

**LABORATORIA
APARATURA
BADANIA**

ISSN-1427-5619

LAB

4/2019

DWUMIESIĘCZNIK

**Spektrometria masowa MALDI TOF
w identyfikacji mikroorganizmów**

**Mechaniczna synteza
– wybrane techniki badawcze**

Zastosowanie mikroskopu sił atomowych w badaniach materiałów stomatologicznych

Bogusław Ziębowicz¹, Anna Ziębowicz²

Wprowadzenie

Materiały stomatologiczne to organiczne lub nieorganiczne związki chemiczne lub mieszanina tych związków pochodzenia naturalnego lub syntetycznego, która jest przetworzona i przydatna w praktyce leczniczej i rehabilitacyjnej w stomatologii. Wszystkie one pracują w środowisku jamy ustnej, cechującym się umiarkowaną kwasowością, temperaturą wahającą się w nieznacznym zakresie i obecnością mikroflory bakteryjnej. Materiały pozostające w jamie ustnej przez dłuższy czas, takie jak wypełnienia, korony czy implanty są ponadto narażone na cykle obciążeń i odciążen oraz na znacznie większe wahania temperatur i kwasowości niż np. materiały przeznaczone na masy odciskowe czy narzędzia stomatologiczne.

Wraz ze wzrostem średniego wieku społeczeństwa, zapotrzebowanie na usługi stomatologiczne rośnie. Jednocześnie w miarę wzrostu zamożności społeczeństwa, rosną też wymagania stawiane materiałom stomatologicznym. Poza podstawowymi właściwościami oczekiwanymi od materiałów biomedycznych, takimi jak biogodność, wytrzymałość i odpowiednie wła-

śności technologiczne umożliwiające obróbkę wymaga się także estetyki i wygody. Oznacza to, że wypełnienia, korony, mosty i protezy nie mogą odróżniać się od naturalnego zęba, a protezy muszą być mocno osadzone. Coraz częściej zamiast ruchomych protez stosuje się implanty z koronami porcelanowymi, które nie wymagają codziennego wkładania i zdejmowania oraz są optymalnym rozwiązaniem pod względem biomechanicznym.

Szczególną rolę wśród materiałów biomedycznych mają tytan i jego stopy. Materiały te wciąż należą do najbardziej perspektywicznych do zastosowania w medycynie. Wśród wielu zalet tych materiałów warto wyróżnić wysoką wytrzymałość przy niskiej gęstości, co przekłada się na bardzo wysoką wytrzymałość względną, bardzo dobrą osseointegrację oraz biogodność. Są jednak pewne ograniczenia, które zawężają zakres ich możliwości aplikacyjnych – szczególnie jeśli chodzi o stomatologię (implanty stomatologiczne), a mianowicie: niska odporność na zużycie ściernie, migracja pierwiastków do otaczających implant tkanek oraz brak możliwości otrzy-

mania trwałego połączenia implant-tkanka kostna, które po dłuższym okresie użytkowania nie prowadziłyby do jego obłuzowania. W celu zniwelowania tych ograniczeń niezwykle przydatna jest modyfikacja powierzchni implantów po to, aby uzyskać jej odpowiednią topografię i bioaktywność. Można to zrealizować między innymi przez nałożenie powłok, co jest w wielu przypadkach znacznie tańsze niż użycie innego, droższego materiału o pożądanych właściwościach. Powłoki poprawiają wiele właściwości materiałów, a nakładane na powierzchnię tytanu i jego stopów mogą poprawiać osseointegrację, sprzyjać adhezji między implantem tytanowym a porcelanową koroną, przeciwdziałać zużyciu ścierno-korozyjnemu oraz poprawiać adsorpcję białek na powierzchni implantu lub integrację z ozębną.

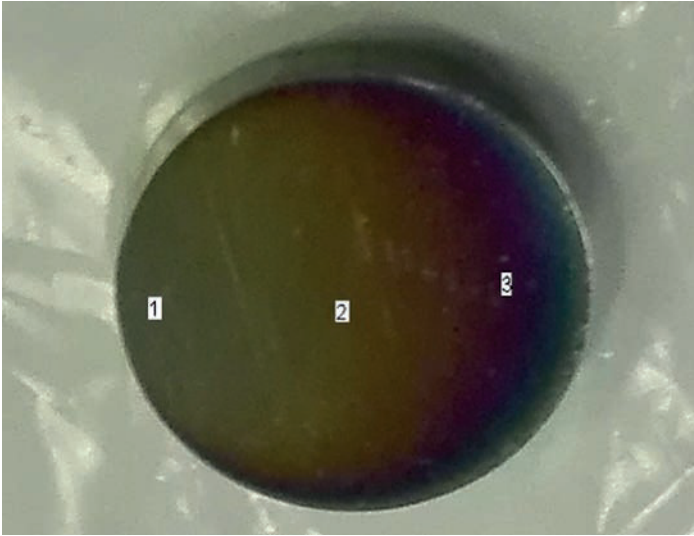
Wśród wielu metod nakładania powłok szczególnie interesującą z punktu widzenia stomatologii jest ALD (ang. Atomic Layer Deposition). ALD jest metodą nakładania powłok pozwalającą na bardzo dokładne odwzorowanie topografii podłoża oraz kontrolę grubości powłoki z dokładnością do

kilku nanometrów. Należy do grupy metod chemicznego osadzania z fazy gazowej (ang. Chemical Vapor Deposition, CVD). Ze względu na niemal idealną dokładność w odwzorowaniu powierzchni, metoda ALD nadaje się do pokrywania powierzchni o bardzo skomplikowanym kształcie.

W badaniach topografii implantów stomatologicznych bardzo przydatna jest mikroskopia sił atomowych, która pozwala – dzięki wykorzystaniu sił oddziaływań międzyatomowych – na uzyskanie obrazu powierzchni ze zdolnością rozdzielczą rzędu wymiarów pojedynczego atomu.

Metodologia

Do badań zastosowano mikroskop sił atomowych w trybie pracy bezkontaktowej, wymagającej wprawienia mikrosondy w drgania. Wskutek działania sił kapilarnych lub van der Waalsa amplituda i częstotliwość drgań sondy zmieniają się. Poprzez detekcję amplitudową lub częstotliwościową wyznaczana jest siła działająca na sondę, co pozwala na obserwację topografii powierzchni. Odległość między sondą a powierzchnią mieści się w zakresie od kilku do kilkudziesięciu nanometrów.



Rys. 1. Zdjęcie próbki z zaznaczonymi obszarami o różnej grubości powłoki: 1) 108 nm, 2) 113 nm, 3) 151 nm (grubość warstwy zmierzono metodą elipsometryczną za pomocą spektrometru Sentech SE800E). Fotografia cyfrowa w funkcji makro

W celu opisu powierzchni implantów określono współczynnik nierówności powierzchni (ang. Rough Mean Square – RMS), wyrażany w nanometrach. Współczynnik RMS stanowi odchylenie standardowe od wartości średniej obliczanej z obszaru na podstawie siatki punktów (charakteryzowanych przez wysokość Z_i). Wyznaczono także chropowatość powierzchni implantów R_a . Współczynnik nierówności powierzchni RMS oraz chropowatość powierzchni R_a obliczono w programie XEI zintegrowanym z mikroskopem AFM, który jest narzędziem do edycji uzyskanych obrazów oraz ich obróbki.

Do badań wykorzystano próbki z tytanu 4. klasy jakości (zgodnie z normą ASTM B348-13) z warstwą ZrO_2 osadzoną metodą ALD. Z pręta tytanu o średnicy 5 mm wycięto próbki o grubości 2 mm. Do dalszych badań przygotowano je przez szli-

fowanie papierem ściernym, a następnie polerowanie na macie filcowej zwilżonej zawiesiną diamentową. Szlifowanie i polerowanie przeprowadzono na szlifierko-polerce firmy Struers. Próbki szlifowano papierem o ziarnistości 320, a po szlifowaniu nałożono na nie warstwę ZrO_2 metodą ALD w modzie termicznym. Warstwę ZrO_2 nałożono przy pomocy urządzenia TFS-200-190 firmy Beneq, a wykorzystanymi prekursorami były: czysty Zr i H_2O o temperaturze 80°C; warstwa wzrastała przez 650 cykli ALD. Widok próbki z nałożoną powłoką przedstawiono na rys. 1; widoczne gołym okiem zróżnicowanie koloru próbki wynika z różnic grubości powłoki na jej powierzchni.

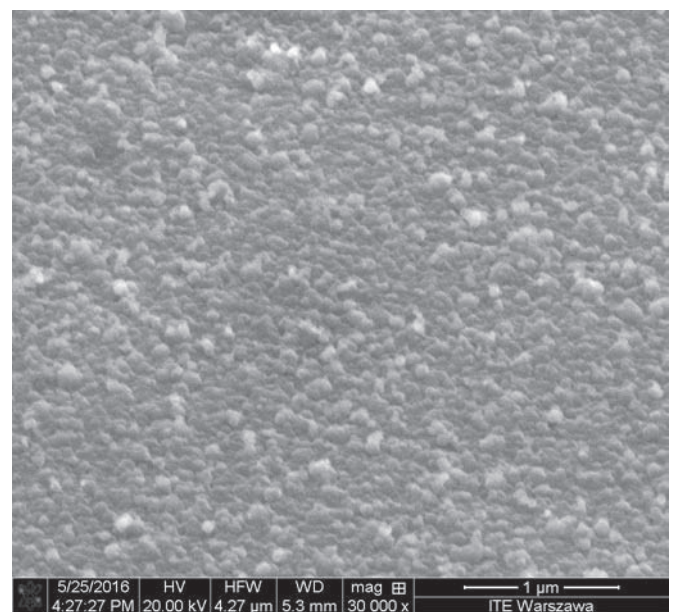
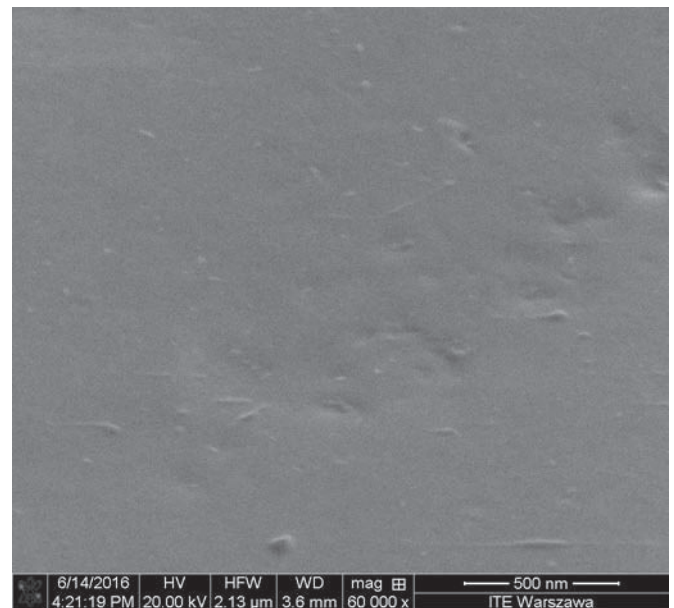
Próbki przed i po nałożeniu powłoki poddano obserwacjom w skaningowym mikroskopie elektronowym (ang. Scanning Electron Microscopy – SEM) (rys. 2).

Wyniki badań i ich omówienie

Na rysunkach 3-5 przedstawiono przykładowe obrazy topografii powierzchni uzyskane przy użyciu mikroskopu sił atomowych. Obszar badania wynosił 25x25 μm .

Obrazy topografii powierzchni badanych materiałów wskazują na jej dużą nierównomierność, co sprzyja osseointegracji, a jednocześnie

umożliwia osadzanie się bakterii i drobnoustrojów. Średnia wartość chropowatości badanych próbek wyznaczona na podstawie pomiarów AFM wynosi 20 μm . Powłoka dobrze odwzorowuje powierzchnię podłoża i ściśle do niego przylega. Nadaje powierzchniom próbek własności hydrofobowe (czysty tytan ma własności hydrofilowe), co jest szczególnie ważne jeżeli



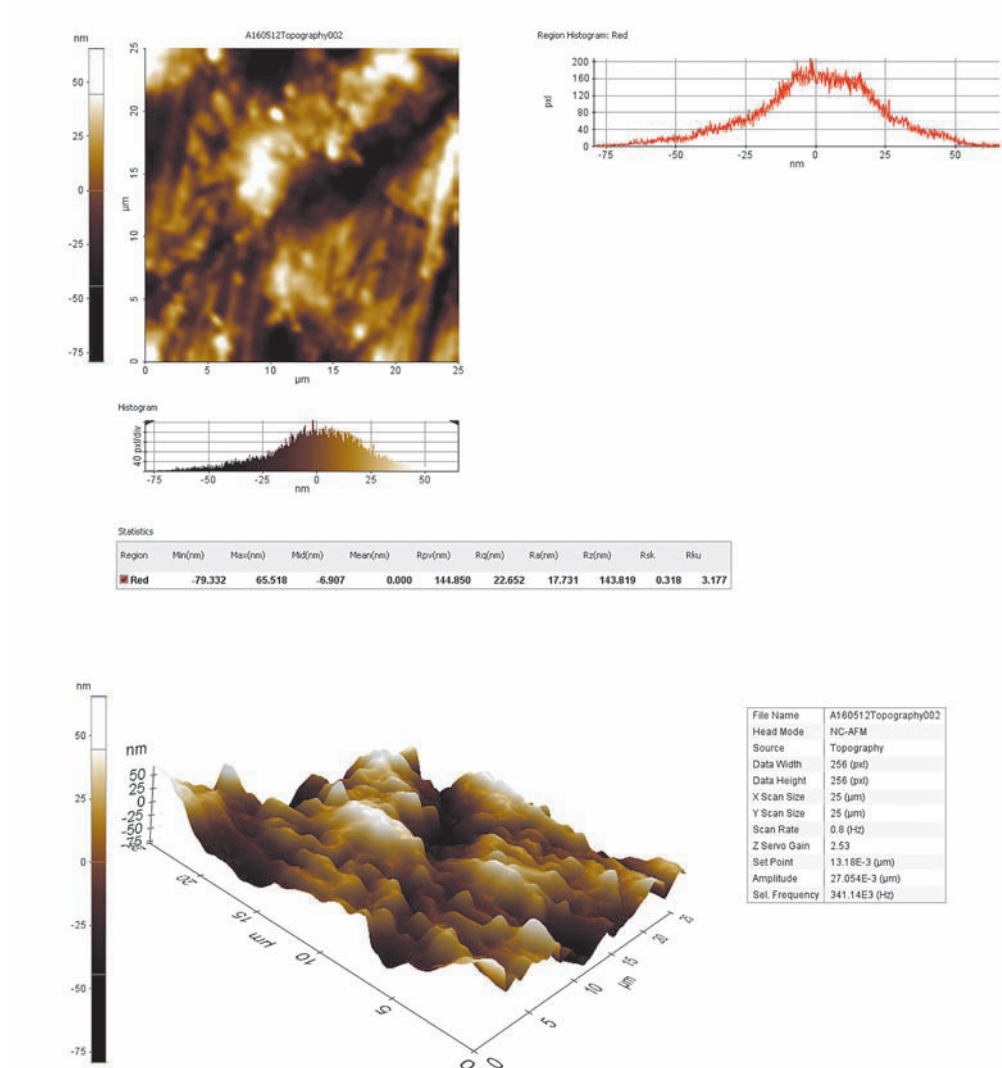
Rys. 2. Powierzchnia próbki: a) przed nałożeniem powłoki (powiększenie 60 000x), b) po nałożeniu powłoki (powiększenie 30 000x)

chodzi o możliwości osadzenia się bakterii i drobnoustrojów na powierzchni elementów stomatologicznych.

Podsumowanie

Inżynieria materiałowa odgrywa bardzo ważną rolę w projektowaniu nowych wyrobów stomatologicznych. Najważniejszym czynnikiem w doborze materiału na wyroby medyczne jest biokompatybilność, czyli zdolność do prawidłowego funkcjonowania wewnątrz organizmu, bez negatywnych skutków dla materiału i dla organizmu. Wśród innych pożądanych właściwości biomateriałów do zastosowań w stomatologii warto wyróżnić wysoką wytrzymałość na ściskanie, odporność korozyjną i zdolność do pracy w dość szerokim, jak na biomateriały, zakresie temperatur. Wszystkie te wymagania spełnia tytan i część jego stopów.

Nakładanie powłok na materiały stanowi atrakcyjną metodę poprawiania właściwości na powierzchni materiału, szczególnie tam, gdzie występuje kontakt materiału ze środowiskiem jego pracy. Powłoki o dobrej ciągliwości, ściśle przylegające do materiału podłoża można uzyskać przez osadzanie z fazy gazowej w procesach fizycznych lub chemicznych, czyli metodami PVD (ang. Physical Vapour Deposition) i CVD (ang. Chemical Vapour Deposition). Interesującą odmianą metody CVD jest osadzanie warstw atomowych, czyli ALD. Technika ta dobrze odwzorowuje wszelkie nierówności powierzchni, na które nakładana jest warstwa. Wynika to ze specyfiki



Rys. 3. Obraz AFM, obszar 1: a) 2D z tabelą chropowatości, b) 3D

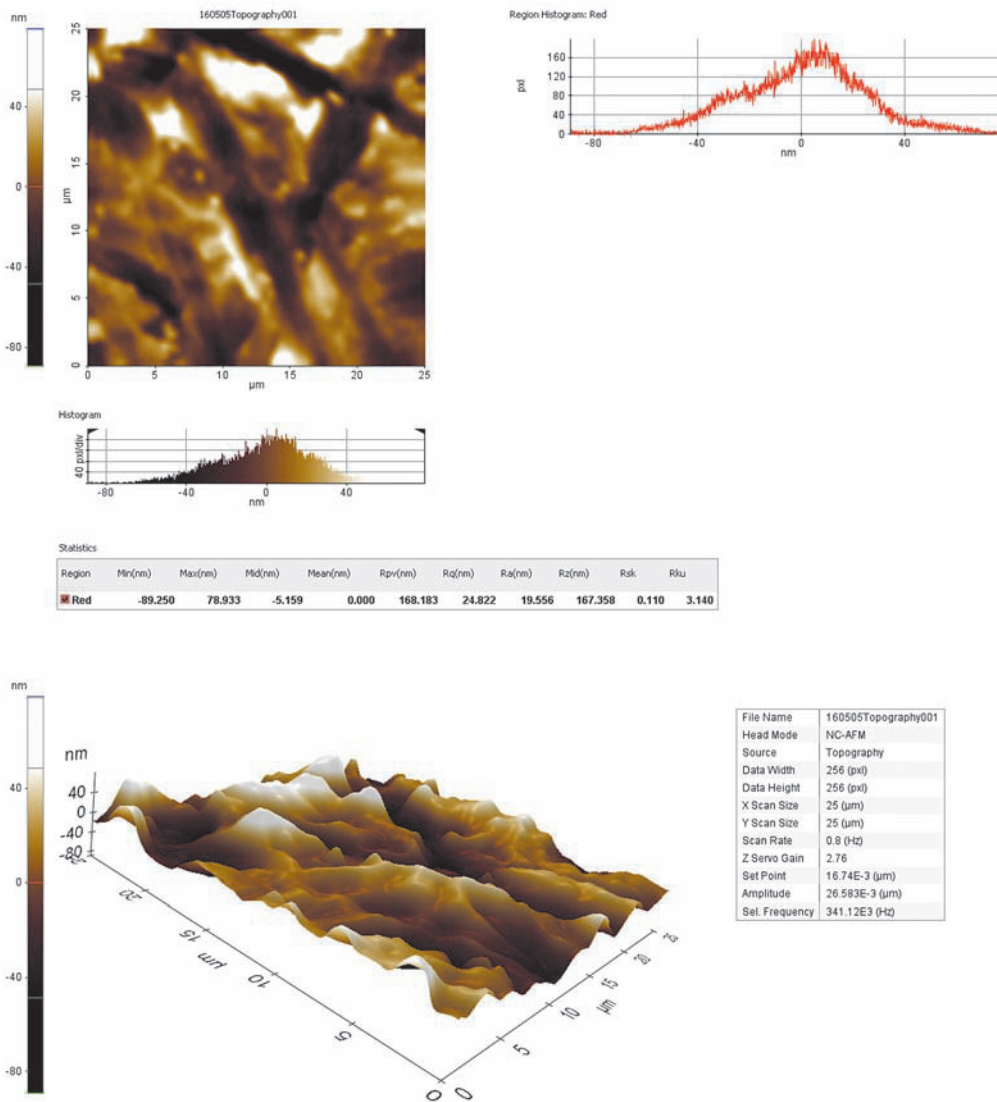
tej metody, tj. nakładania na-przemiennie pojedynczych warstw atomów. W warstwach tych grubość można regulować z dokładnością do kilku nanometrów, a dzięki doskonałemu odwzorowaniu powierzchni pokrywanego przedmiotu, metoda ta nadaje się do pokrywania przedmiotów o skomplikowanym kształcie, powierzchni gwintowanych i chropowatych. Powłoki ZrO₂ osadzone metodą ALD na powierzchniach tytanowych wykazują hydrofobowy charakter tych warstw. Dzięki temu mogą one być

cennym dodatkiem do implantów tytanowych stosowanych w stomatologii. Charakter powierzchni określa się na podstawie badania kąta zwilżania powierzchni materiału wodą lub roztworem, na przykład soli fizjologicznej lub tak zwanej sztucznej śliny. Badanie to jest stosunkowo szybkie i daje dość dokładne wyniki, jednak wymaga płaskiej powierzchni badanego materiału. Zastosowanie AFM do badań jakości powierzchni podbudowy stanowi ważne uzupełnienie prowadzonych do

tej pory badań powierzchni materiałów stosowanych w stomatologii. Mikroskop sił atomowych pozwala na dokładny pomiar topografii powierzchni, a co za tym idzie – na dokładniejsze zaprojektowanie właściwości biomateriałów, w tym elementów stomatologicznych, np. implantów.

Literatura

[1] J. Marciniak, M. Kaczmarek, A. Ziębowicz, „Biomateriały w stomatologii”, Wydawnictwo Politechniki Śląskiej, Gliwice 2008.



Rys. 4. Obraz AFM, obszar 2: a) 2D z tabelą chropowatości, b) 3D

[2] Ch. Leyens, M. Peters, „Titanium and Titanium Alloys. Fundamentals and Applications”, WILEY-VCH GmbH & Co. KGaA, Weinheim 2003.

[3] R. Howland, L. Benatar, „STM/AFM. Mikroskopy ze skanującą sondą. Elementy teorii i praktyki”, Wydawnictwo Politechniki Warszawskiej, Warszawa 2002.

[4] T. P. Gotszalk, „Systemy mikroskopii bliskich oddziaływań w badaniach mikro- i nanostruktur”, Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2004.

[5] B. Ziębowicz, M. Staszuk, P. Jarka, „Analiza powierzchni z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych”, LAB Laboratoria Aparatura Badania, 1, 2018, s. 18-22.

[6] E. Zalnezhad, „Effect of structural evolution on mechanical properties of ZrO₂ coated Ti-6Al-7Nb-biomedical application”, Applied Surface Science 11 (370) 2016, s. 32-39.

[7] Piotr Stendera, Piotr Grochowski, Łukasz Łomżyński, „Zastosowanie tlenku cyrkonu

Zostań członkiem

Klubu
Polskich Laboratoriów
Badawczych



www.pollab.pl

w protetyce stomatologicznej”, *Protetyka Stomatologiczna*, 2 (62), 2012, s. 115-120.

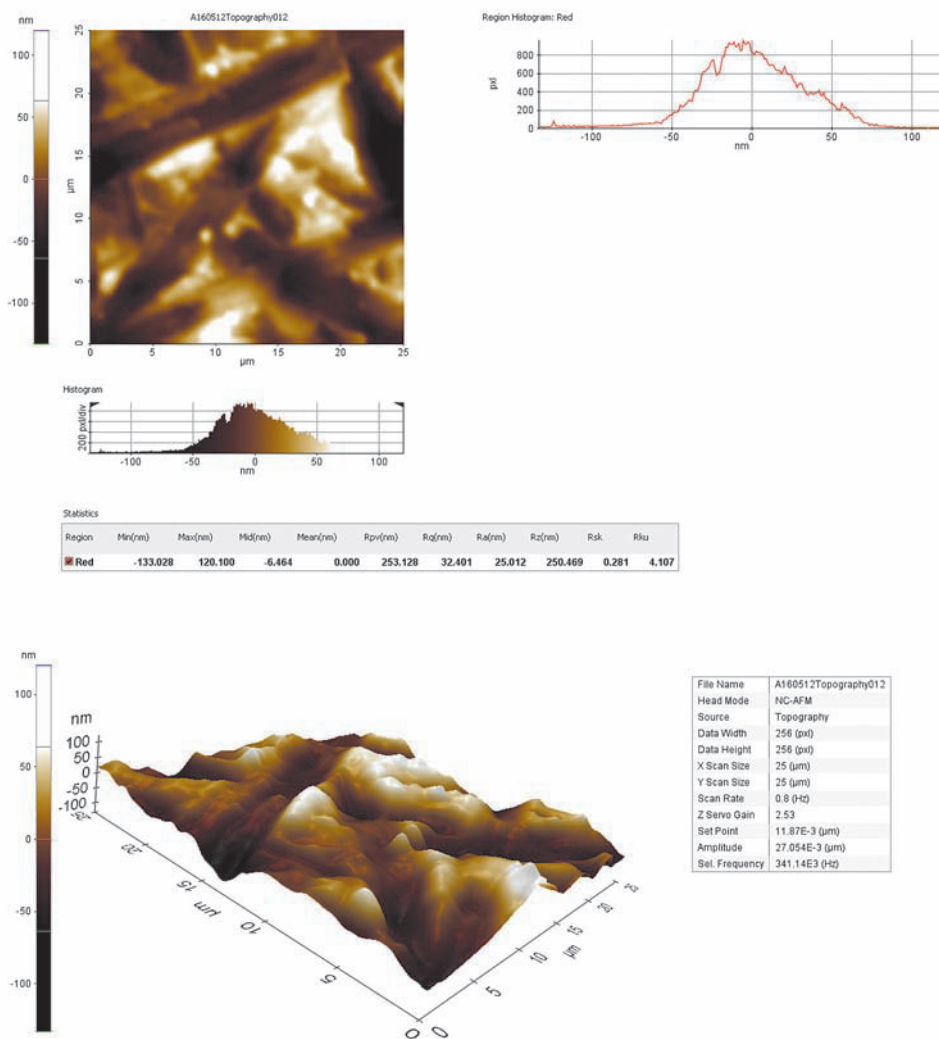
[8] Peter Eaton, Paul West, „Atomic Force Microscopy”, Oxford University Press, Oxford 2010.

[9] Klaus D Jand, „Atomic force microscopy of biomaterials surfaces and interfaces”, *Surface Science*, 3 (491), 2001, s. 303–332.

[10] Seizo Morita, Franz J. Giessibl, Ernst Meyer, Roland Wiesendanger, „Noncontact Atomic Force Microscopy”, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin 2002.

¹ Politechnika Śląska, Wydział Mechaniczny Technologiczny, Instytut Materiałów Inżynierskich i Biomedycznych, ul. Konarskiego 18A, 44-100 Gliwice, e-mail: boguslaw.ziebowicz@polsl.pl

² Politechnika Śląska, Wydział Inżynierii Biomedycznej, Katedra Biomateriałów i Inżynierii Wyrobów Medycznych, ul. Rosevelta 40, 41-800 Zabrze, e-mail: anna.ziebowicz@polsl.pl



Rys. 5. Obraz AFM, obszar 3: a) 2D z tabelą chropowatości, b) 3D

LABportal.pl

baza firm i laboratoriów / aktualności / baza wiedzy
praca / zaproszenia / przetargi / akredytacja