

Analiza geometrii powierzchni drutów ortodontycznych wykonanych z β -tytanu w aspekcie rozwoju drobnoustrojów w środowisku jamy ustnej

K. Rubin ^a, B. Ziębowicz^b, A. Woźniak ^b

^a Studentka Politechniki Śląskiej, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych
email: kasiarubin7@gmail.com

^b Politechnika Śląska, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych
email: boguslaw.ziebowicz@polsl.pl

Streszczenie: W pracy poddano analizie wpływ geometrii powierzchni drutów ortodontycznych wykonanych ze stopu β -tytanu na stopień adhezji bakterii szczepu *Streptococcus sanguinis* do ich powierzchni. Celem scharakteryzowania zależności wykonano pomiary twardości, obserwacje mikroskopowe oraz pomiary chropowatości. W wyniku przeprowadzonych badań i obserwacji stwierdzono, że badany drut ortodontyczny cechował się zadawalającymi własnościami oraz geometrią powierzchni, warunkując jego bezpieczne użytkowanie w środowisku jamy ustnej.

Abstract: The subject of the research was orthodontic wire made of β -Ti alloy. The results of the SEM/EDS analysis and microscopic observation of the samples surface and analysis of geometrical structure with the use Atomic Force Microscope (AFM) and Confocal Microscopy were presented as well as surface roughness and microhardness measurements were performed. The obtained results show satisfactory properties and surface geometry of the tested orthodontic wires for use in the human oral environment.

Słowa kluczowe: β -tytan, *Streptococcus sanguinis*, AFM, SEM/EDS

1. WSTĘP

Jama ustna stanowi środowisko bytowania około 700 gatunków mikroorganizmów, w tym chorobotwórczych, gdzie bakterie stanowią dominującą grupę. Zachowanie dynamicznej homeostazy pomiędzy antagonistycznie i synergistycznie oddziałującymi drobnoustrojami możliwe jest dzięki czynnikom egzogennym, np. ciągłe procesy złuszczenia się nabłonka z kolejnym usuwaniem go wraz z śliną oraz endogennym (zwanymi swoistymi i wrodzonymi czynnikami gospodarza), wśród których wyróżnia się m.in. higienę jamy ustnej, palenie tytoniu, zażywanie leków oraz rodzaj przyjmowanego pokarmu. Drobnoustroje skupiają się

jednak zazwyczaj w wielogatunkowe zbiorowiska, które przylegają zarówno do miękkich, jak i twardych powierzchni, tworząc naturalny biofilm. Adhezja bakterii do tkanek środowiska jamy ustnej oraz do powierzchni uzupełnień protetycznych i elementów ortodontycznych w głównej mierze jest uzależniona od stopnia rozwinięcia geometrii powierzchni, gdzie zasadniczą rolę odgrywają występujące porowatości oraz wielkość chropowatości [1-4]. Przyjmuje się, że graniczna wartość parametru chropowatości R_a wynosi $0,2 \mu\text{m}$ - dalsze obniżanie tej wartości nie wpływa na zmniejszenie adhezji bakteryjnej. Osadzając na powierzchni elementów ortodontycznych bakterie stanowią bezpośrednie zagrożenie wpływające na pogorszenie biofunkcjonalności elementów, przyspieszając jego procesy niszczenia. Dlatego niezwykle istotnym jest dobór odpowiedniego materiału i zagwarantowanie odpowiedniej jakości powierzchni wyrobu finalnego. Jednym z najczęściej wykorzystywanych materiałów na elementy ortodontyczne są stopy β -Ti, charakteryzujące się dobrą odpornością korozyjną oraz zadawalającym zespołem własności mechanicznych [1-9].

2. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

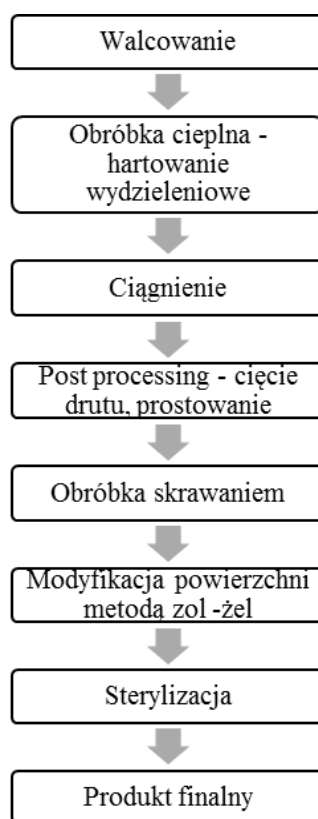
Materiałem do badań był drut ortodontyczny wykonany z stopu β -Ti (Tablica 1), dostępnego pod nazwą handlową Resolve® (Dentsply Gac Company). Drut wykonano konwencjonalną technologią wytwarzania (Rysunek 1).

Tablica 1. Skład chemiczny stopu β -Ti

Table 1. Chemical composition of β -Ti alloy

Pierwiastek			
Mo	Zr	Sn	Ti
11,30	6,60	4,30	reszta

Kolejno w warunkach in vivo wyhodowano bakterie szczepu *Streptococcus sanguinis*. Wykorzystano do tego podłoże mikrobiologiczne Todda-Hewitta (BTL, Łódź) o składzie: wyciąg sercowy 30,1 g/l, chlorek sodu 2 g/l, dekstroza 2 g/l, pepton 20 g/l, fosforan sodu 0,4 g/l, węglan sodu 2,5 g/l do którego wprowadzono kolejno liofilizatu szczepu *S. Sanguinis*. Pojemnik umieszczono na stole obrotowym i inkubowano w czasie $t = 48 \text{ h}$ w temperaturze $T = 37 \pm 0,2 \text{ }^\circ\text{C}$ z wstrząsaniem (100 rpm). Po upływie zamierzonego czasu próbki płukano buforem fosforanowym, celem usunięcia komórek planktonowych.



Rysunek 1. Proces technologiczny wytwarzania drutu ortodontycznego
Figure 1. Technological process of orthodontic archwire

2.1. Pomiary twardości

Pomiary trwałości przeprowadzono w oparciu o metodę Vickersa przy użyciu twardościomierza FUTURE-TECH FM-ARS 9000. Pomiary dla wybranych obszarów drutu ortodontycznego przeprowadzono dla 10 przypadkowo wybranych miejsc, kolejno wyniki uśredniono.

2.2. Analiza SEM/EDS

Celem obserwacji topografii powierzchni badanych próbek w stanie wyjściowym, wykorzystano Skaningowy Mikroskop Elektronowy Supra 35 (Zeiss), wyposażony w detektor typu SE do rejestracji elektronów wtórnych. Obserwacje przeprowadzane były przy powiększeniu z zakresu 300 – 7500x. Dodatkowo, dzięki przystawce EDS przeprowadzono ilościową i jakościową analizę składu chemicznego w mikroobszarach. Obserwacje z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego wykorzystano również do badań mikrobiologicznych, celem identyfikacji obecności gron bakteryjnych na powierzchni drutu ortodontycznego po hodowli bakteryjnej.

2.3. AFM

Celem zobrazowania struktury geometrycznej badanych próbek w stanie wyjściowym przeprowadzono badanie z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych (AFM). Wykorzystano stanowisko pomiarowe wyposażone w mikroskop XE-100 firmy Park System oraz komputer z oprogramowaniem XEI. Badanie przeprowadzono w oparciu o metodę stykową. Na podstawie przeprowadzonych obserwacji wyznaczono wartości charakterystycznych parametrów chropowatości powierzchni: Współczynnik Nierówności powierzchni (RMS/R_q), średnią arytmetyczną rzędnych profilu (R_a) oraz sumę maksymalnej wysokości i minimalnej głębokości (ΔZ), które obliczono dla obszaru skanowania równego $25 \times 25 \mu m$.

2.4. Mikroskop konfokalny

W celu uzyskania dodatkowych informacji o topografii powierzchni badanych próbek przeprowadzono obserwacje i pomiary z wykorzystaniem mikroskopu konfokalnego. W tym celu użyto mikroskopu LSM 5 Exciter firmy Zeiss. Pomiary parametrów chropowatości przeprowadzono dla obszaru skanowania $125 \times 125 \mu m$.

3. DYSKUSJA

3.1. Pomiary twardości

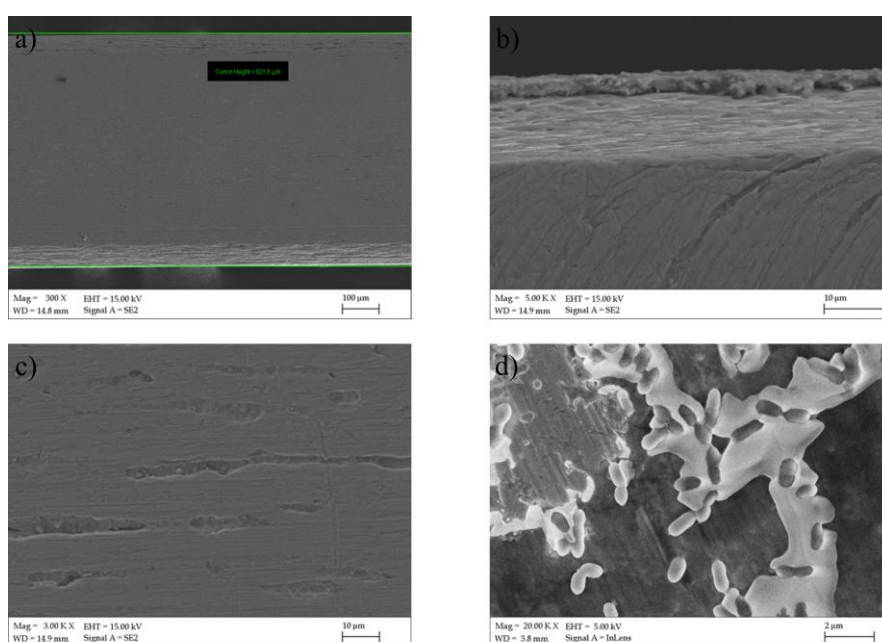
Wyniki przeprowadzonych pomiarów twardości przedstawiono w Tabelicy 2. Średnia wartość twardości badanego drutu ortodontycznego wynosiła 312,5 HV, stanowiącą wynik odpowiedni dla stopu β -Ti. Odpowiednie wartości twardości drutów ortodontycznych, gwarantują większą odporność na uszkodzenia wynikające z codziennego użytkowania w efekcie zmniejszenia prawdopodobieństwa powstania zarysowań oraz wgłębień, które w konsekwencji oddziaływania w środowisku jamy ustnej mogą stanowić dogodne siedliska do osadzania się drobnoustrojów [9].

Tablica 2. Wyniki pomiarów twardości
Table 2. Results of hardness measurements

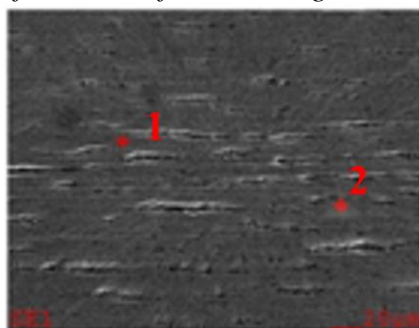
Nr	Twardość, [HV]
1	328
2	313
3	298
4	331
5	345
6	307
7	318
8	332
9	341
10	302
Średnia	321,5

3.2. Analiza SEM/EDS

Na podstawie przeprowadzonych obserwacji z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego (Rysunek 2) można stwierdzić, że powierzchnia badanego drutu ortodontycznego cechowała się występowaniem licznych zagłębień, co może być efektem obróbki skrawaniem, stanowiącej ostatni etap produkcji geometrii drutu. Największa ilość zagłębień została zarejestrowana przy krawędziach badanego elementu. Średnia szerokość zagłębień mieściła się w przedziale $2,10 \div 6,5 \mu\text{m}$. Analiza SEM/EDS wykazała zgodność składu chemicznego w mikroobszarach z kartą materiałową dostarczoną przez producenta (Dentsply Gac Company). Obserwacje przeprowadzone po hodowli bakterii, wykazały występowanie na powierzchni drutu pojedynczych bakterii (Rysunek 2d), gromadzących się głównie w zagłębieniach.



Rysunek 2. Obserwacja mikroskopowe a) powierzchnia drutu, b) krawędź geometrii drutu, c) zagłębienia powierzchni druty, d) powierzchnia drutu po hodowli bakterii
Figure 2. Microscopic observation a) surface of the tested wire, b) edges of tested wire, c) surface cavities, d) surface of the wire after breeding bacterial



Rysunek 3. Zdjęcie mikroskopowe powierzchni badanego drutu z zaznaczonymi punktami do mikroanalizy chemicznej.

Figure 3. SEM image of the surface of the tested wire material with arrows pointing to the microchemical composition analysis

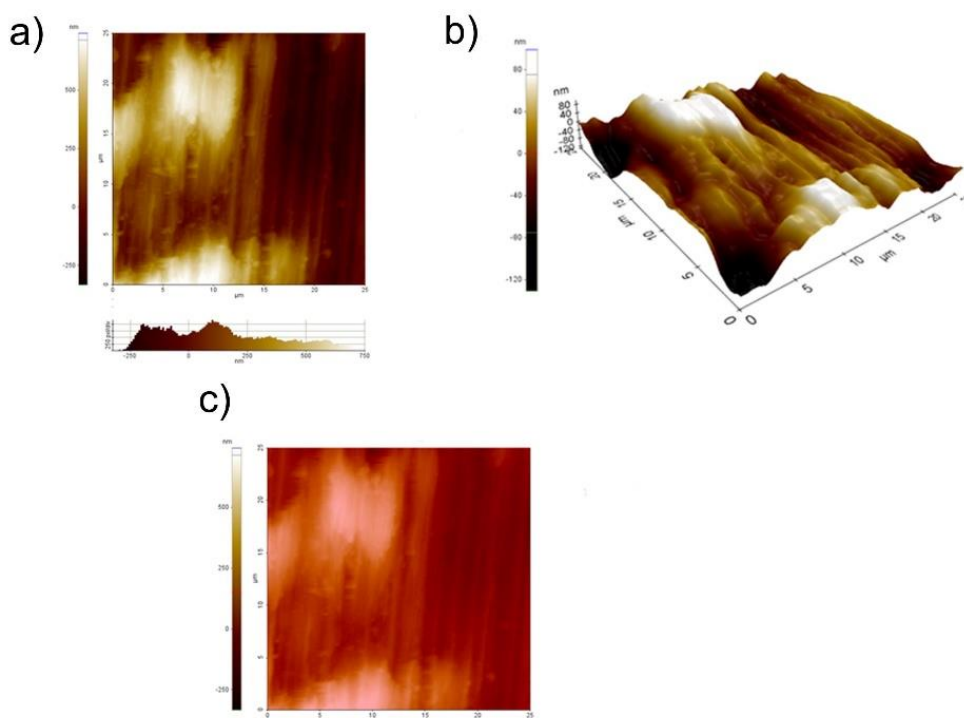
Tablica 3. Wyniki analizy SEM/EDS

Table 3. Results of SEM/EDS analysis

Pierwiastek	Punkt 1		Punkt 2	
	% masowy	% atomowy	% masowy	% atomowy
Sn	5,03	2,26	5,34	2,20
Mo	14,30	7,94	13,80	7,66
Ti	80,68	89,80	80,86	89,94

3.3. AFM

Wyniki obserwacji z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych przedstawiono na Rysunku 4, a wartości chropowatości powierzchni w Tablicy 4. Wartości parametrów chropowatości obliczone dla trzech obszarów skanowania wynosiły odpowiednio: $R_a = 204 \div 270$ nm, $R_q = 248 \div 332$ nm, a dla współczynnika $RMS = 1078 \div 1205$ nm, gdzie poszczególne wartości parametrów były zbliżone, co świadczy o powtarzalności jakości powierzchni badanego drutu. Wartość chropowatości oraz obrazy powierzchni uzyskane na mikroskopie AFM pokazują nierówności występujące na powierzchni drutu ortodontycznego. Na zdjęciach trójwymiarowych dokładnie widać zmiany wysokości profilu powierzchni drutu.



Rysunek 4. Wyniki obserwacji AFM a) topografia powierzchni, b) trójwymiarowy wykres nierówności, c) profil powierzchni dla wybranego przekroju

Figure 4. AFM results a) surface topography, b) 3D of surface, c) surface profiles of examples

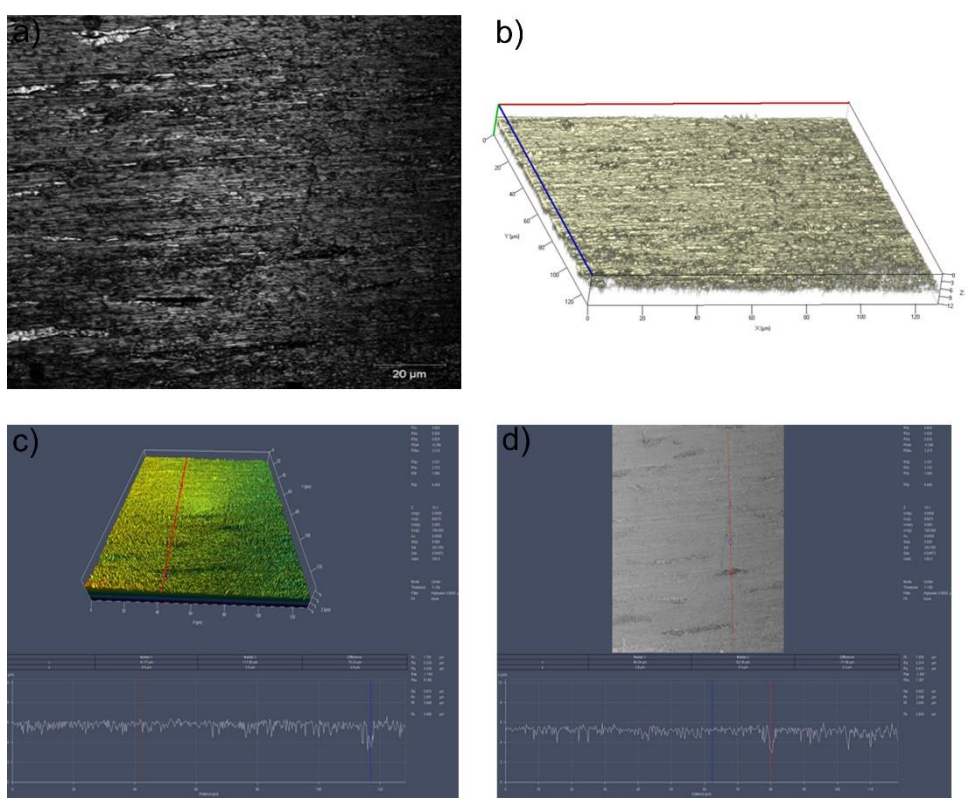
Tablica 4. Wyniki obliczeń AFM

Table 4. Results of AFM calculated

Pomiar	R_a , [nm]	R_q , [nm]	RMS, [nm]
1	224	267	1218
2	204	248	1078
3	270	332	1205
Średnia	231	282	1167

3.4. Mikroskop konfokalny

Wartości parametru chropowatości R_a zmierzone za pomocą mikroskopu konfokalnego mieściły się w zakresie $R_a = 301 \div 321$ nm (Tablica 5). Uzyskane wartości różnią się od wyników otrzymanych przy pomocy mikroskopu konfokalnego, co jest efektem różnicy w wielkości obszarów skanowania – 25×25 μm dla AFM i 125×125 μm dla mikroskopu konfokalnego. Zakłada się, że im mniejsza obszar analizy, tym wartości chropowatości zmniejszają się. Dokładne obrazy topografii powierzchni badanego drutu (Rysunek 5), uzyskane na mikroskopie konfokalnym potwierdziły obserwacje na skaningowym mikroskopie elektronowym i mikroskopie sił atomowych, gdzie również zaobserwowano zagłębienia i nierówności powierzchni.



Rysunek 5. Wyniki obserwacji z użyciem mikroskopu konfokalnego dla przykładowej powierzchni skanowania a) zdjęcie 2D, b) zdjęcie 3D, c) topografia powierzchni, d) mapa wysokości

Figure 5. Results of confocal microscopy observation for examples scan area $x 500$ a) 2D image, b) 3D image, c) surface topography, d) high map

Tablica 5. Wyniki pomiaróW z użyciem mikroskopu konfokalnego

Table 5. Results of measurements with the use confocal microscopy

Pomiar	R _a , [nm]
1	320
2	314
3	301
4	317
5	303
6	321
Średnia	312,67

4. WNIOSKI

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że analizowane druty charakteryzowały się zadawalającą twardością na poziomie 312,5 HV, gwarantującą zmniejszenie podatności na zniszczenia w postaci zarysowań oraz wgłębień. Uśrednione wartości pomiaróW chropowatości ze wszystkich obszaróW pomiarowych uzyskane w wyniku analizy nierówności powierzchni wynoszą odpowiednio $R_a = 230,90$ nm dla pomiaróW AFM oraz $R_a = 312,67$ nm dla pomiaróW z wykorzystaniem mikroskopu konfokalnego. Obserwacje mikroskopowe wykazały obecność nierówności oraz zmian wysokości profilu powierzchni drutóW, co stanowi o miejscach predysponujących do wzmożonej adhezji bakterii. Na podstawie badań mikrobiologicznych (obserwacje SEM) stwierdzono obecność pojedynczych bakterii na powierzchni analizowanych drutóW ortodontycznych w tym w szczelinach. Bakterie rozmieszczone były równomiernie na całej powierzchni badanych drutóW, jednak nie zauważono istotnych tendencji. Uzyskane wyniki świadczą o zadawalających własnościach i geometrii powierzchni badanych drutóW ortodontycznych do użycia w środowisku jamy ustnej człowieka.

LITERATURA

1. Woźniak A., Ziębowicz B., Ziębowicz A., Walke W., Physicochemical properties of oxide ZrO₂ layer deposited by sol-gel method on Ti-6Al-7Nb alloy, Arch. Metall. Master, vol. 63, nr 3, 2018, str. 1209-1215.
2. Ziębowicz A., Woźniak A., Ziębowicz B., Kosiel K., Chladek G., The effect of atomic layer deposition of ZrO₂ on the physicochemical properties of cobalt based alloys intended for prosthetic dentistry Arch. Metall. Master. Vol. 63, nr. 3, 2018, str. 1077-1082.
3. Ziębowicz A., Woźniak A., Ziębowicz B., The influence of manufacturing technology on the physicochemical properties and electrochemical prothetic materials, Springer International Publishing AG 2018 349 M. Gzik et al. (eds.), Innovations in Biomedical Engineering, Advances in Intelligent Systems and Computing 623, str. 349-257.
4. Kajzer W., Kajzer A., Grygiel - Pradelok M., Ziębowicz A., Zibowicz B., Evaluation of physicochemical properties of TiO₂ layer on AISI 316LVM steel intended for urology. Advances in Intelligent System and Computing 472, Information Technologies in Medicine, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2016, vol.2., str. 385-398.

5. Hajduga M., Zdziech T., Wpływ środowiska jamy ustnej na uzupełnienie protetyczne metalowo - ceramiczne, *Aktualne Problemy Biomechaniki*, nr 5, 2011, str. 45 - 46.
6. [31] Perkowski K., Zawadzki P., Starościak B., Bybicz M., Padzik M., Marczyńska - Stolarek M., Chomicz L., Składniki mikrobiomu jamy ustnej jako czynnika ryzyka zakażeń lokalnych i ogólnoustrojowych u pacjentów bez oraz z wadami wrodzonymi narządu żucia, *Postępy Mikrobiologii*, nr 1, vol. 55, 2016, str. 57 - 67.
7. [32] Derda M., Hadaś E., Skrzypczak Ł., Pasożyty jamy ustnej, *Problemy Higieny i Epidemiologii*, nr 21, vol. 96, 2015, str. 340 - 343.
8. [33] Zaremba M. L., Choroby przyzębia, a wzrost odpowiedni zapalnej, *Czas Stomatologii*, nr 7, vol. 62, 2009, str. 531 – 548.
9. Augustyn-Pieniążek J., Kurtyka P., Stopka S., Abrasive behaviour of Co-Cr alloys in the ceramic material-artificial saliva suspension, *Engineering Biomaterials*, vol. 18, nr. 127, 2014.