

## Benzalkonium Chloride가 BPDM/HEMA계 접착제의 상아질 접착에 미치는 영향

경북대학교 치과대학 치과보존학교실

권병균 · 안식환 · 김성교

### Abstract

#### EFFECT OF BENZALKONIUM CHLORIDE ON DENTIN BONDING WITH BPDM/HEMA SYSTEM

Byung Gyun Kwon, Sik Hwan Ahn, Sung Kyo Kim

*Department of Conservative Dentistry, School of Dentistry,  
Kyungpook National University, Taegu, Korea*

The purpose of this study was to elucidate the effect of benzalkonium chloride on tensile bond strength of BPDM/HEMA dentin bonding.

One hundred sixty dentin specimens from freshly extracted bovine mandibular incisors were used, and 0, 0.02, 0.1 or 0.5% benzalkonium chloride solution was applied to the dentin specimen with/after phosphoric acid. 32% phosphoric acid was used when the specimens were bonded with One-Step™, a BPDM/HEMA system and 10% was used when bonded with All-Bond® 2, a NTG-GMA/BPDM system. Aelitefil™ composite resin was bonded to the pretreated dentin specimen with the use of All-Bond® 2 or One-Step™ dentin bonding agent.

After the bonded specimens were stored in 37°C distilled water for 24 hours, tensile bond strength was measured. The fractured dentin specimens were examined under the scanning electron microscope.

The results were as follows :

Benzalkonium chloride application after acid-treatment resulted in decrease of dentin bond strength of One-Step™, a BPDM/HEMA system ( $p > 0.05$ ).

Benzalkonium chloride application did not exert any influence on dentin bond strength of All-Bond® 2, a NTG-GMA/BPDM system ( $p > 0.05$ ).

There was no relationship between the concentration or application method of benzalko-

niun chloride and the dentin bond strength of One-Step™ or All-Bond® 2 ( $p < 0.05$ ). On SEM examination of the fractured dentin-resin interface, while mixed failure was prominent in dentin bonding with One-Step™, adhesive and mixed failures were seen together in dentin bonding with All-Bond® 2 regardless of the concentration and application method of benzalkonium chloride.

Key words : dentin bonding, benzalkonium chloride, tensile bond strength, BPDM/HEMA

## I. 서 론

치질에 대한 접착 수복은 수복물의 유지력을 증가시킬 뿐만 아니라<sup>1)</sup> 치질과 수복물간의 미세누출을 방지하여 수복시술후 이차우식, 치수위해작용 그리고 접착계면의 변색 등<sup>2)</sup>의 후유증을 줄일 수 있다.

Buonocore<sup>3)</sup>가 산부식법을 고안하여 치아 법랑질에 대한 레진계 접착성 재료의 접착 성능을 크게 개선시킨 이래 상아질에 대한 접착력을 향상시키기 위한 연구들이 진행되어 왔다. 상아질은 구조상<sup>4)</sup>, 조성상<sup>5,6)</sup> 그리고 생물학적 특성상<sup>7)</sup> 접착 조건이 법랑질에 비해 복잡하다 할 수 있으며, 또한 치질 삭제 과정에서 생기는 상아질 표면의 도말층<sup>8,9)</sup>이 접착성 재료의 침투 및 확산을 저해시켜 접착성을 감소시킨다. 이에 상아질의 표면 조건을 변화시키거나 접착성 재료의 성분을 개선하여 접착력을 증가시키고자 하는 연구들이 있었다.

Fusayama 등<sup>10)</sup>이 상아질을 산처리함으로써 상아질에 대한 접착력을 증가시켰음을 보고한 이래 다양한 산들이 상아질 전처리제로써 연구 개발되어 사용되고 있다.

산처리 후 상아질면에 수복물을 접착시키기 위해서는 상아질 표면에 잔존한 수분과 친화성을 갖는 성분이 함유된 접착제를 이용하여야 한다. 에탄올이나 아세톤과 같은 water chaser<sup>11)</sup>나 hydroxyethyl methacrylate (HEMA), biphenyl dimethacrylate (BPDM), 및 4-methacryloxy-ethyl trimellitate anhydride (4-META) 등의 레진모노머<sup>12)</sup>가 이 목적으로 사

용되고 있으며 이상의 성분 자체가 상아질에 도포시 수분을 상아세관내나 접착부위 밖으로 밀어내거나 산처리로 수축 또는 붕괴<sup>13,14)</sup>된 교원섬유들을 적시어 입체적인 형태를 회복시켜 주는 기능을 갖는다. 그리고 치면의 표면에너지를 증가시킴으로써 접착레진의 습윤성 (wettability)의 향상에 따른 긴밀한 접촉을 이루게 한다.

Nakabayashi 등<sup>15)</sup>은 레진 모노머가 치질의 교원섬유망에 침투 확산하여 hydroxyapatite를 감싸고 얽혀져 있는 구조물인 수지함침층 (hybrid layer)의 존재를 밝혔으며 이러한 미세기계적인 결합<sup>13,15-18)</sup>이 상아질과 접착제간에 이루어지는 주요결합기전이라고 하였다. 수지함침층이 견고하면서 내구성이 유지되기 위해서는 적절한 상아질 표면의 처리와 함께 탈회된 교원섬유 구조내로 레진 모노머가 확산하여 교원섬유를 충분히 감싸주어야 할 뿐 아니라<sup>13,19)</sup> 침투된 레진이 일정한도 이상 중합되어야 한다<sup>20,21)</sup>.

Kanca<sup>11)</sup>와 Gwinnett<sup>22)</sup> 등은 산표면처리 후 상아질 표면을 완전히 건조시킬 경우보다는 수분을 미량 잔존시킬 경우에 접착력이 높았음을, 그리고 손 등<sup>23)</sup>은 상아질 표면의 건조시간이 길수록 인장접착강도가 감소함을 보고하였다. 산처리후 노출된 교원섬유를 안정시키는 것이 수지함침층의 형성에 중요한 요소<sup>11,12)</sup>이며, 이를 위한 방법중 하나로 wet bonding이 상아질 접착에 사용되었다.

BPDM/HEMA를 주성분으로 개발된 One-Step™ Adhesive (Bisco, Inc., U.S.A.)는 접

착강화제와 접착레진을 하나로 합쳐서 임상에서 사용하기 편리하게 고안한 제품이다. 또한 산처리제에는 양이온계면활성효과를 가져 소독능력이 있는 4급 암모니아 화합물인 benzalkonium chloride<sup>24, 25)</sup>가 0.1% 이하 함유되어 있어 산처리와 함께 상아질면의 소독 효과를 기대할 수 있다. 신과 박<sup>26)</sup>은 benzalkonium chloride를 상아질 표면에 적용시킨 결과 N-p-tolyglycine-glycidyl methacrylate (NTG-GMA) /BPDM계 및 diacrylsulfone dimethacrylate (DSDM) 계 접착제의 상아질에 대한 접착강도에 큰 영향이 없었음을 보고하였다.

본 연구에서는 양이온계면활성효과를 가져 소독능력이 있는 benzalkonium chloride 수용액을 상아질 전처리제의 성분으로서 인산수용액에 첨가하여 상아질면을 처리하거나, 인산으로 처리한 다음 적용시키는 방법으로 사용하였을 때 BPDM/HEMA계 접착제의 접착능력에 미치는 영향을 관찰하고자 시행하였다.

## II. 실험재료 및 방법

### 1. 실험 재료

도살직후 발거하여 냉동 보관한 소 (bovine)의 하악전치 160개를 실험 직전에 해동시켜 실험대상으로 하였다. 0%, 0.02%, 0.1% 및 0.5% benzalkonium chloride 수용액과, 0%, 0.02%, 0.1% 및 0.5% benzalkonium chloride를 함유한 10% 및 32% 인산용액을 상아질 처리제로 사용하였다. BPDM/HEMA계 접착

제로는 One-Step™ (Bisco Inc., Itasca, IL, U.S.A.)을 NTG-GMA/BPDM계 접착제로는 All-Bond® 2 (Bisco Inc., Itasca, IL, U.S.A.)를 사용하였으며 복합레진으로는 Aelitefil™ (Bisco Inc., Itasca, IL, U.S.A.)을 사용하였다 (Table 1).

### 2. 실험 방법

#### 1) 시편제작

실험직전에 해동시킨 소의 하악전치를 저속의 diamond disc를 이용하여 치근을 절제하고 치수강내의 치수를 제거한 후 치관부 순면을 치아장축과 평행하게 wet trimmer를 이용하여 폭경 5mm 이상의 상아질이 노출되게 삭제한 뒤 상아질면을 600 및 800번 silicon carbide 연마지로 주수하에 연마하여 각 군마다 40개씩 준비하였다. 상아질면을 20초간 수세, 20초간 건조시킨 후 다음과 같이 처리하였다.

제 I 군 : 0%, 0.02%, 0.1% 또는 0.5% benzalkonium chloride를 32% 인산과 함께 15초간 처리하고, 20초간 수세, 1초간 건조 (blot dry) 시켰다.

제 II 군 : 32% 인산으로 15초간 처리하고, 20초간 수세, 10초간 건조한 다음 0%, 0.02%, 0.1% 또는 0.5% benzalkonium chloride로 10초간 재습윤시키고 1초간 건조시켰다.

제 III 군 : 0%, 0.02%, 0.1% 또는 0.5% benzalkonium chloride를 10% 인산과 함께 15초간 처리하고, 20초간 수세, 1초간 건조시켰다.

제 IV 군 : 10% 인산으로 15초간 처리하고, 20

Table 1. Chemical ingredients of the dentin bonding agents used in this study

Product	Chemical Ingredients	Manufacturer
One-Step™	Etchant : 32% phosphoric acid Adhesive : BPDM, HEMA, Bis-GMA in acetone	Bisco Inc., Itasca, IL, U.S.A.
All-Bond® 2	Etchant : 10% phosphoric acid Primer : (A) 2% NTG-GMA in ethanol and acetone (B) 16% BPDM in acetone Bonding resin : Bis-GMA, UDMA, HEMA	Bisco Inc., Itasca, IL, U.S.A.

초간 수세, 10초간 건조한 다음 0%, 0.02%, 0.1% 또는 0.5% benzalkonium chloride로 10초간 재습윤시키고 1초간 건조시켰다.

접착면적을 일정하게 하기 위해 각 군의 상아질에 직경 5mm의 원형구멍이 뚫린 masking tape를 부착한 뒤 제 I 군 및 제 II 군은 One-Step™ Adhesive 2방울을 혼합하여 처리된 상아질면에 2회 연속 붓으로 도포한 후 air syringe로 10초간 건조시킨 다음 10초간 광중합시키고 붓에 남은 여분의 One-Step™ Adhesive를 재도포한 후 건조시켰으며, 제 III 군 및 제 IV 군은 All-Bond® 2 primer A와 B를 동량으로 혼합하여 5회 연속 붓으로 도포한 후 air syringe로 5초간 건조시킨 후 bonding resin을 도포하고 20초간 광중합시켰다.

Bonding resin이 도포된 상아질 시편 위에 직경 6.5mm, 두께 1.2mm의 silicon mold를 위치시킨 뒤 Aelitefil™ 수복용 복합레진을 충전하고 slide glass로 압접하면서 40초간 광중합시켰다. 제작된 시편을 cyanoacrylate를 이용하여 아크릴봉에 연결시킨 뒤 실온에 1시간 동안 방치하였다가 37°C 항온조에서 증류수에 침지시켜 24시간 동안 보관하였다.

## 2) 인장접착강도 측정

각 접착시편을 만능시험기 (Model Instron 4202, Instron Co., U.S.A.) 에서 load cell 50 kgf, cross-head speed 2mm/min으로 인장시험하였으며 얻어지는 최대하중과 시편의 접착면의 면적을 이용하여 접착강도를 계산하였다. 각 실험군의 평균값과 표준편차를 구한 뒤 One way ANOVA and Duncan's multiple range test와 Students' t-test를 이용하여 각 군간의

통계학적 유의성을 검정하였다.

## 3) 응집 파단을 산정

접착강도 실험후 파단된 시편들을 파단 양상에 따라 분류하고 입체현미경 (동원 Co.)을 이용한 40배의 확대 하에서 응집파단을 나타낸 면적을 구한 다음 전체 접착면적에 대한 백분율로 나타내어 응집파단을 산정하였다.

## 4) 파단면의 주사전자현미경적 관찰

접착시험 후의 파단면을 관찰하기 위하여 주사전자 현미경용 시편을 제작하였다. 각 시편은 가로 4mm, 세로 4mm, 두께 1mm가 되도록 절단한 다음 건조기 (Sanplatec Corp., Japan)에서 24시간 건조시켰으며 시편대에 carbon tape로 고정하고 IB-3형 ion coater (Eiko Co., Japan)에서 3분간 금이온을 증착시킨 뒤 주사전자 현미경 (Scannig Electron Microscopy, S-2300, Hitachi Ltd., Japan) 을 이용하여 가속전압 25KV에서 2000배로 파단면을 관찰하였다.

# III. 실험 성적

## 1. 인장접착강도

측정된 인장접착강도는 Table 2, 3, Fig. 1, 2 와 같이 나타났다. 인장접착강도의 평균치는 One-Step™에서 benzalkonium chloride를 포함한 32% 인산 처리의 경우 0% benzalkonium chloride 함유군에서 10.5±2.9 MPa, 0.02% 에서 8.9±2.8 MPa, 0.1% 에서 8.1±1.9 MPa 그리고 0.5% 에서는 8.6±2.8 MPa의 인장접착강도를 나타내었다. 32% 인산 처리후 benzal-

Table 2. Tensile bond strengths of One-Step™ to bovine dentin surface

(Mean<sup>†</sup> ± S.D., unit : MPa, n=10)

Pretreatment	% concentration of BAC*			
	0	0.02	0.1	0.5
BAC with 32% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	10.5 ± 2.9	8.9 ± 2.8	8.1 <sup>b</sup> ± 1.9	8.6 <sup>b</sup> ± 2.8
BAC after 32% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	11.6 <sup>a</sup> ± 3.4	8.4 <sup>b</sup> ± 3.9	7.3 <sup>b</sup> ± 1.5	8.6 <sup>b</sup> ± 3.6

\* Benzalkonium chloride.

<sup>†</sup>significantly different between a and b (p<0.05).

Table 3. Tensile bond strengths of All-Bond® 2 to bovine dentin surface  
(Mean<sup>‡</sup> ± S.D., unit : MPa, n=10)

Pretreatment	% concentration of BAC*			
	0	0.02	0.1	0.5
BAC with 10% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	6.2 ± 3.2	4.7 <sup>a</sup> ± 2.2	6.7 ± 2.3	4.8 ± 1.3
BAC after 10% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	6.4 ± 1.3	8.3 <sup>b</sup> ± 3.0	8.7 ± 3.1	7.3 ± 4.3

\* Benzalkonium chloride.

<sup>‡</sup>significantly different between a and b (p<0.05).

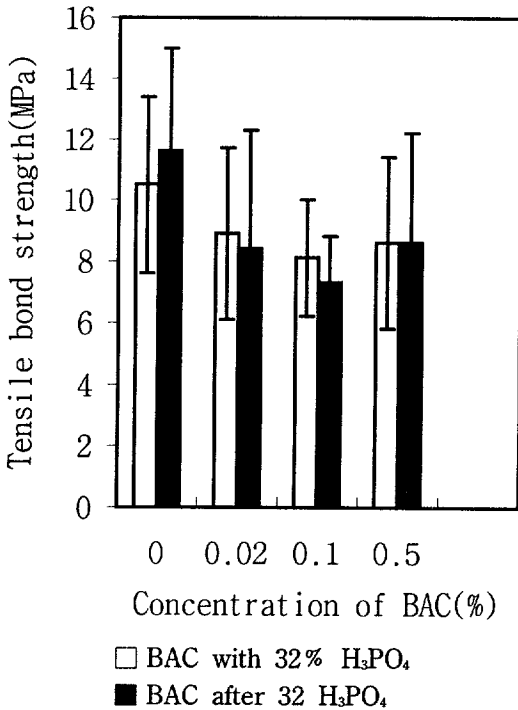


Fig. 1. Bar graph comparing the effects of benzalkonium chloride (BAC) application with/after 32% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> solution and its concentration on tensile bond strength of One-Step™ adhesive to dentin surface. Value represent mean ± S.D.

benzalkonium chloride로 재습윤시킨 경우에는 0% benzalkonium chloride 재습윤군에서 11.6±3.4 MPa, 0.02%에서 8.4±3.9 MPa, 0.1%에서 7.3±1.5 MPa 그리고 0.5%에서 8.6±3.6 MPa의 인장접착강도를 나타내었다. 따라서 32% 인산 처리 후 증류수로 재습윤시킨 군이 ben-

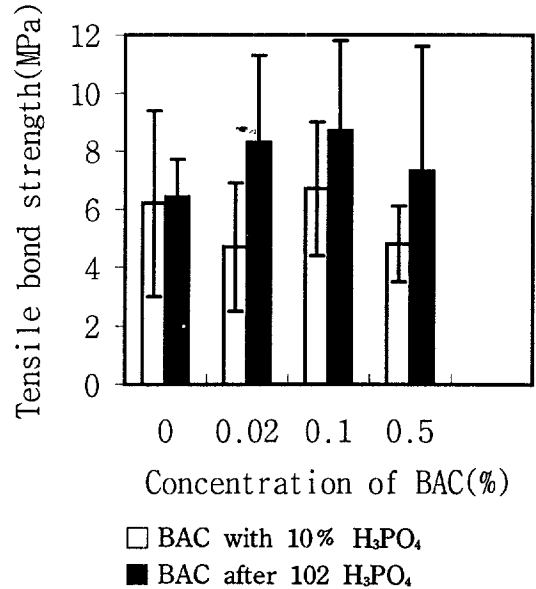


Fig. 2. Bar graph comparing the effects of benzalkonium chloride(BAC) application with/after 10% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> solution and its concentration on tensile bond strength of All-Bond® 2 to dentin surface. Values represent mean ± S.D

zalkonium chloride를 함유한 산처리군 혹은 benzalkonium chloride로 재습윤시킨 군보다는 높은 접착강도를 보였으나 (p<0.05), benzalkonium chloride의 농도 및 적용방법에 따른 접착강도에는 유의한 차이가 나타나지 않았다 (p>0.05).

All-Bond® 2에서 benzalkonium chloride를 포함한 10% 인산 처리군의 경우 0% benzalkonium chloride 함유군에서 6.2±3.2 MPa, 0.02%에서 4.7±2.2 MPa, 0.1%에서 6.7±2.3 MPa

그리고 0.5%에서는  $4.8 \pm 1.3$  MPa의 인장접착 강도를 나타내었다. 10% 인산 처리후 benzalkonium chloride로 재습윤시킨 경우에는 0% benzalkonium chloride 재습윤군에서  $6.4 \pm 1.3$  MPa, 0.02% 에서  $8.3 \pm 3.0$  MPa, 0.1% 습윤군에서  $8.7 \pm 3.1$  MPa 그리고 0.5% benzalkonium chloride 재습윤군에서는  $7.3 \pm 4.3$  MPa의 인장접착강도를 나타내었다. 따라서 benzalkonium chloride의 사용 유무, 농도 및 적용방법에 따른 접착강도는 유의한 차이가 나타나지 않았다 ( $p > 0.05$ ).

## 2. 응집파단율

측정된 응집파단율의 수치는 Table 4와 같이 나타났다. One-Step™의 경우 대부분 응집-부착성의 혼합성파단양상이 나타났으며 응집파단율은 benzalkonium chloride와 병용한 32% 인산 처리군 중 0% benzalkonium chloride 군에서는 51.7%, 0.02%에서는 47.7%, 0.1%에서는 64.3% 그리고 0.5%에서는 44.5%로 나타났다. 32% 인산 처리후 benzalkonium chloride로 재습윤시킨 경우에는 0% benzalkonium chloride 군에서는 41.8%, 0.02%에서는 59.2%, 0.1%에서는 39.0% 그리고 0.5%에서는 31.0%로 나타났다.

All-Bond® 2의 경우 응집-부착성의 파단양상과 부착성의 파단양상이 함께 나타났으며 응집파단율은 benzalkonium chloride와 병용한 10% 인산 처리군 중 0% benzalkonium chloride 군에서는 42.0%, 0.02%에서는 43.8%, 0.1%에서는 30.0% 그리고 0.5%에서는 20.5%

를 나타냈다. 10% 인산 처리후 benzalkonium chloride로 재습윤시킨 경우 0% benzalkonium chloride 군에서는 22.5%, 0.02%에서는 27.5%, 0.1%에서는 25.5% 그리고 0.5%에서는 25.5%로 나타났다.

## 3. 파단면의 주사전자 현미경적 관찰조건

파단면에서의 주사전자 현미경적 관찰에서 One-Step™의 경우 (Fig. 3-8) 응집성 및 혼합성 파단양상이 혼재하여 나타났다. 일부에서 벽개면 형태의 레진내 응집성 파단양상을 (Fig. 6, 7), 일부에서는 레진내외 계면에서의 혼합성 파단과 부착성 파단양상을 보였다 (Fig. 3-6). 노출된 상아세관내로 resin tag들이 차 있었으며 일부 resin tag들은 상아세관벽에 긴밀하게 정착되어 있었다.

All-Bond® 2 (Fig. 9-14)에서는 혼합성 및 부착성 파단양상이 혼재하여 주로 나타났다. 관간상아질 위에 파단된 레진이 잔존하고 상아세관내로 파단된 resin tag이 보였으며, 부착성 파단양상을 보인 일부에서는 관간상아질이 노출되어 있었고 세관이 개방되어 있었다.

## IV. 총괄 및 고찰

상아질에 대한 접착은 상아질 자체의 복잡한 구조, 다양한 조성, 생물학적 특성 및 치질 삭제시 발생하는 도말층의 형성등으로 인해 특별한 주의가 요구된다. 즉 상아질은 법랑질과 비교시 유기질 함량이 높고 상아세액의 존재로 인해 상아질의 완전전조가 불가능하며 낮은

Table 4. Percent cohesive failure rate from each experimental group

(Mean  $\pm$  S.D., n=10)

Adhesives	Pretreatment	% concentration of BAC*			
		0	0.02	0.1	0.5
One-Step™	BAC with 32% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	51.7 $\pm$ 34.2	47.7 $\pm$ 31.2	64.3 $\pm$ 31.6	44.5 $\pm$ 24.9
∕	BAC after 32% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	41.8 $\pm$ 22.2	59.2 $\pm$ 30.5	39.0 $\pm$ 25.3	31.0 $\pm$ 30.9
All-Bond®	BAC with 10% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	42.0 $\pm$ 36.2	43.8 $\pm$ 36.4	30.0 $\pm$ 29.3	20.5 $\pm$ 21.7
∕	BAC after 10% H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	22.5 $\pm$ 19.3	27.5 $\pm$ 25.7	25.5 $\pm$ 21.7	25.5 $\pm$ 23.9

\* Benzalkonium chloride.

표면에너지를 가지고 있어 접착에 어려움이 있다.

상아질면의 접착성능을 증가시키기 위한 연구로 Fusayama 등<sup>30)</sup>이 상아질을 산처리하여 접착 강도를 증가시켰다는 보고가 있는 후 상아질에 대한 산처리 연구가 많이 이루어졌다. 상아질에서의 산처리는 표면 도말층을 제거하고 상아세관의 개방성을 증가시켜 상아세액의 유출을 도모하게 되므로 상아질 표면은 젖은 상태로 남아 있게 된다. 따라서 상아질에서 산처리제를 사용하는 경우에는 수분을 이용할 수 있는 종류의 접착제가 필요해진다. 이런 목적으로 최근에 아세톤이나 에탄올이 많이 사용되어지며 이들은 물과 화학적으로 반응하여 물을 증발시키고 물의 표면장력을 감소시키므로 상아질 표면으로의 레진침투를 증가시킬 수 있으며<sup>31)</sup> 접착강화제 내의 친수성기와 소수성기가 상아질과 레진 간의 결합을 증가시킬 수 있다.

Benzalkonium chloride는 액성과 비액성 상사이의 계면에 침착하여 표면장력을 줄이고 습윤제로 작용하는 계면활성제이다. 세균의 생명은 세포막과 액성환경 사이에서 이러한 계면에 의해 긴밀히 영향을 받는데 benzalkonium chloride와 같은 화합물인 양이온 계면활성제는 분자의 활성부분이 양극을 띠고 세균의 세포막이 음극을 띠게 되어 세포막에 이 양이온 계면활성제가 결합하여 단백질을 분해하고 세포막을 파괴하여 세포내 성분이 빠져 나오게 함으로써 세균에 대한 살균효과를 가진다<sup>32)</sup>. 복합레진 와동내에 이러한 살균효과를 도입하고자 benzalkonium chloride의 사용이 시도되었다. 상아질에 대한 산처리제 내에 1, 2 % benzalkonium chloride를 함유시킨 경우 항균효과를 가졌다는 보고<sup>27)</sup>에 따라 본 실험에 사용한 All-Bond® 2와 One-Step™ 접착제의 산처리제 내에는 benzalkonium chloride가 함유되어 있다. 저자는 benzalkonium chloride의 이러한 항균효과 외에 양이온 계면활성효과가 접착강화제의 효과를 증진시키는가에 대한 여부에 관심이 있었다.

본 실험에 사용된 NTG-GMA/BPDM계 접

착제인 All-Bond® 2는 10% 인산 수용액으로 치질을 산처리하여 임계표면장력을 증가<sup>28)</sup>시켜 접착성 레진의 침투를 용이하게 하는데 그 성분중 NTG-GMA는 금속이온을 통한 킬레이션 반응으로 치질의 수산화인회석과 결합<sup>21)</sup>하고 carboxylate군이 교원섬유와 수소결합을 이루며, 전자가 풍부한 방향족 구조를 갖고 있어 pyromellitic dianhydride와 HEMA의 반응물인 PMDM에 전자전이 복합체를 형성<sup>29)</sup>하여 중합을 개시한다<sup>30)</sup>. BPDM은 칼슘 및 기타 무기성분과 수소결합을 이루는 친수성 carboxylate군과 결합레진과 중합반응할 두개의 소수성 methacrylate 군을 가지고 있다<sup>31)</sup>. 그리고 BPDM/HEMA계 접착제인 One-Step™은 접착강화제와 접착성 레진이 한 접착제(adhesive) 내에 포함되어 있어 접착강화제 도포와 접착성 레진의 도포순서를 동시에 할 수 있게 간소화시킨 제품으로 접착제 내에 아세톤을 용매로 Bis-GMA, HEMA, BPDM등의 레진이 40% 이상 함유되어 있다. 레진은 친수성기와 소수성기가 균형있게 함유되어 있으며 낮은 표면장력과 점도를 가져 상아질에 도포시 접착제와 함께 쉽게 확산되며, 관간상아질 및 상아세관내로 깊게 침투하여 상아질과 결합한다<sup>32)</sup>.

One-Step™과 All-Bond® 2를 상아질접착제로 사용한 본 실험에서 benzalkonium chloride를 사용하지 않는 경우와 0.02, 0.1 또는 0.5%의 benzalkonium chloride를 산처리제와 함께 상아질에 적용한 경우 인장접착강도에는 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다. 따라서 산처리는 관간상아질 및 관주상아질을 부분적으로 탈회시켜 교원섬유를 지지하던 무기질을 소실시키며 상아질의 표면 에너지를 증가시켜 낮은 표면장력과 점도를 갖는 접착제가 쉽게 치면에 퍼져 확산될 수 있게 할 가능성은 있지만 본 실험에서 benzalkonium chloride 자체의 계면활성효과는 상아질 접착에 유의성 있는 차이를 나타내지 않았다.

산처리된 상아질표면의 습윤성이 상아질 접착제의 접착성능에 중요한 영향을 끼친다. Kanca<sup>11)</sup>는 산처리후 상아질표면의 습윤이 교원섬유의 수축과, 붕괴를 감소시키고 원래의 입체

적인 구조를 안정화하여 접착강도를 증가시킨다고 보고하면서 상아질에서의 wet bonding 방법을 소개하였다. Gwinnett<sup>35)</sup>도 산처리후 상아질 표면을 건조시킬 경우 교원섬유망이 수축, 붕괴되지만 건조된 상아질을 물로 재습윤시 교원섬유가 팽창되어 접착성 레진의 침투성을 증진시킨다고 하였다. 이<sup>34)</sup> 등도 산처리후 상아질을 완전히 건조시킨 군보다 습윤상태의 상아질 군에서 더 높은 접착강도를 보임을 보고하였고 Suh<sup>35)</sup>는 All-Bond<sup>®</sup> 2를 사용한 실험에서 산처리후 상아질면을 blot dry시킨 군이 상아질면을 장시간 건조시킨 군보다 더 높은 전단결합 강도가 나타남을 보고하였다.

본 실험에서는 benzalkonium chloride로 재습윤시키지 않을 경우에도 상아질 표면을 완전히 건조시키지 않고 blot dry시켰으며, 재습윤시킨 경우에는 산처리한 상아질 표면을 증류수나 0.02, 0.1 또는 0.5%의 benzalkonium chloride 수용액으로 재습윤시켰다. 본 실험에서 One-Step<sup>™</sup>을 상아질 접착제로 사용한 경우 0.02, 0.1 또는 0.5%의 benzalkonium chloride 수용액으로 재습윤시킨 군에서는 benzalkonium chloride를 사용하지 않고 증류수로만 재습윤시킨 군에 비해 인장접착강도가 낮게 나타났다. 이는 산처리로 노출된 교원섬유를 benzalkonium chloride가 변화 내지 변성시킴으로 인해 접착제의 침투 및 확산이 방해받았거나 접착제와 결합할 교원섬유의 amide가 변화되어 접착이 방해받은 것<sup>26)</sup>으로 여겨지며 이러한 효과가 benzalkonium chloride의 양이온계면활성효과로 인한 접착제의 도포율 증가를 증가해서 접착강도가 감소한 것으로 추정되나 그 정확한 작용기전은 알 수 없었다. 그러나 All-Bond<sup>®</sup> 2를 상아질 접착제로 사용한 경우는 benzalkonium chloride의 유무 및 농도에 관계없이 재습윤시킨 군 간에 인장접착강도에는 차이를 보이지 않았다. 신평 박<sup>26)</sup>은 All-Bond<sup>®</sup> 2를 상아질 접착제로 사용하고 benzalkonium chloride를 치면 재습윤제로 사용하여 실험한 바 전반적으로 재습윤제의 종류 및 benzalkonium chloride의 농도가 접착강도에 영향을 미치지 않았다고 보고하였다. 이는 본 실험에서

나타난 결과와 같은 양상이라고 볼 수 있다. 본 실험에서 NTG-GMA/BPDM계 접착제인 All-Bond<sup>®</sup> 2의 경우 전체적으로 benzalkonium chloride의 영향을 적게 받은 것으로 나타났다. 본 실험의 결과에서 나타나는 인장접착강도치는 신평 박<sup>26)</sup>의 실험 결과에서 보다 낮게 나타났으나 benzalkonium chloride로 재습윤시킨 경우에서 미약하나마 접착강도가 다소 증가된 것은 유사한 경향을 나타낸 것으로 보인다. Benzalkonium chloride의 농도가 증가시 교원섬유의 amide 부위의 변화 내지 변성을 심화시켜 접착강도를 감소시킬 것이라는 신평 박<sup>26)</sup>의 보고 내용을 증명할 수는 없었다. NTG-GMA/BPDM계에서는 노출된 교원섬유의 변성 혹은 변화로 인한 접착의 방해보다는 계면활성작용이 커서 미약한 접착강도의 증가를 나타낸 것으로 사료된다<sup>26)</sup>.

Nakabayashi 등<sup>15)</sup>은 상아질에 대한 접착제의 접착력은 관주상아질과의 접착보다는 관간상아질과의 접착에 더 영향을 받는다고 하였다. 본 실험의 응집파단율과 주사전자 현미경적 관찰에서 One-Step<sup>™</sup>의 경우 다소 높은 응집파단율이 나타났으며 주로 혼합성 파단양상이 나타났으며 일부에서 레진내 응집성 파단양상 및 부착성 파단양상이 나타났다. 응집성 파단면에서는 주사전자현미경적 관찰상에서 레진파단면과 상아세관내에 잔존하는 resin tag이 상아세관을 폐쇄하고 있었으며 상아세관내의 resin tag이 상아세관벽과 긴밀하게 접착되어 있었다. 이는 접착제의 관간상아질 및 상아세관내로의 습윤성이 우수함을 보여주는 것으로 접착강도의 증가에 기여할 것으로 기대하였으나 반드시 접착강도가 일치하는 양상을 보이지는 않았다. 부착성 파단을 보인 경우에는 상아세관내의 resin tag이 상아세관벽과 긴밀하게 접착하지 않은 상태였는데 이는 관간상아질 및 상아세관내로 접착제의 습윤성이 감소되었거나 레진의 초기 중합수축을 극복하지 못한 때문으로 사료된다. 본 실험에서 One-Step<sup>™</sup>을 사용한 경우 인산처리후 증류수로 재습윤시킨 경우 레진내 응집성 파단양상을 나타내었는데 이는 접착제가 관간상아질과 상아세관으로 충분히 침투 확산



하여 견고한 수지함침층을 형성한 결과로 접착강도의 증가에 기여한 것으로 보여진다. Nakabayashi 등<sup>36)</sup>은 접착강화제가 산처리로 탈회 변형된 교원섬유망을 통해 침투, 확산되어 레진-교원섬유혼합층 (hybrid layer) 을 형성하여 결합에 기여한다고 보고하였다. 이러한 수지함침층이 형성되기 위해서는 상아질 탈회시 상아질내 교원섬유 및 펩티드의 변성이 없어야 하고, 접착될 레진은 친수성기와 소수성기를 모두 가진 단량체이어야 하며 산소와 수분의 존재하에서도 중합이 가능해야 한다. 본 실험에서 benzalkonium chloride로 처리한 경우 혼합성 및 부착성 파단양상을 나타내었다. 혼합성 파단양상에서 파단된 레진이 일부 관간상아질 표면과 상아세관내에 존재하였으며 일부 resin tag는 세관벽에 긴밀하게 접착되어 있었다. 이는 접착제가 관간상아질로 충분히 침투 확산하지 못하였음을 의미한다. 부착성 파단양상을 나타낸 경우 접착제가 관간상아질로 잘 침투하지 못하였으며 상아세관내로의 침투 또한 불충분하여 일부 세관벽과 레진 사이에 느슨한 접촉이 관찰되었다. 본 실험에서 상아질 접착제가 관간상아질과 결합된 경우가 관주상아질과 결합된 경우에서보다 비교적 높은 접착강도가 나타난 것으로 보아 관간상아질에서의 접착이 더 중요함을 알 수 있었다.

All-Bond® 2에서는 혼합성 및 부착성 파단양상이 대부분 나타났으며 비교적 낮은 응집 파단율을 나타내었다. SEM 관찰에서 일부 관간상아질 상에는 파단된 레진이, 상아세관내에는 resin tag들이 부분적으로 관찰되었는데 이는 접착강화제가 관간상아질 및 상아세관내로 충분히 침투하지 못하여 견고한 수지함침층을 형성하지 못한 때문으로 보인다. 혼합성 파단양상을 보인 경우에는 레진내에서의 응집성 파단양상과 상아세관내로의 resin tag의 파괴를 보여주었고 상아세관이 완전히 개방되어 있는 경우는 거의 관찰할 수 없었다.

접착실험에서 접착강도는 사용된 치아의 종류<sup>37)</sup>, 발치후의 보관용액<sup>38)</sup>, 노출된 상아질의 두께 및 위치<sup>39, 40)</sup> 등의 영향을 받을 수 있다. 소의 치아와 사람의 치아를 이용한 Nakamichi 등<sup>37)</sup>과

Reeves 등<sup>41)</sup>의 접착력 및 미세누출에 관한 실험에서 두 종류의 치아에서 유의한 차이가 없다고 하면서 소의 치아를 사람의 치아 대응으로 실험에 쓸 수 있다고 하였다. Nakamichi 등<sup>37)</sup>은 소의 치아의 표층과 심층 사이에는 큰 접착력의 차이를 보이므로 실험시 가능하면 표층의 상아질을 사용할 것을 권장하였다. 본 실험에서는 동일한 실험조건을 부여하기 위하여 발거된지 일주일 이내의 소의 치아를 사용하였으며, 상아질 표층만이 노출되도록 시편을 연마하였으나 치아 형태의 차이에 따른 잔존상아질에서의 미세한 깊이 차이 및 일부 시편의 경우 sclerotic dentin<sup>42)</sup>이 포함된 점등이 접착강도상에 영향을 미칠 수도 있다고 생각된다.

이상에서와 같이 benzalkonium chloride의 사용유무 및 농도 차이나 적용방법이 인장접착강도에 유의한 차이를 미치지 않는 것으로 보아 양이온계면활성제인 benzalkonium chloride가 두 상아질 접착제의 중합활성화에 유의성 있게 직접 관여하지는 않는 것으로 생각된다. 그리고 향후 benzalkonium chloride의 영향을 심도있게 분석하기 위하여 benzalkonium chloride 적용후의 치면의 표면장력이나 접착강화제도포후의 접촉각등을 포함한 물리적 측정<sup>38)</sup>이나 표면 분석등의 연구가 계속적으로 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## V. 결 론

양이온계면활성효과로 소독능을 가지고 있는 benzalkonium chloride를 BPDM/HEMA 계 접착제의 적용시 접착강도에 미치는 영향을 알아보기 위하여 소의 하악전치 160개를 40개씩 4개군으로 분류하여 순면의 상아질을 노출시키고 0%, 0.02%, 0.1% 또는 0.5% benzalkonium chloride를 10% 또는 32% 인산과 함께 상아질을 처리하거나, 인산 처리한 후에 상아질에 적용하여 재습윤시켰으며 BPDM/HEMA 계 접착제인 One-Step™ 과 NTG-GMA/BPDM계 상아질접착제인 All-Bond® 2를 사용하여 접착하였다. One-Step™ 접착시편에서는 32% 인산을, All-Bond® 2 접착시편에서는 10

% 인산을 사용하였으며, 모든 시편을 Aelitefi-1™(Bisco. Inc., U.S.A.) 복합레진으로 최종 접착시킨 후 인장접착강도를 측정하고, 파단면을 주사전자 현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 산 처리후 benzalkonium chloride로 재습윤시킨 경우에 BPDM/HEMA계 상아질접착제인 One-Step™의 접착강도가 유의하게 감소되었다 ( $p < 0.05$ ).
2. Benzalkonium chloride는 NTG-GMA/BPDM계 상아질접착제인 All-Bond® 2의 접착강도에 유의한 영향을 나타내지 않았다 ( $p > 0.05$ ).
3. Benzalkonium chloride의 농도 및 적용방법의 차이는 One-Step™ 및 All-Bond® 2 상아질접착제의 접착강도에 유의한 영향을 나타내지 않았다 ( $p > 0.05$ ).
4. 파단면에 대한 주사전자 현미경적 관찰에서 benzalkonium chloride의 농도나 적용방법에 관계없이 One-Step™ 접착에서는 혼합성 파단양상이 우세하였으나 All-Bond® 2 접착에서는 혼합성 및 부착성 파단양상이 혼재하여 나타났다.

#### 참고문헌

1. Grossman, D. G. and Nelson, J. W. : The bonded Dicor crown, *J. Dent. Res.*, 66 : 206, Abstr. No. 800, 1987.
2. Raymond, G., Richard, S. and Richard, D. : Microleakage associated with resin composite cemented, cast glass ceramic restoration, *Int. J. Prothod.*, 6 : 579-584, 1993.
3. Buonocore, M. G. : A simple method of increasing the adhesion of acrylic filling materials to enamel surfaces, *J. Dent. Res.*, 34 : 849-853, 1955.
4. Steinfors, J., Deblauwe, B. M. and Beertsen, W. : The inorganic components of cementum-and enamel-related dentin in the rat incisor, *J. Dent. Res.*, 69 : 1287-1292, 1990.
5. Gwinnett, A. J. : The morphologic relationship between dental resins and etched dentin, *J. Dent. Res.*, 56 : 1155-1160, 1977.
6. Pashley, D. H., Michelich, V. and Kehl, T. : Dentin permeability : effects of smear layer removal, *J. Prosthet. Dent.*, 46 : 531-537, 1981.
7. Andraeus, S. B., Bayne, S. C., Heymann, H. O. and Kanoy, B. E. : Intrapulpal composition and fluid flow effects on dentin bond strengths, *J. Dent. Res.*, 68 : 321, Abstr. No. 1114, 1989.
8. Terkla, L. G., Brown, A. C., Hainishi, A. P. and Mitchem, J. C. : Testing sealing properties of restorative materials against moist dentin, *J. Dent. Res.*, 66 : 1758-1764, 1987.
9. Gwinnett, A. J. : Smear layer : morphologic considerations, *Oper. Dent.*, 9 : 3-12, 1984.
10. Fusayama, T., Nakamura, M., Kurosaki, N. and Iwaku, M. : Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin, *J. Dent. Res.*, 58 : 1364-1370, 1979.
11. Kanca, J. : Resin bonding to wet substrate. I. bonding to dentin, *Quint. Int.*, 23 : 39-41, 1992.
12. Swift, E. J., Perdigo, J. and Heymann, H. O. : Bonding to enamel and dentin : A brief history and state of the art, *Quint. Int.*, 26 : 95-110, 1995.
13. Van Meerbeek, B., Inokoshi, S., Braem, M., Lambrechts, P. and Vanherle, G. : Morphological aspects of the resin-dentin interdiffusion zone with different dentin adhesive systems, *J. Dent. Res.*, 71 : 1530-1540, 1992.
14. Inokoshi, S., Hosoda, H., Harnirattisai, C. and Shimada, Y. : Interfacial structure between dentin and seven dentin bonding

- systems revealed using argon ion beam etching, *Oper. Dent.*, 18 : 8-16, 1993.
15. Nakabayashi, N., Ashizawa, M. and Nakamura, M. : Identification of a resin-dentin hybrid layer in vital human dentin in vivo : durable bonding to vital dentin, *Quint. Int.* 23 : 135-141, 1992.
  16. Gwinnett, A. J. and Kanca, J. : Micromorphology of the bonded dentin interface and its relationship to bond strength, *Am. J. Dent.*, 5 : 73-77, 1992.
  17. Nakabayashi, N., Nakamura, M. and Yasuda, N. : Hybrid layer as a dentin-bonding mechanism, *J. Esthet. Dent.*, 3 : 133-138, 1991.
  18. Gwinnett, A. J. : Quantitative contribution of resin infiltration/hybridization to dentin bonding, *Am. J. Dent.*, 6 : 7-9, 1993.
  19. Pashley, D. H., Ciucchi, B., Sano, H. and Horner, J. A. : Permeability of dentin to adhesive agents, *Quint. Int.*, 24 : 618-631, 1993.
  20. Erickson, R.L. : Surface interactions of dentin adhesive materials, *Oper. Dent. Supplement*, 5 : 81-94, 1992.
  21. Qian, X. J. and Suh, B. I. : FTIR curing study of three dental adhesive primers : BPDM (All-Bond 2), PMGDM (Mirage ABC), and PMDM(Tenure), *J. Dent. Res.*, 74 : 89 Abstr. 621, 1995.
  22. Gwinnett, A. J. : Moist versus dry dentin : its effect on shear bond strength, *Am. J. Dent.*, 5 : 127-129, 1992.
  23. 손강하, 박진훈 과 조규중 : 상아질 표면의 건조에 따른 습윤상태가 레진세멘트의 접착에 미치는 영향, *대한치과보존학회지*, 20 : 97-112, 1995.
  24. Laskin, D. M. : *Oral and Maxillofacial surgery*, Mosby Co., 1985. pp.348-350.
  25. McGhee, J. R., Michalek, S. M., and Cassell, G. H. : *Dental Microbiology*, Harper & Row pub., Philadelphia (1982) pp. 171-188.
  26. 신 일 과 박진훈. : Benzalkonium chloride가 NTG-GMA/BPDM계 및 DSDM계 상아질 접착제의 접착성능에 미치는 영향. *대한치과보존학회지*, 20 : 699-720, 1995.
  27. Chan, D. C. N. : Residual effect of 1, 2 % benzalkonium chloride incorporated in an etchant on the susceptibility.
  28. Baier, R. E. : Principles of adhesion, *Oper. Dent. supplement*, 5 : 1-9, 1992.
  29. Ruyter, I. E. : The chemistry of adhesive agents, *Oper. Dent. Supplement*, 5 : 32-43, 1992.
  30. Bowen, R.L., Cobb, E. N. and Rapson, J. E. : Adhesive bonding of various materials to hard tooth tissues : improvement in bond strength to dentin., *J. Dent. Res.*, 61 : 1070-1076, 1982.
  31. Barkmeier, W. W., Suh, B. I. and Cooley, R. L. : Shear bond strength to dentin and Ni-Cr-Be alloy with the All-Bond universal adhesive system, *J. Esthet. Dent.*, 3 : 148-153, 1991.
  32. Qian, X. J., Sandrik, J. L. and Suh, B. I. : FTIR curing and SEM morphological studies of One-Step™ Adhesive system, *J. Dent. Res.*, 75 : 178, Abstr. 1283, 1996.
  33. Gwinnett, A. J. : Dentin bond strength after air drying and rewetting, *Am. J. Dent.*, 7 : 144-148, 1994
  34. 이광원, 박수정 과 손호현 : 산 표면처리후 상아질과 법랑질 표면의 습윤이 결합강도에 미치는 영향. *대한치과보존학회지*, 20 : 328-341, 1995
  35. Suh, B. I. : All Bond-fourth generation dentin bonding system, *J. Esthet. Dent.*, 3 : 139-147, 1991.
  36. Nakabayashi, N., Kojima, K. and Masuhara, E. : The promotion of adhesion by the infiltration of monomers into tooth substrates, *J. Biomed. Mater. Res.*, 16 : 265-273, 1982.

37. Nakamichi, I., Iwaku, M. and Fusayama, T. : Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test, *J. Dent. Res.*, 62 : 1076–1081, 1983.
38. Goodies, H. E., Marshall, G. W., White, J. M., Gee, L., Hornberger, B. and Marshall, S. J. : Storage effects on dentin permeability and shear bond strengths, *Dent. Mater.*, 9 : 79–84, 1993.
39. Prati, C. and Pashley, D. H. : Dentin wetness, permeability and thickness and bond strength of adhesive system, *Am. J. Dent.*, 5 : 33–38, 1992.
40. Tagami, J., Tao, L. and Pashley, D. H. : Correlation among dentin depth, permeability and bond strength of adhesive resins, *Dent. Mater.*, 6 : 45–50, 1990.
41. Reeves, G. W., Fitchie, J. G., Hembree, J. H. and Puckett, A. D. : Microleakage of new dentin bonding systems using human and bovine teeth, *Oper. Dent.*, 20 : 230–235, 1995.
42. Heymann, H. O. and Bayne, S. C. : Current concepts in dentin bonding : focusing a dentinal adhesion factors, *J. Am. Dent. Assoc.*, 124 : 27–36, 1993.

### Legends for figures

- Fig. 3. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 32% phosphoric acid and primed with BPDM/HEMA adhesive before bonding. Cohesive failure and adhesive failure areas were seen together. At the adhesive failure area, broken resin tags were attached to the tubular wall ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 4. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 32% phosphoric acid containing 0.02% benzalkonium chloride and primed with BPDM/HEMA adhesive before bonding. Adhesive failure mode was seen. At the adhesive failure area, broken resin tags were seen to be attached to the tubular wall ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 5. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 32% phosphoric acid containing 0.1% benzalkonium chloride and primed with BPDM/HEMA adhesive before bonding. Mixed failure mode was seen. At the adhesive failure area, broken resin tags were seen in the tubules and rough resin chips were seen to be attached to the surface of the intertubular dentin ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 6. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 32% phosphoric acid, remoistured with distilled water and primed with BPDM/HEMA adhesive before bonding. Cohesive failure mode was seen ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 7. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 32% phosphoric acid, remoistured with 0.1% benzalkonium chloride and primed with BPDM/HEMA adhesive before bonding. Cohesive failure mode was seen ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 8. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 32% phosphoric acid, remoistured with 0.5% benzalkonium chloride and primed with BPDM/HEMA adhesive before bonding. Mixed failure mode was seen. The cohesive failure area showed the feature of brittle fracture ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 9. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 10% phosphoric acid and primed with NTG-GMA/BPDM before bonding. Adhesive failure mode was seen. All tubules were occupied with resin tags but not tightly attached to the tubule wall. Some fractured resin fragments were attached to intertubular dentin ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 10. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 10% phosphoric acid containing 0.02% benzalkonium chloride and primed with NTG-GMA/BPDM before bonding. Adhesive failure mode was seen. Most of tubules were occupied with loosely attached resin tags and some tubules were opened ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 11. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 10% phosphoric acid containing 0.1% benzalkonium chloride and primed with NTG-GMA/BPDM before bonding. Mixed failure mode was seen. The cohesive failure area showed the feature of brittle fracture ( $\times 2,000$ ).

- Fig. 12. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 10% phosphoric acid, remoistured with distilled water and primed with NTG-GMA/BPDM before bonding. Mixed failure mode was seen. Dentinal tubules were occupied with resin tags ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 13. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 10% phosphoric acid, remoistured with 0.1% benzalkonium chloride and primed with NTG-GMA/BPDM before bonding. Mixed failure mode was seen. Some tubules were occupied with resin tags loosely attached to the tubule wall. Fractured resin fragments were attached to the intertubular dentin ( $\times 2,000$ ).
- Fig. 14. Scanning electron micrograph of a fractured dentin surface treated with 10% phosphoric acid, remoistured with 0.5% benzalkonium chloride and primed with NTG-GMA/BPDM before bonding. Adhesive failure mode was seen. Some tubules were occupied with resin tags loosely attached to the tubule wall, others occupied with tags tightly attached to the tubule wall ( $\times 2,000$ ).

사진부도 I

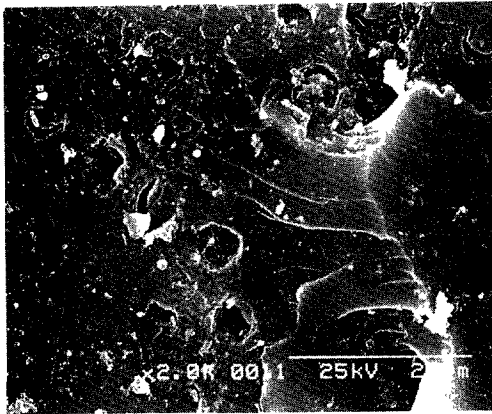


Fig. 3

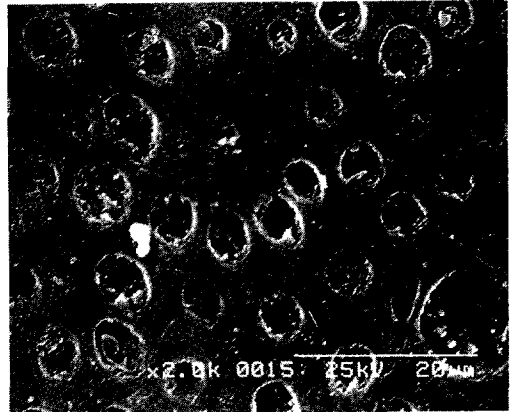


Fig. 4

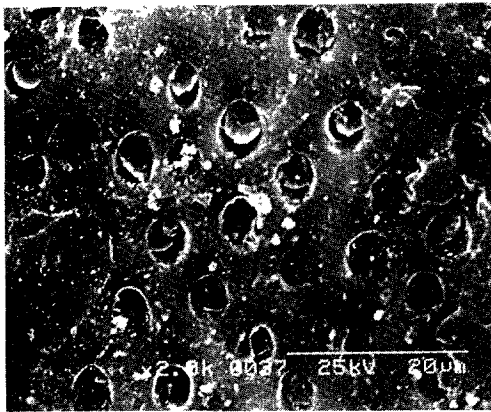


Fig. 5

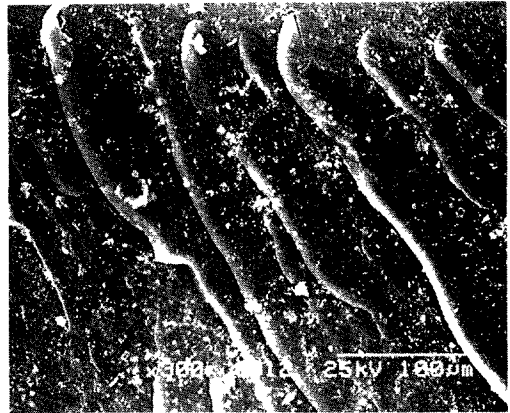


Fig. 6

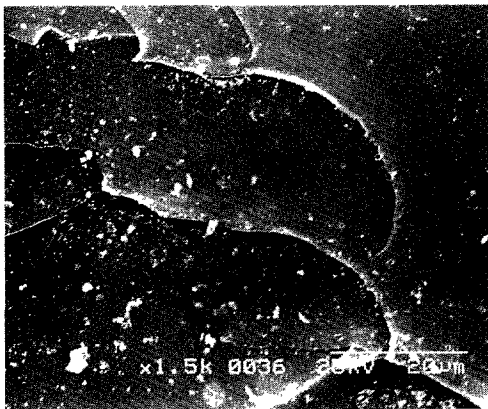


Fig. 7

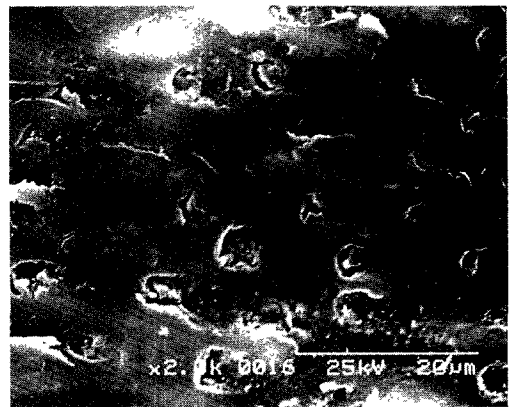


Fig. 8



Fig. 9

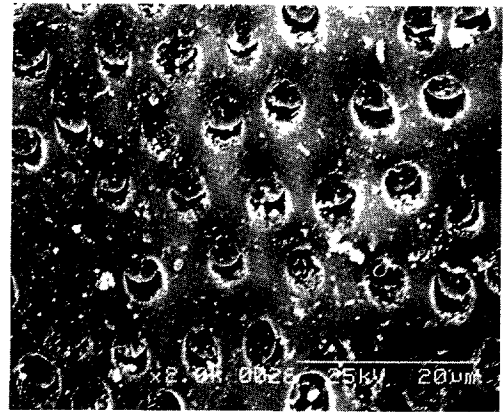


Fig. 10

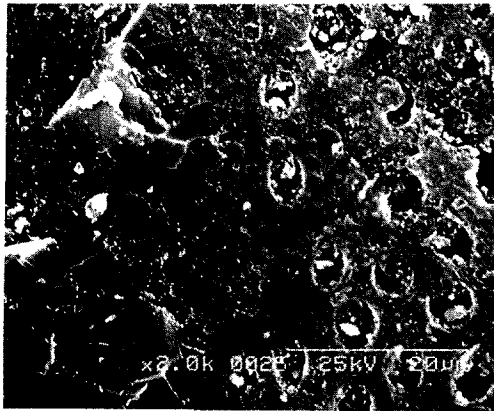


Fig. 11

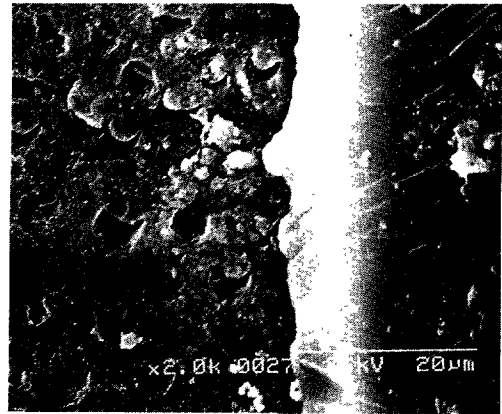


Fig. 12

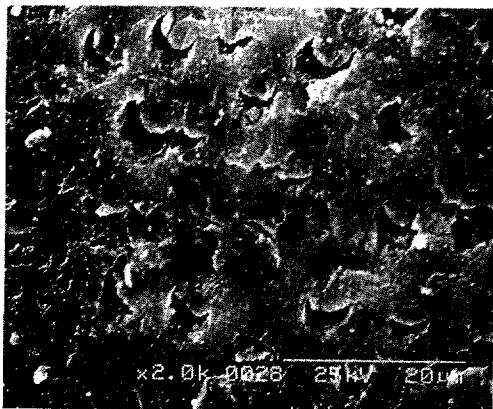


Fig. 13

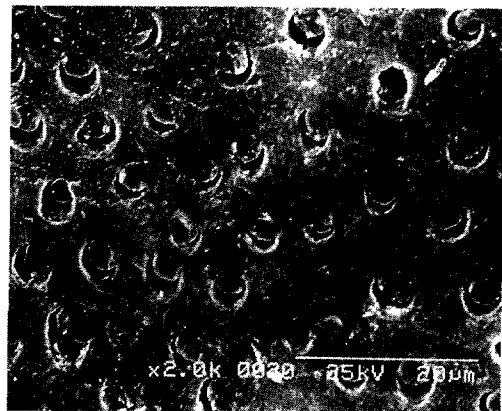


Fig. 14