

산도변화와 침지시간이 광중합 복합레진의 잔류단량체 유출에 미치는 영향

전철민¹ · 유현미² · 권혁춘^{1*}

¹서울대학교 치과대학 치과보존학교실, ²성균관대학교 의과대학, 삼성서울병원 치과진료부 보존과

ABSTRACT

EFFECT OF PH AND STORAGE TIME ON THE ELUTION OF RESIDUAL MONOMERS FROM POLYMERIZED COMPOSITE RESINS

Cheol-Min Jeon¹, Hyun-Mi Yoo², Hyuk-Choon Kwon^{1*}

¹Department of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Seoul National University,

²Department of Conservative Dentistry, The Institute of Oral Health Science,
Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University, School of Medicine

Objectives : The purpose of this study was to determine whether pH and time has any influence on the degradation behavior of composite restoration by analyzing the leached monomers of dental composites qualitatively and quantitatively after storage in acetate buffer solution as a function of time using high performance liquid chromatography (HPLC) / mass spectrometer.

Materials and Methods : Three commercial composite restorative resin materials (Z-250, Heliomolar and Aeliteflo) with different matrix structure and filler composition were studied. Thirty specimens (7mm diameter×2mm thick) of each material were prepared. The cured materials were stored in acetate buffer solution at different pH (4, 7) for 1, 7 and 45days. As a reference, samples of unpolymerized composite materials of each product were treated with methanol (10 mg/ml). Identification of the various compounds was achieved by comparison of their mass spectra with those of reference compound, with literature data, and by their fragmentation patterns. Data were analysed statistically using ANOVA and Duncan's test.

Results :

1. Amounts of leached TEGDMA in Aeliteflo were significantly larger than those of UDMA in Z-250 and Heliomolar at experimental conditions of different storage time and pH variation ($p < 0.001$).
2. As to comparison of the amounts of leached monomers per storage time, amounts of leached TEGDMA in Aeliteflo and UDMA in Z-250 and Heliomolar were increased in the pH 4 solution more significantly than in the pH 7 solution after 1day, 7days and 45days, respectively ($p < 0.001$).
3. In total amounts of all the leached monomers with storage times, the overall amounts of pH 4 extracts were larger than those of pH 7 extracts for all resin groups, but there was no significant difference ($p > 0.05$). [J Kor Acad Cons Dent 29(3):249-266, 2004]

Key words : Light cured composite resin, Leaching of residual monomers, pH variation, High performance liquid chromatography (HPLC)

* Corresponding author: Hyuk-Choon Kwon

Department of Conservative Dentistry,
College of Dentistry, Seoul National University
28-2 Yeongun-dong, Chongro-gu, Seoul, Korea, 110-749
Tel: 82-2-2647-2882 Fax: 82-2-2647-7528
E-mail: juhohyun@hanmail.net

1. 서 론

복합레진은 향상된 물리적 성질, 우수한 심미성, 상아질과 법랑질에 대한 높은 접착력 등으로 인해 치과 수복분야에서 광범위하게 사용되고 있다. 광중합 복합레진의 중합률은 35~77%로 보고되고 있으며, 이는 복합레진의 경화된 수복물 내에 비교

적 많은 양의 미반응 잔류 단량체가 있음을 의미한다¹⁻³⁾.

Ruyter 등⁴⁾은 중합체 내의 잔존 이중결합은 레진의 강도, 색 안정성과 마모 저항도 등과 같은 물성의 저하 원인이 된다고 하였고, Hank 등⁵⁾은 미중합된 레진 성분들이 수복물로부터 유리되어 나와 상아세관을 통해 확산되어 치수에 유해한 자극을 줄 수 있음을 지적하였다. 광중합 복합레진의 불완전한 중합과 구강 내와 같은 수용성 환경은 복합레진의 분해와 침식의 원인이 될 수 있다⁶⁾. 이러한 레진 표면의 분해 작용으로 미반응 잔류단량체들이 타액이나 다른 용매로 유출될 수 있으며 그 정도는 중합률 이외에 중합깊이, 광도 및 중합시간 등 다양한 인자에 의해 영향을 받게 된다⁷⁾. Ferracane과 Condon⁸⁾은 증류수나 에탄올/ 증류수 혼합액에 복합레진을 침지시킬 경우 침지용액에 관계없이 거의 대부분의 용출 가능한 성분들이 24시간 이내에 유출된다고 보고하였다. Inoue와 Hayashi⁹⁾는 복합레진의 중합 후 외부로 유출되는 잔류단량체량은 초기 중합체 무게의 약 0.4~1.2%정도이며, 3일 후에 최대에 이른다고 하였고, 물로 유출될 수 있는 잔류단량체량은 전체 미반응 잔류단량체량의 10%보다 적다고 보고하였다. Ferracane과 Condon⁸⁾, Tanaka¹⁰⁾ 등은 침지 용매로 유기 용액을 사용한 결과 복합레진의 표면이 연화되어 많은 성분들이 유출되었으며, 복합레진 성분들의 유출과정에 단량체의 화학적 조성과 구조적 크기도 중요한 역할을 한다고 하였다.

복합레진 기질의 대부분은 Bis-GMA (Bisphenol A diglycidyl dimethacrylate) / TEGDMA (triethyleneglycol dimethacrylate) 등과 같은 여러 단량체의 가교결합으로 형성된다. Bis-GMA / TEGDMA 등으로 구성된 복합레진의 불완전한 중합과 높은 친수성은 수분흡수를 증가시키며, 강도, 경도, 마모 저항도 등을 저하시켜 미반응 단량체가 유출될 수 있다^{11,12)}. Gerzina와 Hume¹³⁾은 고성능 액체크로마토그래피 (HPLC-High Performance Liquid Chromatography)를 이용하여 유출된 TEGDMA와 Bis-GMA 단량체들을 검출하였고, Tanaka 등¹⁰⁾은 기체크로마토그래피 (GC-Gas Chromatography)를 이용하여 복합레진이 침지되어 있던 물에 다량의 TEGDMA와 소량의 Bis-GMA 들이 유출되어 있음을 확인하였다. 중합된 복합레진으로부터 미반응 잔류단량체가 유출될 수 있는 과정은 생체 외에서 크게 2개의 과정으로 분류될 수 있으며, 그 중 한 부분은 물리적 파괴과정에 의한 것이고, 다른 부분은 효소에 의한 가수분해 반응과 같은 화학적 파괴에 의한 것이다^{14,15)}. 물리적 과정에 의한 것은 레진 기질의 연화와 마모, 기계적 응력의 집중 등으로 인한 구성성분의 소실을 의미하며, 화학적 과정은 물을 매개체로 한 레진 기질의 산화와 가수분해 과정이며, 레진 중합체의 에스터결합의 파괴 등으로 일어날 수 있다. 특히 이러한 가수분해는 구강 내 조직, 세균, 타액 등의 esterase에 의해 촉진될 수 있고, 레진 중합체로부터 미반응 잔류단량체들을 유출시킬 수 있다¹⁶⁾.

광중합 복합레진의 잔류단량체 유출과정은 기계적, 물리적

과정에 의한 구성성분의 소실만으로 설명할 수 없으며, 구강 내의 가수분해 효소, 음식물에서 유출되는 알코올과 유기산, pH의 변화, 치태 내의 산 등에 의한 분해 등 화학적 과정과 복합적으로 이루어진다^{17,18)}. 복합레진의 화학적 분해과정은 독립적, 혹은 복합적으로 일어나는 산화와 가수분해 과정이고 물이 중요한 역할을 한다. 물의 흡수는 확산과정을 통해 복합레진의 기질에서 일어나며 침지 시간과 레진의 filler 함량에 의해 영향을 받는다¹⁹⁾. 확산된 물분자는 화학적 분해를 촉발시키며 레진 기질의 분해 산물들은 중합체로부터 유출될 수 있다. 또한 filler의 침식이 일어날 수도 있으며 이러한 filler의 침식으로 복합레진의 성분이 유출될 수도 있다²⁰⁾.

Filler와 같은 무기산물 이외에 분해된 유기산물의 유출은 구성 분자의 크기에 영향을 받는다. 분자량이 보다 작은 단량체들은 큰 단량체들에 비해 큰 운동성으로 인해 보다 빨리 유출된다. TEGDMA는 유연성이 있는 긴 이중 기능성 레진으로 단단한 방향성 단량체인 Bis-GMA의 점조도를 감소시키고 조작성을 향상시키기 위해 사용하는 희석제로 복합레진 중에 대략 30% 내외의 비율로 함유되어 있으며, Bis-GMA와 TEGDMA의 비율은 3:1 정도이다. 또한 UDMA (urethane dimethacrylate)는 광원에 민감하여 중합률 증가를 위해 Bis-GMA와 더불어 보조 단량체로 사용된다. 여러 연구에 의하면 수용액에 침지된 복합레진에서 유출될 수 있는 주요성분들은 약 7일내에 상당부분 유출되며 분자량이 작고 친수성인 TEGDMA가 대부분이고, 분자량이 비교적 큰 Bis-GMA와 UDMA는 소량 검출되었다^{6,10)}.

레진기질을 구성하고 있는 단량체들은 생화학적 측면에서 생체에 무해하지 않다. Hanks²¹⁾는 생체 외 연구에서 Bis-GMA, Bis-EMA (ethoxylated Bisphenol A dimethacrylate) UDMA, TEGDMA 등이 모두 세포독성이 있으며, 세포의 50%가 실패되는 LD₅₀이 Bis-EMA의 경우 1~10 μ mol라고 하였다. 또한 Bis-GMA, TEGDMA, UDMA, Bisphenol-A의 LD₅₀은 10~100 μ mol로, Bis-EMA가 가장 독성이 강한 것으로 보고하였다. 또한 Nassiri 등²²⁾은 UDMA의 25ppm은 구강상피 세포의 치사량으로 보고하였다. 또한 Bis-GMA의 합성 단계에서 사용하는 Bisphenol-A 성분이 타액으로 유출되어 인체에서 여성호르몬인 에스트로젠과 유사한 성질을 띠고 주장하는 보고도 있어^{23,24)} Bis-GMA 계통 레진의 유해성 여부가 논란이 되고 있다.

생체 내에서 수복된 복합레진은 타액과 식음료의 유기산 등에 지속적으로 노출된다. 이러한 물질들은 음식물 잔사나 치석, 치태 등의 매개체를 통해 레진 수복물의 변연부에 흡착될 수 있고 수복물 내부로의 수분확산과 수복물과 치질계면의 미세균열을 일으킨다. 이러한 균열은 지속적으로 확장되며, 수복물 내부로 빠르고 많은 수분과 유기산의 침투를 가능하게 하여 수복물의 분해를 가속시킨다^{25,26)}. 또한 치태 내에도 세균들의 대사산물인 많은 종류의 산들이 존재한다. 아세트산과 젖

산 등이 주성분이며 치태 내의 산도는 활동성인 경우 낮은 수치를 나타낸다²⁶⁾. 치태 내 유기산인 아세트산은 Bis-GMA 계통의 복합레진의 표면을 연화시킬 수 있고, 표면연화에 이은 수분침투로 인한 표면팽창은 수복물의 마모 저항도를 감소시키고, 표면변색의 원인이 될 수 있다²⁷⁾. 그러나 치태 내 또 다른 유기산의 한 종류인 젖산은 아세트산보다 레진표면의 연화작용이 낮은 것으로 알려져 있다.

복합레진의 침지용액은 많은 종류의 용출 단량체들을 함유하고 있으며, 침지용액의 분석은 레진의 분해양상에 관한 많은 정보를 제공해 줄 수 있다. 용액 내의 잔류단량체의 정성, 정량 분석을 위해서는 기체크로마토그래피 (GC)나 고성능 액체크로마토그래피 (HPLC)를 Mass spectrometer (MS)와 결합하여 사용하는 방법이 유용하다. 기체크로마토그래피는 레진에서의 유출된 잔류단량체를 분석하는 방법으로 다른 화학적인 측정법보다 신속성과 높은 감도로 널리 사용되어 왔다. 그러나 휘발성 기체로 시료를 처리해야 하며 시료의 분말화 과정에서 발생되는 열에 의한 화합물의 불안정성 등의 단점이 있다. HPLC를 이용한 분석법은 높은 감도를 가지며 비휘발성이나 열에 불안정한 물질을 빠르게 분석 할 수 있기 때문에 수용액으로 유출된 잔류단량체 분석에 더 유용한 방법이다. HPLC에서 분리된 시료는 Mass spectrometer (MS)로 보내지며 이온화 과정을 거친 후 전기장이나 자기장으로 보내진다. 이온화된 성분들은 질량 대 하전비 값 (m/z)의 차이에 의해 각각 독특한 질량 스펙트럼을 나타내게 되어 각 성분의 분자량 및 화학구조를 확인할 수 있다²⁸⁾.

구강 내 산도는 구내 환경에 따라 가변적이다²⁹⁾. 침샘의 파괴나 구강 건조증 등으로 인해 구강 내 자정작용이 없는 경우,

구강 내 산도는 치태나 치석 등의 지속적인 침착과 내부 세균들의 대사산물로 인해 낮아 질 수 있으며 레진 수복물위에 침착된 치태로부터 유리된 유기산은 레진표면에 기공을 형성하고 지속적인 침투가 용이하게 된다. 이 경우 레진의 생분해 (biodegradation)는 더욱 가속화될 것으로 생각된다. Chadwick 등³⁰⁾은 낮은 산도가 복합레진의 마모 저항도와 같은 기계적 물성에 미치는 영향은 적다고 하였다. Carboxylic anhydrase나 cholesterol esterase 등과 같은 효소에 의한 복합레진의 가수분해에 관한 많은 연구가 있었다³¹⁻³⁵⁾. 그러나 산도가 복합레진의 화학적 용해에 미치는 영향에 관한 분자 수준의 연구는 미미한 실정이며 단지 물리, 기계적인 간접적 실험방법 만으로는 규명하는 것에는 한계가 있다.

이에 본 연구에서는 임상에서 사용중인 수종의 광중합 복합레진을 중성과 산성으로 조절된 아세트산 완충용액에 침지 후, HPLC와 mass spectrometer (LC / MS)를 이용해 시간경과에 따른 용출용액의 성분을 직접 확인하고 정량 분석함으로써 산도변화가 단량체 유출에 미치는 영향에 관해 연구한 결과 다소의 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

Ⅱ. 실험 재료 및 방법

1. 실험 재료

본 실험에서 사용한 광중합 복합레진은 hybrid type인 Z-250 (3M Co, U.S.A.), Heliomolar (Ivoclar Vivadent, U.S.A.)와 flowable type인 Aeliteflo (Bisco, U.S.A.)등 3종이며, 구성 성분, 제조회사 및 제품번호는 Table 1과 같다.

Table 1. Commercial light-cured dental composite resins used in this study.

Brand name (Code)	Z 250 (Z)	Heliomolar (H)	Aeliteflo (E)
Manufacturer	3M Dental Products U.S.A.	Ivoclar Vivadent U.S.A.	Bisco, U.S.A.
Lot number	3KUJ	L39042	59087
Resin matrix	Bis-GMA / Bis-EMA (6) / UDMA / TEGDMA	Bis-GMA / UDMA / D ₃ MA	Bis-EMA / TEGDMA
Filler type	Zirconia / silica	Silicon Dioxide / Ytterbium III Fluoride	Barium / silica
Filler contents	60~66%/vol, 77~87%/wt	46%/vol, 59%/wt	50~56%/wt
Filler size	0.01~3.5 μ m	0.04~0.2 μ m	0.7~0.8 μ m

Bis-GMA = Bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate

TEGDMA = Triethyleneglycol dimethacrylate

Bis-EMA = Etoxylated Bisphenol A dimethacrylate

Bis-EMA (6) = Bisphenol A polyethethylene glycol diether dimethacrylate

UEDMA = Urethane dimethacrylate

D₃MA = Decamethacrylate

Z-250은 Bis-GMA, Bis-EMA, UDMA 등이 구성성분이며, 희석제인 TEGDMA의 대부분을 UDMA와 Bis-EMA (6)로 대체하였으며, Heliomolar는 Bis-GMA, UDMA 등이 주요 구성성분이며 희석제로 TEGDMA 대신 Decamethacrylate(D3MA)를 사용한다. Aeliteflo는 Bis-EMA, TEGDMA를 기본 구성으로 한다. 광중합 복합레진의 중합에는 XL-3000 (3M Co, U.S.A.) 광조사기를 사용하였으며, 광도측정계 (Demetron Research, U.S.A.)로 460-480mW/cm²의 범위 내에서 사용하였다.

산성 완충용액 (pH 4)은 0.2N acetic acid (CH₃COOH) 820ml와 0.2N sodium acetate (CH₃COONa) 180ml를 혼합해 만든 0.2M acetate buffer용액을 사용하였으며, 중성 완충용액 (pH 7)은 0.2M acetate buffer 100ml와 1M ammonium acetate (CH₃COONH₄) 250ml를 이용해 제작하였다. 완충용액으로 acetic acid 완충용액을 사용한 이유는 LC/MS분석 시에 phosphate buffer용액과 같은 무기완충용액은 피크가 강해서 다른 물질들의 피크들이 거의 보이지 않고 세척하기 용이하지 않아 유기완충용액을 사용해야 하기 때문이다.

Table 2. Experimental conditions according to different pH and storage time.

Storage solution	Storage time
acidic buffer solution, pH 4	1day
	7days
	45days
neutral buffer solution, pH 7	1day
	7days
	45days

2. 실험 방법

1) 시편 제작

일정한 양을 중합하기 위해 직경 7mm, 깊이 2mm의 양쪽 끝이 개방된 원통형 Teflon 몰드를 제작하였다. 실온에서 유리 슬라이드 위에 Mylar strip을 대고 몰드를 위치시킨 후 광중합 복합레진을 기포가 발생하지 않도록 유의하면서 약간의 잉여량이 생기도록 충전하였다. 광중합 복합레진이 충전된 몰드로 유리 슬라이드를 손으로 가압하여 잉여레진이 밀려나 오도록 하였다. 몰드 위의 잉여레진 제거 후 air-inhibited layer의 형성을 방지하기 위해 다시 Mylar strip으로 덮은 후 광조사기로 40초간 광중합 하였다. 중합된 시편은 전자저울 (Sartorius, Germany, 최소표시 0.1mg)로 무게를 측정한 후 2ml의 멸균된 유리병에 넣었으며, 37℃ 항온기에서 1ml의 pH 4, 7 완충 용액에 1, 7, 45일간 침지하였다. 시편의 표면적은 1.21cm²였으며, 평균무게는 Z-250이 0.2537g, Heliomolar는 0.2056g, 그리고 Aeliteflo는 0.1953g 이었다. 시편처리 조건은 산도와 침지시간을 조합하여 각각의 레진에 대해 6개군으로 하였으며 각 군당 시편수는 5개씩 하여 총 90개의 시편을 제작하였다.

2) 고성능 액체 크로마토그래피 (HPLC) 측정

침지기간이 경과한 후 침지용액은 시편제거 후 분석시기까지 냉동고에 보관하였다. 각 광중합 복합레진의 중합 전 시료 10mg씩을 전자저울로 정확히 측정해 1ml 메탄올에 녹인 후 1500g의 원심분리기로 무기 충전재를 제거해 표준용액 (STD)으로 사용하였다. 또한, 기계적 조작의 편차를 최소화하기 위해 순도 99% caffeine (Aldrich Co.)을 100ppm으로 희석해 internal standard로 사용하였다. 표준용액 (STD)과 침지용액 (storage solution)의 HPLC 주입 시 농도 조건은 Table 3과 같다.

실험에 사용한 HPLC는 Nanospace SI-2 (Shiseido, Japan)이며, 희석용액 1μL을 HPLC 장치에 부착된 1.0×250mm C18 컬럼에 투입한 후 5% Acetonitrile (용매A)와

Table 3. Dilution of standard solution (STD) and storage solution

STD 10mg/mL (10,000ppm) → 1000μL (1,000ppm) → 100μL/mL (100ppm) Caffeine 10mg/10mL (1,000ppm) → 100μL/mL (100ppm)
STD 100ppm 200μL + caffeine 100ppm 200μL → 1μL injection Storage solution 100μL + caffeine 100ppm 100μL → 1μL injection

* ppm = mg/L

Table 4. Conditions of HPLC

Column	Capcell Pak , C18, 1.0×250mm, 5 μ m (Shiseido, Japan)
Mobile phase	A : 5% acetonitile (0.1% formic acid) B : 95% acetonitile (0.1% formic acid)
Gradient condition	50% B (5') - 100% B (15') - 100% B (60')
Flow rate	50 μ L/min
Detector	UV 215nm (wavelength)

100% Acetonitile (용매B)를 조합한 용매조성을 갖는 이동상을 이용하여 50 μ L/min의 유출속도로 용리하였다. 검출기는 자외선검출기를 사용하였으며 파장은 215nm로 하였다. HPLC 사용조건은 Table 4와 같다.

3) Mass spectrometer를 통한 유출 단량체의 정성, 정량 분석

HPLC에서 분리된 단일 물질들을 electrospray ionization (ESI) 방법으로 이온화시켜 질량분석기 (Iontrap, LCQ Deca XP; Thermo Finnigan, U.S.A)로 질량 대 하전비가 m/z 100-1000인 범위 내에서 분석하였다. 표준용액 (STD)과 모든 시편의 침지용액들은 동일한 HPLC 환경 하에서 분리하였고, 침지용액의 HPLC 크로마토그램과 질량 분석기 (Mass spectrometer, MS)의 질량스펙트럼을 표준용액의 것과 비교 분석함으로써 침지용액내의 잔류 단량체 조성을 확인하였다. 독특한 질량스펙트럼, 분자량, fragmentation pattern 등을 통해 단량체들을 확인할 수 있었다. 농도를 알고 있는 표준용액의 단량체 피크의 적분값과 유출 단량체 피크의 적분값을 비교하여 유출 단량체들의 농도를 구하였다. Internal caffeine standard를 이용해 모든 단량체들의 피크값을 %CF으로 표준화했고, 표준용액의 단량체량에 대한 침지용액 내의 단량체량을 %Sol로 나타냈다. 각 시료들은 3회씩 반복 분석하였다.

4) 통계 분석

통계 분석을 위하여 각 군당 5개의 시편에 대해 3회씩 분석으로 표본의 크기를 15로 하였다. 각각의 레진에 대해 침지시간과 산도변화에 따른 잔류단량체의 유출량 차이에 대한 유의성을 검증하기 위하여 일원배치 분산분석법 (ANOVA)을 이용하였으며 Duncan's test로 사후 검정하였다.

III. 실험 결과

1. 유출 단량체 검출 (Isolation & Identification)

본 실험에서 표준용액으로 사용한 3종의 중합 전 레진시료

와 중합된 시편을 pH 4와 pH 7용액에 침지시킨 후 얻어진 전형적인 HPLC chromatogram은 Figures 1~9와 같다. 유보시간 (retention time)에 따라 나타나는 전형적인 형태의 peak들이 3종의 복합레진에서 거의 공통적으로 관찰되었으며 레진의 기질 조성에 따라 약간의 차이가 있었다.

Table 5는 각각의 유보시간에 따라 유출될 수 있는 단량체의 종류와 그 화학적 분자구조를 나타내고 있다. TEGDMA와 분자량 490의 단량체가 검출된 주요 화합물이었다. 시료의 유기 혼합물은 HPLC를 통해 단일 성분으로 분리된 후 연결되어 있는 Mass spectrometer (MS)로 이동되었다. Mass spectrometer (MS)를 통해 HPLC에서 분리된 peak들 중 주요 peak들을 확인하고 관련된 단량체들의 화학적 구조식을 결정하였다.

Mass spectrometer를 써서 주어진 화합물로부터 얻을 수 있는 기본적인 정보는 분자량과 이온화 양상이다. 분리된 화합물은 전자와 충돌되어 양이온으로 전환된다. Figures 10~13은 각각 9분, 14분, 21분, 23분대에 검출된 화합물의 질량스펙트럼과 이온화 분자들의 화학적 구조를 나타내고 있다. 이온화 과정에서 수소이온 (H^+)이 결합되는 것이 이상적이나 액체크로마토그래피의 이동상과 침지용액으로 사용된 완충용액내의 다양한 이온의 존재와 실험기구 등의 오염으로 인해 여러 이온들이 결합될 수 있다.

이번 실험의 질량스펙트럼에서 실제 분자량보다 높은 전하값의 peak는 H^+ , Na^+ , NH_3^+ 등의 이온 결합으로 생긴 것이다. Figure 10에서 9분대 peak A의 화합물과 연관된 물질은 internal standard인 분자량 195의 caffeine으로 나타났다. 질량수치 195.2의 가장 큰 peak는 caffeine의 어미이온이며 옆의 peak는 어미이온에 수소이온이 결합되어 196의 질량수치를 보이고있다. Figure 11에서 14분대 peak B의 화합물은 질량스펙트럼의 질량 대 하전비로 볼 때 TEGDMA일 확률이 가장 높다. Table 6은 TEGDMA의 질량 대 하전비와 이에 맞는 화학적 구조식이다. TEGDMA의 어미이온에 H^+ , Na^+ 결합되어 다양한 질량 대 하전비 수치를 나타내고있다. Figures 12, 13은 각각 21분대의 peak C, 23분 peak D의 유기화합물이며, 질량스펙트럼 분석을 통해 각각 UDMA와 Bis-GMA인 것으로 판명되었다. Table 7은 UDMA의 질량 대 하

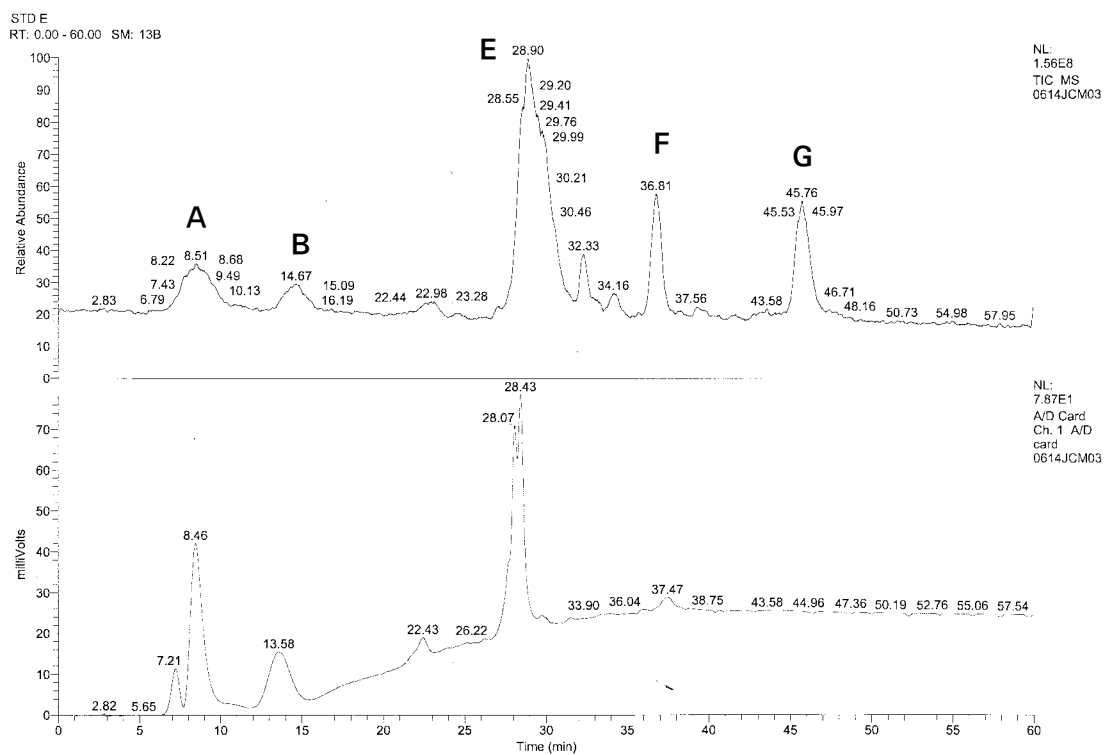


Figure 1. LC / MS-chromatogram of STD from Aeliteflo (Unpolymerized material)

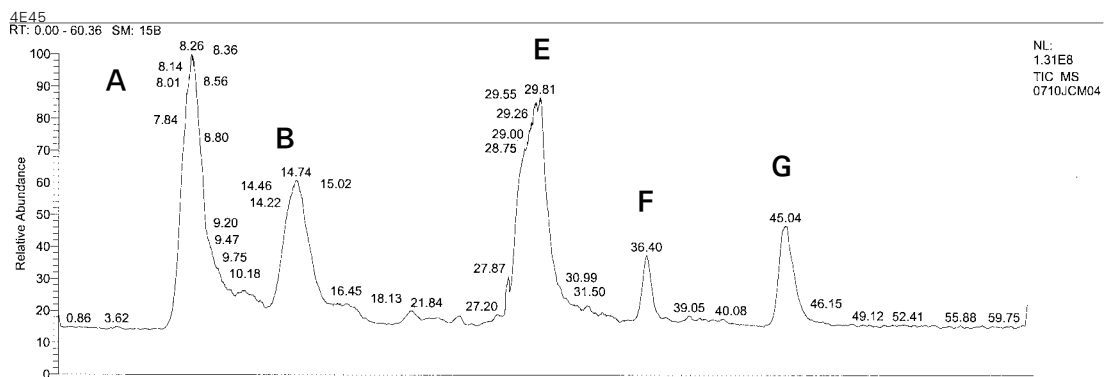


Figure 2. LC / MS-chromatogram of pH 4 extract from Aeliteflo (Polymerized material)

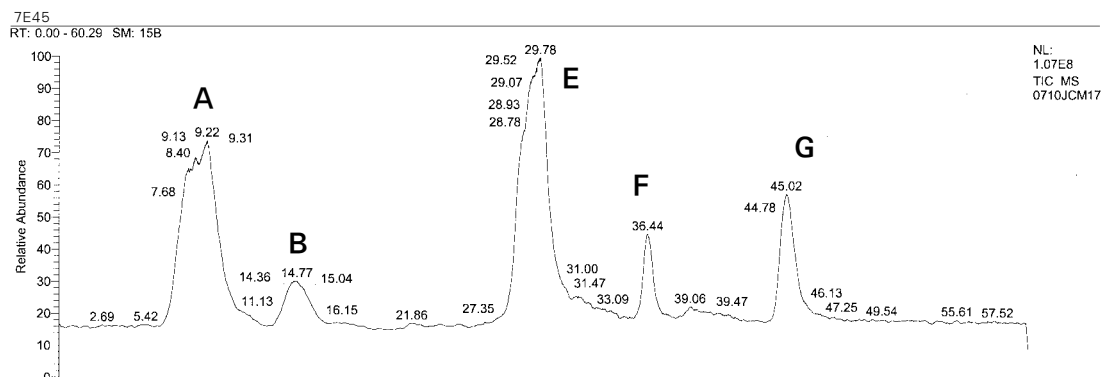


Figure 3. LC / MS-chromatogram of pH 7 extract from Aeliteflo (Polymerized material)

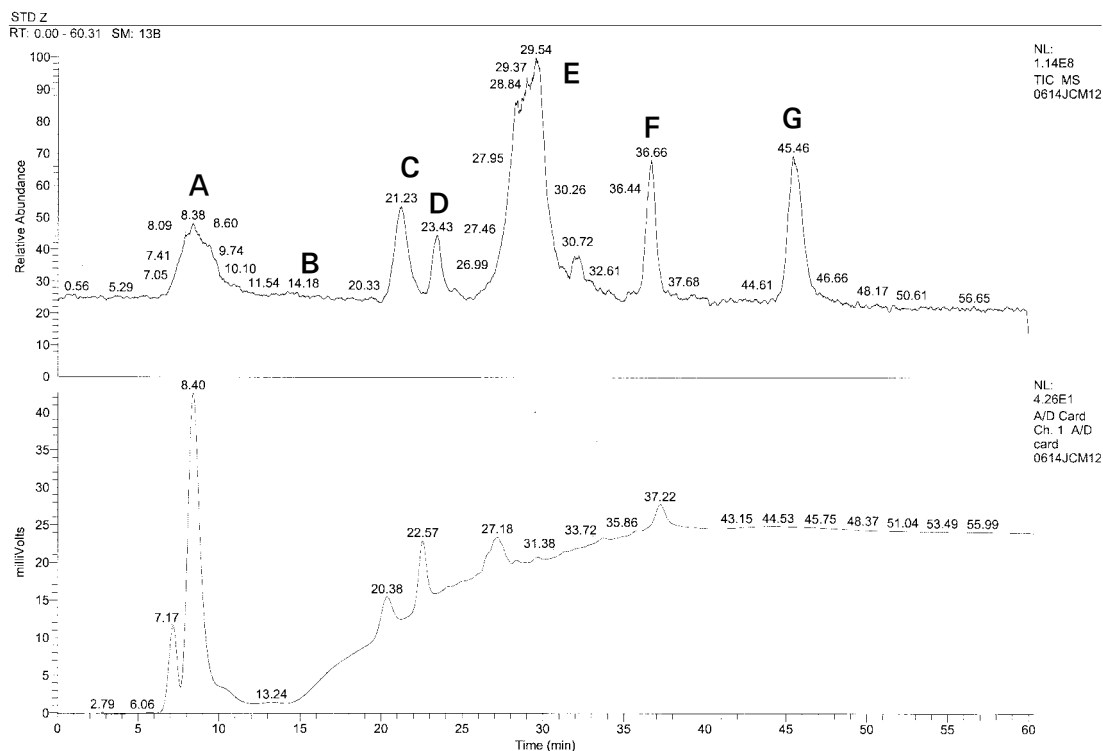


Figure 4. LC / MS-chromatogram of STD from Z-250 (Unpolymerized material)

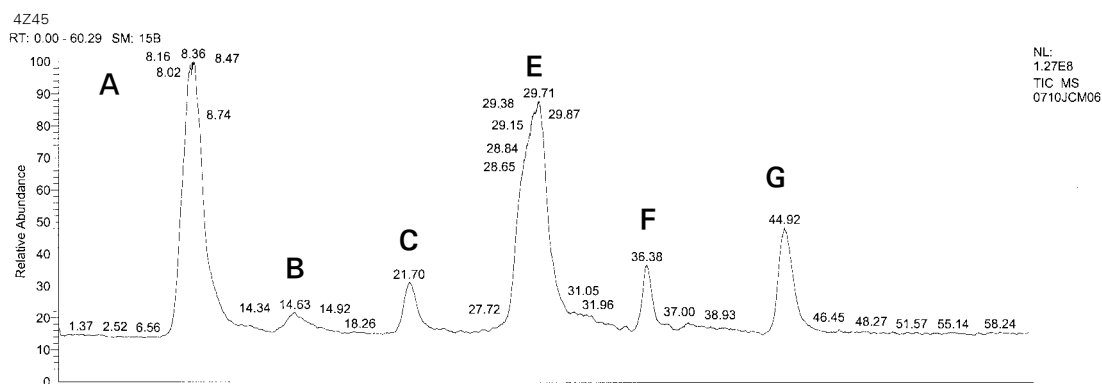


Figure 5. LC / MS-chromatogram of pH 4 extract from Z-250 (Polymerized material)

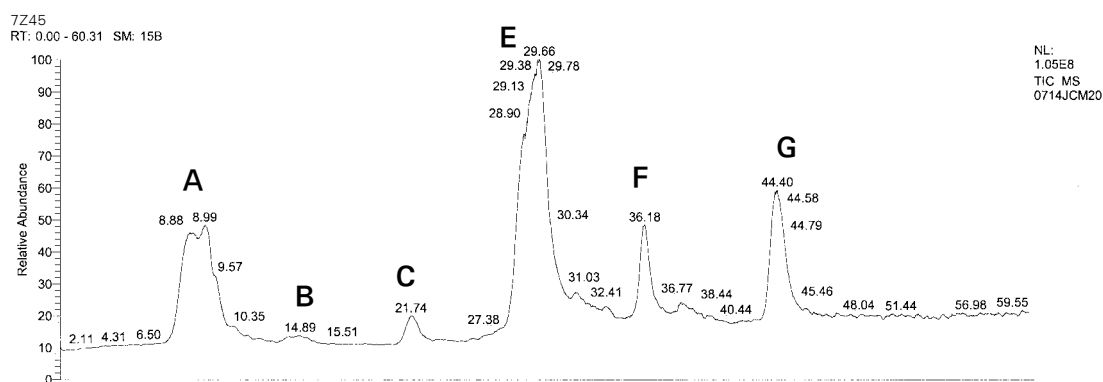


Figure 6. LC / MS-chromatogram of pH 7 extract from Z-250 (Polymerized material)

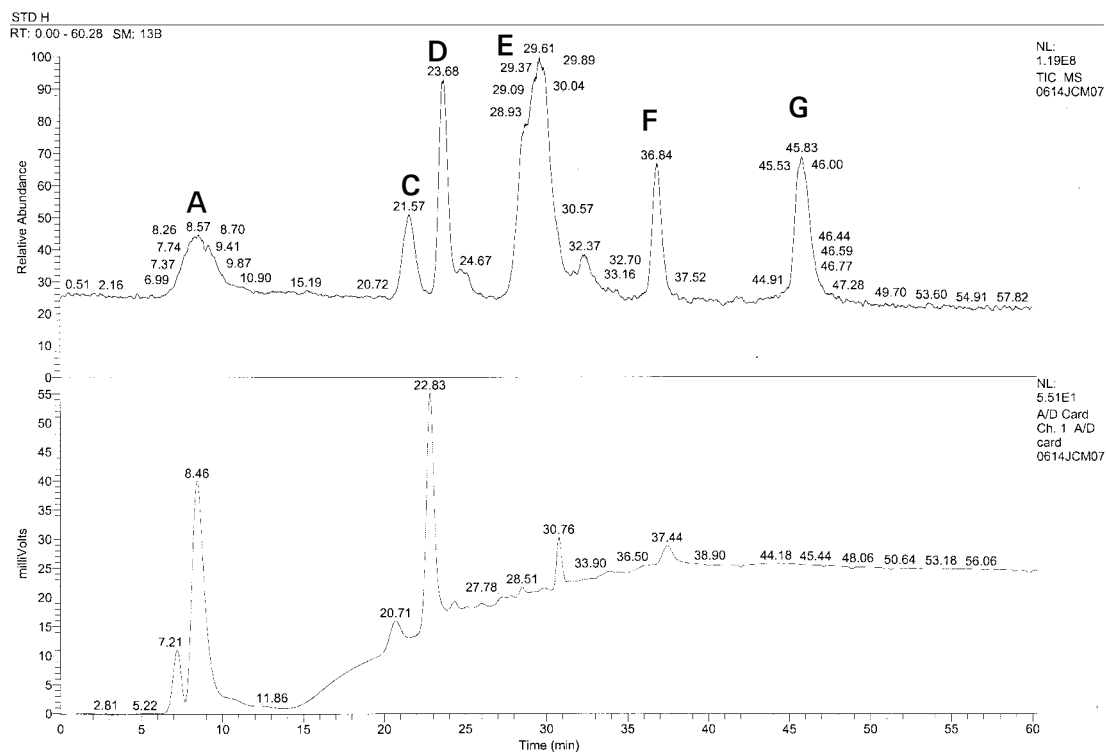


Figure 7. LC / MS-chromatogram of STD from Heliomolar (Unpolymerized material)

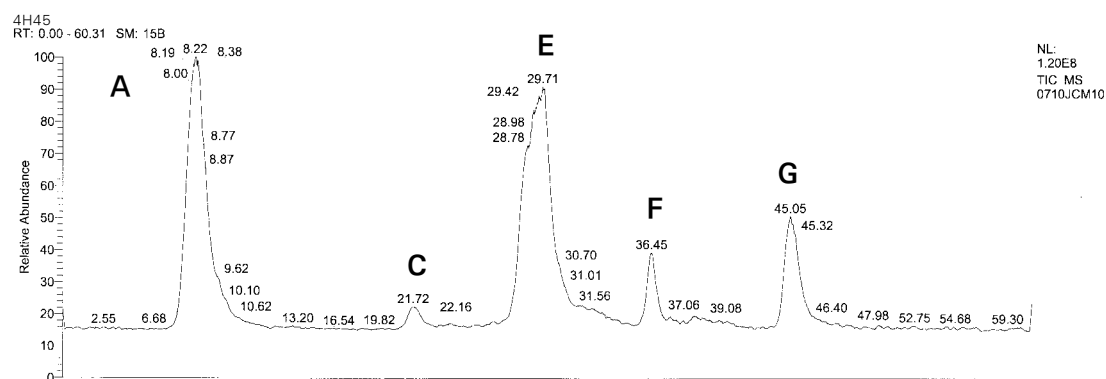


Figure 8. LC / MS-chromatogram of pH 4 extract from Heliomolar (Polymerized material)

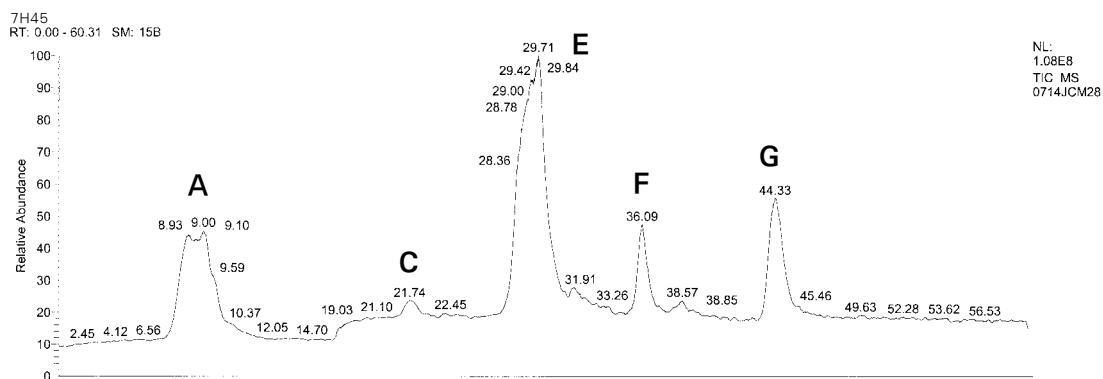


Figure 9. LC / MS - chromatogram of pH 7 extract from Heliomolar (Polymerized material)

- Peak A ; Internal caffeine standard, fragmented methyl methacrylate, methacrylic acid, etc.
 Peak B ; TEGDMA (triethyleneglycol dimethacrylate)
 Peak C ; UDMA (urethane dimethacrylate)
 Peak D ; Bis-GMA (Bisphenol A diglycidyl ether dimethacrylate)
 Peak E ; Unidentified, probably related to Bis-EMA (Ethoxylated bisphenol A dimethacrylate)
 Peak F,G ; A certain dimer or oligomer

Table 5. Isolated monomers released at its specific retention time.

Monomer	Retention time (min)	Peak	Molecular formula	Mol. wt.
Caffeine	9	A	$C_8 H_{10} O_2 N_4$	195
TEGDMA	14	B	$C_{14} H_{22} O_6$	286
UDMA	21	C	$C_{23} H_{38} O_8 N_2$	470
Bis-GMA	23	D	$C_{29} H_{36} O_8$	512
Bis-EMA (6)	29	E	$C_{35} H_{48} O_{10}$	628

* Bis-EMA (6) ; Bisphenol A polyethylene glycol diether dimethacrylate.

전비와 이에 맞는 화학적 구조식이다. H^+ 가 결합되어 471을, Na^+ 가 결합되어 493의 수치를 나타내고 있다.

Figures 1~3의 Aeliteflo group에서는 미중합 시료분석에서 5개의 전형적인 peak가 관찰되었고 이들 peak들은 중합시편의 침지용액 분석에서도 공통적으로 나타났다. 중합 전 시료의 peak E는 여러 성분들이 혼합되어 있는 경우가 있었다. 그러나, 침지 용액에서의 단량체들은 질량 스펙트럼으로 볼 때 중합전 시료보다 단순화되어 peak를 구성하는 성분들은 분자량 490의 단일 성분으로 확인되었다. 중합전 시료에서 Bis-GMA는 미량 관찰되었고 중합 후 시편 침지용액에서는 관찰

되지 않았다. Figures 4~6의 Z-250 group들 중 미중합 시료에서 나타난 peak는 7개로 3종의 레진들 중 가장 많은 peak가 관찰되었으며 Aeliteflo에 없는 peak C (UDMA)와 peak D (Bis-GMA)가 있었다. 침지용액에서는 peak C인 UDMA만이 용출되었다. Figures 7~9의 Heliomolar group에서는 미중합 시료의 peak D인 Bis-GMA가 비교적 다량 포함되었음에도 침지용액에서는 검출되지 않았다. 모든 레진에서 침지시간의 차이에 따른 단량체의 유출성분의 차이는 없었고, 침지시간이 증가함에 따라 Aeliteflo의 TEGDMA peak와 Z-250, Heliomolar의 UDMA peak가 증가하였다.

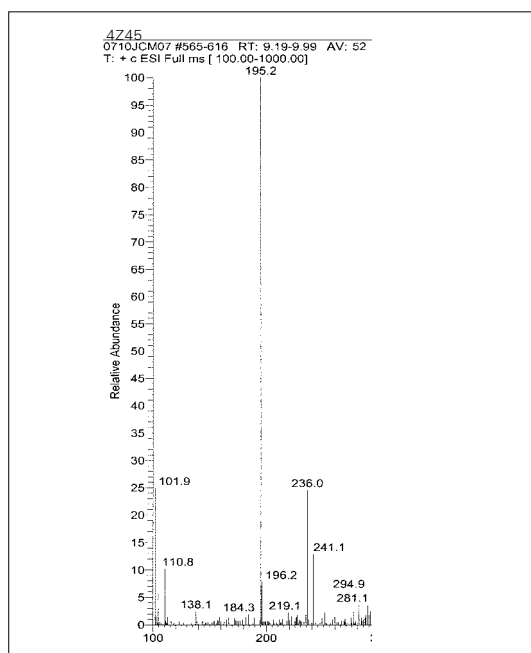


Figure 10. MS spectra of Caffeine (9min)

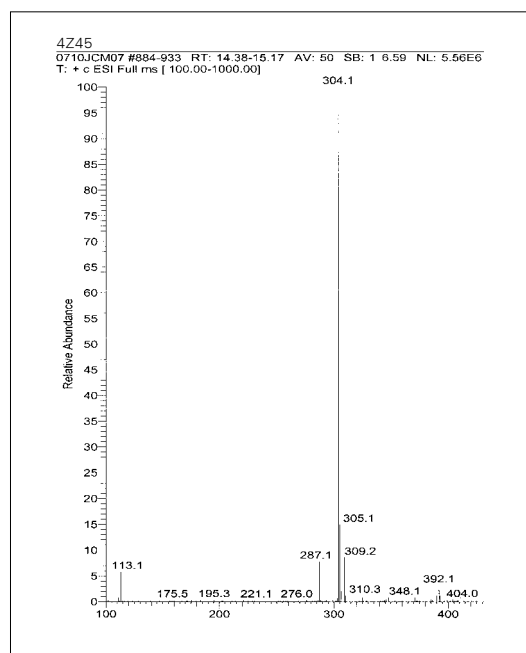


Figure 11. MS spectra of TEGDMA (14min)

Table 6. Chemical structure of fragmented ions related to TEGDMA

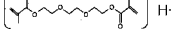
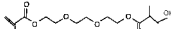


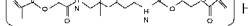


Mass-to-Charge Ratio	Ion Chemical Structure
287	 H ⁺
304	 H ⁺
305	 H ⁺
309	 Na ⁺

Table 7. Chemical structure of fragmented ions related to UDMA

Mass-to-Charge Ratio	Ion Chemical Structure
471	 H ⁺
488	 NH ₄ ⁺
493	 Na ⁺

2. 유출 단량체의 정량적 분석 (Quantification of residual monomers)

LC / MS의 peak 면적을 적분함으로써 흡수도를 평가하였다. Table 8~10은 중합 전 시료들과 침지용액 내의 유출된 잔류량체량을 정량화하기 위하여 기준물질인 caffeine의 유출량에 대한 상대적인 유출량을 %CF으로 나타낸 것이다.

Table 11은 3종의 레진에서 pH 변화에 따라 유출량의 차이를 보이는 TEGDMA와 UDMA의 통계학적 분석이다. Aeliteflo group들은 침치시간 및 산도에 따른 6개의 실험조

전에서 TEGDMA의 유출량 변화에 있어서 유의성있는 차이를 보였다 ($p < 0.001$). Z-250과 Heliomolar의 UDMA유출량은 침지시간이 증가함에 따라 중성에서 보다 산성에서 유출량이 증가하는 경향을 보였으나, 6개 조건에 따른 군들 사이에는 통계적으로 유의적인 차이를 보이지는 않았다 (Z: $P = 0.303$, H: $P = 0.261$). Figures 14~16은 침지시간별 TEGDMA와 UDMA유출량의 평균값을 비교한 것으로 제1일, 7일, 45일 각각에서 3종의 레진 모두가 pH 7에서보다 pH 4에서 유의성 있게 높은 유출량을 보였고 ($p < 0.001$), 산도별 비교에서는 1일과 7일과 45일 사이에서 침지시간이 증가함에

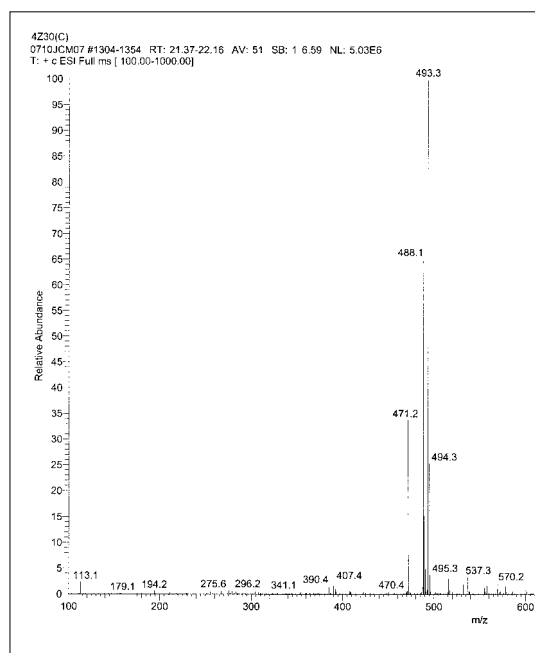


Figure 12. MS spectra of UDMA (21min)

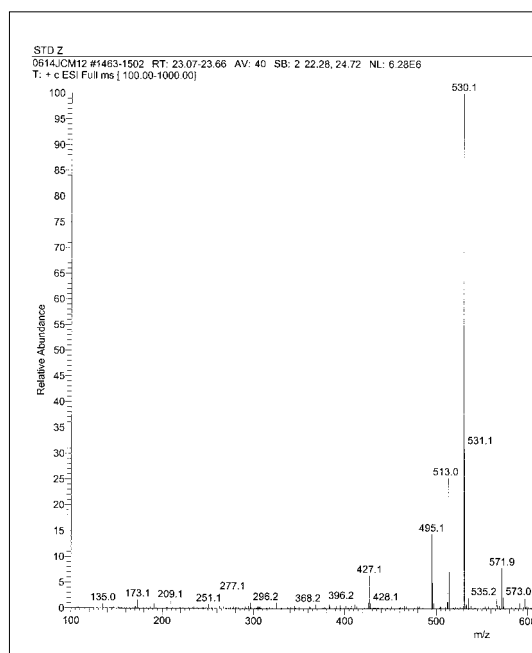


Figure 13. MS spectra of Bis-GMA (23min)

Table 8. Leached monomer content of Aelitflo groups

Retention time (min)	Compound mol.wt.	STD (%CF)	pH 4 extract (%CF)			pH 7 extract (%CF)		
			1day	7days	45days	1day	7days	45days
9.5	caffeine	100	100	100	100	100	100	100
14.78	TEGDMA	955	3218	4097	5069	1651	2411	2816
29.86	m:490	5281	7365	7575	7808	6080	6027	6764
36.43	m:877	498	696	755	777	635	649	748
45.04	m:816	1597	1852	1956	2031	1694	1687	1923

*%CF = percentage related to the internal caffeine standard

*STD = standard solution (unpolymerized material)

Table 9. Leached monomer content of Z-250 groups

Retention time (min)	Compound mol.wt.	STD (%CF)	pH 4 extract (%CF)			pH 7 extract (%CF)		
			1day	7days	45days	1day	7days	45days
9.5	caffeine	100	100	100	100	100	100	100
14.63	TEGDMA	69	622	631	663	225	338	351
21.76	UDMA	572	423	432	459	218	241	263
23.42	Bis-GMA	420	-	-	-	-	-	-
29.69	m:490	6192	6359	6587	7035	5392	5628	5540
36.37	m:877	472	588	605	649	619	623	641
44.01	m:816	1428	1638	1689	1799	1357	1432	1441

Table 10. Leached monomer content of Heliomolar groups

Retention time (min)	Compound mol.wt.	STD (%CF)	pH 4 extract (%CF)			pH 7 extract (%CF)		
			1day	7days	45days	1day	7days	45days
9.55	caffeine	100	100	100	100	100	100	100
21.23	UDMA	498	236	246	257	126	143	153
23.42	Bis-GMA	1189	–	–	–	–	–	–
29.55	m:490	6852	6418	6624	6697	5529	5850	6028
36.28	m:877	532	657	661	673	638	668	669
44.42	m:816	1543	1664	1695	1701	1571	1650	1679

Table 11. Amount of leached TEGDMA and UDMA according to storage time (%CF), n = 15

Monomer	pH 4 extract (Mean ± SD)			pH 7 extract (Mean ± SD)		
	1day	7days	45days	1day	7days	45days
TEGDMA of Aeliteflo	3218.8 ± 381.97 ^a	4097.53 ± 464.82 ^b	5069.62 ± 484.76 ^c	1651.15 ± 70.95 ^a	2412.05 ± 95.37 ^b	2826.48 ± 314.24 ^c
UDMA of Z-250	423.07 ± 24.92 ^a	431.97 ± 21.19 ^a	459.52 ± 16.68 ^b	218.74 ± 21.87 ^a	241.43 ± 20.10 ^b	263.67 ± 13.60 ^c
UDMA of Heliomolar	236.13 ± 18.56 ^a	246.27 ± 18.26 ^{ab}	257.70 ± 18.78 ^{bc}	126.92 ± 13.00 ^a	143.27 ± 5.45 ^b	152.78 ± 10.91 ^c

*: significantly different on the horizontal line ($p < 0.001$)

► values with the same subscript letter in the same row are not significantly different ($p > 0.05$)

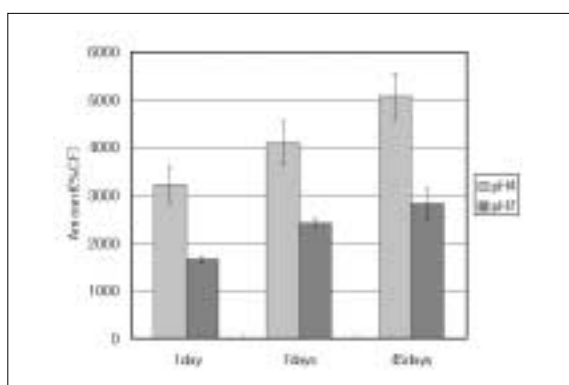


Figure 14. Leached TEGDMA of Aeliteflo

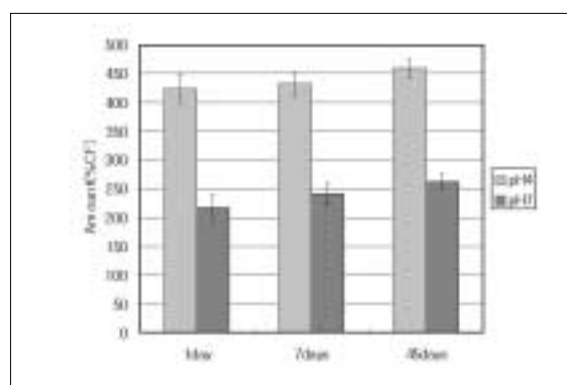


Figure 15. Leached UDMA of Z-250

따라 pH 4와 pH 7모두에서 유의성 있는 유출량의 증가를 보였다. 각각의 레진에 대한 여섯 개의 실험군에서 동일 군의 형성 유무를 유의수준 $p = 0.05$ 로 하는 Duncan's test로 검정하였다. Z-250의 pH 4의 제1일, 7일군이 동일 군을 형성하였으며, 이는 7일 이후 45일까지의 UDMA 유출량이 이전보다 유의적으로 더 많았음을 의미한다.

Figure 17은 전체 잔류단량체 유출량의 산도별 평균값의 비교를 나타내고 있다. 유보시간이 29분대 이후인 화합물들은 산도나 침지시간의 변화 모두에 유의적인 차이를 보이지 않았다 ($p > 0.05$). 3종의 복합레진 모두가 1일, 7일, 45일에 pH 4 용액에서 유출량이 증가하기는 하였으나 통계적으로 유의성이 인정되지는 않았다 ($p > 0.05$). 그러나 Aeliteflo의 경우

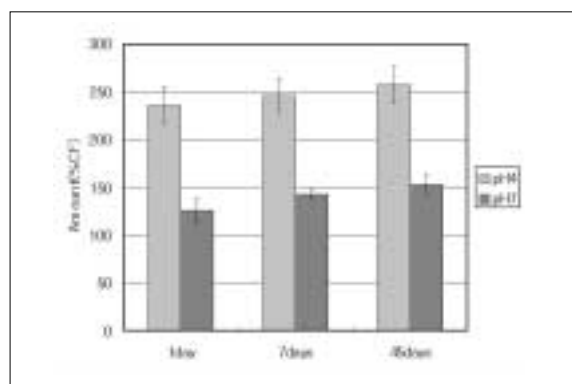


Figure 16. Leached UDMA of Heliomolar

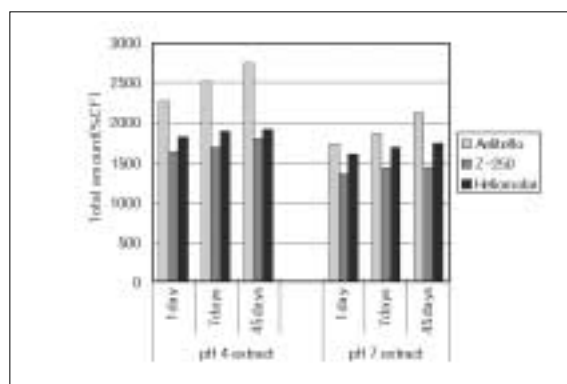


Figure 17. Total amount of leached monomers according to storage time

Table 12. Relative percentage of cumulative monomers following 45days storage as to original concentration

Material	Compound	STD (%CF)▼	pH 4 extract, 45days (%Sol)*	pH 7 extract, 45days (%Sol)*
Aeliteflo	TEGDMA	373×10^7	0.272	0.151
	m:490	2060×10^7	0.076	0.065
	m:877	194×10^7	0.080	0.077
	m:816	623×10^7	0.065	0.062
Z-250	TEGDMA	35×10^7	0.379	0.201
	UDMA	286×10^7	0.032	0.018
	m:490	3096×10^7	0.045	0.036
	m:877	236×10^7	0.055	0.054
	m:816	714×10^7	0.050	0.040
Heliomolar	UDMA	199×10^7	0.026	0.015
	m:490	2741×10^7	0.049	0.044
	m:877	213×10^7	0.063	0.063
	m:816	617×10^7	0.055	0.054

▼%CF = percentage related to the internal caffeine standard

*%Sol = percentage related to original concentration of STD

는 유의확률이 침지시간별로 각각 0.14, 0.09, 0.13으로 다른 2종의 레진보다 높았으며 (Z: $p = 0.28 \sim 0.42$, H: $p = 0.53 \sim 0.65$) 이는 Aeliteflo가 침지시간이 증가함에 따라 다른 2종의 레진보다 단량체 유출량의 증가율이 높았음을 시사한다. 단량체의 유출량은 flowable type인 Aeliteflo가 가장 많았으며 Heliomolar, Z-250순이었다. Heliomolar와 Z-250은 유사한 유출량을 나타내었다.

Table 12는 45일 동안 침지용액 내에 축적되어 있는 단량체량을 미중합 시료의 단량체량에 대해 %Sol로 표시한 것이다. 3종의 레진시편의 평균무게에 대하여 HPLC 주입시의

회석 비율을 역산하여 표준용액의 원래 농도의 %CF를 산출하였고, 침지용액의 경우도 마찬가지로 원래 부피인 1ml시의 %CF를 얻어 표준용액에 대한 %Sol 수치를 구하였다. 가장 많은 유출량을 보인 것은 pH 4 용액의 Aeliteflo와 Z-250의 TEGDMA로 각각 0.272%, 0.379%였다. pH 7의 경우에는 각각 0.151%, 0.201%를 나타냈다. Z-250과 Heliomolar의 UDMA의 유출비율은 pH 4일 때 0.026% (H), 0.032% (Z)로 pH 7일 때의 0.015%, 0.018%보다 높았다. 단량체의 유출범위는 대략 0.015~0.379%였다.

IV. 고 찰

광중합 복합레진은 구강 내에서 다양한 종류의 수용성 환경에 지속적으로 노출된다. 수분으로 인한 가수분해 반응과 수분흡수로 인한 기질 표면의 팽창은 복합레진의 화학적 분해의 주요 원인이다³⁶⁾. 복합레진의 물 흡수는 주로 레진의 기질에서 일어나며 일종의 확산과정이다. 복합레진은 수용액 내의 유리된 산물이나 수용액 성분을 흡수하기도 하고 레진 자체 성분을 소실하기도 한다. 레진 구성성분이 수용액 내로 용해된다면 결과적으로 표면의 미세 공간을 형성하게 되며, 외부적인 기계적 응력이나 외형의 변형 없이도 물성 저하에 심각한 영향을 미칠 수도 있다.

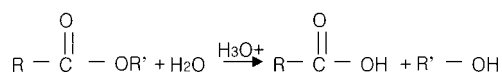
수분으로 인한 레진기질 표면의 팽창과 성분유출은 확산과정에 기인한다. 용매는 레진기질 내로 침투하여 중합체 내에 미세기공을 형성, 확장시키고 미반응 잔류 단량체들을 유출시킬 수 있다. 레진기질의 화학적 파괴가 아니라 이와 같은 확산과정으로 인해 수용액 내로 미반응 잔류단량체가 유출될 수 있다. Örtengren 등³⁷⁾은 용매로 증류수를 사용한 경우, 중합 후 7일 내에 복합레진으로부터 유출될 수 있는 거의 대부분의 유기 성분들이 유출되었다고 하였다. Ferracane과 Condon⁸⁾은 용매로 에탄올과 물을 혼합하여 사용한 경우, 중합 후 24시간 내에 미중합 잔류단량체들 중 유출 가능한 양의 대부분이 유출되었다고 보고하였다. 본 연구에서 용매로 에탄올과 같은 유기용매가 아닌 중성과 약산성의 완충용액을 사용했음에도 다양한 종류의 성분들이 유출되었다. 중합 후 7일째 유출량의 상당부분이 검출되었고 유의성은 없었으나 시간의 경과에 따른 유출량의 증가는 이전의 많은 연구 결과와 일치한다^{6,7,9,10)}. 치태 내 유기산으로 가정된 아세트산 완충용액은 젖산이나 프로피온산 등과 같은 다른 유기산들보다 분자량이 작아 레진 기질로의 확산이 용이하고 시편내부로 보다 깊이, 빠르게 침투되어 레진기질을 파괴할 수 있다³⁸⁾.

복합 레진의 침지시간 경과와 산도변화에 따른 용해도는 기질의 친수성 정도와 사용된 filler의 조성에 영향을 받는다^{39,44,45)}. 본 연구에서 Aeliteflo가 다른 2종의 레진에 비해 유출 단량체량이 많았고 높은 용해도를 보인 것은 기질 내의 친수성 단량체의 높은 비율에 기인한다. Aeliteflo의 기질 중 5~15%를 차지하는 TEGDMA는 작은 분자량 ($m:286.3g/mol$)을 갖고 있으며 hydroxyl group은 갖고 있지 않으나 ether linkage가 있어 높은 친수성을 나타낸다. Braden과 Davy⁴⁰⁾는 ether linkage가 있는 ethyleneglycol dimethacrylates가 복합레진의 기질에서 수분 흡수를 증가시켰다고 보고하였다. Z-250은 TEGDMA의 대부분을 UDMA ($m:470.6g/mol$)로 대체시킨 레진으로 TEGDMA보다 고분자인 UDMA는 분자량 당 이중결합수가 TEGDMA보다 적고 광화에 민감하여 중합률을 높이는데 기여한다. Z-250은 Bis-EMA (6) / UDMA기질로 분자량이 크고 수분에 민감하지 않아 Aeliteflo보다 미반응 단

량체가 수용액 내로 유출되는 양이 적었던 것으로 보인다 (Figure 17). 또한 높은 filler 함량 (70~80%/vol)으로 인한 적은 양의 기질도 Aeliteflo보다 유출 단량체의 양이 적었던 원인 중의 하나라고 사료된다. Heliomolar는 희석제로 TEGDMA 대신 Decamethacrylate를 사용한 것으로 알려져 있다. Lee 등³⁸⁾은 아세트산, 에탄올, 증류수 등의 다양한 수용액에서 TEGDMA와 유사한 유보시간대에 Heliomolar의 Deca methacrylate의 검출을 보고하였으나 본 실험에서는 알려져 있는 분자량이나 제조사에서 제시한 화학적 구조식 등이 없어 Decamethacrylate의 검출을 할 수 없었다. Figure 7의 Heliomolar의 크로마토그램에서 보면 중합 전 시료에 상당부분의 Bis-GMA (23분대 peak D)가 포함되어 있었으나 침지 용액으로 유출되지는 않았다 (Figures 8, 9). 이는 Bis-GMA가 분자량이 크고 친수성이 높지 않으며 비교적 견고한 결합을 형성하고 있기 때문인 것으로 사료된다. 본 연구에서 TEGDMA와 UDMA 등은 중합시편에서의 유출성분으로 확인되었다. 이들은 Bis-GMA보다 분자량이 작아 보다 빠른 시간 내에 비교적 많은 양이 유출되었고 pH 7의 중성에서 보다 pH 4의 산성에서 많은 양이 유출되었으며 이는 아세트산이 레진의 기질을 연화시켜 수분 흡수를 유도함으로써 미반응 단량체들의 유출에 어느 정도 영향을 미쳤음을 시사한다. 특히 Z-250의 UDMA는 pH 4에서 1일과 7일 때보다 이후 45일 경과시에 유의적으로 높은 유출량을 보인 것으로 보아 UDMA는 TEGDMA보다 늦게 방출되는 단량체로 이와 같은 경향은 TEGDMA보다 큰 분자량과 소수성에 기인하는 것으로 보인다. 분자량이 490 (peak E)인 미확인 단량체와 분자량 800이상인 올리고머 (peakF, G) 등은 유출량에 있어 산도의 영향을 많이 받지 않은 것으로 보이며, TEGDMA와 같은 저분자량의 단량체가 산도 변화에 민감한 것으로 보인다. Figure 1에서 Aeliteflo의 주요 구성성분으로 제조회사에서 제시한 TEGDMA는 14분대에 검출되었으나 Bis-EMA ($m:452$)나 Bis-EMA (6) ($m:628$)에 해당하는 peak는 없었다. 그러나 29분대의 유보시간에 미량이지는 하나 전형적인 Bis-EMA의 질량스펙트럼이 보이는 점과 TEGDMA와의 조성비율로 보아 분자량 490의 peak가 Bis-EMA일 확률이 가장 높으며 변형된 Bis-EMA 형태로 존재하고 있는 것으로 보인다. 그러나 변형된 UDMA (urethane modified Bis-GMA)나 다른 Bis-GMA 유도체의 파절편일 가능성도 배제할 수 없다.

Ferracane⁷⁾은 레진 중합체로부터 미반응 잔류 단량체의 유출에 영향을 미치는 중요한 요소로 중합률, 용매의 조성, 그리고 유출 단량체의 화학적 특성과 크기를 제시하였으며, 복합레진의 미반응 물질의 5~10% (레진기질의 2 wt%)가 수용액 내로 유출될 수 있다고 하였다. Tanaka 등¹⁰⁾은 분자량이 큰 단량체보다 작은 단량체가 유의성 있게 많은 양이 유출되었다고 하였으며, 작은 분자들은 운동성의 향상 등으로 인해

보다 빨리 유출 될 수 있음을 보고하였다. Müller 등⁴¹⁾은 Bis-GMA / TEGDMA로 구성된 실험적 레진에서 TEGDMA의 유출량이 UDMA / TEGDMA로 구성된 경우보다 약 2배 가량 높다고 하였고, 이는 UDMA와 TEGDMA의 높은 활동성으로 인한 중합물의 증진 때문이라고 보고하였다. 본 연구에서는 TEGDMA 이외에 고분자들도 낮은 시간대에 유출되는 것으로 확인되었으며, 이는 2mm 후경의 시편제작 시에 윗면만 중합하였으므로 밑면의 중합률 저하 때문일 가능성이 있는 것으로 생각된다. Munksgaard와 Freund⁴¹⁾는 레진 중합체 기질의 가수분해가 효소에 의해 촉매되며 분해 산물로 methacrylic acid가 생성된다고 하였다. 비록 산성도가 높은 경우에 해당되지만 산에 의한 레진 분해도 효소에 의한 가수분해 반응과 유사하다⁴⁶⁾. 레진의 가수분해 과정은 다음과 같다.



복합레진의 분해는 이상과 같은 레진기질의 파괴 이외에 filler의 유출과 부식의 측면에서도 연구되었다^{37,39)}. Braden과 Clarke⁴²⁾, Øysaetd와 Ruyter⁴³⁾는 filler 함량 (높은 레진기질 함량)이 낮은 복합레진은 filler 함량이 높은 복합레진보다 물 흡수가 많다고 보고하였다. 본 실험에서 Aeliteflo는 filler 함량이 55~56%/wt로 Z-250의 77~87%/wt보다 낮다. 이는 Aeliteflo가 Z-250보다 레진의 기질 비율이 높다는 것으로 중합 전 시료의 LC / MS분석에서도 Aeliteflo가 Z-250보다 많은 양의 단량체들을 함유한 것으로 나타났다 (Figure 1). 침지용액에서 Aeliteflo가 Z-250보다 높은 유출 단량체량을 나타낸 것은 높은 단량체 함유량에 기인한 것으로 보인다. Heliomolar의 경우는 Z-250보다 낮은 filler 함량 (50~60%/vol)에도 불구하고 Z-250과 유사한 수준의 단량체 유출을 보인 것은 희석제로 TEGDMA대신에 Decamethacrylate를 사용했으며 Bis-GMA / UDMA 계통인 구성이 Aeliteflo의 Bis-EMA / TEGDMA 계통보다 견고하다고 가정해 볼 수 있다. Heliomolar는 침지기간이 끝난 후 표면미세경도를 측정 한 결과 Z-250과 유사한 90Mpa정도를 기록하였다. 낮은 filler 함량을 갖는 Heliomolar가 오히려 미세경도측면에서 Z-250과 유사한 수치를 보인 것은 경도가 강한 filler의 사용과 filler와 레진 기질의 견고한 결합 때문이라고도 볼 수 있다.

과거 레진의 생분해 (biodegradation)과정을 연구하는데 보편적으로 사용했던 방법은 무게 감소와 표면미세경도를 측정하는 것이었다. 그러나 이러한 방법들을 통해서 분자수준에서의 화학적 정보를 얻는데 한계가 있고 생화학적으로 발생하는 레진의 분해양상을 측정하는데 오차가 크다. 유출 단량체의 정성, 정량 분석 등에서 얻을 수 있는 레진의 생분해에 대한 정보는 세포, 세균 혹은 효소작용에 영향을 미칠 수 있기 때문에 생물학 적으로 유의하다. Santerre 등³⁵⁾은 레진의 생분

해를 측정하는 3가지 방법 (무게감소, 표면미세경도, LC / MS)들 중 LC / MS가 가장 민감하고 정확한 정보를 줄 수 있다고 하였고, 표면미세경도 측정도 어느 정도 연관성을 갖는다고 하였다.

본 실험에서는 GC / MS 대신에 LC / MS를 사용하였다. GC / MS는 휘발성인 화합물을 분리, 분석 하는데 그 신속성과 감도 때문에 널리 사용되어 왔다. 그러나 천연물, 생체성분, 합성물질 등의 화학 물질의 약 80~85%는 휘발성이 낮고 기체상으로 처리하기 보다는 용액으로 취급하는 것이 더 편리하기 때문에 이들 물질은 액체 크로마토그래피의 대상이 된다. 즉 적당한 용매에 녹일 수 있는 물질이라면 그것의 휘발성, 열에 대한 안정성, 무기화합물 또는 유기화합물 등에 관계없이 액체 크로마토그래피에 의해 분리, 분석이 가능하다. LC / MS는 높은 감도를 가지며 쉽고 정확하게 분석할 수 있고 비 휘발성이나 열에 불안정한 물질을 빠르게 분석할 수 있기 때문에 모든 분리 분석 중에서 가장 널리 응용된다. 레진 성분 분석 시에 GC는 단량체들이 분해되어 많은 성분들의 peak들이 나오는 경우가 있으므로 단량체들의 분자 구조 확인이 어려울 수 있다. 본 실험에서 LC / MS의 높은 분리능으로 제조사에서 제시하였던 기본적인 단량체들은 상당부분 확인 가능하였다. MS분석 시에 확인이 어려운 m490은 추후 NMR분석을 추가로 실시한다면 성분 확인에 도움이 되리라 생각한다. LC / MS 분석의 처음단계에서 실효분자들은 기화되어 이온원 (ion source)으로 주입된다. 여기서 실효들은 높은 에너지의 전자들에 의하여 충돌되고, 그 결과 전자를 잃어 양이온으로 전환된다.



이때 생성된 $M^+ \cdot$ 은 어미이온이라 불리우며 양전하를 띠고 있고 동시에 짝지어지지 않은 전자를 가지고 있는 양이온 라디칼이다. 이들 양이온들은 모두 (+)전위에 의해 가속되고 자장이 있는 고도진공의 질량분리 장치로 들어가게 된다. 이때 가벼운 이온들은 무거운 이온들보다 쉽게 구부러지기 때문에 자장의 세기를 조절하여 이온들을 질량에 따라 분리시킬 수 있다. 보통 어미이온의 질량이 실효화합물의 분자량에 해당한다.

복합레진의 미중합 시료들을 표준용액으로 사용하는 장점은 표준용액의 농도만 정확히 알고 있다면 추가로 순도 99%의 표준물질의 검량선을 작성할 필요가 없다는 것이고 단점은 유출량의 절대치를 알 수 없고 비율만 알 수 있다는 것이다. 그러나, 제조사에서 복합레진의 함유된 원래의 단량체량을 제시해준다면 %wt로서 절대치를 알 수도 있다. 본 실험에서 중합 후 pH 4 용액에서 UDMA의 유출량은 0.026~0.032%로 이 수치는 무게 200mg, 표면적 약 1.2cm²로 레진 충전 시에 UDMA의 원래 함유량을 5% 미만으로 가정하였을 경우, 대략 0.002~0.003mg/ml이 유출된다고 볼 수 있다. 이는 치수 세포를 대상으로 한 세포독성 실험^{48,49)}에서 제시한 ED₅₀의

0.31mg/ml 농도에 훨씬 못 미치는 수치이다. 또한 Bis-GMA의 ED₅₀은 0.09mg/ml라고 하였으나 본 시험에서 Bis-GMA는 검출되지 않았다. Rathbun 등⁵³⁾은 유기용매로 경화된 Bis-GMA 레진을 유출시킨 후 분석하여 유출된 주요 성분이 Bis-GMA이며 유출되는 물질은 전체 유기성분의 30% 정도이며 유출 후 독성이 90% 이상 감소되었으므로 독성물질은 Bis-GMA라고 간접적으로 결론 내렸었다. 그러나 본 연구에서는 Bis-GMA가 유출되지 않았고 설사 유출되었다 하더라도 정량이 불가능할 정도의 미량이었으므로 본 실험에 사용된 hybrid type 레진의 주 단량체인 Bis-GMA와 UDMA는 생체 친화적 측면에서 문제점이 없을 것으로 사료된다. Aeliteflo와 Z-250의 보조 단량체인 TEGDMA의 유출량은 pH 4에서 각각 0.272, 0.379%이고, pH 7에서 0.151, 0.201%였다. Aeliteflo의 경우 위와 같은 가정 하에 pH 4에서 약 0.027mg, pH 7에서 약 0.015mg 정도의 TEGDMA가 유출될 수 있으며, 이는 치수 섬유세포의 ED₅₀인 0.08mg/ml에 근접한 수치이다. 그럼으로, 레진의 불충분한 중합과 부적절한 와동 이장재의 사용으로 인한 TEGDMA의 치수로의 유출은 TEGDMA 자체의 독성으로 인한 세포손상을 일으킬 수 있으며, TEGDMA에서 유리된 polyethylene glycol이 수복물 계면에서 미생물들의 증식을 유도해 이차우식증을 유발시킬 수도 있다⁵⁰⁻⁵²⁾. TEGDMA를 주요 기질성분으로 사용하는 복합레진의 경우 충분한 중합을 통해 TEGDMA의 유출을 최소화하여야 한다. Z-250에 존재하는 TEGDMA는 대부분이 UDMA로 대체되어 미량 존재함으로 비록 중합 전 시료의 0.4% 정도가 유출되었다 하더라도 그 양은 극미량일 것으로 사료된다. 비록 TEGDMA의 유출량이 적지는 않았으나 ED₅₀을 초과하지 않았고 상아세관액에 의한 회색 및 무기질 침착에 따른 치수로의 침투 가능성이 적어 상아질을 통과해 치수까지 도달하는 TEGDMA의 양은 극소량일 것임으로 치수에 대한 유해성은 크지 않을 것으로 사료된다.

본 실험의 결과로 미루어보아 복합레진은 그 기질의 구성차이에 따라 차이는 있으나 산도변화에 영향을 받으며 변화가 심할수록 그 차이는 클 것으로 예상된다. 이는 외부적 응력 없이도 구강 내의 다양한 수용액이나 조직 산물, 치태나 치석의 세균들이 생산하는 유기산 등으로 인한 낮은 산도에 의해 생분해과정이 진행될 수 있음을 의미한다. 레진의 용해에 의한 유기산물의 유출을 최소화하기 위한 신 개념의 레진기질 연구와 이들 유기물들이 미치는 생물학적 영향에 관한 연구는 지속되어야 할 것으로 사료된다.

V. 결 론

상용중인 광중합 복합레진을 치태 내 산인 아세트산 완충용액과 중성 완충 용액에 1, 7, 45일간 침지 후 유출되는 미반응 단량체와 분해산물을 확인하고 산도와 침지시간 변화에 따

른 유출량의 차이와 유해성 범위를 보기 위하여 정량화하였다. 분석은 LC / MS (HPLC: Shiseido, Japan, MS: Thermo Finnigan, U.S.A.)를 이용하였으며, 단량체의 유출량을 중합 전 시료와 침지 용액내의 단량체량의 비율로 정량화하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 시료의 TEGDMA, UDMA, Bis-GMA, Bis-EMA 단량체를 유보시간 14, 21, 23, 29분에 검출 하였고, 중합 전 시료의 Bis-GMA는 중합시편에서 유출되지 않았다.
2. 침지시간과 산도변화에 따른 단량체유출량 비교에서 Aeliteflo군의 TEGDMA는 Z-250, Heliomolar군의 UDMA보다 유의적으로 큰 유출량의 차이를 보였다($p < 0.001$).
3. 침지시간별 단량체유출량 비교에서 Aeliteflo의 TEGDMA와 Z-250, Heliomolar의 UDMA의 유출량은 1, 7, 45일에 pH 7용액에서보다 pH 4용액에서 유의하게 증가하였고 ($p < 0.001$), 산도별 단량체 비교에서는 침지기간의 증가에 따른 1, 7, 45일간의 유출량의 변화가 pH 4용액과 pH 7용액 모두에서 유의성있게 증가하였다 ($p < 0.05$). Z-250의 UDMA의 유출량은 1, 7일 사이에서보다 7, 45일 사이에 더 많은 유출량을 보였다.
4. 잔류단량체 전체유출량 비교에서는 3종의 레진 모두에서 pH 4에서 유출량이 증가하는 경향이 있었으나 유의성은 없었다 ($p > 0.05$). 단량체유출량은 Aeliteflo가 가장 많았으며 Heliomolar와 Z-250은 유사한 유출량을 보였다.
5. 가장 큰 단량체 유출비율을 보인 것은 pH 4에서 Aeliteflo의 TEGDMA로 0.272%였고, 가장 작은 유출비율을 보인 것은 pH 7에서 Heliomolar의 UDMA로 0.015%이었다.

참고문헌

1. Antonucci JM, Bowen RL. Dimethacrylates derived from hydroxylbenzoic acid. *J Dent Res* 55:8-15, 1976.
2. Asmussen E. Factors affecting the quantity of remaining double bonds in restorative resin polymers. *J Dent Res* 90:490-496, 1982.
3. Antonucci JM, Toth EE. Extent of polymerization of dental resins by differential scanning calorimetry. *J Dent Res* 62(2):121-125, 1983.
4. Ruyter IE, Oysa H. Compressive creep of light cure resin based restorative materials. *Acta Odontol Scand* 40:359-24, 1982.
5. Hank CT, Craig RG, Diehl ML, Pashley DH. Cytotoxicity of dental composites and other materials in a new in vitro device. *J Oral Pathol* 17:396-403, 1988.
6. Ferracane JL, Berge HX, Condon JR. In vitro aging of dental composites in water-effect of degree of conversion, filler volume, and filler/matrix coupling. *J Biomed Mater Res* 42:465-472, 1998.
7. Ferracane JL, DeWald JP. A comparison of four modes of evaluating depth of cure of light activated composite. *J Dent Res* 66(3):727-730, 1987.
8. Ferracane JL, Condon JR. Rate of elution of leachable components from composite. *Dent Mater* 6:282-287, 1990.
9. Inoue K, Hayashi I. Residual monomer (Bis-GMA) of

- composite resins. *J Oral Rehab* 9:493-497, 1982.
10. Tanaka K, Taira M, Shintani H, Wakasa K. Residual monomer(TEGDMA and Bis-GMA) of a set visible-light-cured dental composite resin when immersed in water. *J Oral Rehab* 18:353-360, 1991.
11. Dickens SH, Stansbury JW, Floyd CJ. Effects of chemical composition on cure properties of dental resins. *J Dent Res* 78:1459-1463, 1999.
12. Ferracane JL. Elution of leachable components from composites. *J Oral Rehab* 21:441-452, 1994.
13. Gerzina TM, Hume WR. Effect of Dentin on the release of TEGDMA from resin composite *in vitro*. *J Oral Rehab* 21:463-468, 1994.
14. Santerre JP, Shajii L, Leung BW. Relation of dental composite formulations to their degradation and the release of hydrolyzed polymeric-resin-derived product. *Crit Rev Oral Biol Med* 12(2):136-151, 2001.
15. Van Groenigen G, Arends J. Composite degradation *in vivo*. *Dent Mater* 2: 225-227, 1986.
16. Gopferich A. Mechanism of polymer degradation and erosion. *Biomater* 17:103-114, 1996.
17. Wu W, Toth EE, Moffa JF, Ellison JA. Subsurface damage layer of *in vivo* worn dental composite restorations. *J Dent Res* 63(5):675-680, 1984.
18. Wu W, McKinney JE. Influence of chemicals on wear of dental composites. *J Dent Res* 61(10):1180-1183, 1982.
19. Soderholm KJ, Zigan M, Ragan M, Bergman M. Hydrolytic degradation of dental composites. *J Dent Res* 63:1248-1254, 1984.
20. Soderholm KJ. Degradation of glass filler in experimental composites. *J Dent Res* 60:1867-1872, 1981.
21. Hanks CT. Cytotoxic Effects of resin components on culture mammalian fibroblasts. *J Dent Res* 70:1450-1455, 1991.
22. Nassiri MR, Hanks CT, Cameron MJ, Strawn SE, Craig RG. Application of Flow cytometry to determine the cytotoxicity of urethane dimethacrylate in human cells. *J Biomed Mater Res* 28:153-158, 1994.
23. Cherry BA, Moon PC, Kalini MY. Estrogenic activity of combined administration of two possible dental resins. *J Dent Res* 77 (AADR abst):1080, 1998.
24. Arenholt-Bindslev D, Breinholt V, Schmalz G, Preiss A. Time-related bisphenol-A content and estrogenic activity in saliva samples collected in relation to placement of fissure sealants. *J Dent Res* 77(B):481-484, 1998.
25. McKinney JE, Wu W. Chemical softening and wear of dental composites. *J Dent Res* 64:1326-1331, 1985.
26. Geddes DA. Acids produced by human dental plaque metabolism *in situ*. *Caries Research* 9:98-104, 1975.
27. Asmussen E. Softening of Bis-GMA based polymers by ethanol and by organic acids of plaque. *Scand J Dent Res* 92:257-261, 1984.
28. 최주환. 기기 분석 개론 및 응용, 100-165, 1998.
29. Lingstrom P, Imfeld T, Birkhed D. Comparison of three different methods for measurement of plaque-pH in humans after consumption of soft bread and potato chips. *J Dent Res* 72(5):865-870, 1993.
30. Chadwick RG, McCabe JF, Walls AW, Storer R. The effect of storage media upon the surface microhardness and abrasion resistance of three composites. *Dent Mater* 6:123-128, 1990.
31. Larsen IB, Freund M, Munksgaard EC. Change in surface hardness of BIS_GMA/TEGDMA polymer due to enzymatic action. *J Dent Res* 71(11):1851-1853, 1992.
32. Yap AU, Tan SH, Wee SS, Lee CW. Chemical degradation of composite restoratives. *J Oral Rehab* 28:1015-1021, 2001.
33. Freund M, Munksgaard EC. Enzymatic degradation of Bis-GMA/TEGDMA-polymers causing decreased microhardness and greater wear *in vitro*. *Scand J Dent Res* 98:351-356, 1990.
34. Jaffer F, Finer Y, Santerre JP. Interaction between resin monomer and commercial composite resins with human saliva derived esterases. *Biomater* 23(7):1707-1719, 2002.
35. Santerre JP, Shajii L. Biodegradation of commercial dental composites by Cholesterol Esterase. *J Dent Res* 78(8):1459-1468, 1999.
36. Ruyter IE. Physical and chemical aspects related to substances released from polymer materials in an aqueous environment. *Advan Dent Res* 9:344-349, 1995.
37. Ortengren U, Wellendorf H, Karlsson S, Ruyter IE. Water sorption and solubility of dental composite and identification of monomers released in an aqueous environment. *J Oral Rehab* 28(12):1106-1115, 2001.
38. Lee SY, Huang HM. Leached components from dental composites in oral simulating fluids and the resultant composite strengths. *J Oral Rehab* 25:575-588, 1998.
39. Ortengren U, Andersson F. Influence of pH and storage time on the sorption and solubility behaviour of three composite resin materials. *J Dent* 29:35-41, 2001.
40. Braden M, Davy KW. Water absorption characteristics of some unfilled resins. *Biomater* 7:474-483, 1986.
41. Muller H, Olsson S, Soderholm KJ. The effect of comonomer composition, silane heating and filler type on aqueous TEGDMA leachability in model resin composites. *Eur J Oral Sci* 105:362-376, 1997.
42. Braden M, Clarke RL. Water absorption characteristics of dental microfine composite filling materials. *Biomater* 5:369-374, 1984.
43. Øysaet H, Ruyter IE. Water sorption and filler characteristics of composites for use in posterior teeth. *J Dent Res* 66:1315-1319, 1986.
44. Geurtsen W. Substances released from dental resin composites and glass ionomer cements. *Eur J Oral Sci* 106:687-695, 1998.
45. Soderholm KJ. Degradation of glass filler in experimental composites. *J Dent Res* 60(11):1867-1875, 1981.
46. Gopferich A. Mechanism of polymer degradation and erosion. *Biomater* 17: 103-114, 1996.
47. Munksgaard EC, Freund M. Enzymatic hydrolysis of(di) methacrylates and their polymers. *Scand J Dent Res* 98:261-267, 1990.
48. Qvist V. Pulp reactions in human teeth to tooth colored filling material. *Scand J Dent Res* 83:54-66, 1975.
49. Geurtsen W, Spahl W, Leyhausen G. Residual monomer/additive release and variability in cytotoxicity of light-curing glass-ionomer cement and comonomers. *J Dent Res* 77:2012-2019, 1998.
50. Hume WR, Hood AM. Comparing cytotoxicity *in vitro* between cured and uncured composite resins. *J Dent Res* 69:943-951, 1990.
51. Stanley HR. Compatibility of various materials with oral tissues. *J Dent Res* 58:1507-1517, 1979.
52. Stanley HR. Pulpal consideration of adhesive material. *Oper Dent* 17:151-164, 1992.
53. Rathbun MA, Craig RG, Hanks CT. Cytotoxicity of a Bis-GMA dental composite before and after leaching in organic solvent. *J Biomed Mater Res* 25:443-457, 1991.