoj duplji, često je to veliki problem, zbog izlaganja različitim pigmentima iz hrane i pića. Estetski neuspeh, posebno prebojavanje, jedan je od najčešćih razloga za zamenu kompozitnih nadoknada [147]. Prema podacima iz literature, najčešća pića koja prebojavaju su čaj, kafa i crveno vino.

Istraživanje koje su sproveli *Ho i sar. (2015)* se bazira na analizi varijacija boje zdrave gingive u odnosu na starost, pol i etničku pripadnost. Oni su zaključili da gingiva postaje svetlija usled starenja – L^* vrednosti su bile veće kod starijih osoba. Razlike u gingivalnoj boji nisu primećene u odnosu na polnu pripadnost [148].

Gawriolek i sar. (2012) su za cilj imali ispitivanje luminescencija, refleksija i stabilnosti boje kompozita i keramike, poliranih i nepoliranih uzoraka, nakon izlaganja određenim pićima (kafa, čaj, vino i voda). Kao materijal su koristili: IPS e.max[®] (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein); IPS Classic[®] (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein); Gradia[®] (GC Europe, Belgium); Sinfony[®] (3M ESPE, EUA). Intenzitet luminescencije prebojenih uzoraka je bio značajno manji nego u kontrolnoj grupi. Nepolirani uzorci su pokazali manju stabilnost boje [149].

Mundim i sar. (2010) su imali za cilj da ispituju promene u boji tri tipa kompozita: mikrohibridnih (Esthet-X[®]; Dentsply i Filtek Z-250[®]; 3M ESPE) i hibrid velike gustine (Surefil[®]; Dentsply) poliranih diskovima aluminijum-oksida (Sof-Lex[®]; 3M ESPE). Njihovi rezultati nisu ukazali na značajne razlike pre poliranja i nakon njega između uzoraka potopljenih u destilovanu vodu i Coca-Cola[®] rastvor. Potapanje uzoraka u kafu je prouzrokovalo klinički neprihvatljive promene boje, dok je njihovo ponovno poliranje nakon potapanja doprinelo smanjenju razlike do klinički prihvatljivih vrednosti [150].

Nassim i sar. (2010) su ispitivali potapanje tri vrste kompozita u tri različita pića u dva vremena. Oni su zaključili da se mikrohibridni kompozit najmanje prebojio. Mikropunjeni kompozit se najviše prebojio u destilovanoj vodi i Pepsi[®] rastvoru 7. i 30. dana. Nanokompozit se najviše prebojio u čaju 7. i 30. dana. Sugerisali su da sve napore treba polagati u što bolje poliranje kompozita, kao i da se pacijentima predoče mogućnosti prebojavanja usled dejstva različitih pića [151].

Bagheri i sar. (2005) su ispitivali uticaj prethodnog poliranja i potapanja u rastvore koji simuliraju hranu (destilovana voda, 1% alkohol i Crodamol) i ukazali na to da poliranje i prethodno izlaganje rastvorima koji simuliraju hranu kod većine materijala ne utiču značajno na prijemčivost za prebojavajuće čestice iz rastvora [78].

S druge strane, *Paravina i sar. (2005)* ističu da hrapavost površine može biti ključni faktor za prebojavanje kompozita, što u velikoj meri zavisi od stepena njihove poliranosti [152].

Gawriolek i sar. (2012) su takođe uočili da polirani uzorci pokazuju značajno manje prebojavanje u odnosu na nepolirane uzorke. Oni su poredili polirane i nepolirane kompozitne (Gradia[®] i Sinfony[®]) i keramičke (IPS Classic[®] i IPS e.max[®]) materijale nakon 5 dana potapanja u kafi, čaju, crvenom vinu i destilovanoj vodi. Keramički materijali su bili otporniji na prebojavanje u odnosu na kompozitne materijale. Kod njih vrednosti promene boje nisu prešle granicu kliničke prihvatljivosti ni nakon 5 dana, dok su se i polirani i nepolirani kompozitni materijali klinički značajno prebojili ($\Delta E > 3,3$) [149].

De Alencar i sar. (2014) su ispitivali promenu boje i površinske topografije nanopunjenog i nanohibridnog kompozita nakon izlaganja destilovanoj vodi, soku od grožđa, soku od akai bobica i crvenom vinu. Merenja boje su vršena posle 1, 2, 4, 8 i 12 sedmica, kao i nakon ponovnog poliranja. Najveće prebojavanje je primećeno na uzorcima nanokompozita potopljenim u crveno vino, a odmah posle njega u sok od grožđa. Sok od akai bobica je prebojio uzorke tek u dvanaestoj sedmici. Ponovno poliranje uzoraka je smanjilo ΔE vrednosti kod svih testiranih grupa [153].

Ren i sar. (2012) uradili *in vitro* istraživanje o uticaju procesa termocikliranja na prebojavanje kompozita svakodnevno konzumiranim napicima. Oni su ukazali na to da bi ovaj proces bio koristan kod razlikovanja površinske prebojenosti koja se može ukloniti četkanjem od onih dubljih prebojenosti koje redovnim održavanjem oralne higijene ne mogu biti eliminisane [103].

Luiz i sar. (2007) su ispitivali površinsku topografiju kompozita Charisma[®] putem nano indentacije, polarizovane laserom indukovane fluorescencije (PLF) i metodom adsorpcije/desorpcije nitrogen izotermom. Uzorke su na 7 dana potapali u sportska pića, jogurt, piće slično Coca-Cola[®] rastvoru i vinu. PLF metodom na uzorcima se ukazao veoma tanak sloj adsorbovanih pigmenata. Svako od testiranih pića je uticalo na promenu površinske topografije uzoraka [96].

6. POSTOJANOST FLUORESCENCIJE KOMPOZITNIH MATERIJALA

Reis i sar. (2007) su poredili fluorescenciju 10 različitih kompozita sa fluorescencijom zuba [154]. Fluorescencija se u njihovom istraživanju značajno razlikovala između kompozita i prirodne zubne supstance. *Lee i sar. (2005)* su ispitivali razlike u fluorescenciji između kompozita: Filtek[®] Supreme (3M ESPE, USA), Gradia[®] Direct (GC America, USA), Simile[®] (Pentron Clinical Technologies, USA), Palfique Estelite[®] (Tokuyama Dental, Japan), Vit-I-escence[®] (Ultradent Products, USA). Zaključili su da tri od testiranih pet kompozita imaju fluorescentna svojstva slična dentinu, ali je visina fluorescentnih pikova i njihovo mesto variralo među samim kompozitima [155]. *Silva i sar. (2014)* su za cilj imali ispitivanje intenziteta fluorescencije različitih kompozita i poređenje s intenzitetom fluorescencije zubnih tkiva. Testirali su materijale: Esthetic-X[®] (Dentsply, USA), Durafill[®] VX (Heraeus Kulzer, Germany), Filtek[®] Z-350 (3M ESPE, USA), Amelogen[®] Plus (Ultradent Products, USA), Charisma[®] Opal (Heraeus Kulzer, Germany). Od svih materijala Durafill[®] je pokazao najveće vrednosti intenziteta fluorescencije a Filtek[®] Z350 najmanje [156]. *Lima i sar. (2015)* su ispitivali fluorescenciju nekoliko različitih kompozita (Amelogen[®] (Ultradent Products, USA), Opallis[®] (FGM, Brazil), Filtek[®] Z250 i Filtek[®] Z350 XT (3M ESPE, USA), Brilliant[®] NG (Coltene/Whaledent, USA), Evolu-X[®] (Dentsply, USA)). Od svih testiranih kompozita, Amelogen[®] je pokazao fluorescenciju najbližnju tvrdim zubnim tkivima [157].

Ameer i sar. (2015) su ispitivali fluorescenciju kompozita različitih veličina punioca (Filtek[®] Z250, Filtek[®] Z250 XT i Filtek[®] Z350 XT (3M ESPE, USA)), pre i posle veštačkog starenja i poredili sa vrednostima humanih uzoraka gleđi i dentina. Dentalni kompoziti različitih veličina čestica punioca su pokazali različite vrednosti intenziteta fluorescencije [158].

Meller i sar. (2012) su vršili procenu fluorescentnih svojstava savremenih komercijalnih kompozita: Tetric[®] EvoCeram i Empress[®] Direct (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein), Esthet-X[®] HD, Ceram-X[®] Duo i Spectrum[®] (Dentsply, USA), EcuSphere[®] (DMG Chemisch-Pharmazeutische Fabrik, Germany), FiltekTM[®] Supreme XT i FiltekTM[®] Z250 (3M ESPE, USA), ENAMEL[®] Plus HFO/HRi (GDF, Germany), Amaris[®], Grandio[®] (VOCO, Germany), Venus[®], Venus[®] Diamond i Charisma[®] (Heraeus Kulzer, Germany), Miris2[®] (Coltene-Whaledent, Switzerland). Maksimum fluorescencije kompozita je postignut kada je kombinacija talasnih dužina ekscitacije i emisije bila približno ista. Svi testirani materijali su pokazali velike varijacije u intenzitetima fluorescencije. [32]. Fluorescencija različitih nijansi kompozita je bila predmet studije *Meller i sar. (2015)*. Od materijala su koristili: Miris[®] 2 (Coltene-Whaledent, Switzerland), Esthet-X[®] HD, Ceram-X[®] Duo, Spectrum[®] (Dentsply, USA), Ecu[®] Sphere (DMG Chemisch-Pharmazeutische Fabrik, Germany), ENAMEL[®] Plus HFO/HRi (GDF, Germany), Venus[®], Venus[®] Diamond, Charisma[®] (Heraeus Kulzer, Germany), Tetric[®] EvoCeram, IPS Empress[®] Direct (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein), FiltekTM[®] Supreme XT, FiltekTM[®] Z250 (3M ESPE, USA), Amaris[®] i Grandio[®] (VOCO, Germany). Maksimum fluorescencije je postignut kada su se približno izjednačile talasne dužine ekscitacije i emisije, ali sa različitim intenzitetima fluorescencije. [33].

U pokušaju imitiranja prirodne fluorescenije zuba *Alves i sar. (2010)* su dodavali kvantne čestice CdSe/ZnS komercijalnom kompozitu Charisma[®] (Heraeus Kulzer, Germany). Zaključili su da fluorescencija zavisi od koncentracije kvantnih čestica i može varirati usled promene veličine kvantnih čestica [159]. *Park i sar. (2007)* su dodavali fluorescentni izbeljujući agens u različitim koncentracijama eksperimentalnim smešama kompozita. Kao materijal su korišćene eksperimentalne smeše – Bis-GMA, UDMA i TEGDMA – u razmeri 1:1:1 prema težini. FWA (Fluorescentni izbeljujući agens) dodavan je u koncentracijama od 0,01, 0,05 i 0,1%. Kao kontrolna grupa je služila smeša bez dodatog agensa. Uočeno je da se fluorescencija održala nakon dodavanja fluorescentnog izbeljujućeg agensa, ali je on znatno uticao na fluorescentne pikove i njihovu lokalizaciju. Proces termocikliranja nije uticao na vrednosti fluorescencije [160].

Panzeri i sar. (1977) su za cilj imali da snime emisione spektre silikatnih cemenata, akrilatnih smola i kompozitnih smola pod UV osvetljenjem. Akrilatne smole i silikatni cementi su pokazali fluorescenciju sličnu fluorescenciji prirodnih zuba, dok su smole pokazale manju fluorescenciju. Uočili su da je glaziranje smanjilo fluorescenciju 50% [161].

Lee i sar. (2005) su za cilj imali da utvrde efekat površinskog zalivača i uklanjanje prebojenosti na fluorescenciju kompozita. Od materijala su koristili Filtek[®] Supreme (3M ESPE, USA), Gradia[®] Direct (GC America, USA), Simile[®] (Pentron Clinical Technologies, USA), Vit-I-escence[®] (Ultradent Products, USA). Zaključili su da aplikacija zalivača smanjuje fluorescenciju. Nakon prebojavanja, prvobitna fluorescencija se zadržala samo kod kompozita Filtek[®] Supreme [162].

Lee i sar. (2006) su ispitivali promene u opalescenciji i fluorescenciji kompozita nakon ubrzanog starenja. Od materijala su koristili Esthet[®] X i TH Spectrum[®] (Dentsply, USA), Filtek[®] Supreme (3M ESPE, USA), ICE[®] (SDI, Australia), Palfique Estelite[®] i Estelite[®] Sigma (Tokuyama Dental, Japan), Tetric[®] Ceram (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein). Zaključili su da se fluorescencija gasi nakon ubrzanog starenja od 150 kJ/m² [43].

Lee i sar. (2006) su želeli da odrede uticaj opalescencije i fluorescencije na transmisiju svetlosti kompozita u funkciji talasne dužine (410–750 nm). Oni su u svojoj studiji koristili materijale: Esthetic[®] X i TPH[®] Spectrum (Dentsply, USA), Filtek[®] Supreme (3M ESPE, USA), ICE[®] (SDI, Australia), Palfique[®] Estelite i Palfique[®] Estelite Sigma (Tokuyama Dental, Japan), Tetric[®] EvoCeram (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein). Rezultati su pokazali da se fluorescencija kompozita povećala s ukupnom transmisijom spektralne raspodele. Korelacija između parametara je varirala sa promenom talasnog opsega fluorescentnog (410–500 nm) i vidljivog dela spektra (510–750 nm) [163].

Lee i sar. (2007) su merili fluorescentnu emisiju i odgovarajuću promenu boje kompozita pod UV komponentom simulatora dnevne svetlosti. Zaključili su da UV komponenta utiče na boju fluorescentnih kompozita ali ne utiče na boju ne-fluorescentnih ili kompozita s ograničenom fluorescencijom (Filtek[®] Supreme) [10]. *Lim i sar. (2007)* su merili fluorescentnu emisiju i promenu boje različitih nijansi komercijalnih kompozita nakon uključivanja i isključivanja UV komponente. Fluorescentni kompoziti pod UV svetlošću su promenili boju prema plavoj i povećali svetlinu [164].

Takahashi i sar. (2008) su ispitivali intenzitet fluorescencije kompozita različitih opaknosti i translucencija nakon ubrzanog starenja. Testirali su materijale: 4 Seasons[®] (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein), Charisma[®] (Heraeus Kulzer, Germany), Esthet[®]-X (Dentsply, USA), Filtek[®] Supreme (3M ESPE, USA), Opallis[®] (FGM, Brazil), Vit-1-escence[®] (Ultradent Products, USA). Fluorescencija je smanjena nakon ubrzanog starenja kod svih materijala, osim kod kompozita Filtek[®] Supreme [42].

Polimerizacija takođe utiče na promenu fluorescencije kompozita. *Song i sar. (2008)* su merili opalescenciju i fluorescenciju kompozita (BelleGlass[®] NG (Kerr, USA), Estelite[®] Sigma (Tokuyama, Japan)) pre i posle polimerizacije i određivali uticaj materijala i nijanse [165].

Fluorescencija je ispitivana i na tečnim kompozitima. *Yu i sar. (2008)* su ispitivali optička svojstva tečnih kompozita (Estelite[®] Flow Quick i Estelite[®] Sigma (Tokuyama, Japan), Filtek[®] Z350) i poredili ih s odgovarajućom nijansom univerzalnog kompozita istog proizvođača (Unifil[®] Flow (GC, Japan), Gradia[®] Direct, Tetric[®] Flow i Ceram[®] (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein). Fluorescencija je uočena kod svih testiranih univerzalnih kompozita i samo kod dva tečna kompozita [166].

Levefer i sar. (2010) su za cilj imali ispitivanje optičke integracije i fluorescencije kompozita: Amaris[®], Grandio[®] (VOCO, Germany) i Ormocer[®] (eksperimentalni materijal, VOCO, Germany). Mikropunjeni hibridni kompozit je pokazao bolju optičku integraciju i fluorescenciju [167].

Fluorescentna svojstva ekstrahovanih humanih zuba ispitivana su u *in vitro* uslovima nakon tretiranja 40% hidrogen peroksidom. Pokazalo se da izbeljivanje značajno menja fluorescentna

svojstva intaktnih humanih zuba [168]. *Torres i sar. (2012)* su za cilj imali da ispituju efekat 20% i 35% hidrogen peroksidnih gelova na boju, opaknost i fluorescenciju kompozita: *Admira*[®], *Amaris*[®] i *Gradio*[®] (VOCO, Germany), *Estelite*[®] Sigma (Tokuyama Dental, Japan), *Esthetic*[®] X (Dentsply, USA), *Venus*[®] (Heraeus Kulzer, Germany), *Filtek*[®] Z 350 (3M ESPE, USA). Izbeljivači su uticali na fluorescenciju materijala, nezavisno od koncentracije gelova. Z350[®] je podlegao najvećim promenama fluorescencije [169]. *Bueno i sar. (2013)* su za cilj imali da ispituju efekat hidrogen peroksidnih gelova namenjenih za izbeljivanje zuba kod kuće i ordinacijsko izbeljivanje na fluorescenciju kompozita (4 Seasons[®] (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein) i Opallis[®] (FGM, Brazil)). Zaključili su da se fluorescencija razlikovala između podgrupa nakon 30 dana izlaganja gelovima. Gel sa koncentracijom hidrogen peroksida 7.5% je prouzrokovao najveće promene intenziteta fluorescencije kod 4 Seasons[®] kompozita [170].

U svojoj studiji *Güth i sar. (2013)* su hteli da uporede translucenciju i fluorescenciju 5 ručno izrađenih polimernih materijala, 11 CAD/CAM-proizvedenih polimernih materijala i staklo-keramičkog materijala. Polimeri izrađeni na konvencionalan i industrijski način su pokazali različitu translucenciju i fluorescenciju u poređenju sa staklo-keramikom iste boje [171].

Jablonski i sar. (2014) su želeli da kvantitativno uporede fluorescenciju kompozita i humanih zuba i da utvrde efekte veštačkog starenja na fluorescenciju. Od kompozita su koristili: 4 Seasons[®] (Ivoclar Vivadent, Liechtenstein), *Charisma*[®] (Heraeus Kulzer, Germany), *Esthetic*[®] X (Dentsply, USA), Opallis[®] (FGM, Brazil), *Vit-1-escence*[®] (Ultradent Products, USA), *Filtek*[®] Supreme (3M ESPE, USA). Starenje je smanjilo intenzitet fluorescencije svih kompozita, izuzev *Filtek*[®] Supreme. Opallis je pokazao sličnu fluorescenciju pre i posle termocikliranja [172].

Catelan i sar. (2015) su evaluirali intenzitet fluorescencije kompozita *Esthet-X*[®] (Dentsply, USA) u različitim slojevitim tehnikama kombinovanog sa površinskim zalivačima, nakon izlaganja supstancama koje prebojavaju. Rezultati su pokazali da se intenzitet fluorescencije kompozita razlikovao u različitim slojevima primene, kao i kod primene površinskog zalivača. Zaključili su da sastojci iz hrane utiču na smanjenje fluorescentnih svojstava [45].

III Ciljevi rada i hipoteze

Cilj istraživanja je bio da se ispituju boja i fluorescencija kompozitnih materijala i uporede sa bojom i fluorescencijom zuba, kao i da se ispita stabilnost boje i fluorescencije kompozitnih materijala.

Bliži ciljevi:

1. Ispitati početnu boju i fluorescenciju različitih komercijalnih kompozitnih materijala.
2. Ispitati fluorescenciju prirodnih zuba.
3. Analizirati promene u boji i fluorescenciji kompozitnih materijala za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada i izradu veštačke gingive, nakon potapanja u različite medijume.
4. Identifikovati prebojavajuće supstance iz pića odgovorne za promenu boje i fluorescencije kompozitnih materijala.
5. Odrediti koordinate boje zuba i kompozitnih materijala u CIEL*a*b* sistemu boja iz spektara difuzne refleksije za različite vrste osvetljenja.
6. Identifikovati i kvantifikovati unutrašnje promene na kompozitnom materijalu primenom metode Analize glavnih komponenata difuzne refleksije.
7. Uraditi komparativnu analizu promene boje i fluorescencije kod različitih komercijalnih kompozitnih materijala iste nijanse.
8. Uraditi komparativnu analizu promene boje kompozitnih materijala, različitih početnih nijansi, istog proizvođača.
9. Uraditi komparativnu analizu promene boje i fluorescencije kompozitnih uzoraka koji se polimerizuju intraoralno i onih koji se polimerizuju ekstraoralno.

U okviru analize naučne problematike promene boje i fluorescencije, zuba i kompozitnih materijala, postavljene su sledeće hipoteze:

- 1) Nema statistički značajne razlike u boji i fluorescenciji kompozitnih materijala nakon potapanja u medijume.
- 2) Nema statistički značajnih razlika u koordinatama boje CIEL*a*b* sistema, izmerenih spektara difuzne refleksije kompozitnih materijala za različite vrste osvetljenja.
- 3) Nema statistički značajne razlike između konvencionalne CIEL*a*b* i Analize glavnih komponenata.
- 4) Nema statistički značajne razlike u promeni boje i fluorescencije između različitih kompozitnih materijala iste nijanse.
- 5) Nema statistički značajne razlike u promeni boje kompozitnih materijala različitih početnih nijansi istog proizvođača.
- 6) Nema statistički značajne razlike u promeni boje i fluorescencije kompozitnih materijala koji se polimerizuju intraoralno i onih koji se polimerizuju ekstraoralno.

IV Materijal i metod

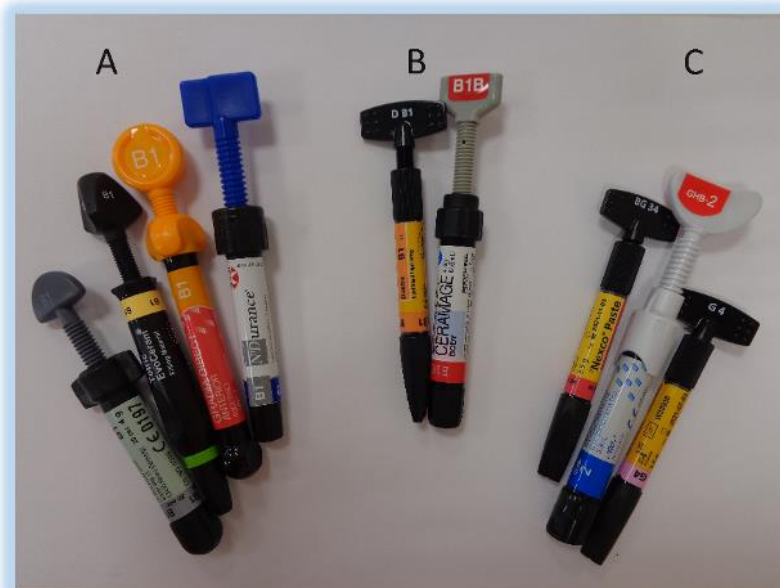
Eksperimentalna studija je obavljena *in vitro* u Institutu za nuklearne nauke Vinča Univerziteta u Beogradu i na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, u okviru projekta Materijali redukovane dimenzijalnosti za efikasnu apsorpciju svetlosti i konverziju energije III 45020 Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

7. ISPITIVANJE PROMENE BOJE I FLUORESCENCIJE KOMPOZITNIH MATERIJALA

U prvom delu istraživanja, vršeno je ispitivanje promene boje komercijalnih kompozitnih materijala namenjenih za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada i izradu veštačke gingive nakon izlaganja različitim prebojavajućim rastvorima u različitim vremenskim intervalima. Spisak korišćenih materijala je prikazan u Tabeli 3. i na Slici 5.

Tabela 3. Kompozitni materijali korišćeni u eksperimentalnoj studiji.

Namena	Kompozit	Proizvođač	Tip
<i>Za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada</i>	Gradia® Direct	GC Corp, Tokyo, Japan	Mikrohibridni
	Tetric® EvoCeram	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein	Nanohibridni
	N° Durance®	Septodont, Saint Maur des Fosses, FR	Nanohibridni
	Charisma®	Heraeus Kulzer, Wehrheim, Germany	Nanohibridni
<i>Za indirektnu izradu zubnih nadoknada</i>	Ceramage®	Shofu Dental, Kyoto, Japan	Mikrohibridni
	SR Nexco®	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein	Nanohibridni
<i>Za izradu veštačke gingive</i>	Gradia® Plus	GC Corp, Tokyo, Japan	Mikrohibridni
	SR Nexco®	Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein	Nanohibridni



Slika 5. Direktni kompoziti boje zuba (A), indirektni kompoziti boje zuba (B) i kompoziti za rekonstrukciju gingive (C) korišćeni u studiji

7.1. Priprema kompozitnih uzoraka

Kompozitni materijal unesen je špatulom u silikonski kalup oblika diska 13 mm u prečniku, debljine 1.5 mm, postavljen između dve staklene pločice debljine 1 mm i odvojen celuloidnim tračicama od samog stakla (Slika 6). Nakon pokrivanja gornje strane materijala drugom celuloidnom tračicom i staklenom pločicom, uzorci su polimerizovani u skladu sa preporukama proizvođača pri čemu je staklena pločica održavala konstantno rastojanje između lampe i uzorka od 1 mm.

Za polimerizaciju uzoraka kompozita namenjenih direktnoj i indirektnoj izradi i reparaturi zubnih nadoknada korišćena je LED lampa, Polywave Bluephase G2 (Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein) talasne dužine 385–515 nm (Slike 7. i 8). Intenzitet svetlosnog izvora je proveren stomatološkim radiometrom (Bluephase Meter[®], Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). Uzorci su polimerizovani levo, desno, gore i dole od centra, zatim u centralnom delu uzorka, na kraju još jednom kružnim pomeranjem kako bi ceo uzorak bio ravnomerno izložen svetlosnom izvoru prema ISO 4049:2009 standardu [173].

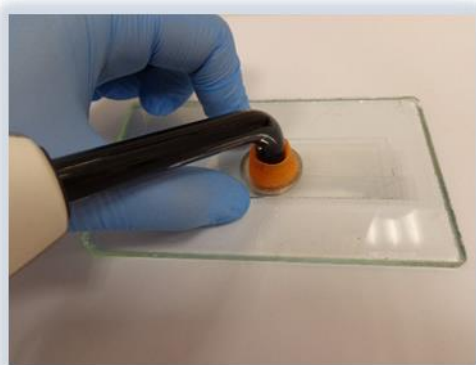
Za polimerizaciju uzoraka kompozita namenjenih indirektnoj izradi zubnih nadoknada je korišćena halogena lampa Speed Labolight (Hager Werken GmbH & Co. KG, Duisburg, Germany) talasne dužine 320–550 nm. Uzorci su bili 3 minuta ravnomerno sa svih strana izloženi svetlosnom izvoru prema preporuci proizvođača (Slike 9., 10. i 11).

Za polimerizaciju uzoraka namenjenih izradi veštačke gingive korišćena je ista Speed Labolight lampa, ali su uzorci duži vremenski period izlagani (5 minuta), prema preporuci proizvođača.

Odmah nakon polimerizacije, svi uzorci su pincetom uklonjeni iz kalupa i u vlažnoj sredini ispolirani diskovima: Super-Snap Buff (medium, soft, super soft i super buff) (Shofu Dent Corp, San Marcos, Japan), po 10 sec svakim. Nakon polimerizacije, svaki od uzoraka je potopljen u 15 ml destilovane vode i stavljen u vodeno kupatilo na 37° C u trajanju od 24 časa, prema ISO standardu. Svaki od uzoraka je ispran mlazom tekuće vode 10 sekundi i osušen papirnim ubrusom, nakon čega je stavljen u nosač uređaja za merenje i izvršena je serija merenja boje u svakoj od eksperimentalnih podgrupa. Na svakom uzorku su izvršena po tri merenja i srednja vrednost je izračunata.



Slika 6. Aplikacija materijala u kalup



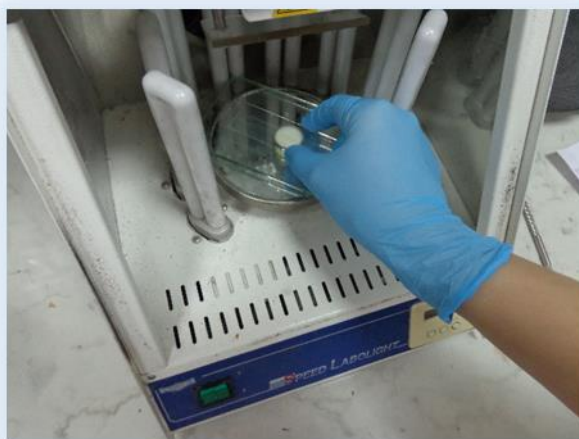
Slika 7. Polimerizacija uzoraka kroz staklo



Slika 8. Bluephase G2 lampa



Slika 9. Speed Labolight lampa



Slika 10. Unošenje uzoraka u lampu za polimerizaciju



Slika 11. Polimerizacija kompozita



Slika 12. Spektrofotometar Shimadzu UV-Visible UV-2600

Svaki od uzoraka kompozitnog materijala je postavljen u centralni deo nosača spektrofotometra Shimadzu UV-Visible UV-2600 (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) koji je opremljen integracionom sferom ISR-2600-Plus i korišćen za merenje difuznih refleksionih spektara odabranih kompozitnih materijala (Slika 12). Sva merenja su vršena u talasnom opsegu od 360 nm do 830 nm sa korakom od 1 nm. Refleksioni spektri su određeni u odnosu na supstance koje se smatraju belim standardom. Spektrofotometar je kalibrisan prema preporuci proizvođača koristeći BaSO₄ kao belu podlogu. Koordinate boje (L*, a* i b*) su izračunate iz izmerenih spektara difuzne refleksije, koristeći CIEL*, a*, b*sistem boja u odnosu na standardno osvetljenje (D65). Izmerene su vrednosti početne (kontrolne) boje na svakom uzorku po pet puta i srednja vrednost je izračunata.

7.2. Promena boje i fluorescencije kompozitnih materijala nakon izlaganja prebojavajućim napicima

7.2.1. Promena boje i fluorescencije kompozitnih materijala namenjenih za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada

7.2.1.1. Promene boje nakon potapanja u kafu, čaj, crveno vino, gazirani napitak i rastvor za ispiranje usta

Na način opisan u Poglavlju 7.1 pripremljeno je 168 uzoraka mikrohibridnog kompozita Gradia® Direct XBW nijanse. Kontrolnu grupu su činili nasumično izabrani uzorci ($n = 42$) koji nisu izlagani prebojavajućim rastvorima, već su stajali u destilovanoj vodi, dok su eksperimentalnu grupu činili uzorci potapani u rastvore ($n = 126$).

Pripremljeno je šest različitih rastvora na sledeći način: čaj (Black tea, English breakfast, Sir Winston company LTD, London, UK) – fabrički pripremljena vrećica čaja je potopljena u 150 ml ključale vode na 5 min, prema uputstvu proizvođača, kafa (Nescafe Classic, Nestle, Vevey, Switzerland – 3 g praha kafe je rastvoreno u 150 ml ključale vode), crveno vino (J. P. Chenet Cabernet Syrah, Petersbach, France), gazirani napitak (Coca-Cola® HBC, Zemun, Serbia), rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene (Colgate® plax cool mint, Colgate-Palmolive AG, Therwil, Switzerland) i destilovana voda. Eksperimentalna grupa uzoraka je podeljena u šest podgrupa ($n = 21$). Svi uzorci su potopljeni u 15 ml rastvora i stavljeni u vodeno kupatilo na temperaturi od 37° C. Rastvori su obnavljeni svakodnevno da bi se sprečila bakterijska kontaminacija. Posle 3 dana, uzorci su isprani pod mlazom tekuće vode, osušeni papirnim ubrusima, nakon čega su obavljena merenja. Svaki od uzoraka je stavljen u nosač spektrofotometra i izmerena je difuzna refleksija u tri serije identičnog vremenskog intervala. Kao referentni materijal za merenja je korišćen barijum sulfat. Na istom uređaju su izmereni i apsorpcioni spektri rastvora koji su korišćeni u eksperimentu. Po 2 ml svakog od rastvora je stavljeno u prozirnu kivetu uređaja i izmereno u talasnom opsegu od 250–550 nm. Koordinate boje su izračunate u CIEL*a*b* sistemu boja iz spektara difuzne refleksije za sedam različitih osvetljenja: D65 (Standardno Dnevno), A (volframsko), D50 (Podnevno/popodnevno osvetljenje), D75 (Severno Nordijsko osvetljenje), CW-Fluo (Hladno belo fluorescentno), WW-Fluo (Toplo belo osvetljenje), i HP (Lampe visokog pritiska).

Analiza glavnih komponenata je vršena šest puta za grupe uzoraka izložene različitim rastvorima kao i za grupu nepotapanih uzoraka i međusobno poređena. Analiza je vršena iz dobijenih matrica (npr. 63 uzoraka \times 401 koeficijent refleksije) korišćenjem jedinstvene vrednosti metoda dekompozicije i standardne procedure koja ne zahteva dodatna podešavanja kompjuterskih parametara [83]. Svaki PCA rezultat dao je grafikon i vektor sopstvenih vrednosti. Grafikon sopstvenih vrednosti (npr. 63 uzoraka \times broj glavnih komponenti) sadrži tačne koordinate svakog uzorka unutar PC koordinatnog sistema. Vektor sopstvenih vrednosti (npr. broj glavnih komponenti \times 401 koeficijent refleksije) pokazuje doprinos svake pojedinačne varijable glavnim komponentama. Izračunat je procenat kumulativne varijanse za svaku glavnu komponentu testiranih eksperimentalnih grupa. Svi proračuni su izvedeni u softverskom paketu Solo Version 6.5.4 (Eigenvector, 108 Inc., Chelan, WA, USA).

7.2.1.2. Promena boje i fluorescencije nakon potapanja u različite vrste piva

Na način opisan u Poglavlju 7.1 pripremljena su 84 uzorka mikrohibridnog kompozita Gradia® Direct XBW nijanse. Kontrolnu grupu su činili nasumično izabrani uzorci ($n = 12$) koji nisu izlagani prebojavajućim rastvorima, već su stajali u destilovanoj vodi, dok su eksperimentalnu grupu činili uzorci potapani u rastvore ($n = 72$).

Pet različitih vrsta piva: Bernard® (dark lager, Bernard Brewery, Czech Republic), Guinness® (extra stout, Guinness and Co., Ireland), Erdinger® (dunkel – dark wheat beer, Erdinger Weissbräu, Germany), Leffe® (brown abbey beer, NV/SA InBev, Belgium), Tuborg® (green – pilsner, Carlsberg Group, Denmark) i destilovana voda su korišćeni kao rastvori za potapanje. Eksperimentalna grupa je nasumično podeljena u 6 podgrupa ($n = 12$), potopljena u 15 ml svakog od navedenih rastvora i stavljena u vodeno kupatilo na 37°C na period od 14 dana. Rastvori su menjani svakodnevno kako bi se sprečila bakterijska kontaminacija. Nakon svakog perioda potapanja, uzorci su isprani tekućom vodom 10 sekundi i osušeni papirnim ubrusima pre njihovog merenja. Svaki od uzoraka je stavljen u nosač spektrofotometra i izmerena je difuzna refleksija na svakom uzorku u tri serije u jednom vremenu. Merenja su vršena u vremenskim intervalima 1 dan, 7 i 14 dana. Vrednosti boje su izračunate na prethodno opisan način u CIEL*, a^* , b^* sistemu boja. Kao referentni materijal za merenja je korišćen barijum sulfat i kao podloga ispod uzoraka (tablete barijum sulfata). Pre svakog merenja je snimljena bazna „idealna bela“ uz pomoć referentnog materijala.

Apsorpcioni spektri piva snimljeni su na istom uređaju u talasnom opsegu od (250–550) nm sa korakom od 1 nm nakon razređenja destilovanom vodom do pet puta kako bi se izbeglo zasićenje signala zbog jake apsorpcije.

Na istim uzorcima u istim vremenskim intervalima su vršena i merenja fluorescencije na spektrofluorometru, takođe u tri serije u jednom vremenu. Uzorci su centralno postavljeni u nosač spektrofluorometra u odnosu na snop svetlosti i merenja su vršena pre potapanja (kontrolna grupa) i 14 dana nakon potapanja (eksperimentalna grupa). EEM spektri su snimljeni u ekscitacionom opsegu od 270 nm do 550 nm i emisionom od 300 nm do 650 nm, sa korakom od 5 nm i 1 nm, redom. Ekscitacioni i emisioni proredi su podešeni na 3 nm sa vremenom akvizicije 0.07 sekundi. Intenzitet emisije je korigovan prema signalu sa detektora referentne fotodiode kako bi se nadoknadile promene u intenzitetu izvora. Ukupna emisija fluorescencije (TF) je izračunata kao ukupna zapremina ispod površine intenziteta fluorescencije u ekscitaciono-emisionoj ravni:

$$TF = \sum_{\lambda_{EX}=270nm}^{550nm} \sum_{\lambda_{EM}=300nm}^{650nm} I(\lambda_{EX}, \lambda_{EM})$$

Razlike u fluorescenciji su kvantifikovane kao procenat promene TF u poređenju sa TF referentnog:

$$\Delta TF(\%) = \frac{TF_{sample}}{TF_{reference}} \cdot 100$$

i izračunato je smanjenje ukupne fluorescencije. Uzorci su uslikani pre potapanja i 14 dana posle potapanja Canon digitalnom kamerom EOS 1200D pod različitim osvetljenjem – dnevno svetlo i UV i Intel QX3 kompjuterskim mikroskopom sa uveličanjem $10\times$ i $60\times$.

7.2.1.3. Promena boje i fluorescencije nakon potapanja u različita energetska pića i prirodne sokove

Na način opisan u Poglavlju 7.1 pripremljeno je 40 uzoraka mikrohibridnog kompozita Gradia® Direct XBW nijanse. Kontrolnu grupu su činili nasumično izabrani uzorci ($n = 5$) koji nisu izlagani prebojavajućim rastvorima već destilovanoj vodi, dok su eksperimentalnu grupu činili uzorci potapani u rastvore ($n = 35$).

Četiri energetska pića: GuaranaKick® (Knjaz Miloš, Serbia), Energi·s® (Frutti, Serbia (Sinalco International, Germany)), Burn® (Coca Cola HBC, Hungary), Red Bull® (Red Bull, Austria) i tri prirodna soka: sok od cvekle (Rote-Bete-Saft®, SchneeKoppe, Germany), sok od šargarepe (Mohrensaft®, SchneeKoppe, Germany), sok od aronije (Aronia®, Aroniada-Agro, Bulgaria) korišćena su kao rastvori za potapanje. Eksperimentalna grupa je nasumično podeljena u 7 podgrupa ($n = 5$). Uzorci su potopljani u 15 ml svakog od navedenih rastvora i stavljeni u vodeno kupatilo. Vreme potapanja je bilo 7 dana na temperaturi od 37° C kako bi se simulirali uslovi usne duplje. Rastvori su obnavljani svakodnevno kako bi se sprečila bakterijska kontaminacija. Nakon potapanja su uzorci isprani tekućom vodom 10 sekundi i pre merenja osušeni papirnim ubrusima. Svaki od uzoraka je stavljen u nosač spektrofotometra i izmerena je difuzna refleksija na svakom uzorku na način opisan u prethodnom eksperimentu. Apsorpcioni spektri rastvora za prebojavanje i fluorescencija kompozitnih uzoraka su snimljeni na istom uređaju i izračunati na isti način kao u prethodnom eksperimentu. Uzorci su uslikani pre potapanja i 7 dana posle potapanja Canon digitalnom kamerom EOS 1200D pod različitim osvetljenjem – dnevno svetlo i UV i Intel QX3 kompjuterskim mikroskopom s uvećanjem 10× i 60×.

7.2.1.4. Promena boje i fluorescencije različitih kompozitnih materijala iste nijanse nakon potapanja u čaj

Na način opisan u Poglavlju 7.1 napravljena su 84 uzorka pet različitih kompozitnih materijala namenjenih za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada: Charisma®, Gradia® Direct, Tetric® Evo Ceram, N'Durance®, iste nijanse (B1). Kontrolnu grupu su činili nasumično izabrani uzorci ($n = 12$) koji nisu izlagani prebojavajućim rastvorima, već su stajali u destilovanoj vodi, dok su eksperimentalnu grupu činili uzorci potapani u rastvore ($n = 72$).

Eksperimentalna grupa je podeljena u 4 podgrupe ($n = 18$) i svaka od njih je potopljena u 15 ml čaja (način pripreme opisan u podpoglavlju 2.1.1) na 37° C. Rastvor je svakodnevno obnavljan, kako bi se sprečila bakterijska kontaminacija. Nakon 7 dana, uzorci su izvađeni iz rastvora, 10 sekundi isprani mlazom tekuće vode i osušeni papirnim ubrusom. Boja i fluorescencija su izmerene i izračunate kao u prethodnim delovima eksperimenta. Uzorci su izmereni na Quesant Atomic Force Mikroskopu (Aguora Hills, CA), koji funkcioniše metodom tapkanja u vazduhu, opremljen standardnim silikonskim nastavcima (NanoAndMore GmbH, Wetzlar, Germany) i sa konstantnom silom od 40 N/m kako bi se procenile površinske karakteristike kompozitnih uzoraka. Nakon toga, uzorci su još jednom ispolirani na isti način, a odmah zatim ponovo su izmereni: boja, fluorescencija i površinska hrapavost na prethodno opisan način istom vremenskom intervalu.

7.2.1.5. Promena boje i fluorescencije istog kompozitnog materijala različitih početnih nijansi nakon potapanja u čaj i vino

Na način opisan u Poglavlju 7.1 napravljeno je 60 uzoraka kompozitnog materijala Gradia® Direct namenjenog za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada, pet različitih nijansi: A1, A3, B1, B3 i XBW. Kontrolnu grupu su činili nasumično izabrani uzorci ($n = 10$) koji nisu izlagani

prebojavajućim rastvorima, već su stajali u destilovanoj vodi, dok su eksperimentalnu grupu činili uzorci potapani u rastvore (n = 50).

Eksperimentalna grupa nasumično izabranih uzoraka je podeljena u 10 podgrupa (n = 5) od kojih je polovina potopljena u čaj, a druga polovina u vino (način pripreme opisan u podpoglavljju 2.1.1). Rastvori su svakodnevno obnavljani kako bi se sprečila bakterijska kontaminacija. Nakon 7 dana, uzorci su izvađeni iz rastvora, 10 sekundi isprani mlazom tekuće vode i osušeni papirnim ubrusom. Boja i fluorescencija su izmerene i izračunate kao u prethodnim delovima eksperimenta.

7.2.2. Promena boje kompozitnih materijala namenjenih za indirektnu izradu zubnih nadoknada u kafi, čaju i vinu

Na način opisan u Poglavlju 7.1 pripremljeno je 58 uzoraka indirektnih kompozita Ceramage® i SR NexCo® Paste nijanse B1. Kontrolnu grupu su činili nasumično izabrani uzorci (n = 10) koji nisu izlagani prebojavajućim rastvorima, već su stajali u destilovanoj vodi, dok su eksperimentalnu grupu činili uzorci potapani u rastvore (n = 48).

Eksperimentalna grupa je podeljena u 6 podgrupa (n = 8). Korišćena su tri rastvora za prebojavanje: kafa, čaj i vino (način pripreme opisan u podpoglavljju 2.1.1). Vreme potapanja je bilo 21 dan na temperaturi od 37° C kako bi se simulirali uslovi usne duplje. Rastvori su obnavljani svakodnevno, da bi se sprečila bakterijska kontaminacija. Nakon toga, uzorci su pre merenja ispirani tekućom vodom 10 sekundi i osušeni papirnim ubrusima. Difuzna refleksija je izmerena na spektrofotometru posle 3, 7, 14 i 21 dana potapanja i promena boje izračunata u CIEL*a*b* prostoru.

7.2.3. Promena boje i fluorescencije kompozitnih materijala za izradu veštačke gingive u kafi, čaju i vinu

U ovom eksperimentu su napravljena 84 uzorka kompozita za rekonstrukciju gingive SR NexCo® Paste Gingiva BG34, SR NexCo® Paste Gingiva G4 i Gradia® Plus GHB-2 (način pripreme opisan u Poglavlju 7.1). Kontrolnu grupu su činili nasumično izabrani uzorci (n = 12) koji nisu izlagani prebojavajućim rastvorima, već su stajali u destilovanoj vodi, dok su eksperimentalnu grupu činili uzorci potapani u rastvore (n = 72).

Devet eksperimentalnih podgrupa nasumično izabranih uzoraka je potopljeno u tri različita rastvora (n = 8): kafa, čaj i vino (način pripreme opisan u podpoglavljju 2.1.1). Vreme potapanja je bilo 21 dan na temperaturi od 37° C, kako bi se simulirali uslovi usne duplje. Rastvori su obnavljani svakodnevno, da bi se sprečila bakterijska kontaminacija. Nakon toga, uzorci su pre merenja isprani tekućom vodom i osušeni papirnim ubrusima. Difuzna refleksija i fluorescencija je izmerena posle 3, 7, 14 i 21 dana potapanja na ranije opisan način.

8. ISPITIVANJE FLUORESCENCIJE ZUBA

U drugom delu eksperimenta, vršena su spektroskopska merenja na humanim zubima različitih morfoloških grupa, ekstrahovanim iz ortodontskih, endodontskih, protetskih, parodontalnih ili oralno-hirurških razloga. Kontrolne grupe nije bilo, zato što se težilo utvrđivanju fluorescirajućih komponenti zuba i formiranju prikladnog modela za određivanje efekta fluorescencije. U ovoj studiji su izmerena 53 različita zuba (zdrava, sa karijesom, sa amalgamskim i kompozitnim plombama). Nakon dobijanja saglasnosti Etičkog odbora, uzorci zuba su prikupljeni iz Banke tkiva Stomatološkog fakulteta u Beogradu. Uklanjanje mekih tkiva sa korena zuba nakon ekstrakcije je obavljeno ultrazvučnim aparatom Pyon 2 (W&H Dentalwerk Bürmoos GmbH, Austria, (100–230) V). U skladu sa literaturnim pregledom [174], dalje tretiranje zuba je bilo sledeće: 1) svi zubi su nakon ekstrakcije čuvani u 0,2% timolu u frižideru na oko $T=+4^{\circ}\text{C}$ radi inhibicije razmnožavanja bakterija i gljivica i očuvanja mikrotvrdoće gleđi, 2) rastvor se obnavljao redovno, 3) zubi su se iz rastvora vadili isključivo radi merenja. Neposredno pre merenja, uzorci su isprani pod mlazem tekuće vode 10 sekundi i osušeni papirnim ubrusom.

Da bi se osigurali isti uslovi merenja i da bi se pratile vrednosti fluorescencije zuba, dva referentna materijala su korišćena: polimetil metakrilat (PMMA) Referentna fluorescencija #4 (Tetrafenilbutadien) i PMMA Referentna Fluorescencija #6 (Rodamine B), (Starna Cells, Atascadero, CA). S obzirom na varijacije zuba u veličini i obliku, merenje fluorescencije svih zuba je vršeno pod istim uslovima u istom vremenskom intervalu. Kako bi se u nosaču, pri merenju, osigurao isti položaj zuba, na mezijalnoj i distalnoj strani zuba je napravljeno par ureza okruglim dijamantskim svrdlom, u istom horizontalnom nivou 2 mm iznad cementno-gleđne granice. Zubi su postavljeni u nosač uređaja za merenje i svetlosni zrak je usmeren prema najkonveksnijem delu zuba. Na svakom zubu su vršena po tri merenja u tri serije i srednja vrednost je izračunata. Ekscitaciono-emisione matrice (EEM) uzoraka zuba su izmerene na Fluorolog-3-Model FL3-221 spektrofluorometru (Horiba Jobin Yvon) koristeći 450-W ksenonsku lampu kao izvor ekscitacije i R928 PMT kao detektor (Slika 13). EEM spektri zuba su snimljeni u ekscitacionom opsegu od 270 do 550 nm i emisionom između 300 nm i 650 nm, sa korakom od 5 nm i 1 nm, redom. Ekscitacioni i emisioni proredi su podešeni na 3 nm sa vremenom akvizicije 0.01 sekundi. Svi izmereni spektri su korigovani signalom sa referentnog detektora kako bi se kompenzovale promene u intenzitetu izvora svetlosti. Kako bi kvantifikovali razlike između izmerenih fluorescentnih spektara, zapremina ispod spektara je izračunata za svaki izmereni uzorak. Dobijeni spektroskopski podaci su modelirani pomoću multivarijantne tehnike – Paralelne faktorske analize. Na osnovu dvodimenzionalnih podataka, napravljen je trodimenzionalni PARAFAC model za klasifikaciju zuba prema njihovim fluorescentnim karakteristikama.



Slika 13. Spektrofluorometar Fluorolog-3-Model FL3-221

V Rezultati

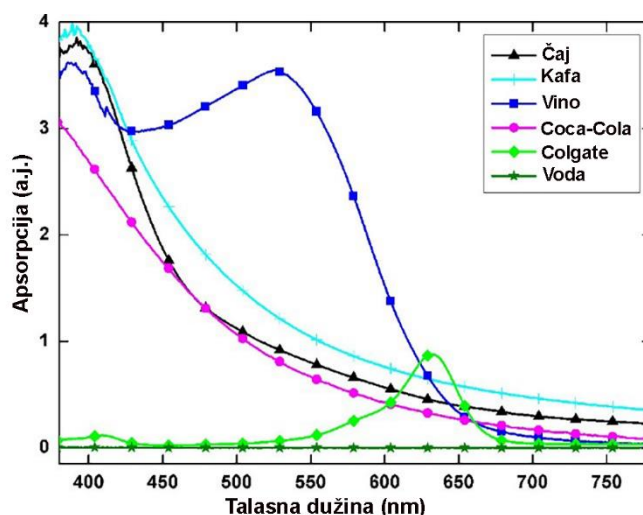
U ovom poglavlju su prikazani rezultati dobijeni analizom kompozitnih materijala i uzoraka zuba. U prvom delu su prikazani rezultati analize boje i fluorescencije kompozita, dobijeni pre potapanja uzoraka u različite napitke i nakon njega, a u drugom delu rezultati analize fluorescencije zuba.

9. REZULTATI ISPITIVANJA PROMENE BOJE I FLUORESCENCIJE KOMPOZITNIH MATERIJALA NAKON IZLAGANJA PREBOJAVAJUĆIM NAPICIMA

9.1. Kompozitni materijali namenjeni za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada

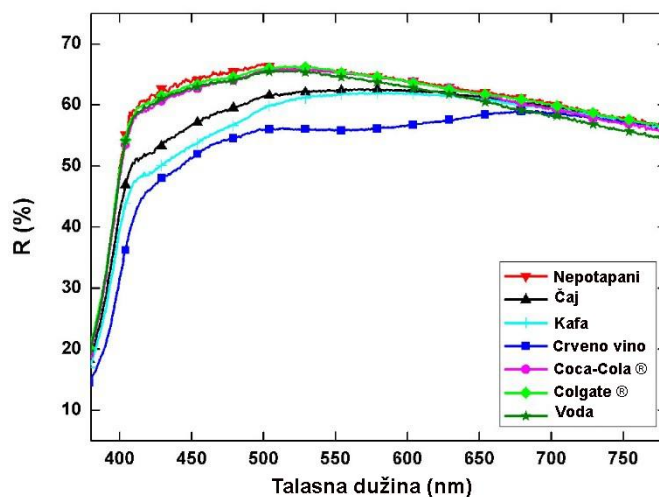
9.1.1. Potapanje u kafu, čaj, crveno vino, gazirani napitak, rastvor za svakodnevno ispiranje usta i destilovanu vodu

Uzorci kompozita su potopljeni u rastvore čiji su apsorpcioni spektri prikazani na Slici 14. Čaj, kafa, crveno vino i gazirani napitak su pokazali jaku apsorpciju u spektralnoj regiji od (380–500) nm. Crveno vino je pokazalo dodatni apsorpcioni pik na 530 nm. Rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene je pokazao manju apsorpciju u poređenju s drugim rastvorima, sa glavnim apsorpcionim pikom na 630 nm. Destilovana voda, kao kontrolni rastvor, nije pokazala nikakvu apsorpciju.



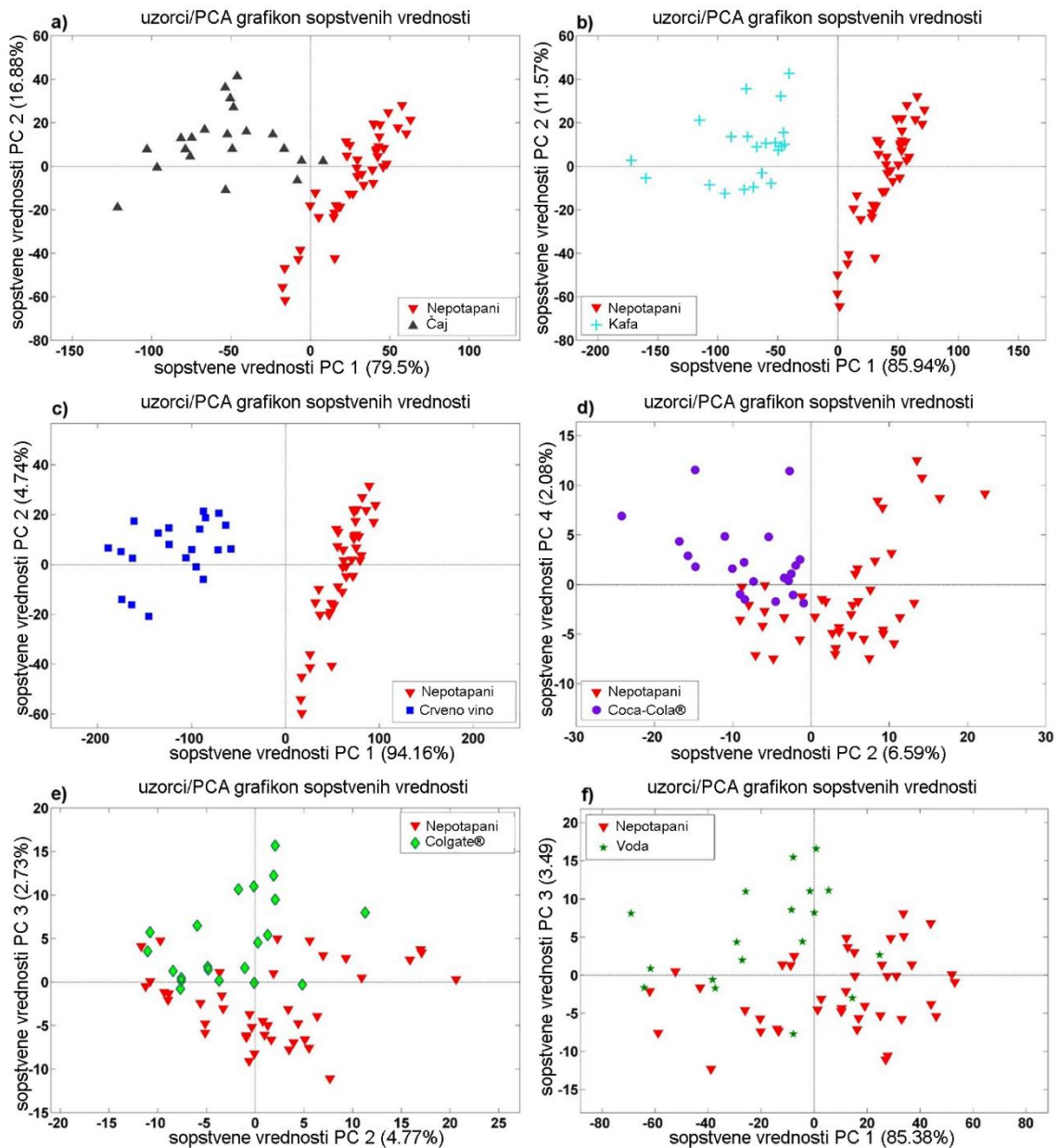
Slika 14. Apsorpcioni spektri rastvora za prebojavanje u opsegu 380–780 nm

Spektri difuzne refleksije kompozitnih uzoraka, nepotapanih i potapanih, prikazani su na Slici 15. Spektri su dobijeni nakon usrednjavanja spektara iste grupe. Grupe uzoraka potopljenih u kafu, crveno vino i čaj su se pokazale različitim u poređenju s grupama uzoraka potapanim u druge rastvore. Suptilne razlike u refleksionim spektrima uzoraka potopljenih u gazirani napitak i rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene u poređenju sa spektrima nepotapanih uzoraka se mogu uočiti u spektralnom opsegu od (400–550) nm.

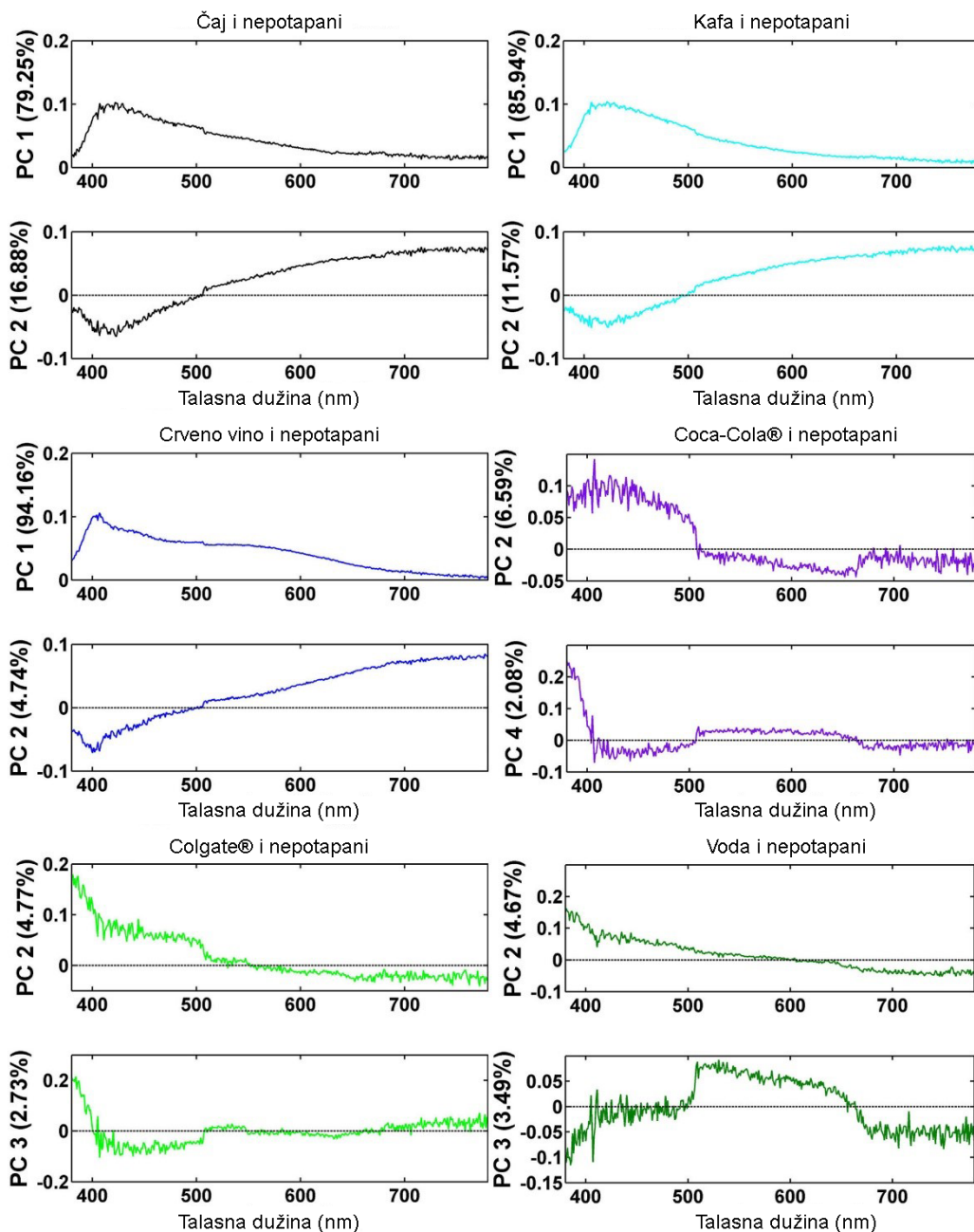


Slika 15. Refleksioni spektri nepotapanih uzoraka i uzoraka potapanih u rastvore

Slika 16 (a)-(f) pokazuje PCA grafikone sopstvenih vrednosti za šest grupa uzoraka: čaj, kafa, crveno vino, gazirani napitak, rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene i destilovanu vodu, redom, u poređenju s grupom nepotapanih uzoraka. Slično, Slika 17 (a)-(f) pokazuje PCA vektore glavnih komponenta.

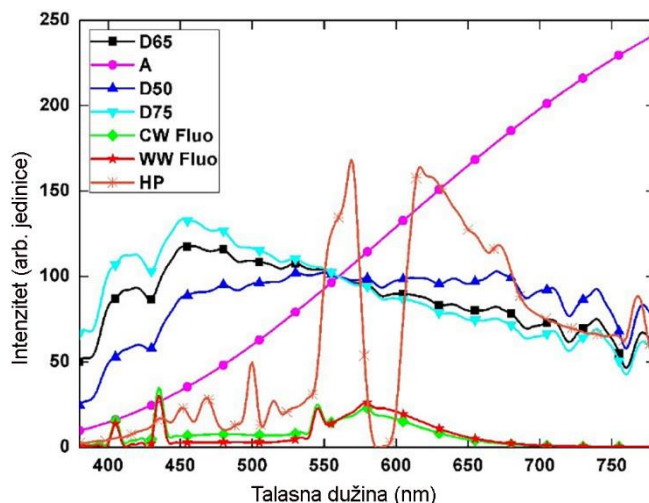


Slika 16. PCA grafikoni sopstvenih vrednosti kompozitnih uzoraka potopljenih u (a) čaj, (b) kafu, (c) crveno vino, (d) gazirani napitak, (e) rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene i (f) destilovanu vodu



Slika 17. PCA vektori koeficijena difuzne refleksije kompozitnih uzoraka potapanih u (a) čaj, (b) kafu, (c) crveno vino, (d) gazirani napitak, (e) rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene i (f) destilovanu vodu

Na Slici 18. je dat prikaz spektralnih karakteristika standardnih izvora osvetljenja: D65 (standardno dnevno), A (volframsko), D50 (srednje dnevno), D75 (Nordijsko osvetljenje), CW-Fluo (Hladna bela fluorescentna svetlost), WW-Fluo (Topla bela fluorescentna svetlost) i HP (Lampa visokog pritiska).



Slika 18. Spektralne karakteristike standardnih izvora osvetljenja: D65, A, D50, D75, CW-Fluo, WW-Fluo i HP

Srednje vrednosti koordinata boje za različite grupe (nepotapani, potapani u čaj, kafu, crveno vino, gazirani napitak, rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene i destilovanu vodu su date u Tabeli 4.

Tabela 4. Srednje vrednosti CIEL*, a*, b* koordinata boje nepotapanih i uzoraka potapanih u različite rastvore.

	L*	a*	b*
<i>Nepotapani</i>	84,5	-2,2	0,9
<i>Čaj</i>	82,9	-2,2	4,9
<i>Kafa</i>	82,5	-2,6	7,2
<i>Crveno vino</i>	79,7	-1,4	4,7
<i>Coca-Cola®</i>	84,5	-2,7	2,1
<i>Colgate®</i>	84,5	-2,7	1,6
<i>Voda</i>	84,1	-2,8	1,4

Iz Tabele 5. se mogu videti različite ukupne promene boje, zasićenosti i svetline kao i povećanje žute, odnosno smanjenje plave nijanse potapanih u odnosu na nepotapane uzorke.

Tabela 5. Ukupna promena boje (ΔE), zasićenosti (ΔC), svetline (ΔL^*), crveno/zelene nijanse (Δa^*) i žuto/plave nijanse (Δb^*) uzoraka kompozita potapanih u različite rastvore u poređenju sa nepotapanim uzorcima

	ΔE	ΔC	ΔL^*	Δa^*	Δb^*
<i>Čaj</i>	4,3	4,1	1,6	0	-4,1
<i>Kafa</i>	6,6	6,3	2,1	0,4	-6,3
<i>Crveno vino</i>	6,2	3,9	4,8	-0,9	-3,8

<i>Coca-Cola</i> [®]	1,3	1,3	0	0,5	-1,2
<i>Colgate</i> [®]	0,9	0,8	0,1	0,5	-0,7
<i>Voda</i>	0,8	0,7	0,4	0,5	-0,4

Tabele 6. i 7. prikazuju ukupne promene boje i zasićenosti kompozitnih uzoraka pod različitim osvetljenjem u poređenju sa standardnim D65. Najveća razlika u boji je primećena kod volframske (A) i lampe visokog pritiska (HP). Kod kompozitnih uzoraka potapanih u crveno vino i kafu ukupna promena boje je bila $\Delta E = 2$ a kod uzoraka potopljenih u čaj $\Delta E = 1.5$. Kod ostalih grupa ukupna promena boje je bila $\Delta E = 1$ što je na samoj granici percepcije golim okom. Razlika u boji primećena kod tople bele fluorescentne lampe (WW-Fluo) u poređenju sa standardnim D65 osvetljenjem je veća od 1 za sve testirane grupe (najveća kod uzoraka potopljenih u kafu $\Delta E = 2.2$, dok su kod hladne bele fluorescentne lampe (CW-Fluo) ove promene manje od 1, izuzev grupe uzoraka potopljenih u kafu kod kojih je ukupna promena boje $\Delta E = 1,2$. Iz prikazanih tabela može se primetiti da promena u zasićenosti boje kompozita doprinosi skoro celokupnoj promeni boje.

Tabela 6. Ukupna promena boje uzoraka kompozita pod različitim osvetljenjem u poređenju sa standardnim D65

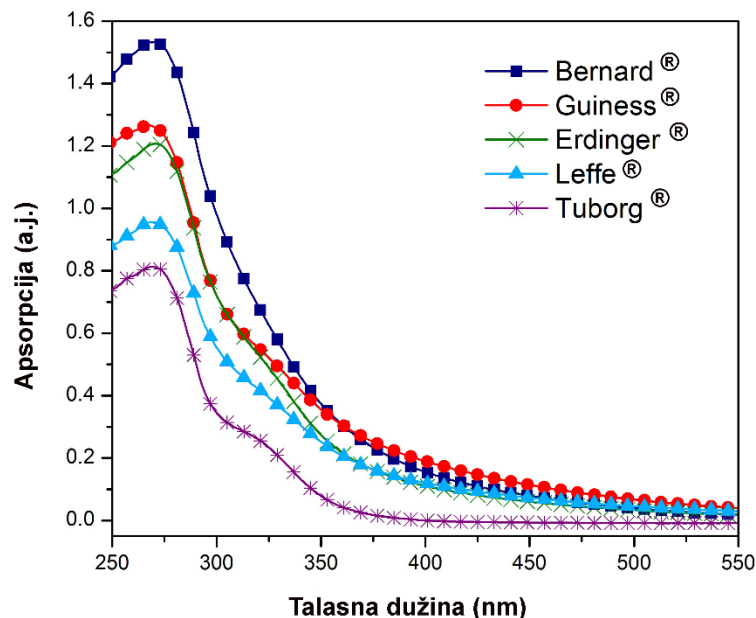
	A	D50	D75	CW Fluo	WW Fluo	HP
<i>Nepotopljeni</i>	0,8	0,2	0,1	0,7	1,1	0,8
<i>Crveno vino</i>	2,1	0,8	0,4	0,8	1,8	2,3
<i>Voda</i>	0,9	0,3	0,1	0,9	1,3	0,9
<i>Čaj</i>	1,7	0,7	0,4	0,9	1,8	1,6
<i>Colgate</i> [®]	0,9	0,3	0,1	0,9	1,2	0,9
<i>Kafa</i>	2,2	0,9	0,5	1,2	2,2	2,1
<i>Coca-Cola</i> [®]	0,9	0,3	0,2	0,9	1,3	1,1

Tabela 7. Promena zasićenosti kompozitnih uzoraka pod različitim osvetljenjem u poređenju sa standardnim D65

	A	D50	D75	CW Fluo	WW Fluo	HP
<i>Nepotopljeni</i>	0,7	0,2	0,1	0,7	1,1	0,8
<i>Crveno vino</i>	2,1	0,8	0,4	0,8	1,8	2,2
<i>Voda</i>	0,8	0,3	0,1	0,9	1,3	0,9
<i>Čaj</i>	1,7	0,7	0,4	0,9	1,8	1,6
<i>Colgate</i> [®]	0,9	0,3	0,1	0,9	1,2	0,9
<i>Kafa</i>	2,2	0,9	0,5	1,2	2,2	2,1
<i>Coca-Cola</i> [®]	0,9	0,3	0,2	0,9	1,3	0,9

9.1.2. Potapanje u različite vrste piva

Apsorpcioni spektri različitih vrsta piva, koje su korišćene kao rastvori za potapanje uzoraka kompozita su prikazani na Slici 19. Spektri pokazuju jaku apsorpciju u opsegu od 250 nm do 450 nm.



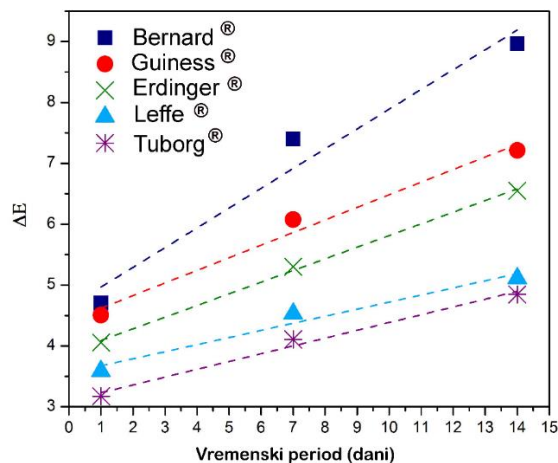
Slika 19. Apsorpcioni spektri različitih vrsta piva koja su korišćena u eksperimentu

U Tabeli 8. su predstavljene srednje vrednosti koordinata boje za svaku od grupa nakon 14 dana potapanja. Može se uočiti da su najveće promene u plavom delu spektra gde je vrednost b^* u porastu kao rezultat smanjenja plave nijanse. Ukupna promena u boji je najznačajnija u grupi uzoraka potopljenih u Bernard[®] i Guinness[®] pivo, dok je najmanja bila u grupi potopljenoj u Tuborg[®]. Ovo se moglo i pretpostaviti jer su Bernard[®] i Guinness[®] rastvori tamne boje, dok je Tuborg[®] najsvetliji. Kao što se može videti kod piva korišćenog kao rastvora za potapanje, glavni uticaj na ukupnu promenu boje ima promena u zasićenosti, a ne u svetlini.

Tabela 8. Srednje vrednosti i standardna greška koordinata boje za svaku od grupa nakon 14 dana potapanja

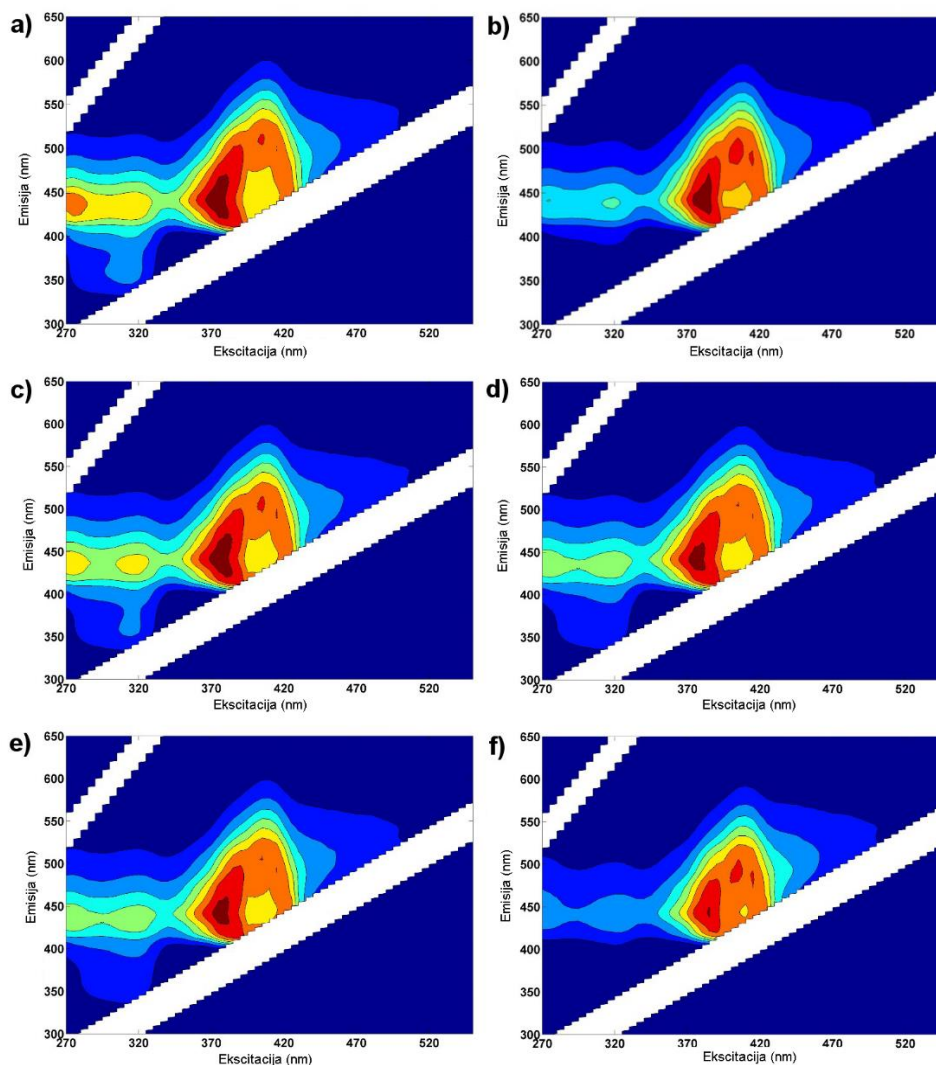
	L^*	a^*	b^*	ΔE^*	ΔC^*	ΔH^*
<i>Destilovana voda</i>	84,4 ± (0,3)	-2,5 ± (0,1)	1,1 ± (0,1)	0,4 ± (0,1)	0,2 ± (0,1)	-0,3 ± (0,1)
<i>Bernard[®]</i>	84,5 ± (0,3)	-3,5 ± (0,3)	9,8 ± (0,4)	9,0 ± (0,8)	7,9 ± (0,3)	-4,1 ± (0,4)
<i>Erdinger[®]</i>	85,1 ± (0,4)	-2,8 ± (0,2)	7,4 ± (0,6)	6,5 ± (0,5)	5,5 ± (0,6)	-3,5 ± (0,5)
<i>Guinness[®]</i>	84,2 ± (0,3)	-2,5 ± (0,3)	8,1 ± (0,7)	7,2 ± (0,6)	6,1 ± (0,6)	-3,8 ± (0,5)
<i>Leffe[®]</i>	84,7 ± (0,3)	-2,2 ± (0,1)	6,0 ± (0,6)	5,1 ± (0,6)	3,9 ± (0,6)	-3,2 ± (0,6)
<i>Tuborg[®]</i>	84,9 ± (0,2)	-2,5 ± (0,1)	5,7 ± (0,2)	4,9 ± (0,3)	3,8 ± (0,2)	-2,9 ± (0,2)

Slika 20. prikazuje ukupnu promenu boje za različite periode potapanja uzoraka. Kao što se može primetiti nakon 14 dana potapanja, značajna je ukupna promena boje sa blagom stagnacijom između 2. i 7. dana kod uzoraka potopljenih u Erdinger[®], Leffe[®] i Tuborg[®] i blago opadanje kod preostala dva.



Slika 20. Ukupna promena boje kompozita potopljenih u različita piva 1, 7 i 14 dana

Slika 21. prikazuje konturne grafikone EEM spektara izmerenih pojedinačno za jedan uzorak svake grupe: a) referentni uzorak, b) Tuborg[®], c) Leffe[®], d) Guinness[®], e) Erdinger[®] i f) Bernard[®]. Razlika između EEM spektara različitih grupa može lako biti uočena u ekscitacionom i emisionom opsegu od (270–340) nm i (400–480) nm, redom. U ovom regionu se jasno uočava smanjenje fluorescentnog signala za sve ispitivane rastvore. Kako bi se kvantifikovalo ovo smanjenje, zapremina ispod ove fluorescentne regije je izračunata (Tabela 9).



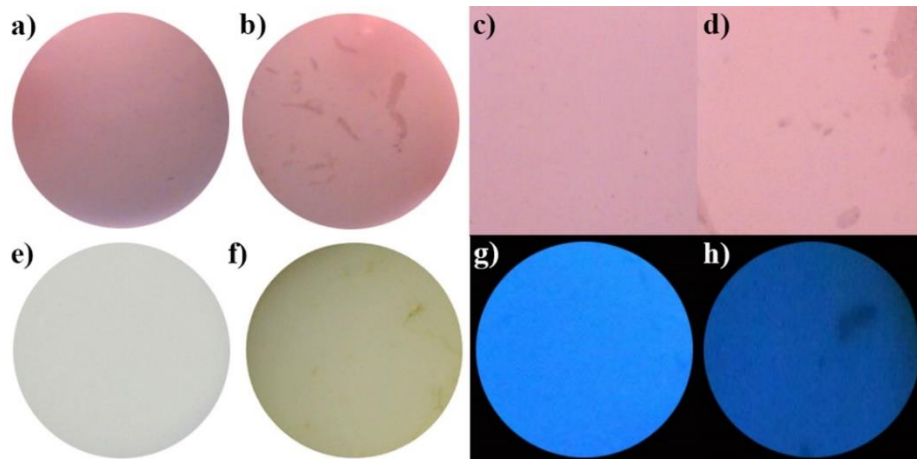
Slika 21. Fluorescencija kompozita potopljenih u različita piva 14 dana: konturni grafikoni EEM (A) referentnog uzorka, uzorka potopljenih u (B) Tuborg[®], (C) Leffe[®], (D) Guinness[®], (E) Erdinger[®], (F) Bernard[®] (Bele trake predstavljaju spektralne regije sa Rejljevijevim rasejanjem.)

Ukoliko posmatramo smanjenje zapremine (Tabela 9), možemo primetiti da je nakon potapanja uzorka fluorescentni signal smanjen i do 57,6% za uzorke potopljene u Bernard[®], što pokazuje značajan uticaj ispitivanih rastvora na fluorescentna svojstva kompozita.

Tabela 9. Smanjenje ukupne fluorescencije kompozita potopljenih u piva

	Smanjenje ukupne fluorescencije	p-vrednosti
<i>Bernard</i> [®]	57,6%	9.5×10^{-7}
<i>Erdinger</i> [®]	36,4%	9.8×10^{-6}
<i>Tuborg</i> [®]	36,3%	1.6×10^{-5}
<i>Guinness</i> [®]	22,4%	2.0×10^{-4}
<i>Leffe</i> [®]	9,1%	1×10^{-2}

Slike uzoraka potopljenih u destilovanu vodu (Slika 22 a, b, e i f) i Bernard[®] pivo (Slika 22 c, d, g i h) pod različitim osvetljenjem i mikroskopom su predstavljene na Slici 22. Slike sa mikroskopa pod uvećanjem 10x (Slika 22a i Slika 22c) i 60x (Slika 22b i Slika 22d) prikazuju jasne razlike između ova dva uzorka. Dok uzorak potopljen u destilovanu vodu nema nikakvih površinskih prebojenosti, blage promene boje su uočljive na drugom uzorku sa vidljivim mrljama na površini usled dejstva rastvora u kojem je bio potopljen. Ove promene se takođe mogu uočiti i na slikama pod UV lampom (Slika 22f i Slika 22h) kao i na dnevnoj svetlosti (Slika 22e i Slika 22g). Slike na dnevnoj svetlosti pokazuju značajnu promenu u boji.



Slika 22. Slike uzoraka potopljenih 14 dana u destilovanu vodu (A, C, E i G) i Bernard pivo (B, D, F i H) uslikane mikroskopom sa uvećanjem 10× (A i B), 60× (C i D) i digitalnom kamerom pod različitim osvetljenjem – dnevno svetlo (E i F) i UV (G i H)

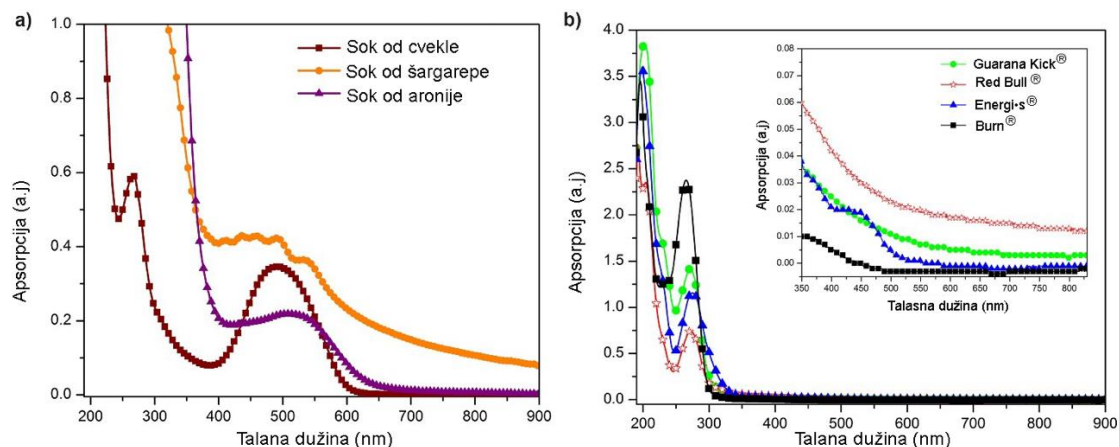
9.1.3. Potapanje u različita energetska pića i prirodne sokove

Koordinate boje, vrednosti ukupne promene boje (ΔE), svetline (ΔL) i zasićenosti (ΔC) su prikazane u Tabeli 10. Prebojavanje prirodnim sokovima je smanjilo svetlinu i promenilo koordinate boje kompozita. Ukupna promena boje je time uslovljena promenom svetline i zasićenosti i bila je najveća ($\Delta E = 9,3$) za uzorke potapane u sok od aronije. Prebojavanje energetskim pićima je neznatno promenilo koordinate boje, ali nije promenilo svetlinu. Najizraženija promena $\Delta E = 2,8$ je zabeležena kod Burn[®]-a.

Tabela 10. Srednje vrednosti CIEL* a* b* koordinata boje kompozita nakon sedmodnevnog potapanja u prirodnim sokovima i energetskim pićima; ukupna promena boje (ΔE^*), svetline (ΔL^*) i zasićenosti (ΔC^*)

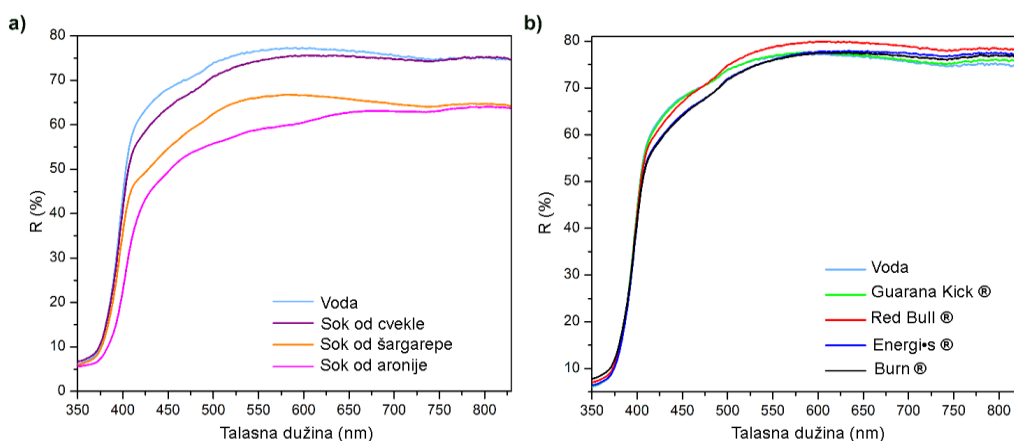
	L*	a*	b*	ΔE^*	ΔL^*	ΔC^*
<i>Voda</i>	89,9	-1,9	6,7	-	-	-
<i>Sok od cvekle</i>	88,8	-1,9	8,4	2,1	1,1	1,7
<i>Sok od šargarepe</i>	84,7	-3,1	9,5	6,1	5,2	3,1
<i>Sok od aronije</i>	81,1	-1,3	9,2	9,1	8,8	2,3
<i>Guarana[®]</i>	89,9	-2,1	7,1	0,4	0	0,4
<i>Red Bull[®]</i>	90,8	-2,2	8,9	2,4	-0,9	2,2
<i>Energi-s[®]</i>	89,6	-1,8	9,2	2,6	0,3	2,5
<i>Burn[®]</i>	89,5	-1,9	9,3	2,7	0,4	2,5

Slika 23. predstavlja apsorpcione spektre rastvora korišćenih u ovoj studiji u rasponu od (220–900) nm. Svi rastvori su pokazali jaku apsorpciju u UV spektralnom delu (< 400 nm). Energetska pića pokazuju dobro definisan pik na ~280 nm, Slika 23b. U vidljivom delu spektra prirodni sokovi pokazali su umerenu apsorpciju, Slika 23a, dok su energetska pića pokazala veoma niske vrednosti (Slika 23b). Poredeći ukupnu apsorpciju, među prirodnim sokovima, aronija je pokazala najjaču apsorpciju, a cvekla najmanju. Među energetskim pićima, Burn[®] je pokazao najveću a Guarana Kick[®] najmanju apsorpciju. Destilovana voda je korišćena kao referentni uzorak i kao takva nije pokazala nikakvu apsorpciju.



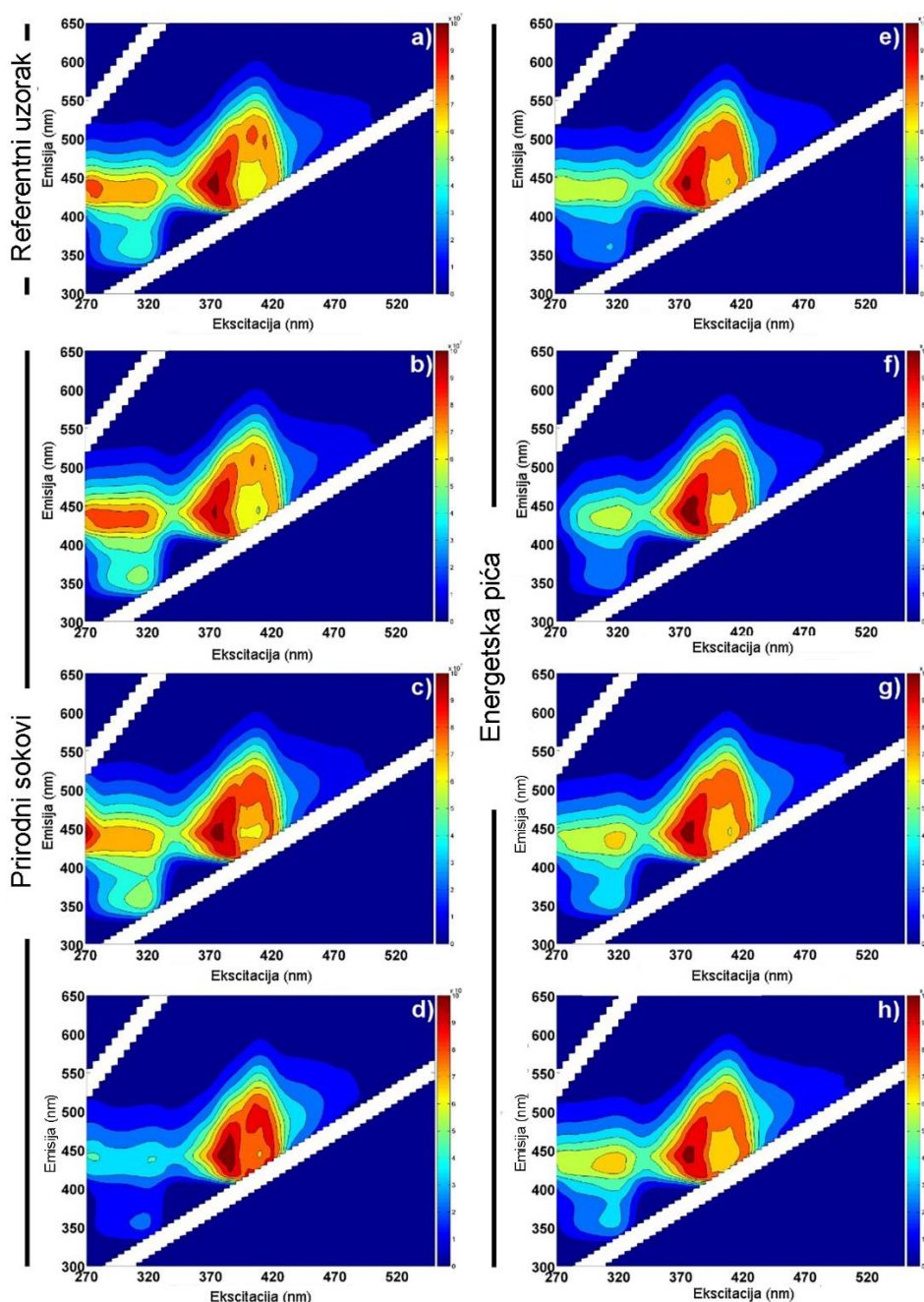
Slika 23. Apsorpcioni spektri: a) prirodnih sokova: od cvekle (braon linija), šargarepe (narandžasta linija) i aronije (ljubičasta linija); b) energetskih pića: Guarana Kick[®] (zeleno linija), Red Bull[®] (crvena linija), Energi-s[®] (plava linija) i Burn[®] (crna linija)

Difuzni refleksijski spektri kompozitnih uzoraka su izmereni u talasnom opsegu od (350–850) nm. Na Slici 24.a su prikazani spektri uzoraka potapanih u prirodne sokove, a na Slici 24.b spektri uzoraka potapanih u energetska pića.



Slika 24. Difuzni refleksijski spektri kompozitnih uzoraka potapanih u: a) prirodne sokove: vodu (referentna, plava linija), sok od cvekle (ljubičasta linija), šargarepe (narandžasta linija) i aronije (ružičasta linija); b) različita energetska pića: vodu (referentna, plava linija), Guarana Kick[®] (zeleno linija), Red Bull[®] (crvena linija), Energi-s[®] (tamno plava linija), Burn[®] (crna linija)

Fluorescentni EEM spektri dobijeni od uzoraka potapanih u prirodne sokove i energetska pića su prezentovani na Slici 25. Za sve uzorke se mogu izdvojiti dva karakteristična pika, prvi od 270 nm do 340 nm, i drugi od 360 nm do 470 nm. Obe ekscitacije proizvele su emisije u spektralnoj regiji 350–550 nm, sa najvećim intenzitetom plave emisije na oko 450 nm.



Slika 25. Fluorescentni EEM spektri uzoraka nakon sedmodnevnog potapanja u prirodne sokove i energetska pića, sa referentnim uzorcima potopljenim u destilovanu vodu: uzorci potopljeni u a) destilovanu vodu, b) sok od cvekle, c) šargarepe, d) aronije, e) Guarana Kick[®], f) Red Bull[®], g) Energy[®], h) Burn[®]

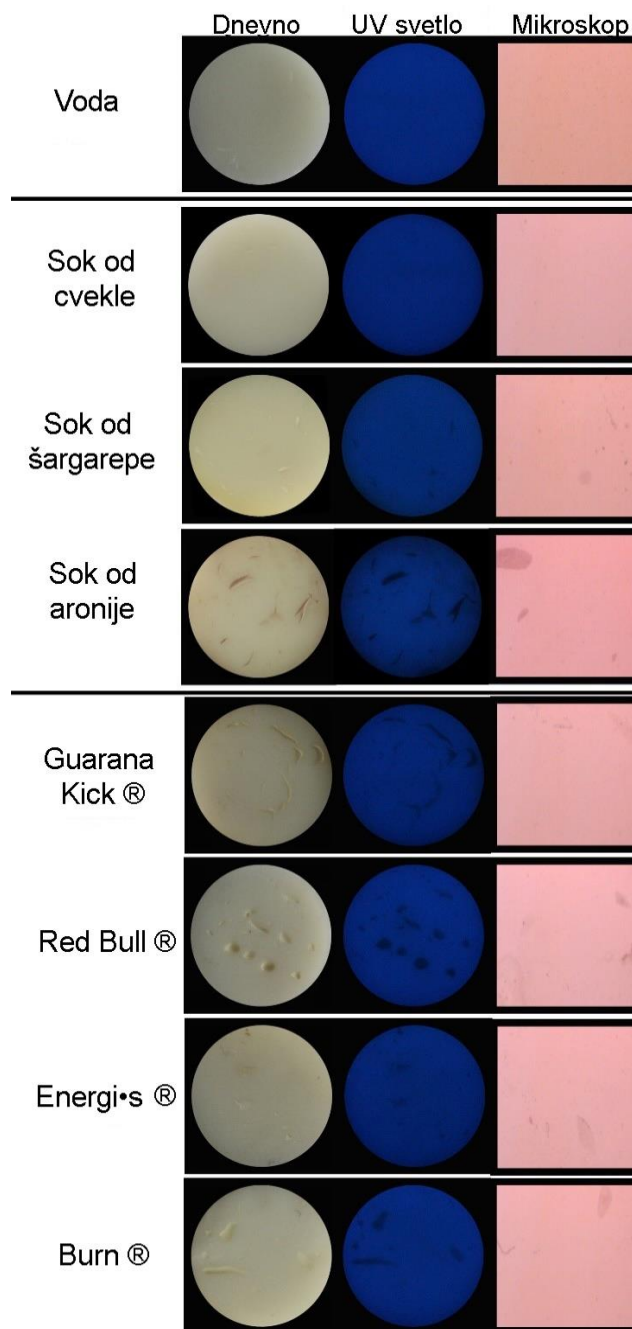
Promene fluorescencije kompozita uzrokovane prebojavanjem su kvantifikovane kao relativna razlika ukupne fluorescencije potapanih uzoraka nasuprot referentnim uzorcima (potopljenim u vodu), Tabela 11. Što se tiče prebojavanja prirodnim sokovima, jedino je kompozit potopljen u sok od aronije pokazao smanjenje fluorescencije (28%). Sa druge strane, kod svih uzoraka potopljenih u energetska pića, došlo je do velikog smanjenja fluorescencije, gde je najveća vrednost 25% primećena kod uzoraka potapanih u Red Bull[®] (Tabela 11).

Tabela 11. Smanjenje ukupne fluorescencije kompozita nakon sedmodnevnog izlaganja prirodnim sokovima i energetskim pićima

Smanjenje ukupne fluorescencije

<i>Sok od aronije</i>	28 %
<i>Sok od cvekle</i>	~ 0 %
<i>Sok od šargarepe</i>	~ 0 %
<i>Red Bull</i> [®]	25 %
<i>Guarana Kick</i> [®]	20 %
<i>Burn</i> [®]	14 %
<i>Energi-s</i> [®]	13 %

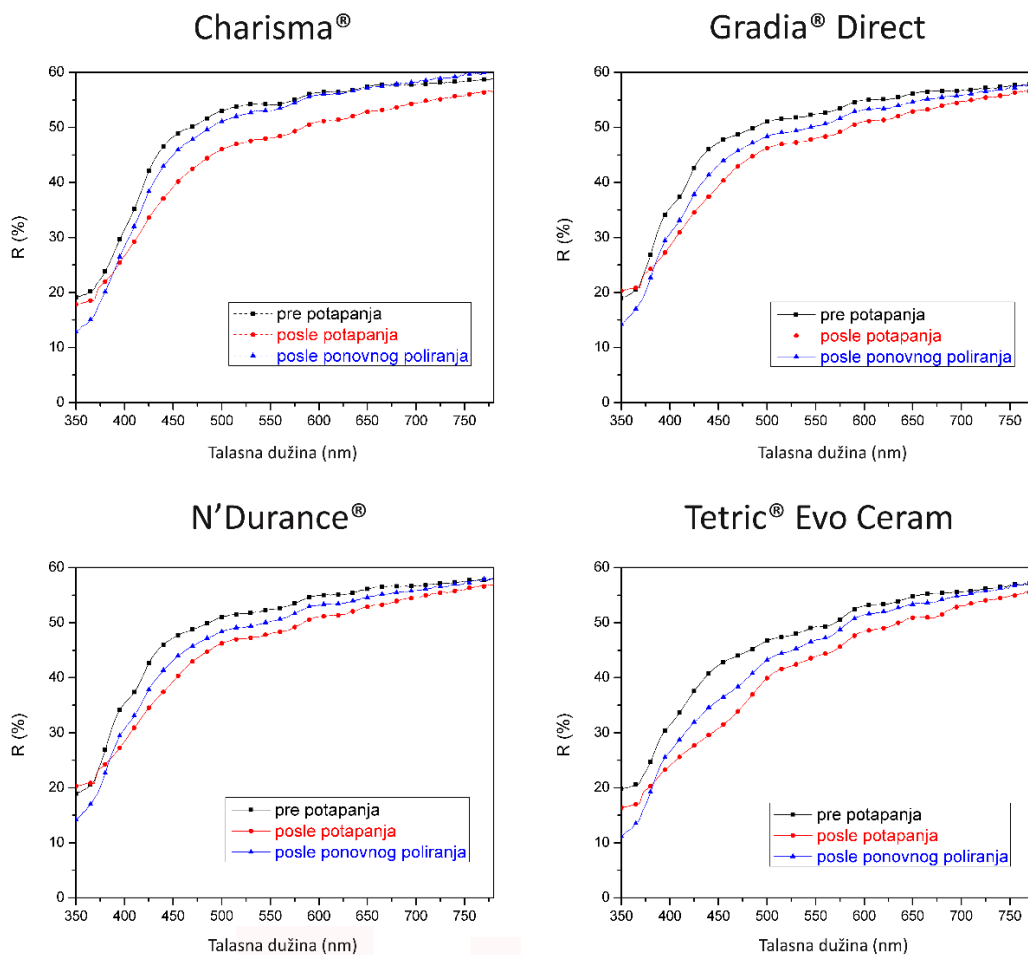
Promene u izgledu kompozitnih smola nakon potapanja su prikazane na Slici 26. Slike su zabeležene digitalnom kamerom i optičkim mikroskopom (60× uvećanje) na dnevnoj svetlosti i pod UV lampom.



Slika 26. Slike uzoraka potopljenih u destilovanu vodu, prirodne sokove i različita energetska pića na 7 dana, snimljene digitalnom kamerom i optičkim mikroskopom pod različitim osvetljenjem (dnevno i ultraljubičasto)

9.1.4. Potapanje različitih kompozitnih materijala iste nijanse u čaj

Iako su svi kompoziti bili iste nijanse (B1) njihovi difuzni refleksijski spektri predstavljani na Slici 27. se razlikuju pre i posle potapanja. Ponovno poliranje je uticalo, tako da se položaj spektara vratio blizu početnog kod svih grupa izuzev Gradia® Direct.



Slika 27. Difuzni refleksijski spektri kompozitnih uzoraka pre i nakon potapanja i nakon ponovnog poliranja

CIEL*a*b* vrednosti, koje su izračunate iz dobijenih spektara difuzne refleksije, prikazane su u Tabeli 12. Najveće L* vrednosti pre potapanja u čaj su zabeležene kod Charisma® dok su najveće a* i b* kod Tetric® EvoCeram. Najviše izmerene vrednosti svetline pre potapanja su bile kod Charisma® sa takođe visokim b* (plavo-žutim) vrednostima.

Tabela 12. L*, a*, b* vrednosti kompozita pre potapanja u čaj

Kompoziti	L*	a*	b*
N'Durance®	77,4	-0,7	4,7
Charisma®	78,5	-1,1	7,2

<i>Tetric® EvoCeram</i>	76,3	0,7	7,6
<i>Gradia® Direct</i>	77,5	-0,1	6,5

Promene boje i zasićenosti (ΔE i ΔC) nakon potapanja u čaj i nakon ponovnog poliranja su predstavljene u Tabeli 13. Primećen je sledeći trend ΔE : *Tetric® EvoCeram* > *N'Durance®* > *Charisma®* \geq *Gradia® Direct*. Sličan trend je primećen kod promene zasićenosti (ΔC): *Tetric® EvoCeram* > *N'Durance®* > *Gradia® Direct* \geq *Charisma®*. Najveće vrednosti promene boje i zasićenosti su zabeležene u grupi *Tetric® EvoCeram* ($\Delta E = 8,9$, $\Delta C = 8$). Nakon ponovnog poliranja ukupna promena boje za *Tetric® EvoCeram* i *N'Durance®* je ostala iznad praga kliničke prihvatljivosti, dok se kod *Charisma®* i *Gradia® Direct* spustila ispod.

Tabela 13. Ukupna promena boje i zasićenosti kompozita različitih proizvođača nakon potapanja u čaj i nakon poliranja

Kompoziti	Potopljeni		Ponovo polirani	
	ΔE	ΔC	ΔE	ΔC
<i>N'Durance®</i>	6,4	5,6	3,1	3,1
<i>Charisma®</i>	5,4	3,2	2,1	2,1
<i>Tetric® EvoCeram</i>	8,9	8,0	6	5,7
<i>Gradia® Direct</i>	5,2	4,0	2	1,9

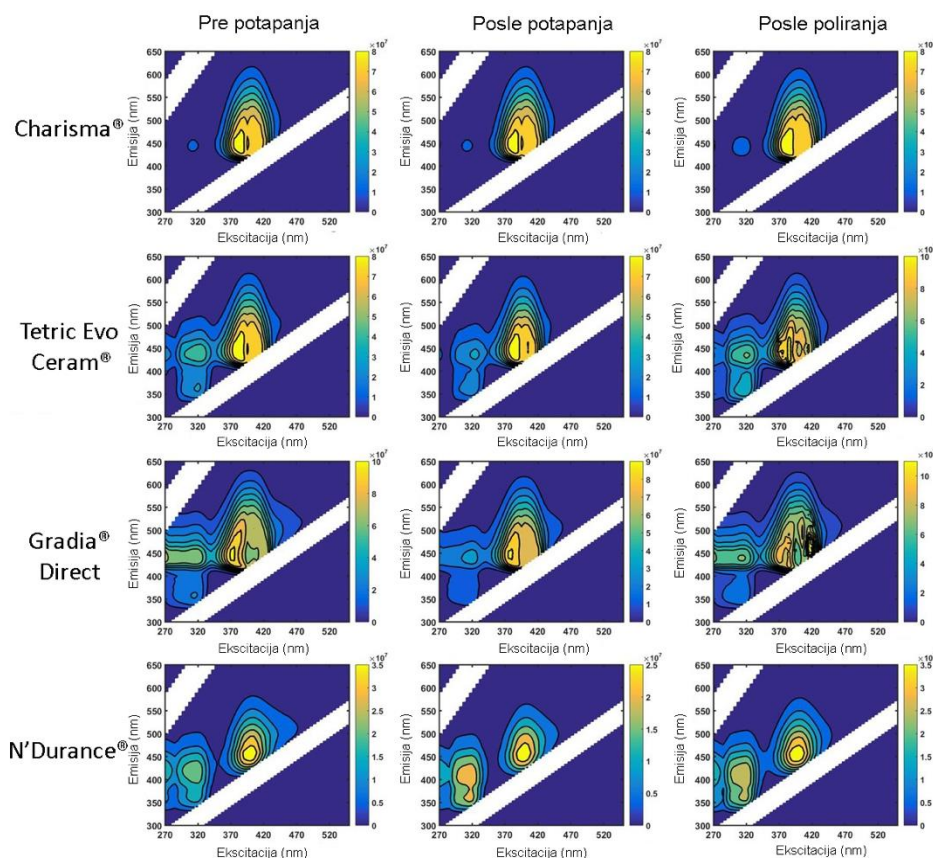
Uprkos različitoj strukturi i površinskoj hrapavosti kompozita različitih proizvođača, mikroskopski dobijene vrednosti su pokazale jedinstven trend povećanja hrapavosti nakon izlaganja prebojavajućem napitku i njenog smanjenja nakon ponovnog poliranja uzoraka (Tabela 14). Pre potapanja, najveće vrednosti površinske hrapavosti su zabeležene kod *Tetric® EvoCeram*, a najniže kod *Charisma®* i *N'Durance®*. Prebojavanje je izmenilo površinu svih testiranih uzoraka. Vrednosti površinske hrapavosti nakon ponovnog poliranja vratile su se približno na početne.

Tabela 14. Vrednosti površinske hrapavosti pre i posle potapanja i posle ponovnog poliranja ($15 \times 15 \mu m$)

Kompoziti	Površinska hrapavost (nm)		
	Pre potapanja	Posle potapanja	Posle ponovnog poliranja
<i>N'Durance®</i>	99	149	96
<i>Charisma®</i>	96	170	112
<i>Tetric® EvoCeram</i>	158	176	147
<i>Gradia® Direct</i>	137	161	120

Promene u fluorescenciji kompozita iste nijanse različitih proizvođača su procenjene na osnovu ekscitaciono-emisionih spektara. Konturni grafikoni nisu pokazali varijacije u obliku

spektara. Ipak, intenzitet fluorescencije se smanjio nakon potapanja, a pojačao nakon poliranja uzoraka (Slika 28). Ove promene su kvantifikovane računanjem zapremine ispod fluorescentne regije kompozitnih uzoraka (Tabela 15).



Slika 28. Konturni grafikoni EEM kompozitnih uzoraka iste nijanse različitih proizvođača pre i posle potapanja i posle ponovnog poliranja

Potapanje u čaj je smanjilo ukupnu fluorescenciju svih testiranih kompozita (Tabela 15). Posle ponovnog poliranja, fluorescencija se vratila blizu početnih vrednosti.

Tabela 15. Promene ukupne fluorescencije kompozita nakon sedmodnevnog izlaganja čaju i posle ponovnog poliranja

	Smanjenje ukupne fluorescencije		Povećanje ukupne fluorescencije	
	Posle potapanja	Posle poliranja	Posle potapanja	Posle poliranja
<i>N' Durance</i> [®]	20 %	/	/	2 %
<i>Charisma</i> [®]	12 %	/	/	1 %
<i>Tetric</i> [®] <i>EvoCeram</i>	18 %	/	/	3 %
<i>Gradia</i> [®] <i>Direct</i>	33 %	3 %	/	/

9.1.5. Potapanje istog kompozitnog materijala različitih početnih nijansi u čaj i vino

CIEL* a^* i b^* vrednosti pet različitih nijansi iste vrste kompozita pre potapanja su date u Tabeli 16. Kod najsvetlije odabrane nijanse XBW iz palete boja za izbeljene zube je izmerena najveća svetlina i najmanja b^* vrednost. Sledeća najsvetlija nijansa B1 je iz svakodneвно korišćenog ključa boja. Najtamnija izabrana nijansa je A3.

Tabela 16. L^* , a^* i b^* vrednosti nepotopljenih uzoraka različitih nijansi (A1, A3, B1, B3 i XBW) Gradia® Direct kompozita

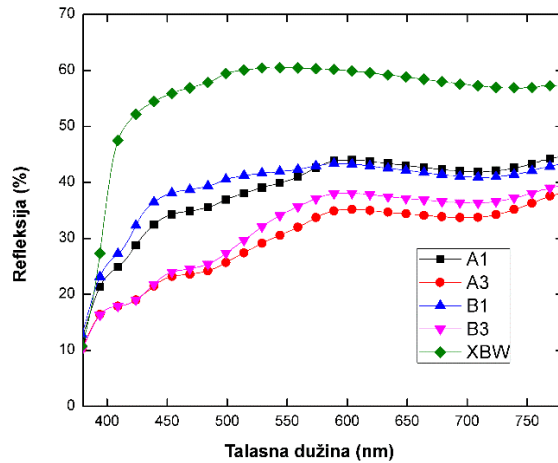
Gradia® Direct	L^*	a^*	b^*
<i>A1</i>	77,3	1	8,5
<i>A3</i>	75	2,1	12
<i>B1</i>	77,5	-0,1	6,5
<i>B3</i>	75,7	1,2	12,7
<i>XBW</i>	84,5	-2,2	0,9

U Tabeli 17. su prikazane ukupne promene boje i zasićenosti kao i CIEL* a^*b^* koordinata različitih nijansi istog kompozita nakon izlaganja čaju i vinu. Iako su odabrane nijanse istog kompozita, uzorci su se različito ponašali tokom sedmodnevnog prebojavanja. Imajući u vidu opseg kliničke prihvatljivosti ($\Delta E \leq 2,7$), ukupna promena boje i zasićenosti je bila najveća kod najsvetlijih nijansi. Uočava se i opšti trend povećanja vrednosti koordinate b^* prema žutoj boji, kakvu su poprimili uzorci, nakon prebojavanja izabranim rastvorima.

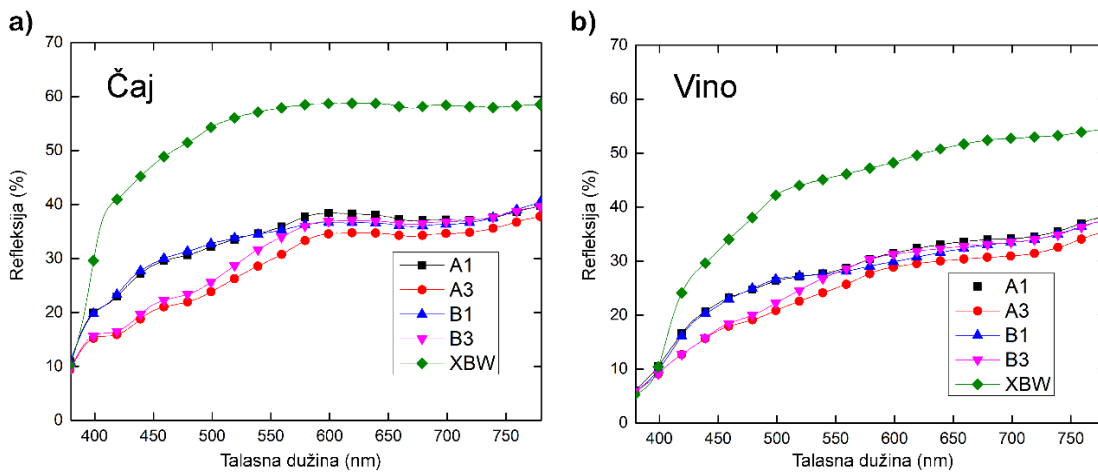
Tabela 17. Ukupne promene u boji (ΔE), zasićenosti (ΔC) i koordinatama boje (L^*, a^*, b^*) nakon sedmodnevnog potapanja u čaj i vino

Gradia® Direct	Čaj					Vino				
	ΔE	ΔC	L^*	a^*	b^*	ΔE	ΔC	L^*	a^*	b^*
<i>A1</i>	4	1	66,2	0	10,5	8	2,1	62,6	1,1	11,4
<i>A3</i>	2,1	1,5	61,3	2,1	16,1	7	11	55,3	2,9	15,5
<i>B1</i>	4,7	2,7	66,5	-1	8,7	9,6	4,6	62	-0,7	10,6
<i>B3</i>	2,8	0,3	63,9	1	18,2	7,2	0,9	59,5	0,7	18,3
<i>XBW</i>	6,7	5,7	78,7	-2,3	10,3	14,5	10,8	73,2	-2	16

Najmanja refleksija uzoraka A3 i B3 nijanse je prikazana na Slici 30. kod uzoraka potapanih u oba prebojavajuća napitka. Vino je u poređenju sa čajem, više prebojilo uzorke, tj. spektralne krive difuzne refleksije su niže postavljene u odnosu na početne koje su prikazane na Slici 29.



Slika 29. Difuzna refleksija uzoraka različitih nijansi Gradia® Direct (A1, A3, B1, B3 i XBW) pre potapanja



Slika 30. Difuzna refleksija uzoraka različitih nijansi Gradia® Direct (A1, A3, B1, B3 i XBW) nakon potapanja u čaj (a) i vino (b)

9.2. Kompozitni materijali namenjeni za indirektnu izradu zubnih nadoknada nakon potapanja u čaj, kafu i crveno vino

Ukoliko posmatramo ukupnu promenu boje (Tabele 18. i 19) može se reći da, iako su bili iste nijanse, Ceramage[®] se značajno više prebojio od SR NexCo[®] i to najviše u vinu. Slično se menjala i zasićenost kod kompozita Ceramage[®], dok su se kod SR NexCo[®] javile drugačije promene.

Tabela 18. Početne vrednosti CIEL*a*b* koordinata boje kao i ukupne promene boje i zasićenosti indirektnog kompozita Ceramage[®] B1

Ceramage [®] B1			
Pre potapanja	L*	a*	b*
	64,9	-1,3	10,4
Rastvor za potapanje	Vreme potapanja (dani)	ΔE	ΔC
Čaj	3	2,9	2,3
	7	4,1	2,6
	14	5,1	4,3
	21	6,9	5,6
Kafa	3	9,4	4,9
	7	10,7	5,8
	14	11,3	5,3
	21	13,9	5,9
Vino	3	13,7	11,1
	7	14,9	12,9
	14	22,7	18,8
	21	29,7	22,9

Tabela 19. Početne vrednosti CIEL*a*b* koordinata boje kao i ukupne promene boje i zasićenosti indirektnog kompozita SR NexCo[®] Paste B1

SR NexCo [®] Paste B1			
Pre potapanja	L*	a*	b*
	59,3	-3,1	7,7
Rastvor za potapanje	Vreme potapanja(dani)	ΔE	ΔC
Čaj	3	2,9	1,1
	7	3,4	1,8
	14	3,6	2,5
	21	4,2	2,6
Kafa	3	3,7	1,2
	7	3,9	1,7
	14	4,5	2,4
	21	4,6	1,8
Vino	3	3,7	1,3
	7	4,9	2,2
	14	6,3	3,1
	21	7,6	3,7

9.3. Kompozitni materijali namenjeni za izradu veštačke gingive nakon potapanja u čaj, kafu i crveno vino

Tabele 20., 21. i 22. prikazuju ukupnu promenu boje i zasićenosti kompozita za rekonstrukciju gingive. Zajedničko za sve tri ispitivane grupe je najveća promena boje nakon 7 dana i najveća promena zasićenosti nakon 21. dana potapanja u vinu. Najveću promenu boje je izazvalo vino i to kod uzoraka Gradia[®] Plus GHB-2. Najveće promene zasićenosti su zabeležene kod uzoraka Gradia[®] Plus GHB-2 nakon potapanja 21 dan u čaju i kafi, dok je u vinu najveću promenu zasićenosti doživeo SR NexCo[®] Paste BG34 nakon istog perioda potapanja.

Tabela 20. Početne vrednosti CIEL*a*b* koordinata boje kao i ukupne promene boje i zasićenosti kompozita za rekonstrukciju gingive Gradia[®] Plus GHB-2

Gradia [®] Plus GHB-2			
Pre potapanja	L*	a*	b*
	66,9	16,7	7,9
Rastvor za potapanje	Vreme potapanja (dani)	ΔE	ΔC
Čaj	3	19,3	2,5
	7	20,6	3,2
	14	21,9	3,3
	21	22,5	5,1
Kafa	3	20,1	1,7
	7	20,9	2,1
	14	23,3	3,5
	21	24,9	5,9
Vino	3	27,1	6,6
	7	27,7	6,9
	14	27,7	6,9
	21	27,9	8,1

Tabela 21. Početne vrednosti CIEL*a*b* koordinata boje kao i ukupne promene boje i zasićenosti kompozita za rekonstrukciju gingive SR NexCo[®] Paste BG34

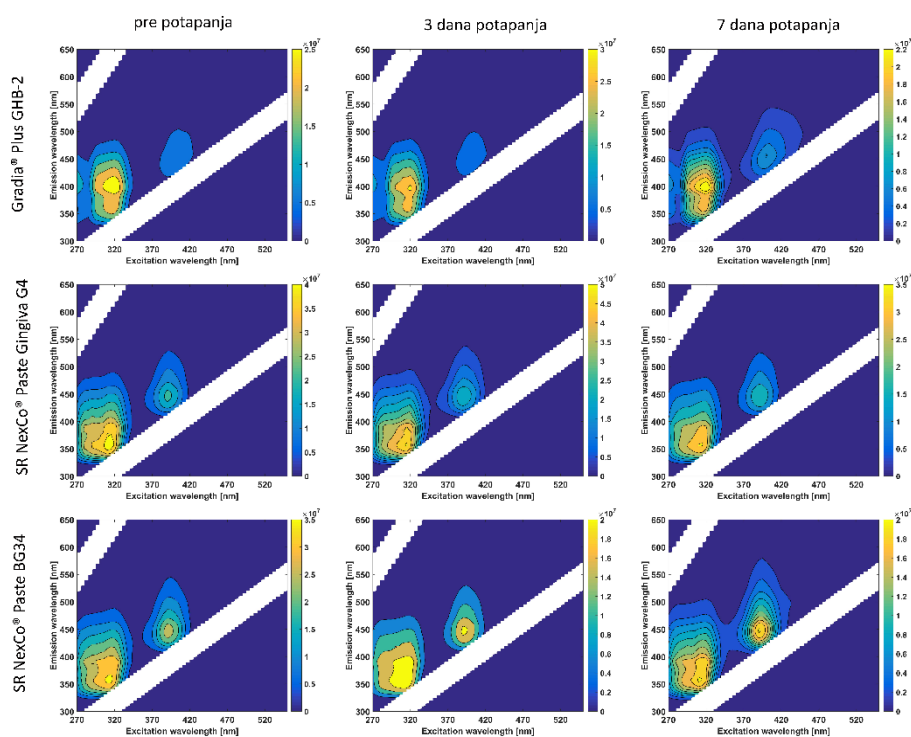
SR NexCo [®] BG34			
Pre potapanja	L*	a*	b*
	65,7	13,9	8,6
Rastvor za potapanje	Vreme potapanja (dani)	ΔE	ΔC
Čaj	3	18,7	3,2
	7	18,9	3,2
	14	19,9	3,1
	21	20,9	3,5
Kafa	3	19,9	2,9
	7	20,6	2,6
	14	20,9	2,8
	21	22,2	4,5
Vino	3	24,1	5,8

	7	26,3	7,4
	14	26,5	7,5
	21	26,7	8,9

Tabela 22. Početne vrednosti CIEL*a*b* koordinata boje kao i ukupne promene boje i zasićenosti kompozita za rekonstrukciju gingive SR NexCo® Paste Gingiva G4

SR NexCo® G4			
Pre potapanja	L*	a*	b*
	63,9	12,9	10,9
Rastvor za potapanje	Vreme potapanja (dani)	ΔE	ΔC
Čaj	3	20,9	2,8
	7	21,9	3,5
	14	19,5	2,6
	21	20,9	4,1
Kafa	3	21,4	3,1
	7	20,6	2,7
	14	21,4	3,1
	21	21,1	4,1
Vino	3	23,1	4,9
	7	25,8	6,9
	14	24,6	6,3
	21	23,9	7,6

Slika 31. prikazuje gašenje fluorescentnog signala kompozita namenjenih za indirektnu nadoknadu gingive nakon potapanja u čaju u periodu od 3 i 7 dana. Fluorescentni pikovi su na istim pozicijama, ali je njihov intenzitet smanjen.



Slika 31. EEM kompozita za rekonstrukciju gingive (Gradia[®] Plus GHB-2, SR NexCo[®] Paste Gingiva G4 i SR NexCo[®] Paste BG34) nakon 3 i 7 dana potapanja u čaj

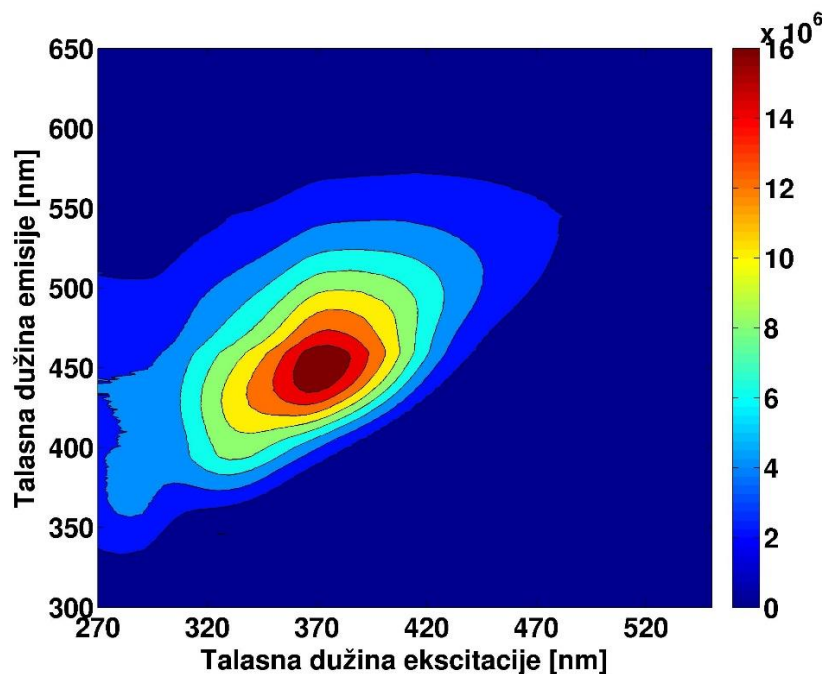
Potapanje u čaj je smanjilo ukupnu fluorescenciju svih testiranih kompozita za rekonstrukciju gingive (Tabela 23).

Tabela 23. Smanjenje ukupne fluorescencije kompozita za rekonstrukciju gingive nakon izlaganja rastvoru čaja

	Gradia[®] Plus GHB-2	SR NexCo[®] Paste BG34	SR NexCo[®] Paste Gingiva G4
3 dana potapanja	35 %	48 %	19 %
7 dana potapanja	32 %	47 %	23 %

10. REZULTATI ISPITIVANJA FLUORESCENCIJE ZUBA

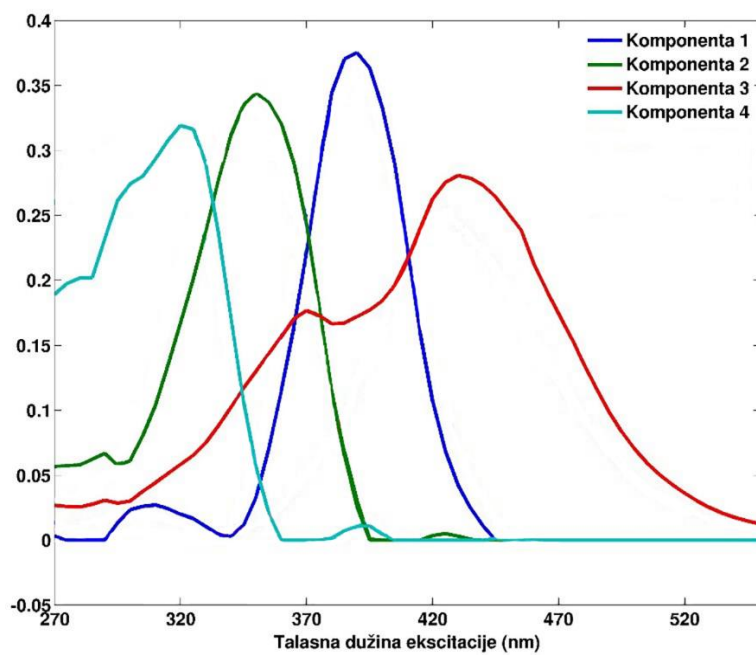
Na Slici 32. je prikazana EEM fluorescencije zdravog zuba, sa koje se jasno može videti fluorescentni pik na maksimalnoj talasnoj dužini eksitacije od 380 nm i emisije na 450 nm.



Slika 32. EEM (konturni grafikon) fluorescencije zravog zuba sa urađenom interpolacijom

Konturni grafikon (Slika 32) predstavlja projekciju emisionog intenziteta u ekscitaciono-emisionoj ravni zuba sa koje se vidi jedan izraženi pik. X-osa predstavlja talasnu dužinu svetlosti kojom su uzorci pobuđeni, a y-osa talasnu dužinu svetlosti koja se emitovala. Bojom je na grafikonu predstavljen intenzitet fluorescencije. EEM spektri zuba su pokazali da zubi intenzivno fluoresciraju u plavo-zelenom delu vidljivog spektra od 350 nm do 550 nm (plavo-zeleni deo vidljivog spektra) kada se pobuđuju svetlošću talasnih dužina od 270 nm do 470 nm (ultraljubičastom i plavom svetlošću). Maksimum pobude je na 370 nm, a najveća emisija na talasnoj dužini 440 nm u delu plave svetlosti ekscitacije.

Na Slici 33. je prikazan PARAFAC model zuba. Nakon izvršene dekompozicije su izdvojene 4 fluorescirajuće komponente među kojima je najdominantnija fluorofora na talasnoj dužini ekscitacije od 380 nm.



Slika 33. PARAFAC model zuba

VI Diskusija

11. DISKUSIJA REZULTATA ISPITIVANJA PROMENE BOJE KOMPOZITNIH MATERIJALA NAKON IZLAGANJA PREBOJAVAJUĆIM NAPICIMA

11.1. Promena boje kompozitnih materijala namenjenih za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada

Promena boje kompozita, nakon izlaganja simuliranim uslovima usne duplje, predmet je brojnih istraživanja u skorije vreme [76, 77, 88-93, 130, 152, 175]. Uobičajeno je da se promena boje kompozita (ΔE) analizira poredeći CIEL*a*b* parametre pre i nakon potapanja [79, 109-114, 176]. Rezultati srednjih vrednosti koordinata boje za različite eksperimentalne grupe kompozita (nepotapani, potapani u čaj, kafu, crveno vino, gazirani napitak, rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene i destilovanu vodu) predstavljeni u prethodnom poglavlju ukazuju na to da nepotapane kompozite odlikuje belina i svetlina ($L^* \sim 84,5$) sa malom količinom zelene i žute nijanse. Ukupna promena boje, promena u zasićenosti, kao i u svetlini kompozita, crveno/zelenoj i žuto/plavoj nijansi nakon izlaganja rastvorima su procenjene u skladu sa pragom kliničke prihvatljivosti $\Delta E \leq 2,7$ koji su utvrdili *Paravina i sar. (2015)* [79]. Glavne promene u difuznim refleksionim spektrima potiču od prebojavajućih supstanci koje se apsorbuju u plavoj spektralnoj regiji. U skladu sa tim se može primetiti opšti trend povećanja b^* vrednosti (plavo-žute koordinate) za sve ispitivane rastvore kao posledica smanjenja plave nijanse. Stoga, kompoziti deluju žućkasto-crvenkasti nakon prebojavanja. Svi testirani napici prouzrokovali su promene u boji kompozita. Intenzitet prebojavanja je proporcionalan apsorpcionoj sposobnosti rastvora; što je veća apsorpcija, to je veće prebojavanje. Čaj, kafa i crveno vino su pokazali veliku apsorpciju u spektralnoj regiji od 380–500 nm* i dali su ukupnu promenu boje veću od klinički prihvatljivih vrednosti. Rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene i destilovana voda su pokazali ukupnu promenu boje kompozita koja je golim okom neprimetna ($\Delta E < 1$), što je u skladu sa njihovim izmerenim apsorpcionim spektrima. Rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene je pokazao manju apsorpciju u poređenju sa drugim rastvorima, sa glavnim apsorpcionim pikom na 630 nm†. Ukupna promena boje uzoraka izloženih gaziranom napitku je na granici vidljivosti golim okom ($\Delta E < 1$ nije uočljivo za ljudsko oko) što se poklapa sa rezultatima drugih autora [117, 175, 177, 178]. Male razlike u difuznim refleksionim spektrima uzoraka potopljenih u gazirani napitak i rastvor za svakodnevno održavanje oralne higijene u poređenju sa spektrima nepotapanih uzoraka se mogu uočiti u spektralnom opsegu od (400–550) nm‡. Čaj, kafa i crveno vino prebojili su kompozitne uzorke više od klinički prihvatljivih vrednosti ($\Delta E > 2,7$). Prilikom prebojavanja čajem i kafom, glavni doprinos ukupnoj promeni boje dolazi od promene u zasićenosti. Kada je u pitanju prebojavanje crvenim vinom, promene u zasićenosti i svetlini doprinose ukupnoj promeni boje u sličnoj meri. Dobijene ΔE vrednosti u ovom istraživanju u skladu su sa obavljenim literaturnim pregledom [76-78, 104, 106-108, 150]. Crveno vino je pokazalo dodatni apsorpcioni pik na 530 nm. Destilovana voda, kao kontrolni rastvor u ovom istraživanju, nije pokazala sposobnost prebojavanja. Pojedine studije ukazuju na to da čak i stajanje kontrolnih uzoraka u destilovanoj vodi može uzrokovati promenu boje kompozita sa ΔE veće od 3,7 [114]. Razlog verovatno leži u apsorpciji vode samih uzoraka i otpuštanju rastvorljivih strukturalnih čestica. Kompoziti odabrani za eksperimente u ovom istraživanju nakon potapanja u destilovanu vodu nisu pokazali otpuštanje sopstvenih pigmenata niti promenu boje, što potvrđuje njihovu pouzdanost korišćenja kao kontrolne

* (380–500) nm odgovara ljubičasto-plavim bojama vidljivog dela elektromagnetnog spektra

† 630 nm odgovara narandžasto-crvenim bojama vidljivog dela elektromagnetnog spektra

‡ (400–550) nm odgovara plavo-zelenim bojama vidljivog dela elektromagnetnog spektra

grupe. Stoga, efekat prebojavanja se može pripisati dominantno interakciji kompozita i pigmenta iz prebojavajućih rastvora. Na sličan način kako apsorbira vodu, kompozit apsorbira bilo koji drugi fluid iz usne duplje. Ovo direktno zavisi od smolaste komponente kompozita i jačine veze punioca i smole. Velika apsorpcija vode utiče na stvaranje mikropukotina koje predstavljaju idealno mesto za prodor i zadržavanje prebojavajućih čestica.

Potrebno je istaći da je opisivanje optičkih svojstava kroz koordinate prostora boje rezultat ogromne kompresije podataka, tokom koje može biti prikrivena ili izgubljena značajna količina vrednih informacija o površini materijala. Sledstveno, analizi baziranoj na koordinatama boje mogu nedostajati neke informacije značajne za prepoznavanje i objašnjenje raznih prebojavajućih efekata na kompozitnim materijalima. Takođe, percepcija boje i vrednosti koordinata boje, zavise od više komponenata: osvetljenja, površinske refleksije materijala i unutrašnjih svojstava materijala, koja se bitno menjaju tokom prebojavanja. Rezultati istraživanja dobijeni u okviru ove doktorske disertacije ukazuju na potrebu da se analiza prebojavanja kompozita razdvoji na analizu površinske refleksije i analizu uticaja osvetljenja, zbog kojih naš sistem za vid ove varijacije površinske refleksije prepoznaje kao promene u boji.

U ovoj disertaciji je predstavljen novi pristup analizi prebojavanja kompozita, baziran na statističkoj metodi – Analizi glavnih komponenata [80-83]. Analiza glavnih komponenata je pogodna za identifikovanje promena u difuznoj refleksiji nakon izlaganja materijala rastvorima koji prebojavaju, na osnovu čega se može tvrditi da li je došlo do promena u materijalu. PCA vektori otkrivaju delove refleksionog spektra koji su najviše odgovorni za prebojavanje. Moguće je time otkriti koje su to prebojavajuće supstance u rastvorima koje najviše doprinose prebojavanju kompozita. Poređenjem apsorpcionih spektara rastvora i PCA vektora sopstvenih vrednosti, identifikuju se prebojavajuće supstance odgovorne za prebojenosti kompozita izazvane kafom, čajem, crvenim vinom, gaziranim napitkom i rastvorom za svakodnevno održavanje oralne higijene.

Utvrđena je međusobna korelacija rezultata dobijenih CIEL*a*b* analizom boje kompozita i PCA boje kompozita, na osnovu čega se mogu izneti jedinstveni zaključci o obimu promena boje kompozita koje određene supstance izazivaju. Na osnovu grafikona sopstvenih vrednosti i vektora sopstvenih vrednosti dobijenih Analizom glavnih komponenata kompozita možemo zaključiti na kojim pozicijama su najveće varijacije u boji, tj. na kojim talasnim dužinama, za svaki testirani napitak pojedinačno. U rezultatima potapanja u različite medijume se može primetiti jasno razdvajanje između grupa uzoraka potopljenih u čaj, kafu i crveno vino. Prve dve glavne komponente akumuliraju 96,13%, 97,51% i 98,90% varijanse difuznih refleksionih spektara kod uzoraka prebojenih čajem, kafom i crvenim vinom. Sa grafikona se može zaključiti da se spektri difuzne refleksije značajno menjaju nakon potapanja u gore spomenute rastvore. PCA vektori difuznih refleksionih koeficijenata glavnih komponenti kompozitnih uzoraka prikazuju podatke koji variraju najviše između potapanih i nepotapanih uzoraka. Kod uzoraka potapanih u čaj najveća razlika se uočava u opsegu (380–450) nm[§] i ona je u skladu sa apsorpcionim spektrom čaja gde glavna apsorpcija potiče od tanina [179]. Prebojavanje kompozita kafom i čajem dalo je slične rezultate. Kafa i čaj imaju slične oblike apsorpcionih spektara, a različit intenzitet apsorpcije, koji je veći kod kafe nego kod čaja. Apsorpcija kafe u regiji (380–780) nm^{**} je uglavnom uzrokovana apsorpcijom melanoidina [180]. Najveće promene u boji kompozitnih uzoraka su uočene kod prebojavanja crvenim vinom. 98,90% varijanse refleksionih spektara potapanih kompozita akumulirano je u prve dve glavne komponente. Refleksioni spektri uzoraka kompozita potapanih u crvenom vinu se menjaju u širokom spektralnom opsegu, od 380 nm do 700 nm, ali je najveća promena u zelenom delu vidljivog spektra, pružajući ljudskom oku senzaciju crvene boje. Cliff i sar. (2007) i He i sar. (2012) smatraju da je kompleks antocijana prisutan u crvenom vinu odgovoran za ovaj efekat [181, 182].

[§] (380–450) nm odgovara ljubičastim bojama vidljivog dela elektromagnetnog spektra

^{**} (380–780) nm odgovara vidljivom delu elektromagnetnog spektra

Prilikom izlaganja kompozita gaziranom napitku, rastvoru za svakodnevno održavanje oralne higijene i destilovanoj vodi, promene u difuznim refleksionim spektrima su ispod granice vidljivosti golim okom ($\Delta E < 1$) i u skladu sa rezultatima drugih studija dobijenih literaturnim pregledom [76-78, 104, 106, 150]. Takođe, PCA grafikon sopstvenih vrednosti ne pokazuje jasnu razliku između grupa potapanih i nepotapanih uzoraka. Stoga se može zaključiti da nema značajnih promena u refleksionim spektrima u toku tri dana^{††} prebojavanja u gaziranom napitku, rastvoru za svakodnevno održavanje oralne higijene i destilovanoj vodi, zbog čega se ne mogu primetiti nikakve promene u boji kompozita [106]. Među rezultatima Analize glavnih komponenata za ova tri rastvora PCA grafikon sopstvenih vrednosti za gazirani napitak pokazuje moguće razdvajanje između grupa. PCA vektori u ovom slučaju otkrivaju male promene u refleksionom spektru kompozita izloženog gaziranom napitku u opsegu (380–500) nm, gde gazirani napitak pokazuje apsorpciju zahvaljujući prisustvu karamel boje E150d [183]. Ovaj rezultat ukazuje na to da se pojedini procesi prebojavanja dešavaju, ali da su oni značajno manji nego kod čaja, kafe i crvenog vina. Apsorpcija sintetske plave boje Brilliant Blue FCF (E133) je odgovorna za boju rastvora za svakodnevno održavanje oralne higijene [184]. Ipak, vrednost apsorpcije rastvora za svakodnevno održavanje oralne higijene na 627 nm^{‡‡} pokazuje relativno nisku koncentraciju veštačke boje (u poređenju sa apsorpcijom prebojavajućih supstanci u drugim rastvorima). Stoga se nikakvo značajno prebojavanje kompozita ne može očekivati tokom trodnevnog potapanja u ovaj rastvor. Uočene promene boje iz CIEL*a*b* koordinata boje kompozita u skladu su sa rezultatima Analize glavnih komponenata boje kompozita što je potvrdilo treću postavljenu hipotezu. Imajući u vidu da obe ove analize (CIEL*a*b* i Analiza glavnih komponenata) pokazuju blage promene u difuznim refleksionim spektrima uzoraka izloženih gaziranom napitku, može se zaključiti da ispitivani gazirani napitak ipak poseduje sposobnost prebojavanja.

Spektralna karakteristika osvetljenja igra bitnu ulogu u doživljaju boje. Osim ove subjektivne kategorije, dobijeni rezultati su pokazali promenu objektivnih vrednosti. Pod različitim osvetljenjem, kod testiranih grupa kompozitnih uzoraka su izmerene različite vrednosti promene boje. Promena boje uzoraka se ne razlikuje klinički značajno između standardnog dnevnog osvetljenja D65, D50 i D75 koji su najzastupljeniji u svakodnevnoj stomatološkoj praksi (ukupna promena boje je manja od 1).

Nakon što su uzorci potopljani u različite rastvore piva, došlo je do promene boje i optičkih svojstava površine uzoraka usled reakcije između uzoraka i rastvora. Stajanje uzoraka u pivu je uzrokovalo promenu u zasićenosti, uglavnom kroz smanjenje plave komponente, tako da kompoziti poprime žućkastu nijansu. Ukupna promena boje nakon 1, 7 i 14 dana potapanja u rastvore piva je bila veća od praga kliničke prihvatljivosti i može se porediti sa promenom boje koja je zabeležena kod crvenog vina, čaja i kafe, što su najpoznatiji prebojavajući rastvori [129]. Na osnovu predstavljenih srednjih vrednosti koordinata boje za svaku od grupa kompozita nakon 14 dana potapanja može se uočiti da su najveće promene u plavom delu spektra gde je vrednost b* u porastu kao rezultat smanjenja plave nijanse. Ukupna promena boje je najznačajnija u grupi uzoraka potopljenih u Bernard® i Guinness® pivo, dok je najmanja bila u grupi potopljenoj u Tuborg®. Ovo se moglo i pretpostaviti jer su Bernard® i Guinness® rastvori tamne boje, dok je Tuborg® najsvetliji. Tamnija piva pokazuju veću apsorpciju, samim tim intenzivnije prebojavaju kompozit od svetlih piva, a među tamnim pivima, ona sa većim sadržajem proteina, amino-kiselina i riboflavina su pokazala veću sposobnost prebojavanja. U poređenju sa ostalim pivima, Bernard® i Tuborg® imaju najvišu i najnižu apsorpciju između 250 nm i 350 nm^{§§}, redom. Apsorpcioni pikovi u ovoj regiji bi se mogli pripisati aromatičnim aminokiselinama (triptofan, tirozin i fenilalanin) i riboflavin čije

^{††} Prema Ertas i sar. 2006. 24 h izlaganja kompozita rastvorima u *in vitro* uslovima odgovara 1 mesecu u *in vivo* uslovima

^{‡‡} 627 nm odgovara narandžastim bojama vidljivog dela elektromagnetnog spektra

^{§§} (250-350) nm odgovara UV regiji elektromagnetnog spektra

prisustvo je uobičajeno u pivu [185]. Glavni uticaj na ukupnu promenu boje ima promena u zasićenosti, a ne u svetlini. Nakon 14 dana potapanja, primećena je značajna ukupna promena boje sa blagim zastojem između 2. i 7. dana kod uzoraka potopljenih u Erdinger[®], Leffe[®] i Tuborg[®] i blago opadanje kod preostala dva.

Potapanje kompozita u prirodne sokove i energetska pića je pokazalo da je prebojavanje kompozita intenzivnije u rastvorima koji imaju veću apsorpciju u vidljivom delu spektra. Prirodni sokovi pokazuju veću apsorpciju od energetskih pića i, posledično, refleksija uzoraka potopljenih u prirodne sokove je bila manja od refleksije uzoraka potopljenih u energetska pića. Ukupna promena boje kao i promena zasićenosti su pokazale isti trend. Ukupna promena u boji veća od 2,7 (klinički prihvatljiv prag) je primećena kod uzoraka potopljenih u sok od aronije (9,3) i šargarepe (6,2). Stepem prebojavanja se može porediti sa podacima prethodno dobijenim za prebojavanje istih kompozita u čaju, kafi i crvenom vinu. Ukupna promena boje uzoraka potapanih u Guarana[®] (0,5), sok od cvekle (2,2) i Red Bull[®] (2,3) je bila ispod klinički prihvatljivog praga, dok su vrednosti za Energie-s[®] (2,7) i Burn[®] (2,8) bile na pragu kliničke prihvatljivosti sa tendencijom rasta. Prilikom prebojavanja energetskim pićima ukupna promena boje dolazi uglavnom od promene zasićenosti, dok je prebojavanje prirodnim sokovima značajno smanjilo svetlinu uzoraka i umereno promenilo njihovu zasićenost. Prikazano poklapanje rezultata apsorpcije i izmerene difuzne refleksije ukazuje na to da su promene u boji kompozitnih smola prouzrokovane adsorpcijom i apsorpcijom prebojavajućih supstanci iz rastvora. Njihova hemijska struktura i koncentracija je različita u različitim pićima; stoga, prebojavanje izgleda drugačije u različitim rastvorima. Glavne prebojavajuće supstance sadržane u soku od šargarepe su karotenoidi (likopen i β -karoten) koji imaju karakterističan apsorpcioni maksimum između (400–500) nm^{***} i retinol (vitamin A) koji apsorbuje na oko 330 nm [186]. Prvi apsorpcioni pik soka od aronije je karakterističan za polifenolne (flavonoidi) komponente koje apsorbuju na oko 330 nm [187], dok je drugi pik (400–600) nm zbog prisustva antocijana [188]. Kod soka od cvekle, pik na 270 nm potiče od proteina (triptofan i tirozin). Pik na (470–550) nm u apsorpcionom spektru soka od cvekle odgovara grupi betalain pigmentata [189, 190] i preklapa se sa apsorpcijom: 1) betaksantin (žuti pigment) koji ima karakterističan apsorpcioni maksimum na 260 nm i 474 nm, i 2) betanin – vrsta betacijana (crvenoljubičasti pigment) sa karakterističnom apsorpcijom na 538 nm [191]. Energetska pića: Burn[®], Guarana Kick[®], Energi-s[®], Red Bull[®] su pokazala jaku apsorpciju u spektralnoj regiji od (190–350) nm. Razlika u apsorpciji testiranih energetskih pića potiče od razlike u koncentraciji kafeina, taurina i vitamina B. UV apsorpcioni spektar kafeina daje par apsorpcionih pikova na 205 nm i 273 nm sa karakterističnim korakom između njih [192, 193]. Jaka promena boje prema žutoj primećena kod Energi-s[®] -a može biti zbog prisustva riboflavina (E101) koji apsorbuje na 450 nm [194]. U okviru ograničenja ove *in vitro* studije, pokazano je da posle sedmodnevnog potapanja u rastvore prirodnih sokova i energetskih pića kompozitne smole menjaju boju. Veličine ovih promena zavise od koncentracije i hemijske strukture prebojavajućih supstanci u prirodnim sokovima i energetskim pićima. Jaka apsorpcija aronije i soka od šargarepe je uzrokovala ukupnu promenu boje značajno veću od klinički prihvatljivih vrednosti. Rezultati pokazuju značajno smanjenje refleksije uzoraka potapanih u prirodne sokove u poređenju sa uzorcima potapanim u destilovanu vodu; najveće smanjenje je primećeno kod uzoraka izloženih u sok od aronije, zatim sok od šargarepe a najmanja, ali ipak najznačajnija promena kod uzoraka potopljenih u sok od cvekle. Promene refleksije su bile značajno manje kod uzoraka potapanih u energetska pića; najveća zabeležena kod Burn[®] a najmanja kod Guarana Kick[®].

Rezultati predstavljeni u ovoj studiji ukazuju na to da vrsta kompozita značajno utiče na obim promene optičkih svojstava kompozita. Potapanjem kompozita za direktnu i indirektnu izradu nadoknada različitih proizvođača iste nijanse u čaj svi materijali su pokazali ukupnu promenu boje

*** (400–500) nm odgovara ljubičastim i plavim bojama vidljivog dela elektromagnetnog spektra

veću od klinički prihvatljivih vrednosti. Veće promene u boji i zasićenosti su primećene kod niskokontrakcionih kompozita (N'Durance[®] i Charisma[®]) u poređenju sa konvencionalnim (Tetric[®] EvoCeram i Gradia[®] Direct). Kod niskokontrakcionih kompozita su primećene veće početne vrednosti svetline (L^*). Ovaj rezultat je u skladu sa prethodnim istraživanjem *Manojlović i sar. (2016)* i *Uchida i sar. (1998)* koji su zabeležili veće promene boje kod svetlijih kompozita [119, 195]. To može biti objašnjeno činjenicom da su početno svetliji kompoziti imali veću sklonost ka promeni boje od tamnijih kompozita. Među konvencionalnim kompozitima nanohibridni Tetric[®] EvoCeram koji je baziran na monomeru Bis-GMA se pokazao otpornijim na prebojavanje od mikrohibridnog Gradia[®] Direct koji je baziran na monomeru UDMA. Nasuprot tome, *Arocha i sar. (2013)* su u svom istraživanju pronašli manje promene boje kod kompozita koji sadrže UDMA monomer i objasnili to činjenicom da hidrofilna hidroksi- grupa BisGMA monomera apsorbuje više vode od UDMA alifatičnog lanca. Različiti zaključci ovih studija bi se mogli pripisati ostalim faktorima koji utiču na prebojavanje kompozita, a ne samo uticaju monomera. Nakon ponovnog poliranja sve testirane grupe kompozita su vratile ΔE vrednosti blizu početnim, što ukazuje na to da je glavni proces odgovoran za prebojavanje kompozita adsorpcija i da se pigmenti uklanjaju nakon ponovnog poliranja. Sve promene nastale prebojavanjem dešavaju se na nivou kontaktne površine i pigmenti ne prodiru dublje u kompozit. Poznato je da poliranje površine kompozita u velikoj meri utiče na boju zubne nadoknade. Nepochirani materijal je prijemčiviji za pigmente iz hrane i pića [77]. Step en ispoliranosti zavisi od vrste materijala i njegovog hemijskog sastava. Uprkos kompozitima različitih proizvođača, površinska hrapavost je pokazala jedinstveni trend povećanja hrapavosti nakon potapanja i smanjenja nakon ponovnog poliranja uzoraka. U početku su veće vrednosti površinske hrapavosti zabeležene kod konvencionalnih u poređenju sa niskokontrakcionim kompozitima. Posle potapanja u čaj, slične vrednosti su pokazali i jedni i drugi kompoziti. Zapravo, veće promene hrapavosti su pokazali materijali koji su se više prebojili, ali početna hrapavost površine nije uticala na prijemčivost za pigmente. Ovo je u skladu sa studijom *Reis i sar. (2003)* [196]. Ponovno poliranje je uticalo na to da se vrednosti površinske hrapavosti vrte približno početnim vrednostima. Dobijeni rezultati ukazuju na to da je dominantan proces adsorpcije kada je u pitanju spoljašnje prebojavanje kompozita. Dodatna ispitivanja optičkih svojstava i površinske hrapavosti su neophodna kako bi se pojasnila veza između vrste kompozita, površinske topografije i promene boje.

Uprkos istom proizvođaču (Gradia[®] Direct), različite nijanse kompozita (XBW, A1, A3, B1, B3) su ispoljile različitu sklonost ka prebojavanju u rastvoru čaja i vina, zbog čega je peta postavljena hipoteza odbačena. Rezultati ove studije takođe ukazuju na to da početno svetliji kompoziti imaju veću sklonost ka promeni boje od tamnijih kompozita. Nakon potapanja u čaj svetlije nijanse uzoraka (XBW, A1, B1) su se više prebojile od izabranih tamnijih nijansi (A3, B3) čije su pokazane promene blizu granice kliničke prihvatljivosti ($\Delta E \leq 2,7$). Vino je izazvalo klinički neprihvatljivo prebojavanje kod svih ispitivanih nijansi kompozita. Razlike u ukupnoj promeni boje su u skladu sa prethodno prikazanim rezultatima. Vino je izazvalo duplo veće prebojavanje najsvetlije XBW nijanse kompozita ($\Delta E = 14,5$) u poređenju sa čajem ($\Delta E = 6,7$) čiji je prebojavajući potencijal ranije objašnjen u tekstu. Najveće povećanje b^* vrednosti je zabeleženo kod kompozitnih uzoraka B3 nijanse koja je najtamnija izabrana nijansa u ovoj studiji. Slično promeni boje, promena ukupne zasićenosti je bila veća kod svetlijih nijansi kompozita.

11.2. Promena boje kompozitnih materijala namenjenih za indirektnu izradu zubnih nadoknada

Rezultati prebojavanja kompozita za indirektnu izradu nadoknada iste nijanse (B1) u čaju pokazali su klinički neprihvatljive vrednosti ($\Delta E > 2,7$). Kompoziti za indirektnu izradu nadoknada se uopšteno smatraju stabilnijim na prebojavanje u odnosu na kompozite za direktnu izradu zubnih nadoknada budući da poseduju veći stepen konverzije, sa čime je dobijeni rezultat u skladu [138, 139]. Početno svetliji kompozit se više prebojio (SR NexCo[®] Paste $L^* = 59,3$, Ceramage[®] $L^* = 64,9$) što je u skladu sa studijama *Manojlović i sar. (2016)* i *Uchuda i sar. (1998)* i prati trend ispitivanih kompozita za direktnu i indirektnu izradu zubnih nadoknada. [119, 195] Nakon sedam dana prebojavanja, kompoziti za indirektnu izradu nadoknada su pokazali manje prebojavanje u čaju (SR NexCo[®] Paste $\Delta E = 3,4$, Ceramage[®] $\Delta E = 4,1$) u poređenju sa kompozitima za direktnu i indirektnu izradu iste B1 nijanse, čija je stabilnost boje takođe ispitivana u ovoj disertaciji. Nakon 3 dana prebojavanja čajem, ukupna promena boje je kod oba testirana materijala bila slična, iznad klinički prihvatljivih vrednosti ($\Delta E = 2,9$). Rezultati nakon 21 dana potapanja su pokazali da se Ceramage[®] ipak više prebojio ($\Delta E = 6,9$) i izmerene vrednosti zasićenosti su bile veće ($\Delta C = 5,6$). Ceramage[®] se u kafi znatno više prebojio od SR NexCo[®] Paste od trećeg dana potapanja ($\Delta E = 9,4$ i $3,7$, redom). Najveće ukupne promene boje i zasićenosti su se dogodile posle 21 dana potapanja u vinu kod oba kompozita, četiri puta veće kod kompozita Ceramage[®] ($\Delta E = 29,7$) u poređenju sa SR NexCo[®] Paste ($\Delta E = 7,6$). Sličan trend se uočava i u promeni zasićenosti (Ceramage[®] $\Delta C = 22,9$, SR NexCo[®] Paste $\Delta C = 3,7$). Promene svetline su takođe bile izraženije kod Ceramage[®] nego kod SR NexCo[®] Paste i to kod prebojavanja čajem. Ove promene je teško objasniti na naučno zasnovanom dokazu zbog neuniformnosti hemijskog sastava različitih kompozita.

11.3. Promena boje kompozitnih materijala namenjenih za izradu veštačke gingive

Nasuprot velikom napretku iz oblasti bele estetike, u protetici nije ostvaren isti pomak u domenu ružičaste estetike [197, 198]. Za razliku od zuba, boju gingive je teže izmeriti in vivo zbog svoje elastičnosti i nepravilne morfologije.

Usled malog broja istraživanja na temu boje gingive, standardizovan ključ gingivalnih boja za kliničare do sada nije utvrđen [197, 199]. U literaturi je pronađeno istraživanje o prebojavanju kompozita za rekonstrukciju gingive u kojem je korišćen prag prihvatljivosti isti kao i kod kompozita boje zuba ($\Delta E \leq 2,7$) [200]. Uzevši u obzir to da još uvek nije utvrđen zlatni standard za ΔE^* klinički prihvatljive vrednosti, prilikom obrade podataka u okviru ovog istraživanja je korišćen prag prihvatljivosti CIEL*a*b* 50:50% $\Delta E^* = 4,6$ baziran na razlikama u boji akrilata za izradu baze proteze usled starenja materijala. Sve vrednosti iznad ove granice se smatraju klinički neprihvatljivim podudaranjem boja [201]. Uprkos tome što se polimerizuju ekstraoralno, kompoziti za rekonstrukciju gingive su ispoljili mnogo veću prijemčivost na pigmente u poređenju sa kompozitima boje zuba koji se polimerizuju na isti način. Iako je osnovni hemijski sastav kompozita za rekonstrukciju gingive isti kao i kod kompozita boje zuba, oni ispoljavaju značajno veću prijemčivost za pigmente iz svakodnevno konzumiranih napitaka. Njihova manja stabilnost boje se može objasniti degradacijom ružičastog pigmenta koji se dodaje u kompozit. Budući da u nama dostupnoj literaturi nema studija koje se bave prebojavanjem kompozita za rekonstrukciju gingive, uzeli smo u obzir postojanost crvenog pigmenta u akrilatnim protezama. Istraživanje *Kiat-amnuay i sar. (2005)* je pokazalo da ovaj pigment značajno degradira usled izlaganja različitim rastvorima i da jedini menja boju prilikom izlaganja tekućoj vodi [202].

Svi testirani kompoziti za rekonstrukciju gingive u ovom istraživanju su pokazali ukupnu promenu boje višestruko veću od postavljenog kliničkog praga prihvatljivosti. Na osnovu izvršene CIEL*a*b* analize se može zaključiti da kafa, čaj i vino prebojavaju kompozite za rekonstrukciju

gingive. Crveno vino je pokazalo najveći potencijal prebojavanja kompozita za rekonstrukciju gingive, slično kao i kod kompozita boje zuba. Ispitivani su kompoziti različitih proizvođača, između kojih ne postoje usaglašene nijanse, zbog čega je teško pratiti promene boje i porediti grupe međusobno. Ne mogu se porediti ni početne nijanse, jer nisu iste (ključevi boja se razlikuju). Literaturnim pregledom je pronađen vrlo mali broj studija koje se bave usklađivanjem boje gingive i gingivalnih nadoknada, dok se ne može pronaći gotovo nijedno objavljeno istraživanje na temu stabilnosti boje kompozita za rekonstrukciju gingive [203]. Usled malog broja istraživanja u ovoj oblasti, ključevi boje za gingivu koji su trenutno u opticaju ne pružaju precizno i tačno poklapanje boje nadoknada sa bojom ljudske gingive [204]. Stoga je neophodno uraditi dodatna istraživanja u ovoj oblasti [148, 205]. Međutim, može se reći da su svi testirani kompoziti za rekonstrukciju gingive u ovoj studiji ispoljili sklonost ka prebojavanju. Zajedničko za sve testirane kompozite je to što brzo postižu promenu boje (već posle 3 dana izlaganja svim ispitivanim rastvorima). Karta tonova ružičaste estetike bi trebalo da bude bazirana na prirodnim nijansama ljudske gingive. Boja gingive se često neprecizno definiše kao blede ružičasta, koralno ružičasta ili tamno ružičasta [206]. Ne postoje adekvatne smernice za kliničare, potogoto kada je starija populacija pacijenata u pitanju [207]. Analize zdrave gingive su neophodne kako bi se utvrdio precizan ključ boja za ružičastu estetiku [208, 209]. Rezultati istraživanja dostupnih u literaturi su pokazali da je gingiva svetlija kod žena nego kod muškaraca [205]. U dosadašnjoj grupi ispitanika, nije utvrđena razlika kod starije populacije u odnosu na mlađu populaciju [210]. Među objavljenim istraživanjima nema dovoljno kontrolisanih randomiziranih studija sa velikim brojem uzoraka i ponovljivom metodologijom [198].

12. DISKUSIJA REZULTATA ISPITIVANJA PROMENE FLUORESCENCIJE ZUBA I KOMPOZITA

U nama dostupnoj literaturi, nismo pronašli puno podataka koji se odnose na fluorescenciju prirodnih zuba. Zbog zastarelih metoda merenja i fokusiranosti istraživača uglavnom na boju i njene osnovne parametre (osnovna boja, zasićenost i svetlina) fluorescencija zuba je dugo bila zapostavljena. Složenost mehanizma fluorescencije je verovatno osnovni razlog koji objašnjava ovu činjenicu.

Zubi po svojoj prirodi fluoresciraju jako plavu svetlost. Fluorescencija zuba potiče uglavnom od organskih komponenti dentina, zbog prisustva više različitih fluorofora (molekuli koji apsorbuju i emituju svetlost): triptofan, hidropsipiridium, piridolin, hidroksiapatit-piridinolin kompleks, peptidi [37, 39]. Rezultati našeg istraživanja su u skladu sa podacima iz literature, koji ukazuju na to da emisija na 440 nm potiče od NADH (nikotinamid adenzin nukleotid difosfat), čime se objašnjava zašto karijesni zub ne fluorescira, jer NADH prelazi u NAD^+ (nikotin adenin dinukleotid) katjon, a emisija na 350 nm potiče od tirozina i triptofana [211].

Fluorescencija je izuzetno osetljiva na promenu biohemijskih komponenti tkiva; čak i male promene koncentracije fluorofora i njihove mikrosredine rezultiraju promenama u fluorescentnim spektrima. Promenom koncentracije izolovanih fluorofora, menja se i intenzitet fluorescencije. Postoje brojne prirodne fluorofore u tkivu i ćelijama koje kada se pobude UV i vidljivom svetlošću fluoresciraju u dobro poznatim spektralnim opsezima. Kod zuba, fluorofore dentina su odgovorne za emisiju svetlosti, dok translucencija gleđi dopušta propuštanje svetlosti do dentina (ekscitaciona svetlost) i emitovanje svetlosti od zuba (emisiona svetlost). Zub je sastavljen od različitih molekula koji fluoresciraju u ultraljubičastom i vidljivom delu elektromagnetnog spektra. U dentinu je prisutna različita raspodela i koncentracija prisutnih fluorofora i hromofora kao i biohemijskih i biofizičkih promena u njihovoj neposrednoj okolini. Zbog spomenutih razloga je u ovom istraživanju napravljen PARAFAC model zuba koji izdvaja komponente koje fluoresciraju, tj. daje prikaz pojedinačnih doprinosa fluorofora. Smatrali smo da dvodimenzionalni prikaz fluorescencije kompleksnog sistema kao što je zub nije dovoljan. Da bi se sakrivene komponente fluorescencije razotkrile, treba prikazati i treću koordinatu koja može dati uvid u značajne informacije iz oblasti fluoresciranja zuba. U budućnosti, ovaj model bi se mogao koristiti za klasifikaciju zuba prema njihovoj fluorescenciji. Nakon PARAFAC analize, ustanovljeno je da je taj jedan široki pik što se prikazuje na EEM spektrima, u stvari, sastavljen od pikova četiri različite dominantne biohemijske komponente koje smo identifikovali. Trodimenzionalni model je pokazao kako je konturni grafikon (dvodimenzionalni) zapravo zbir više pojedinačnih spektara (više komponenata). Parafaktorskom analizom zuba, izolovane su četiri komponente koje fluoresciraju, a koje bi, prema podacima iz literature, mogle da odgovaraju sledećim strukturama zuba:

1. Ex-390 Em 447 bi mogao da bude humani dentin (Max Em na 450) [212],
2. Ex 350 Em 436 bi takođe odgovarao humanom dentinu [39],
3. Ex 430 Em 510 fluorofore dentina (hidroksiapatit – piridinolin kompleks) [212],
4. Ex 315 Em 372 bi mogao da bude fluorescentni peptid iz humanog dentina [213].

Dobijeni podaci ukazuju na to da je moguće izgraditi adekvatan PARAFAC model za klasifikaciju zuba na osnovu njihovih fluorescentnih karakteristika. Napredak u tehnologiji merenja fluorescencije bi mogao da pomogne u otkrivanju novih informacija iz širokog polja fluorescencije zuba. Iz tog razloga, u perspektivi, ova metoda može da bude veoma korisna u cilju poboljšanja određivanja boje zuba. Prema nalazima *Panzeri i sar. (1977)*, *Lee i sar. (2005)* i *(2006)*, *Song i sar. (2008)*, sadašnju generaciju kompozitnih materijala ne odlikuje fluorescencija slična prirodnom zubu [43, 161, 162, 165]. Rezultati naših istraživanja fluorescencije kompozita su saglasni sa nalazima *Meller i sar. (2015)*, *Reis i sar. (2007)* i *Silva i sar. (2017)*; generalno gledano, proizvođači su pogodili početnu boju fluorescencije kompozita, ali što se tiče oblika fluorescentnog spektra samo pojedini relativno dobro imitiraju fluorescentni spektar zuba [33, 44, 154]. Ukupan

intenzitet fluorescencije kompozita ni u momentu izrade, ni nakon izlaganja prebojavajućim napicima nije zadovoljavajući u odnosu na zub. U ovom istraživanju je uspostavljen kriterijum ili mera koja definiše promenu ukupne fluorescencije nakon izlaganja prebojavajućim napicima. Utvrđeno je da se oblik spektara karakteristične fluorescencije ne menja, za razliku od intenziteta fluorescencije kompozita koji se značajno menja u zavisnosti od vrste prebojavajuće supstance kojoj je izložen. EEM kompozita za direktnu i indirektnu izradu nadoknada su pokazale da oni imaju dva opsega pobude: (270–330) nm i (360–450) nm. Opseg emisije je drugačiji nego kod zuba i kreće se od (350–650) nm. Kod kompozita smo utvrdili dva izražena pika, jer kompozit u poređenju sa zubom ima apsorpciju i na manjim talasnim dužinama. Međutim, kompoziti se međusobno razlikuju u pogledu fluorescencije. U literaturi je opisano odsustvo standardizovanih fluorescentnih svojstava kompozita, čak i kod različitih nijansi istog proizvođača [33]. Iako su objavljene studije koje ukazuju na mogućnost ubacivanja luminofora u sastav kompozita, kako bi se pojačala njihova fluorescencija, većina proizvođača ne navodi tačne komponente koje koristi u tu svrhu [160, 214, 215]. One bi mogle biti deo i organskog i neorganskog dela kompozita. Neke od fluorescirajućih čestica koje se spominju u literaturi su lantanidi, izbeljujući agensi, kompleksi terbijuma i iterbijuma. Kada su uzorci kompozita izloženi prebojavajućim rastvorima, stvara se tanak film na površini uzorka, što menja njegova fluorescentna svojstva. Tanak formirani sloj na površini kompozita apsorbuje svetlost, što rezultuje smanjenjem fluorescentnog signala. Supstance koje su adsorbovane ili apsorbovane na površini zuba i kompozita utiču na pojavu fluorescencije kroz dva mehanizma. One najpre apsorbuju deo UV deo zraka koji pada na površinu materije, smanjujući na ovaj način pobudu fluorescencije. Zatim, apsorbuju deo emitovanog fluorescentnog zračenja u plavoj regiji [168], što smanjuje intenzitet interne luminescencije.

Razlika između EEM spektara različitih eksperimentalnih grupa kompozita može lako biti uočena u ekscitacionom i emisionom opsegu od 270 nm do 340 nm i od 400 nm do 480 nm. U ovom istraživanju, različiti intenziteti fluorescencije između kompozitnih grupa pre potapanja mogu se objasniti različitom količinom fluorofora koju sadrže. Razlike u intenzitetu fluorescencije nakon prebojavanja su pokazane i u istraživanjima drugih autora [164, 167, 172]. Kako je ranije utvrđeno, pivo pokazuje najveću apsorpciju u opsegu od 250 nm do 450 nm što odgovara regiji smanjenja fluorescentnog signala. Kako bi se kvantifikovalo to smanjenje, izračunata je zapremina ispod ove fluorescentne regije. Ukoliko poredimo smanjenje zapremine između grupa kompozitnih uzoraka, možemo primetiti da je nakon potapanja uzoraka fluorescentni signal smanjen i do 57,59% za uzorke potopljene u Bernard[®], što pokazuje značajan uticaj ispitivanih rastvora na fluorescentna svojstva kompozita. Nakon što su uzorci potopljeni u rastvore, primećeno je smanjenje njihove plave nijanse, što se može uočiti na UV slikama. Uzorak potopljen u Bernard[®] ima tamnije plavu nijansu u poređenju s uzorkom potopljenim u destilovanu vodu koji ima svetliju nijansu plave. Analizu promene fluorescencije treba posmatrati i kroz promenu boje. Uzevši u obzir ranije iznete rezultate promene boje nastale na kompozitnim uzorcima može se potvrditi da je nakon potapanja u ove rastvore kompozit poprimio žućkastu nijansu i uzrokovana je redukcija njihove plave nijanse. Sva testirana energetska pića i sok od aronije su izazvali smanjenje fluorescencije eksperimentalnih grupa kompozitnih uzoraka. Red Bull[®] i Guarana Kick[®] su uzrokovali veće smanjenje fluorescencije od Burn[®]-a i Energi-s[®]-a. Među testiranim sokovima je jedino aronija prouzrokovala smanjenje fluorescentnog odziva kompozita; ovo smanjenje od 28% je najveća zabeležena vrednost među testiranim rastvorima u ovoj studiji. U svim slučajevima oblik fluorescentnog spektra nije bio promenjen i jedino je intenzitet fluorescencije promenjen. Dobijeni rezultati su u skladu sa istraživanjem *Silva i sar. (2017)* u kome je utvrđeno da prebojavanje smanjuje intenzitet fluorescencije [44]. Promene boje i fluorescencije kompozitnih smola nakon sedmodnevnog potapanja u prirodne sokove i energetska pića su toliko izražene da se mogu lako videti na mikroskopskim slikama dobijenim pod uvećanjem od 60 puta. Gubitak belog izgleda kompozitnih uzoraka je ilustrovan slikama dobijenim digitalnom kamerom pod dnevnim i UV osvetljenjem.

Kako bi se izgled zuba i zubnih nadoknada poboljšao, u stomatološkoj praksi se često koriste fizičke (poliranje) i hemijske (izbeljivanje) metode za uklanjanje prebojenosti. Poliranjem

prebojenih uzoraka kompozita u ovom eksperimentu je uklonjen adsorbovani površinski sloj čestica, zbog čega su se izmerene vrednosti prvobitne boje i fluorescencije vratile blizu početnih. Time se potvrđuje uticaj adsorbovanog sloja na ekscitacione i emisione zrake koji dolaze u kontakt sa materijom. Na osnovu dobijenih rezultata se može zaključiti da je sposobnost fluoresciranja čestica unutar kompozita nezavisna od prisutne adsorbovane „prepreke“ na površini kompozita. Razlike nastaju zbog smanjenog dopremanja svetlosti usled adsorbovane barijere od prebojavajućih supstanci i posledično smanjenog emitovanja svetlosti, koja je u ovom slučaju poliranjem otklonjena. Način prostiranja svetlosti (put kojim prolazi svetlost) unutar medijuma u velikoj meri doprinosi povećanju/smanjenju intenziteta fluorescencije. Pretpostavlja se da promene nastaju usled gubitka delova svetlosnih fotona unutar matriksa kompozita i da se time zamaskira efekat sadržanih fluorofora. Sa konturnih grafikona EEM spektara kompozita (Charisma[®], Tetric[®] EvoCeram, Gradia[®] Direct i N'Durance[®]) mogu se uporediti promene fluorescencije različitih kompozita iste B1 nijanse, pre i nakon potapanja i nakon ponovnog poliranja. Razlika između EEM spektara različitih grupa može lako biti uočena u ekscitacionom i emisionom opsegu od 270 nm do 340 nm i od 400 nm do 480 nm, redom. Kako je ranije pokazano, čaj pokazuje najveću apsorpciju u opsegu od 380 nm do 450 nm, što odgovara regiji smanjenja fluorescentnog signala. Kako bi se kvantifikovalo ovo smanjenje, izračunata zapremina ispod te fluorescentne regije. Najveće ukupno smanjenje fluorescencije nakon sedmodnevnog potapanja u čaj je zabeleženo kod kompozita Gradia[®] Direct i iznosilo je 33%, a najmanje kod Charisma[®] (12%). Kod svih testiranih kompozita, nakon ponovnog poliranja intenzitet fluorescencije se vratio blizu početnih vrednosti. *Jablonski i sar. (2014)* su pokazali razlike u intenzitetu fluorescencije između različitih nijansi istog proizvođača [172]. Pretpostavlja se da na fluorescenciju utiče i apsorpcioni koeficijent samog kompozita, s obzirom na to da se veličina čestica punioca i njihova raspodela razlikuju među testiranim grupama kompozita [166]. *Ameer i sar. (2015)* su takođe utvrdili da kompoziti sa različitim česticama punioca pokazuju različite promene intenziteta fluorescencije prilikom prebojavanja, čak i među različitim nijansama istog proizvođača. Prema rezultatima njihovog istraživanja nanopunjeni kompozit je pokazao najveće, a mikrohibridni kompozit najmanje promene intenziteta fluorescencije, dok je nanohibridni pokazao srednje vrednosti u poređenju sa njima [216]. Ova istraživanja ukazuju na moguću vezu između hemijskog sastava kompozita i stabilnosti njegove fluorescencije. Mnogi autori [42, 43] objašnjavaju ovaj pad intenziteta fluorescencije kompozita kao rezultat degradacije smolastog matriksa kompozita i gašenjem njegovih fluorofora. Međutim, mi smo u ovom istraživanju pokazali da intenzitet fluorescencije može biti vraćen na početne vrednosti nakon poliranja kompozitnog materijala tj. uklanjanja adsorbovanog sloja pigmenta nastalog kao posledica prebojavanja. Buduće studije bi trebalo detaljnije da istraže kvalitativno i kvantitativno uticaj sastava kompozita na promene fluorescencije.

Kao i kod kompozita boje zuba, boja i fluorescencija kompozita za izradu veštačke gingive moraju da održe svoje početne vrednosti u funkciji vremena. Očuvanje fluorescentnih svojstava je podjednako važno kao i otpornost na prebojavanje kada je u pitanju vrhunska estetika kompozita, iako na tu temu do danas nisu pronađene studije objavljene u dostupnoj literaturi.

Gingivalno tkivo intenzivnije fluorescira u poređenju sa zubom, zbog većeg sadržaja organskih komponenata. Fluorescenciji gingive najviše doprinose fluorofore kolagena, NADH, FAD, porfirina, elastina i keratina i njihov udeo je različit [67]. Kompozitima za rekonstrukciju gingive se uspešno ostvaruje nadoknada gingivalnog tkiva, ali ne i zadovoljavajuća estetika kada je u pitanju ukupna fluorescencija koju želimo da imitiramo. Zbog nedovoljnog sadržaja fluorescirajućih čestica nadoknade gingive često pod UV svetlom deluju crno. Ovaj fenomen se dešava zbog povećane apsorpcije i odsustva refleksije svetlosti. Nakon izlaganja prebojavajućim supstancama, njihova fluorescencija se dodatno smanjuje.

U okviru ograničenja ovog istraživanja i odsustva fluorescentnog EEM spektra same gingive koji bi poslužio kao referentna vrednost, dobijeni EEM spektri kompozita za rekonstrukciju gingive su procenjeni međusobno i upoređeni sa kompozitima boje zuba. Dobijeni fluorescentni pikovi su na istim pozicijama (ekscitacioni i emisioni opseg od 270 nm do 340 nm i od 400 nm do 480 nm)

ali je njihov intenzitet smanjen. Osim toga, uočava se veći udeo ultraljubičaste komponente u ukupnoj fluorescenciji, nego što je slučaj kod fluorescencije kompozita boje zuba. Kompoziti za rekonstrukciju gingive prate trend kompozita boje zuba po pitanju smanjenja ukupne fluorescencije nakon izlaganja rastvoru čaja s obzirom na već utvrđen opseg najveće apsorpcije čaja od 380 nm do 450 nm. Kod svih ispitivanih kompozita fluorescencija se smanjila nakon potapanja. Smanjenje od 48% je najveća zabeležena vrednost među testiranim kompozitima za rekonstrukciju gingive u ovoj studiji, posle 3 dana potapanja kod SR NexCo[®] Paste BG34. SR NexCo[®] Paste G4 je dao najmanju promenu fluorescencije od 19%. Vreme potapanja u ovoj studiji nije bitno uticalo na ukupno smanjenje fluorescencije, tj. promene na kompozitima posle 3. i 7. dana su međusobno slične. S obzirom na to da kompoziti za rekonstrukciju gingive imaju značajan udeo ljubičaste fluorescencije koja se ne može uočiti (nije vidljiva), promena estetskih svojstava nastala smanjenjem fluorescencije usled prebojavanja manje je izražena kod kompozita za rekonstrukciju gingive u odnosu na kompozite boje zuba, što je od kliničkog značaja za nadoknade na implantatima koje se izrađuju kombinacijom kompozita boje zuba i kompozita za izradu veštačke gingive.

VII Zaključci

Na osnovu dobijenih rezultata, a u skladu sa postavljenim hipotezama i ciljem ovog istraživanja, mogu se doneti sledeći zaključci:

1. Utvrđena je početna homogenost boje i fluorescencije ispitivanih kompozita. Između kompozita različitih proizvođača iste nijanse, pokazana je nekonzistentnost u boji i fluorescenciji.
2. Definisan je PARAFAC model zuba, koji se može koristiti u cilju poboljšanja određivanja boje zuba, tj. klasifikaciji zuba prema njihovoj fluorescenciji.
3. Svi ispitivani kompozitni uzorci su promenili i boju i fluorescenciju nakon potapanja u medijume. Parametar zasićenosti boje ima dominantan uticaj na ukupnu promenu boje, pri čemu su najveće promene uočene u oblasti plavog dela spektra. Prebojavanje uzrokuje promenu intenziteta fluorescencije kompozita, ali ne i oblika fluorescentnih spektara.
4. Identifikovane su biohemijske komponente odgovorne za prebojavanje kompozita: melanoidini, tanini, antocijani, karamel boja E150d, sintetska boja Brilliant Blue, triptofan, tirozin, fenilalanin, riboflavin, betaksantin, betanin, karotenoidi, retinol, flavonoidi, antocijani, kafein, taurin, vitamin B i riboflavin. Razjašnjen uticaj pigmentata u mehanizmu prebojavanja može poboljšati efikasnost uklanjanja nastalih pigmentacija.
5. Intenzitet promene boje kompozita različit je u zavisnosti od vrste osvetljenja. Najveće promene boje su zabeležene kod volframske (A) i lampe visokog pritiska (HP). Boja uzoraka pokazala je minimalne varijacije pod osvetljenjima značajnim za svakodnevnu protetsku praksu (D65, D50 i D75).
6. Statistička metoda Analiza glavnih komponentata (PCA) pokazala se adekvatnom za otkrivanje prebojavajućih supstanci iz rastvora, koje najviše doprinose prebojavanju kompozita. PCA analiza je pružila više kvalitativnih i kvantitativnih informacija o prebojavanju kompozita u poređenju sa konvencionalnom analizom.
7. Kompoziti iste nijanse različitih proizvođača se različito prebojavaju, pri čemu se svetliji niskokontrakcioni kompoziti prebojavaju više od konvencionalnih. Početna hrapavost površine ne utiče na prijemčivost za pigmente. Glavni proces odgovoran za prebojavanje i smanjenje fluorescencije kompozita je adsorpcija. Proces ponovnog poliranja uklanja prebojenosti i obnavlja optička svojstva kompozita.
8. Različite nijanse kompozita istog proizvođača se različito prebojavaju u rastvorima, pri čemu se svetlije nijanse kompozita prebojavaju više od tamnijih. Optička svojstva kompozita i njihova postojanost boje bi trebalo da budu različito razmatrana u odnosu na nijansu i proizvođača prilikom svakodnevnog odabira materijala u praksi.
9. Kompoziti boje zuba za indirektnu izradu nadoknada su ispoljili veću stabilnost boje u poređenju sa kompozitima za direktnu izradu. Kompoziti za rekonstrukciju gingive, koji se polimerizuju ekstraoralno, pokazali su veću sklonost ka prebojavanju u poređenju sa kompozitima boje zuba. S obzirom na značajan udeo ultraljubičaste fluorescencije koja se golim okom ne može uočiti, promena estetskih svojstava

nastala smanjenjem fluorescencije usled prebojavanja je manje izražena kod kompozita za rekonstrukciju gingive u odnosu na kompozite boje zuba.

LITERATURA

1. Milićević V, Stamenković D, Todorović A. Boja u tri dimenzije. *Stom Prot Yu.* 1998;3:131-7.
2. Joiner A. Tooth colour: a review of the literature. *J Dent.* 2004;32:3-12.
3. Qualtrough AJE, Burke FJT. A look at dental esthetics. *Quintessence Int.* 1994;25:7-14.
4. McLaren K. Colour space, colour scales and colour difference. *Colour physics for industry*, ed. M. R. 1987, Huddersfield: H. Charlesworth & Co Ltd.
5. Clark EB. The Color Problem in Dentistry: Introduction. *Dent Dig.* 1931;37:499-509.
6. Clark EB. The Color Problem in Dentistry: A Practical Application of the Psychological Primary Colors. *Dent Dig.* 1931;37:571-583.
7. Clark EB. The Color Problem in Dentistry: The Physical Nature of Color. *Dent Dig.* 1931;37:646-659.
8. CIE PUBLICATION No. 15.2. *Colorimetry*, Vienna: Central Bureau of the CIE, 1986: p. 74.
9. Clark EB. Measurement of Colour of Human Teeth in Dental Ceramics. In: *Proceedings of the First International Symposium on Ceramics*, J. W. McLean, Ed., Chicago. Quintessence Publ. Co. Inc., 1983: p. 441-489.
10. Lee YK, Kim JH, Ahn JS. Influence of the changes in the UV component of illumination on the color of composite resins. *J Prosthet Dent.* 2007;97(6):375-80.
11. Lam YM, Xin JH. Evaluation of the quality of different D65 simulators for visual assesment. *Color Res Appl.* 2002;27(4):243-51.
12. Wee AG, Meyer A, Wu W, Wichman CS. Lighting conditions used during visual shade matching in private dental offices. *J Prosthet Dent.* 2016;115:496-474.
13. Sikri VK. Color: Implications in dentistry. *J Conserv Dent.* 2010;13(4):249-255.
14. Schnapf JL, Kraft TW, Baylor DA. Spectral sensitivity of human cone photoreceptors. *Nature.* 1987;325(6103):439-441.
15. Ten Bosch JJ, Coops JC. Tooth color and reflectance as related to light scattering and enamel hardness. *J Dent Res.* 1995;74:374-380.
16. Arimoto A et al. Translucency, opalescence and light transmission characteristics of light-cured resin composites. *Dent Mater.* 2010;26;11:1090-1097.
17. Nakajima M et al. Light transmission characteristics of dentine and resin composites with different thickness. *J Dent.* 2012;40:77-82.
18. Chu S, Trushkowsky R, Paravina R. Dental color matching instruments and systems. Review of clinical and research aspects. *J Dent.* 2010;38(Suppl 2):2-16.
19. Paravina RD. Performance assessment of dental shade guides. *J Dent.* 2009;37:15-20.
20. Hammad IA. Intrarater repeatability of shade selections with two shade guides. *J Prosthet Dent.* 2013;89(1):50-3.
21. Okubo SR, Kanawati A, Richards MW, Childress S. Evaluation of visual and instrument shade matching. *J Prosthet Dent.* 1998;80(6):642-8.
22. Omar H, Atta O, El-Mowafy O. Difference Between Selected and Obtained Shade for Metal-ceramic Crown Systems. *Oper Dent.* 2008;33(5):502-507.
23. Browning WD et al. Color differences: Polymerized composite and corresponding Vitapan Classical shade tab. *J Dent.* 2009;37:34-39.
24. Ishikawa-Nagai S et al. Using a computer color matching system. A newly developed spectrophotometer designed for clinical application. *Int J Prosthodont.* 1994;7:50-55.
25. Miletic V. Development of Dental Composites, in *Dental Composite Materials for Direct Restorations*, V. Miletic, Editor. 2018, Springer International Publishing: Cham. p. 3-9.
26. Chu SJ, Devigus A, Mieleszko A, Paravina R. *Fundamentals of Color: Shade Matching and Communication in Esthetic Dentistry*, Second Edition. Quintessence International. 2011.
27. Seghi RR, Johnston WM, O'Brien WJ. Performance Assesment of Colorimetric Devices on Dental Porcelains. *J Dent Res.* 1989;68(12):1755-1759.

28. Ferracane JL, Pfeifer CS, Hilton TJ. Microstructural Features of Current Resin Composite Materials. *Curr Oral Health Rep.* 2014;1(4):205-212.
29. Narciso Baratieri L, Araujo E, Monteiro S. Color in natural teeth and direct resin composite restorations: Essential aspects. *Eur J Esthet Dent.* 2007;2:172-86.
30. Stamenković D, Todorović A. Boja u stomatologiji, in *Stomatološki materijali.* 2012;2:155-180.
31. Lakowicz JR. *Principles of Fluorescence Spectroscopy.* 3rd ed. New York (NY): Springer US. 2006.
32. Meller C, Klein C. Fluorescence properties of commercial composite resin restorative materials in dentistry. *Dent Mater J.* 2012;31(6):916-23.
33. Meller C, Klein C. Fluorescence of composite resins: A comparison among properties of commercial shades. *Dent Mater J.* 2015. 34(6):754-65.
34. Mehta A. Animation for the principle of fluorescence and UV light absorbance. *PharmaXChange,* 2013.
35. Hartles RL, Leaver AG. The Fluorescence of Teeth under Ultraviolet Irradiation. *Biochem.* 1953;54(4):632-638.
36. Hall JB, Hefferen JJ, Olsen NH. Study of Fluorescent Characteristics of Extracted Human Teeth by Use of a Clinical Fluorometer. *J Dent Res.* 1970;49:1431-1436.
37. Matsumoto H, Kitamura S, Araki T. Autofluorescence in human dentine in relation to age, tooth type and temperature measured by nanosecond time-resolved fluorescence microscopy. *Arch Oral Biol.* 1999;44:309-18.
38. Volpato CAM, Pereira MRC, Silva FS. Fluorescence of natural teeth and restorative materials, methods for analysis and quantification: A literature review. *J Esthet Restor Dent.* 2018;30:397-407.
39. Foreman PC. The excitation and emission spectra of fluorescent components of human dentine. *Arch Oral Biol.* 1980;25:641-647.
40. Sairenji E et al. Uranium content in porcelain denture teeth and in porcelain powders for ceramic crowns. *Acta Odontol Scand.* 1982;40:333-9.
41. Kvaal S, Solheim T. Fluorescence from dentin and cementum in human mandibular second premolars and its relation to age. *Scand J Dent Res.* 1989;97:131-138.
42. Takahashi MK et al. Fluorescence Intensity of Resin Composites and Dental Tissues Before and After Accelerated Aging: A Comparative Study. *Oper Dent.* 2008;33(2):189-195.
43. Lee YK, Lu H, Powers JM. Changes in opalescence and fluorescence properties of resin composites after accelerated aging. *Dent Mater.* 2006;22(7):653-60.
44. Silva T et al. Staining Beverages and Cigarette Smoke on Composite Resin and Human Tooth Fluorescence by Direct Spectrometry. *J Contemp Dent.* 2017;18:352-357.
45. Catelan A et al. Fluorescence intensity of composite layering combined with surface sealant submitted to staining solutions. *J Esthet Restor Dent.* 2015;27(Suppl 1):33-40.
46. Rost FWD. *Autofluorescence in human and animal tissues and cells. Fluorescence Microscopy,* Cambridge University Press, Cambridge. 1995;2:1-15.
47. Benedict HC. A note on the fluorescence of teeth in ultra-violet rays. *Science.* 1928;67(1739):442.
48. Laurila UR, Mancewicz S, Forziati AF. Isolation and partial fractionation of fluorescence material from human teeth. *J Dent Res.* 1960;39:714.
49. Armstrong WG. Fluorescence characteristics of sound and carious human dentine preparations. *Arch Oral Biol.* 1963;8:79-90.
50. Horibe H, Katsura S, Fuiimori K, Yamada M. Multiple distribution of fluorescence in human teeth. *Acta Histochem, Cytochem.* 1974;7(4):334-341.
51. Foreman PC. The excitation and emission spectra of fluorescent components of human dentine. *Arch Oral Biol.* 1980;25(10):641-7.
52. Fukushima Y, Araki T, Yamada M. Topography of fluorescence and its possible composites in human teeth. *Cell Mol Biol.* 1987;33:725-736.
53. Alfano RR, Yao SS. Human teeth with and without dental caries studied by visible luminescent spectroscopy. *J Dent Res.* 1981;60:120-122.
54. Sundström F, Fredriksson K, Montán S, Hafström U, Ström J. Laser-induced fluorescence from sound and caries tooth substance: spectroscopic studies. *Swed Dent J.* 1985;9:71-80.

55. Hoerman KC, Mancewicz SA. Fluorometric demonstration of tryptophan in dentin and bone protein. *J Dent Res.* 1964;43:276-280.
56. Perry A, Biel M, DeJongh O, Hefferren J. A comparative study of the native fluorescence of human dentine and bovine skin collagen. *Arch Oral Biol.* 1969;14:1193– 1211.
57. Sidoroff A, Thaler P. Taking treatment decisions in non-melanoma skin cancer—The place for topical photodynamic therapy (PDT). *Photodiagn Photodyn Ther.* 2010(7):24-32.
58. Tyrell J, Campbell S, Curnow A. Protoporphyrin IX photobleaching during the light irradiation phase of standard dermatological methyl-aminolevulinate photodynamic therapy. *Photodiagn Photodyn Ther.* 2010(7):232-238.
59. Kalias N, Zonios G, Stamatias N. Fluorescence spectroscopy of skin. *Vib Spectrosc.* 2002(28):17-23.
60. Sell DR et al. Pentosidine: a molecular marker for the cumulative damage to protein diabetes, aging and uremia. *Diabetes Metab Rev.* 1991(7):239-251.
61. Odetti PR, Borgoglio A, Rolandi R. Age-related increase of collagen fluorescence in human subcutaneous tissue. *Metabolism.* 1992(41):655-658.
62. Valeur B, Berberan-Santos MN. *Molecular Fluorescence: Principles and Applications.* Wiley-VCH. 2012:199-122.
63. Dinish US, Gulati P, Murukeshan VM, Seah LK. Diagnosis of colon cancer using frequency domain fluorescence imaging technique. *Optics Communications.* 2007(271):291-301.
64. Lucassen GW, Hendriks BHW, Wesseling J, Ruers TJM. Improved identification of peripheral lung tumors by using diffuse reflectance and fluorescence spectroscopy. *Lung Cancer.* 2013(80):165-171.
65. Nakanishi K et al. Color auto-fluorescence from cancer lesions: Improved detection of central type lung cancer. *Lung Cancer.* 2007(58):214-219.
66. Dramićanin T, Dramićanin MD, Dimitrijević B, Jokanović V, Lukić V. Discrimination between normal and malignant breast tissues by Synchronous luminescence spectroscopy. *Acta Chim Slov.* 2006(53):444-449.
67. Dramićanin T, Dramićanin MD, Jokanović V, Nikolić-Vukosavljević D, Dimitrijević B. Three-dimensional Total Synchronous Luminescence Spectroscopy Criteria for Discrimination between Normal and Malignant Breast Tissues. *Photochem Photobiol.* 2005;81(6):1554-1558.
68. Dramićanin T, Lenhardt L, Zeković I, Dramićanin MD. Support Vector Machine on fluorescence landscapes for breast cancer diagnostics. *J Fluoresc.* 2012(22):1281-1289.
69. Freeberg JA, Benedet JL, MacAulay C, West LA, Follen M. The performance of fluorescence and reflectance spectroscopy for the in vivo diagnosis of cervical neoplasia; point probe versus multispectral approaches. *Gynecol Oncol.* 2007;107:S248-S255.
70. Ebenezar J, Aruna P, Ganesan S. Synchronous Fluorescence Spectroscopy for the Detection and Characterization of Cervical Cancers In Vitro. *Photochem Photobiol.* 2010;86:77-86.
71. Heintzelman DL et al. Optimal Excitation Wavelengths for In Vivo Detection of Oral Neoplasia Using Fluorescence Spectroscopy. *Photochem Photobiol.* 2000;72(1):103-113.
72. Yuvaraj M et al. Fluorescence spectroscopic characterization of salivary metabolites of oral cancer patients. *J Photochem Photobiol B.* 2014(130):153-160.
73. Bachmann L et al. Fluorescence Spectroscopy of Biological Tissues—A Review. *Applied Spectroscopy Reviews.* 2006;41(6):575-590.
74. Lee YK. Fluorescence properties of human teeth and dental calculus for clinical applications. *J Biomed Optics.* 2015;20:40901.
75. Kiers HAL, Krijnen WP. An efficient algorithm for PARAFAC of three-way data with large numbers of observation units. *Psychometrika.* 1991;56:147-152.
76. Barutçigil Ç, Yildiz M. Intrinsic and extrinsic discoloration of dimethacrylate and silorane based composites. *J Dent.* 2012;40(Suppl 1):57-63.
77. Arocha MA, Mayoral JR, Lefever D, Mercade M, Basilio J, Roig M. Color stability of siloranes versus methacrylate-based composites after immersion in staining solutions. *Clin Oral Investig.* 2013;17(6):1481-7.
78. Bagheri R, Burrow MF, Tyas M. Influence of food-simulating solutions and surface finish on susceptibility to staining of aesthetic restorative materials. *J Dent.* 2005;33(5):389-98.

79. Paravina RD, Ghinea R, Herrera LJ, Bona AD, Igiel C, Linninger M. Color Difference Thresholds in Dentistry. *J Esthet Restor Dent*. 2015(27):S1-S9.
80. Yamamoto S et al. Principal component analysis for dental shade color. *Dent Mater*. 2012;28:736-42.
81. Zeković I et al. Discrimination among Melanoma, Nevi, and Normal Skin by Using Synchronous Luminescence Spectroscopy. *Appl Spectrosc*. 2014;68(8):823-830.
82. Tzeng DY, Berns RS. A review of principal component analysis and its applications to color technology. *Color Res Appl*. 2005;30(2):84-98.
83. Martinez WL, Martinez AR, Solka JL. *Exploratory Data Analysis with MATLAB*. Boca Raton, FL: CRC Press. 2005:31-60.
84. Smilde A, Bro R, Geladi P. *Multi Way Analysis — Applications in Chemical Sciences*. 2004.
85. Ferracane JL. Resin composite—State of the art. *Dent Mater*. 2011;27(1):29-38.
86. Paravina RD, Roeder L, Lu H, Vogel K, Powers JM. Effect of finishing and polishing procedures on surface roughness, gloss and color of resin-based composites. *Am J Dent*. 2004;17(4):262-6.
87. Noie F, O'Keefe K, Powers J. Color stability of resin cements after accelerated aging. 1994;8:51-5.
88. Eldiwany M, Friedl KH, Powers JM. Color stability of light-cured and post-cured composites. *Am J Dent*. 1995;8(4):179-181.
89. Addy M, Moran J. Mechanisms of Stain Formation on Teeth, in Particular Associated with Metal Ions and Antiseptics. 1995;9:450-456.
90. Sulieman M. An overview of tooth discoloration: extrinsic, intrinsic and internalized stains. *Dent Update*. 2005;32:463–4, 466–8, 471.
91. Watts A, Addy M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br Dent J*. 2001;190(6):309-16.
92. Asmussen E. Factors affecting the color stability of restorative resins. *Acta Odontol Scand*. 1983;43:11-8.
93. Dayan D, Heifferman A, Gorski M, Begleiter A. Tooth discoloration-extrinsic and intrinsic factors. *Quintessence Int Dent Dig*. 1983;14:195-9.
94. Asghar S, Asghar A, Rashid S, Hussain T. Replacement of resinbased composite restorations in permanent teeth. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2010;20:639–43.
95. Falkensammer F et al. Color stability of different composite resin materials. *J Prosthet Dent*. 2013;109(6):378-383.
96. Luiz BKM et al. Effect of drinks on the surface properties of dental resin composites. *Polymer Testing*. 2007;26(7):855-861.
97. Dos Santos Domingos AP et al. Composite resin color stability: Influence of light sources and immersion media. *J Appl Oral Sci*. 2011;19:204-11.
98. Awliya WY et al. The effect of commonly used types of coffee on surface microhardness and color stability of resin-based composite restorations. *Saudi Dent J*. 2010;22(4):177-181.
99. Bansal K, Acharya SR, Saraswathi V. Effect of alcoholic and non-alcoholic beverages on color stability and surface roughness of resin composites: An in vitro study. *J Conserv Dent*. 2012;15(3):283-288.
100. Ayad N. Susceptibility of restorative materials to staining by common beverages: an in vitro study. 2007;2:236-47.
101. Bagheri R, Tyas MJ, Burrow MF. Subsurface degradation of resin-based composites. *Dent Mater*. 2007;23(8):944-951.
102. Janda R et al. Color stability of resin-based filling materials after aging when cured with plasma or halogen light. 2005;113:251-7.
103. Ren YF et al. Effects of common beverage colorants on color stability of dental composite resins: The utility of a thermocycling stain challenge model in vitro. *J Dent*. 2012;40:e48-e56.
104. Manojlovic D et al. Evaluation of Staining-Dependent Colour Changes in Resin Composites Using Principal Component Analysis. *Sci Rep*. 2015;5:14638.
105. Mundim M, Garcia FL, Pires-de-Souza F. Effect of staining solutions and repolishing on color stability of direct composites. 2010;18:249-54.

106. Ertas E, Guler AU, Yucel AC, Koprulu H, Guler E. Color stability of resin composites after immersion in different drinks. *Dent Mater J.* 2006;25(2):371-6.
107. Kang A, Song SA, Hur B, Kwon YH, Ro JH, Park JK. The color stability of silorane- and methacrylate-based resin composites. *Dent Mater J.* 2012;31(5):879-84.
108. Terra Fontes S et al. Color stability of a nanofill composite: Effect of different immersion media. 2009;17:388-91.
109. Erdemir U, Yildiz E, Eren MM. Effects of sports drinks on color stability of nanofilled and microhybrid composites after long-term immersion. *J Dent.* 2012(40):e55-e63.
110. Dietschi D, Campanile G, Holz J, Meyer JM. Comparison of the color stability of ten new-generation composites: An in vitro study. *Dent Mater.* 1994;10(6):353-362.
111. Gupta R, Parkash H, Shah N, Jain V. A spectrophotometric evaluation of color changes of various tooth colored veneering materials after exposure to commonly consumed beverages. *J Indian Prosthodont Soc.* 2005(5):72-8.
112. Sham ASK, Chu FCS, Chai J, Chow TW. Color stability of provisional prosthodontic materials. *J Prosthet Dent.* 2004;91(5):447-52.
113. Kilinc E, Antonson S, Hardigan PC, Kesercioglu A. Resin cement color stability and its influence on the final shade of all-ceramics. *J Dent.* 2011(39):e30-e36.
114. Malekipour MR, Sharafi A, Kazemi S, Khazaei S, Shirani F. Comparison of color stability of a composite resin in different color media. *Dent Res J.* 2012;9(4):441-6.
115. Vichi A, Ferrari M, Davidson CL. Color and opacity variations in three different resin-based composite products after water aging. *Dent Mater.* 2004;20(6):530-4.
116. Pérez MM, Ghinea R, Ugarte-Alván LI, Pulgar R, Paravina RD. Color and translucency in silorane-based resin composite compared to universal and nanofilled composites. *J Dent.* 2010;38(Suppl 2):e110-6.
117. Kim HS, Um CM. Color differences between resin composites and shade guides. *Gen Dent.* 1996;27:559-67.
118. Oliveira D et al. The effect of combining photoinitiator systems on the color and curing profile of resin-based composites. *Dent Mater.* 2016;32(10):1209-1217.
119. Manojlovic D et al. Effect of resin and photoinitiator on color, translucency and color stability of conventional and low-shrinkage model composites. *Dent Mater.* 2016;32(2):183-191.
120. Santini A. Photoinitiators in dentistry: a review. *Prim Dent J.* 2013;2(4):30-3
121. Kim TH et al. Effect of temperature on the mass and color stability of additional photoinitiator-containing composite resins. *Dent Mater J.* 2013;32:628-36.
122. Schneider LF, Pfeifer C, Consani S, Pahl SA, Ferracane JL. Influence of photoinitiator type on the rate of polymerization, degree of conversion, hardness and yellowing of dental resin composites. *Dent Mater.* 2008;24(9):1169-77.
123. Arikawa H, Takahashi H, Kanie T, Ban S. Effect of various visible light photoinitiators on the polymerization and color of light-activated resins. *Dent Mater J.* 2009;28(4):454-60.
124. Schneider LFJ, Cavalcante LM, Consani S, Ferracane JL. Effect of co-initiator ratio on the polymer properties of experimental resin composites formulated with camphorquinone and phenyl-propanedione. *Dent Mater.* 2009;25(3):369-75.
125. Shin DH, Rawls HR. Degree of conversion and color stability of the light curing resin with new photoinitiator systems. *Dent Mater.* 2009;25(8):1030-8.
126. Furuse AY, Mondelli J, Watts DC. Network structures of Bis-GMA/TEGDMA resins differ in DC, shrinkage-strain, hardness and optical properties as a function of reducing agent. *Dent Mater.* 2011;27(5):497-506.
127. Luiz BKM, Amboni R, Prates LHM, Bertolino JR, Pires ATN. Influence of drinks on resin composite: Evaluation of degree of cure and color change parameters. *Polymer Testing.* 2007;26:438-444.
128. Awliya WY, Al-Alwani DJ, Gashmer ES, Al-Mandil HB. The effect of commonly used types of coffee on surface microhardness and color stability of resin-based composite restorations. *Saudi Dent J.* 2010;22(4):177-81.
129. Ayad NM. Susceptibility of restorative materials to staining by common beverages: an in vitro study. *Eur J Esthet Dent.* 2007;2(2):236-47.

130. Noie F, O' Keefe KL, Powers JM. Color stability of resin cements after accelerated aging. *Int J Prosthodont*. 1995;8(1):51-5.
131. Magne P, Holz J. Stratification of composite restorations: systematic and durable replication of natural aesthetics. *Pract Periodontics Aesthet Dent*. 1996;8(1):61-8.
132. Rytömaa I, Meurman J, Koskinen J, Laakso T, Gharazi L, Turunen R. In vitro erosion of bovine enamel caused by acidic drinks and other foodstuffs. *Scand J Dent Res*. 1988;96(4):324-33.
133. Nuaimi H, Ragab H. Effect of aggressive beverage on the color stability of different nano-hybrid resin based composite. *Eur J Gen Dent*. 2014;3(3):190-193.
134. Dos Santos PA et al. Chemical and morphological features of dental composite resin: Influence of light curing units and immersion media. *Microsc Res Tech*. 2010;73(3):176-181.
135. Dos Santos Domingos PA et al. Composite resin color stability: influence of light sources and immersion media. *J Appl Oral Sci*. 2011;19:204-211.
136. Eldiwany M, Friedl KH, Powers J. Color stability of light-cured and post-cured composite. 1995;8:179-81.
137. Nikzad S, Azari A, Poursina M. Effects of beverage colorants and accelerated aging on the color stability of indirect resin composites. *J Dent Sci*. 2012;7(3):231-237.
138. Kolbeck C et al. Discoloration of facing and restorative composites by UV-irradiation and staining food. *Dent Mater*. 2006;22(1):63-68.
139. Quek SHQ, Yap AUJ, Rosa V, Tan KBC, Teoh KH. Effect of staining beverages on color and translucency of CAD/CAM composites. *J Esthet Restor Dent*. 2018;30(2):E9-E17.
140. Lee YK et al. Difference in the color stability of direct and indirect resin composites. *J Appl Oral Sci*. 2011;19:154-60.
141. Kim BJ, Yu B, Lee YK. Shade distribution of indirect resin composites compared with a shade guide. *J Dent*. 2008;36(12):1054-1060.
142. Barzilay I, Irene T. Gingival prostheses - A Review. *J Can Dent Assoc*. 2003;69:74-8.
143. Alani A, Maglad A, Nohl F. The prosthetic management of gingival aesthetics. 2011;210:63-9.
144. Capa N. An alternative treatment approach to gingival recession: gingiva-colored partial porcelain veneers: A clinical report. *J Prosthet Dent*. 2007;98(2):82-84.
145. Coachman C, Calamita MA, Sesma N. Dynamic Documentation of the Smile and the 2D/3D Digital Smile Design Process. *Int J Periodont Rest Dent*. 2017;37(2):183-193.
146. Coachman C, Calamita M. The reconstruction of pink and white aesthetics. *Int Dent SA*. 2010;12(3):88-93.
147. Mjör IA, Moorhead JE, Dahl JE. Reasons for replacement of restorations in permanent teeth in general dental practice. *Int Dent J*. 2001;50:361-6.
148. Ho DK, Ghinea R, Herrera LJ, Angelov N, Paravina RD. Color Range and Color Distribution of Healthy Human Gingiva: A Prospective Clinical Study. *Sci Rep*. 2015;5:18498.
149. Gawriolek M et al. Color and Luminescence Stability of Selected Dental Materials In Vitro. *J Prosthodont*. 2012;21:112-22.
150. Mundim MF, Garcia LFR, Pires-de-Souza FCP. Effect of staining solutions and repolishing on color stability of direct composites. *J Appl Oral Sci*. 2010;18:249-54.
151. Nasim I et al. Color stability of microfilled, microhybrid and nanocomposite resins—An in vitro study. *J Dent*. 2010;38:e137-e142.
152. Paravina R, Roeder L, Lu H, Vogel K, Powers JM. Effect of finishing and polishing procedures on surface roughness, gloss and color of resin-based composites. *Am J Dent*. 2004;17:262-6.
153. Leite ML et al. The effect of drinks on color stability and surface roughness of nanocomposites. *Eur J Dent*. 2014;8(3):330.
154. Reis RSAAD et al. Evaluation of Fluorescence of Dental Composites Using Contrast Ratios to Adjacent Tooth Structure: A Pilot Study. *J Esthet Restor Dent*. 2007;19(4):199-206.
155. Lee YK, Lu H, Powers JM. Fluorescence of layered resin composites. *J Esthet Restor Dent*, 2005;17(2):93-100.
156. da Silva T, de Oliveira H, Severino D, Balducci I, Huhtala M, Gonçalves S. Direct spectrometry: a new alternative for measuring the fluorescence of composite resins and dental tissues. *Oper Dent*. 2014;39(4):407-15.

157. de Lima LM, Abreu JD, Cohen-Carneiro F, Regalado DF, Pontes DG. A new methodology for fluorescence analysis of composite resins used in anterior direct restorations. *Gen Dent.* 2015;63(5):66-9.
158. Ameer ZMA, Mualla SK. In Vitro Evaluation of Fluorescence Stability of Different Composites and Dental Tissues Before And After Accelerated Aging. 2015;3(2):01-06.
159. Alves LP, Pilla V, Murgo DO, Munin E. Core-shell quantum dots tailor the fluorescence of dental resin composites. *J Dent.* 2010;38(2):149-52.
160. Park MY, Lee YK, Lim BS. Influence of fluorescent whitening agent on the fluorescent emission of resin composites. *Dent Mater.* 2007;23(6):731-5.
161. Panzeri H, Fernandez LT, Minelli CJ. Spectral fluorescence of direct anterior restorative materials. *Aust Dent J.* 1977;22(6):458-61.
162. Lee YK, Lu H, Powers JM. Effect of surface sealant and staining on the fluorescence of resin composites. *J Prosthet Dent.* 2005;93(3):260-6.
163. Lee YK, Powers J. Influence of opalescence and fluorescence properties on the light transmittance of resin composite as a function of wavelength. *Am J Dent.* 2006;19:283-8.
164. Lim YK, Lee YK. Fluorescent emission of varied shades of resin composites. *Dent Mater.* 2007;23(10):1262-1268.
165. Song SH, Yu B, Ahn JS, Lee YK. Opalescence and fluorescence properties of indirect and direct resin materials. *Acta Odontol Scand.* 2008;66(4):236-42.
166. Yu B, Lee YK. Differences in color, translucency and fluorescence between flowable and universal resin composites. *J Dent.* 2008;36(10):840-6.
167. Lefever D, Mayoral JR, Mercade M, Basilio J, Roig M. Optical integration and fluorescence: A comparison among restorative materials with spectrophotometric analysis. *Quintessence Int (Berlin, Germany : 1985).* 2010;41:837-44.
168. Sanchez NP, Aleksic A, Dramicanin M, Paravina RD. Whitening-dependent changes of fluorescence of extracted human teeth. *J Esthet Restor Dent.* 2017;29(5):352-355.
169. Torres CR, Ribeiro CF, Bresciani E, Borges AB. Influence of hydrogen peroxide bleaching gels on color, opacity, and fluorescence of composite resins. *Oper Dent.* 2012;37(5):526-31.
170. Bueno RP, Salomone P, Villetti MA, Pozzobon RT. Effect of bleaching agents on the fluorescence of composite resins. *Eur J Esthet Dent.* 2013;8(4):582-91.
171. GÜth JF, Zuch T, Zwinge S, Engels J, Stimmelmayer M, Edelhoff D. Optical properties of manually and CAD/CAM-fabricated polymers. *Dent Mater J.* 2013;32(6):865-71.
172. Jablonski T et al. Comparative study of the fluorescence intensity of dental composites and human teeth submitted to artificial aging. *Gen Dent.* 2014;62(1):37-41.
173. 4049. SII. Dentistry – polymer-based restorative materials. 2009: Geneva, Switzerland.
174. Schulein TM. Infection control for extracted teeth in the teaching laboratory. *J Dent Educ.* 1994;58:411-413.
175. Vichi A, Ferrari M, Davidson CL. Color and opacity variations in three different resin-based composite products after water aging. *Dent Mater.* 2004;20(6):530-534.
176. Sulieman M. An overview of tooth discoloration: extrinsic, intrinsic and internalized stains. *Dent Update.* 2005;32(8):463-4,466-8,471.
177. Inokoshi S, Burrow MF, Kataumi M, Yamada T, Takatsu T. Opacity and color changes of tooth-colored restorative materials. *Oper Dent.* 1996;21:73-80.
178. Um CM, Ruyter IE. Staining of resin-based veneering materials with coffee and tea. *Quintessence Int.* 1991;22(5):377-86.
179. Ji YY, Zao ZM, Ji RD, Wang LX. Effects of typical food additives on the absorption spectrum properties of black tea. *Measurement.* 2014;49:351-357.
180. Moreira ASP, Nunes FM, Domingues MR, Coimbra MA. Coffee melanoidins: structures, mechanisms of formation and potential health impacts. *Food & Function.* 2012;3(9):903-915.
181. Cliff MA, King MC, Schlosser J. Anthocyanin, phenolic composition, colour measurement and sensory analysis of BC commercial red wines. *Food Res Int.* 2007;40(1):92-100.
182. He F et al. Anthocyanins and Their Variation in Red Wines II. Anthocyanin Derived Pigments and Their Color Evolution. *Molecules.* 2012;17(2):1483–1519.

183. Liu F, He Y. Use of Visible and Near Infrared Spectroscopy and Least Squares-Support Vector Machine To Determine Soluble Solids Content and pH of Cola Beverage. *J Agric Food Chem.* 2007;55(22):8883-8888.
184. Guo J et al. Determination of Brilliant Blue FCF in food and cosmetic samples by ionic liquid independent disperse liquid-liquid micro-extraction. *Anal. Methods.* 2013;5(16):4021-4026.
185. Lakowicz JR. Principles of fluorescence spectroscopy. 1999, New York: Plenum Press.
186. Takaichi S. Characterization of carotenes in a combination of a C(18) HPLC column with isocratic elution and absorption spectra with a photodiode-array detector. *Photosyn Res.* 2000;65(1):93-9.
187. Barua AB, Olson JA. Beta-carotene is converted primarily to retinoids in rats in vivo. *J Nutr.* 2000;130:1996-2001.
188. Jakobek L, Šeruga M, Medvidović-Kosanović M, Novak I. Antioxidant activity and polyphenols of aronia in comparison to other berry species. *Agric Conspec Sci.* 2007;72(4):301-6.
189. Cai Y, Sun M, Corke H. HPLC characterization of betalains from plants in the amaranthaceae. *J Chromatogr Sci.* 2005;43(9):454-60.
190. Rakić VP et al. Investigation of fluorescence properties of cyanidin and cyanidin 3-O-glucopyranoside. *Hem Ind.* 2015;69(2):155-63.
191. Gonçalves LC et al. A comparative study of the purification of betanin. *Food Chem.* 2012;131:231-8.
192. Tautua A, Martin WB, Diepreye ERE. Ultra-violet spectrophotometric determination of caffeine in soft and energy drinks available in Yenagoa, Nigeria. *Adv J Food Sci Technol.* 2014;6(2):155-8.
193. Amane M, Hamdani HE. Synthesis and Characterization of Caffeine and Phenanthroline complexes [M(phen)(caf)2X2] M = Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II), X=SCN-, CN-, caf: Caffeine, phen: (1, 10)-phenanthroline. *Int J ChemTech Res.* 2014;6(1):465-73.
194. Rodrigues MR, de Souza e Silva A, Lacerda FV. The Chitosan as Dietary Fiber: An in vitro Comparative Study of Interactions with Drug and Nutritional Substances. Karunaratne DN editor. *The Complex World of Polysaccharides.* Novi Sad: InTech Prepress. 2012:603-16.
195. Uchida H et al. Color stability of dental composites as a function of shade. *J Prosthet Dent.* 1998;79(4):372-377.
196. Reis AF et al. Effects of various finishing systems on the surface roughness and staining susceptibility of packable composite resins. *Dent Mater.* 2003;19(1):12-18.
197. Heydecke G, Schnitzer S, Turp JC. The color of human gingiva and mucosa: visual measurement and description of distribution. *Clin Oral Investig,* 2005;9:49-57.
198. Schnitzer S, Turp JC, Heydecke G. Color distribution and visual color assessment of human gingiva and mucosa: a systematic review of the literature. *Int J Prosthodont.* 2004;17:327-32.
199. Wang M, Sun J, Chao YL. Analysis of chromatic value of gingival porcelain. *West China Journal of Stomatology.* 2005;23:280-5.
200. Khashayar G. Color Science in Dentistry PhD Color Science in Dentistry PhD thesis, in Department of Dental Materials Science at the Academic Center for Dentistry Amsterdam (ACTA). 2013, Vrije Universiteit: Netherlands. 144-6.
201. Ren J, Lin H, Huang Q, Zheng G. Determining color difference thresholds in denture base acrylic resin. *J Prosthet Dent.* 2015;114(5):702-8.
202. Kiat-amnuay S, Johnston DA, Powers JM, Jacob RF. Color stability of dry earth pigmented maxillofacial silicone A-2186 subjected to microwave energy exposure. *J Prosthodont.* 2005;14:91-96.
203. Denissen H, Kuijken A, Dozic A. A photographic method to measure the color characteristics of healthy gingival. *Int J Dent Hyg.* 2007;5:22-6.
204. Bayindir F, Bayindir YZ, Gozalo-Diaz DJ, Wee AG. Coverage error of gingival shade guide systems in measuring color of attached anterior gingiva. *J Prosthet Dent.* 2009;101:46-53.
205. Huang JW et al. Using a spectrophotometric study of human gingival colour distribution to develop a shade guide. *J Dent.* 2011;39:e11-e16.
206. Dummett CO. First Symposium on Oral pigmentation. *J Periodontol.* 1960;31:356-60.
207. Ryan EJ, Toto PD, Gargiulo AW. Aging in human attached gingival epithelium. *J Dent Res.* 1974;53:74-6.

208. Kleinheinz J, Buchter A, Fillies T, Joos U. Vascular basis of mucosal color. *Head Face Med.* 2005;24:1–4.
209. Hyun HK, Kim S, Lee C, Shin TJ, Kim YJ. Colorimetric distribution of human attached gingiva and alveolar mucosa. *J Prosthet Dent.* 2017;117(2):294-302.
210. Huang JW et al. Using a spectrophotometric study of human gingival color distribution to develop a shade guide. *J Dent.* 2011;39s:e11-e16.
211. Levine, M. Topics in dental biochemistry. 2011; Available from: <http://public.ebib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=667003>.
212. Fukushima Y, Araki T, Yamada M. Topography of fluorescence and its possible composites in human teeth. *Cell Mol Biol.* 1987;33:725-736.
213. Fujimoto D. Cross-linking of collagen. In: Kligman, A.M., Takase, Y. (Eds.), *Cutaneous Aging* University of Tokyo Press, Tokyo. 1988: p. 263-274.
214. Uo M, Okamoto M, Watari F, Tani K, Morita M, Shintani A. Rare earth oxide-containing fluorescent glass filler for composite resin. *Dent Mater J.* 2005;24(1):49-52.
215. Yan B, Wang QM. In situ composition and luminescence of terbium coordination polymers/PEMA hybrid thick films. *Opt Mater.* 2004;27:533-537.
216. Abdulhameer ZM, Mualla S. In Vitro Evaluation of Fluorescence Stability of Different Composites and Dental Tissues Before And After Accelerated Aging. *J Med Dent Sci Res* 2015;3(2):01-06.

BIOGRAFSKI PODACI AUTORA

Milica D. Dervišević (dev. Antonov) rođena je 28. 08. 1988. godine u Vranju, Republika Srbija, gde je završila osnovnu školu i gimnaziju „Bora Stanković“. Školske 2007/2008. godine, upisala je osnovne studije na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Kao student je učestvovala na studentskim kongresima. Osnovne akademske studije je završila 2013. godine sa diplomskom radom pod nazivom „Stavovi o korišćenju podloge ispod kompozitnog ispuna“. Iste godine je upisala prvu godinu doktorskih studija na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu na studijskom programu „Bazična i klinička istraživanja u stomatologiji“ pod rukovodstvom prof. dr Aleksandra Todorovića. Državni ispit je položila 2014. godine, nakon obavljenog pripravničkog staža na Stomatološkom fakultetu. Od februara 2015. godine je zaposlena u Institutu za nuklearne nauke „Vinča“ u Laboratoriji za radijacionu hemiju i fiziku „Gamma“ (030) kao istraživač pripravnik u grupi prof. dr Miroslava Dramićanina. Odlukom nastavno-naučnog veća Instituta u Vinči decembra 2015. godine je izabrana, a novembra 2018. reizabrana u zvanje istraživač saradnik. Od tada osnovni predmet istraživanja Milice Dervišević je primena optičkih spektroskopskih metoda na analiziranje boje zuba i stomatoloških materijala. Angažovana je na naučnom projektu finansiranom od strane Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije.

Učestvovala je na brojnim međunarodnim i domaćim simpozijumima, stručnim skupovima i radionicama iz oblasti stomatološke protetike i restaurativne stomatologije. Autor je 3 rada štampana u međunarodnim časopisima koji imaju impakt faktor na SCI listi, od kojih je jedan u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21). Objavila je značajan broj saopštenja iznetih na domaćim i međunarodnim konferencijama štampanim u celini u izvodu.

Bibliografija:

M21a – Vrhunski međunarodni časopis

1. D. Manojlović, L. Lenhardt, B. Milićević, **M. Antonov**, V. Miletić, M. D. Dramićanin. Evaluation of Staining-Dependent Colour Changes in Resin Composites Using Principal Component Analysis. *Sci. Rep.* **5**, 14638; doi: 10.1038/srep14638 (2015).

M22 – Istaknuti međunarodni časopis

1. **M. Antonov**, L. Lenhardt, D. Manojlović, B. Milićević, I. Zeković, M. D. Dramićanin. Changes of Color and Fluorescence of Resin Composites Immersed in Beer, *Journal of Esthetic and Restorative Dentistry*, B.C. Decker Inc, vol. 28, no. 5., pp. 330–338, issn: 1496–4155, doi: 10.1111/jerd.12232, 2016.

M23 – Međunarodni časopis

1. **M. Antonov**, L. Lenhardt, D. Manojlović, B. Milićević, M. D. Dramićanin, Discoloration of Resin Based Composites in Natural Juices and Energy Drinks, *Vojnosanitetski Pregled: Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia*, Vojnomedicinska akademija, Institut za naučne informacije, p. 394, issn: 0042–8450, doi: 10.2298/VSP161018394A, 2016.

M33 – Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celosti

1. **M. Antonov**, M. Potran, M. Šokac, A. Todorović, D. Jevremović, T. Puškar, B. Trifković, Uređaji za instrumentalno određivanje boje, International Scientific Conference for Metrology and Quality in Production Engineering and Environmental Protection – ETIKUM, Novi Sad, 19–20 June 2014, p.103.

M34 – Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu

1. O. Yerro, V. Radojević, I. Radović, **M. Antonov**, M. Petrović, D. Stojanović, R. Aleksić, Dental restorative material with self-healing characteristics, The Book of abstracts of the 2nd International Conference on Bioinspired and Biobased Chemistry & Materials, Nice, France, 15- 17 October 2014, p. 499.
2. **M. Antonov**, B. Milićević, L. Lenhardt, I. Zeković, D. Manojlović, M.D. Dramićanin. Discoloration effects of dental composite materials stained in beer, The 4th International Conference on the Physics of Optical Materials and Devices „ICOM 2015“ Budva, Montenegro, August 31 – September 4, 2015, p.176.
3. D. Manojlović, **M. Antonov**, B. Milićević, L. Lenhardt, M. D. Dramićanin. Staining kinetics of dental resin composites. The 4th International Conference on the Physics of Optical Materials and Devices „ICOM 2015“ Budva, Montenegro, August 31 – September 4, 2015, p.300.

M64 – Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu

1. **M. Antonov**, Radović I, Beloica M, Vulićević Z. Stavovi o korišćenju podloga ispod kompozitnog ispuna, 53. Kongres studenata Biomedicinskih nauka sa međunarodnim učešćem, Kopaonik, Srbija, 26–30 April 2012, p. 401.
2. **M. Antonov**, N. Jovanović, M. D. Dramićanin, J. Stašić, I. Zeković, D. Manojlović. Discoloration of resin-based dental composites from different manufacturers, 15th Young Researchers' Conference – Materials Science and Engineering, SANU 7–9 December 2016, Belgrade.
3. **M. Antonov**, D. Manojlović, L. Lenhardt, B. Milićević, M. D. Dramićanin. Promene boje i fluorescencije kompozita nakon potapanja u prirodne sokove i energetska pića, 15. Kongres stomatologa Srbije sa međunarodnim učešćem, Sava Centar 17–19 Novembar 2016, Beograd.

Прилог 1.

Изјава о ауторству

Потписана Милица Д. Дервишевић

број индекса 4019/2013

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

УПОРЕДНА АНАЛИЗА БОЈЕ И ФЛУОРЕСЦЕНЦИЈЕ ЗУБА И КОМПОЗИТНИХ

МАТЕРИЈАЛА

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Прилог 2.

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада

Име и презиме аутора Милица Д. Дервишевић

Број индекса 4019/2013

Студијски програм Базична и клиничка истраживања у стоматологији

Наслов рада **УПОРЕДНА АНАЛИЗА БОЈЕ И ФЛУОРЕСЦЕНЦИЈЕ ЗУБА И КОМПОЗИТНИХ МАТЕРИЈАЛА**

Ментор: Проф. Др Александар Тодоровић

Коментор: Проф. Др Мирослав Д. Драмићанин

Потписана Милица Д. Дервишевић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за објављивање на порталу **Дигиталног репозиторијума Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Прилог 3.

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

УПОРЕДНА АНАЛИЗА БОЈЕ И ФЛУОРЕСЦЕНЦИЈЕ ЗУБА И КОМПОЗИТНИХ**МАТЕРИЈАЛА**

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прераде (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа).

Потпис аутора

У Београду, _____

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство - некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство - некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прераде.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство - делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.