

WPLYW NANOCZĄSTECZEK SREBRA NA ŚCIERALNOŚĆ SZKLIWA LUDZKICH ZĘBÓW

THE INFLUENCE OF SILVER NANOPARTICLES ON DENTIN ABRASION IN HUMAN TEETH

Karolina Marcinowicz, Katarzyna Arkusz*

Uniwersytet Zielonogórski, Wydział Mechaniczny, Zakład Inżynierii Biomedycznej,
65-419 Zielona Góra, ul. Licealna 9

* e-mail: k.arkusz@ibem.uz.zgora.pl

STRESZCZENIE

Celem pracy było określenie przewodnictwa jonowego ludzkich zębów oraz wpływu nanocząsteczek srebra (AgNPs) na ścieralność szkliwa zębów. Badania prowadzono przez 31 dni, odwzorowując proces szczotkowania ludzkich zębów w obecności: wody destylowanej, roztworu pasty do zębów oraz roztworu pasty wzbogaconej o nanocząsteczki srebra. Nanocząsteczki srebra o średnicy 30 ± 5 nm wytworzono metodą biologicznej syntezy z liści magnolii. Analizę powierzchni szkliwa ludzkich zębów dokonano za pomocą elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (EIS), pomiaru potencjału stacjonarnego (OCP) i skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM). Uzyskane wyniki wykazały negatywny wpływ szczotkowania mechanicznego na szkliwo ludzkich zębów, które wraz z kolejnym dniem ulegało degradacji. Szczotkowanie w obecności roztworu pasty zmniejszyło proces ścierania szkliwa, dzięki jonom fluoru wnikającym w głąb ludzkiego zęba oraz substancjom antyścierającym. Zastosowane nanocząsteczki srebra zmniejszyły ścieralność ludzkiego szkliwa i wnikając w strukturę hydroksyapatytu polepszyły jego właściwości ochronne.

Słowa kluczowe: elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna, nanocząsteczki srebra, ścieralność szkliwa, ludzkie zęby

ABSTRACT

The aim of this work was to define the ionic conductivity of human teeth and the influence of silver nanoparticles (AgNPs) on human tooth enamel abrasion. Studies were conducted for 31 days by mapping process of mechanical brushing in the presence of: distilled water, an aqueous paste solution, an aqueous paste solution enriched with silver nanoparticles. Silver nanoparticles with diameter of 30 ± 5 nm were prepared by the method of biological synthesis from the leaves of magnolia. The analysis of the enamel surface was performed using electrochemical impedance spectroscopy (EIS), open circuit potential measurement (OCP) and scanning electron microscopy (SEM). Obtained results showed a negative effect of mechanical brushing on human enamel, which the degradation is increasing day by day. Brushing with toothpaste decreased the enamel abrasion process through a fluoride ions penetration into the tooth and antifriction components. Silver nanoparticles reduced the dental micro-abrasion, penetrating the structure of hydroxyapatite improved protective properties of enamel.

Keywords: Electrochemical Impedance Spectroscopy, silver nanoparticles, enamel abrasion, human teeth

1. Wstęp

Już w XX wieku wykazano, że nanocząsteczki srebra (AgNPs) przyspieszają gojenie się ran. Sproszkowane srebro dodawane do preparatów medycznych wykazuje ogromną skuteczność bakteriobójczą i przeciwgrzybiczną dzięki osadzaniu się AgNPs na powierzchni błony komórkowej drobnoustrojów i blokowaniu enzymów umożliwiających ich rozmnażanie. Środki zawierające nanocząsteczki srebra są przyjazne dla alergików i posiadają właściwości dezynfekujące [1]. Nanocząsteczki srebra dzięki swoim właściwościom przeciwdrobnoustrojowym stanowią alternatywę dla antybiotyków, które zbyt często stosowane prowadzą do oporności bakterii. Obecnie AgNPs wykorzystywane są również do modyfikacji powierzchni implantów, w tym stomatologicznych, które łącząc się w agregaty homogeniczne powodują wzrost wytrzymałości na osadzanie *Pseudomonas aeruginosa*, dzięki czemu zmniejsza się ryzyko odrzucenia wszczepu [2, 3].

Pojawienie się na rynku chemicznym past do zębów z dodatkiem nanocząsteczek srebra umożliwiło zastąpienie kilku past jedną, bowiem wykazano ich działanie bakteriobójcze, zapobiegające chorobom dziąseł oraz odświeżające oddech. Z uwagi na niedługi okres dostępności w sprzedaży past zawierających AgNPs, nie wszystkie ich właściwości zostały zbadane i opisane. Przykładem jest wpływ nanocząsteczek srebra na ścieralność szkliwa ludzkich zębów. Dotychczas wykazano, że współczynnik ścieralności dla szkliwa (ang. *Radioactive Dentin Abrasion*, RDA) jest niższy dla past wzbogaconych AgNPs. Jednak z uwagi na różnorodny skład past do zębów, określenie wyłącznie wpływu nanocząsteczek srebra na ten współczynnik stanowi trudność [4, 5]. Przesłanką do oceny wpływu AgNPs na ścieralność szkliwa ludzkich zębów były badania przeprowadzone przez zespół Chiñas-Castillo [1] dotyczące właściwości tribologicznych stabilizowanych AgNPs rozproszonych w n-heksadekanie, wpływających na tarcie i zużycie cieczy smarnych. Uzyskane wyniki potwierdziły przeciwny wpływ nanocząsteczek srebra.

Spśród stosowanych obecnie metod do oceny grubości i/lub ścieralności szkliwa ludzkich zębów [6] coraz częściej zastosowanie znajduje metoda elektrochemiczna. Elektrochemiczna ocena grubości szkliwa prowadzona przy użyciu metody elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (ang. *Electrochemical Impedance Spectroscopy*, EIS) pozwala na szybkie i nieinwazyjne badanie stanu integralności szkliwa oraz wykrycie zmian w jego strukturze, które są następstwem pęknięć, demineralizacji i/lub próchnicy [7]. Podczas demineralizacji zawartość substancji mineralnych zmniejsza się, co ułatwia wędrowkę wody wraz z jonami przez przestrzenie międzykrystaliczne. Następuje wówczas zmiana właściwości elektrycznych szkliwa, czego następstwem jest obniżenie jego oporności [7, 8]. Problemem w stosowaniu tej metody są właściwości izolacyjne ludzkich zębów będące wynikiem dużej ilości pryzmatów szklistych.

Pomiary impedancyjne najlepiej wykonywać w szerokim zakresie częstotliwości, w celu uniknięcia braku jednoznacznej odpowiedzi dotyczącej stanu szkliwa. Charakter widma zależy od procesów, jakie biorą udział w przewodzeniu przez szkliwo. Wartość przewodności jest różna dla szkliwa zdrowego, pękniętego, z próchnicą czy zdemineralizowanego [7, 8, 9, 10]. W przypadku wykonywania badań z udziałem prądu stałego [7] uzyskano niestabilne wyniki, charakteryzujące się niską powtarzalnością, co związane było z polaryzacją elektryczną. W przypadku badań z udziałem prądu zmiennego o odpowiedniej częstotliwości polaryzacja elektrodowa nie stanowiła problemu.

Metodę EIS zastosowano między innymi do badań wpływu fluorkowych i bezfluorkowych żeli z nadtlakiem karbamidu na zmiany w strukturze ludzkich zębów [11]. Na podstawie badań przeprowadzonych z zastosowaniem żelu pozbawionego jonów fluorkowych, zawierającego 15% nadtlenu karbamidu, uzyskano wyniki świadczące o pojawieniu się efektu przepuszczalności w szkliwie i obniżeniu rezystancji elektrycznej. Zastosowanie żelu z jonami fluorkowymi wykazało wzrost modułu impedancji za sprawą dyfuzji w szkliwie. Jony fluorkowe wniknęły w strukturę hydroksyapatytu tworząc fluorki hydroksyapatytu.

Elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną wykorzystano również do detekcji zmian próchnicznych na podstawie złożonego widma impedancji. W badaniach EIS przeprowadzonych przez zespół Huysmansa [12] na 39 przedtrzonowych ludzkich zębach żadna próbka nie była przewiercona, zatem nie pozbyto się części zębiny, która charakteryzuje się większym przewodnictwem elektrycznym niż szkliwo. W przypadku tych badań wartość modułu impedancji wahała się od 2 do 6 MΩ. Uzyskano

szczegółowe informacje o elektrycznych właściwościach zębów. Niskie wartości impedancji potwierdziły obecność próchnicy szkliwa i zębiny.

Zarówno w przypadku badań przeprowadzonych przez Penta [13], jak i Andrei [14], próbki zębów poddane charakterystyce elektrochemicznej częściowo pozbawiono zębiny w celu wprowadzenia platynowego drucika. Zespół pod kierownictwem Liao [14] w celu wykonania elektrody pracującej pozbył się całkowicie zębiny. Rejestrowany opór bierny dla ludzkich zębów mierzony w badaniach z częściowym lub całościowym pozbyciem się zębiny mieścił się w zakresie od 0,2 do 2 M Ω i zależny był od rodzaju zębów oraz pH elektrolitu. W badaniach opisujących proces demineralizacji ludzkiego szkliwa wywołany zanurzeniem próbki w roztworze o pH=4, w którego skład wchodził kwas mlekowy i karboksymetyloceluloza sodu (Na-CMC), po 30 h zanurzenia zębów ludzkich zaobserwowano naruszenie warstwy ochronnej szkliwa (drugi półokrąg na wykresie Nyquista). Spłaszczony wykres w badaniach Andrei [13] określających wpływ skalowania ultradźwiękowego na degradację ludzkiego szkliwa świadczył o niskiej wartości oporu biernego. Przeprowadzone badania potwierdziły możliwość stosowania metody EIS jako nieinwazyjne badanie obecności zmian strukturalnych zębów ludzkich.

W dotychczasowych badaniach oceny grubości i ścieralności szkliwa ludzkich zębów przeprowadzanych metodą elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej pominięto wpływ zarówno mechanicznego szczotkowania zębów, jak również wpływ nanocząsteczek srebra na właściwości antyściernie past do zębów. W związku z powyższym celem pracy było zbadanie przewodnictwa jonowego ludzkich zębów za pomocą elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej oraz określenie wpływu nanocząsteczek srebra na ścieralność szkliwa ludzkich zębów. Podczas przeprowadzonych badań uwzględniono wpływ szczotkowania mechanicznego, substancji antyściernych użytych w paście do zębów oraz nanocząsteczek srebra na ścieralność szkliwa ludzkich zębów. Uzyskane wyniki pozwolą uzupełnić charakterystykę past do zębów zawierających AgNPs.

2. Materiał i metody

2.1 Przygotowanie ludzkich zębów

Badania przeprowadzono na ludzkich zębach trzonowych, bez widocznych zmian próchnicowych. Po ekstrakcji i osuszeniu, zęby zostały przewiercone wiertłem stomatologicznym wzdłuż osi środkowej. Kolejnym etapem było oczyszczenie zębów z substancji biologicznych w płuczce ultradźwiękowej przez 20 minut. Przygotowane zęby przechowywane były w roztworze sztucznej śliny o pH=7,4 i następującym składzie: Na₂HPO₄ – 0,426 g, NaHCO₃ – 1,88 g, CaCl₂ – 0,347 g, H₂O – 800 ml, HCl – 2,5 ml. Następnie do kanału zęba wprowadzony został platynowy drucik o średnicy 0,3 mm i zalany żywicą epoksydową w celu zminimalizowania jego poślizgu oraz ograniczeniu powierzchni badanych zębów.

2.2 Proces szczotkowania

Proces szczotkowania przeprowadzono w czasie 31 dni. Założono, że szczotkowanie zębów odbywa się dwa razy dziennie i trwa 3 minuty. Szczoteczkę ustawiano równolegle do każdej próbki zęba na określonej, niezmienną wysokość. Szczotkowanie realizowano z użyciem szczoteczki elektrycznej (7600 obrotów/min) w roztworach: wody destylowanej, pasty do zębów, pasty wzbogaconej nanocząsteczkami srebra (AgNPs). Zastosowano pastę do zębów o następującym składzie: sorbitol, woda, uwodniona krzemionka, PEG-12, laurylosiarczan sodu SLS, guma celulozowa, pirofosforan tetrasodu, kokamidopropylobetaina, fluorek sodu 0,32% w/w (1450 ppm F⁻), sacharynian sodu, hydroksypropylo-metyloceluloza, mika, gliceryna, eugenol, limonen, CI 17200, CI 42090, CI 77891.

2.3 Przygotowanie roztworu pasty wzbogaconej nanocząsteczkami srebra

Nanocząsteczki srebra otrzymano z liści magnolii [15], które zebrano, umyto i wysuszono w temperaturze pokojowej. Następnie 5 g liści drobno pocięto, umieszczono w kolbie Erlenmeyera i dodano 100 ml wody destylowanej. Tak przygotowaną miksturę gotowano przez 5 minut i przefiltrowano. Kolejnym etapem było dodanie przefiltrowanego wywaru do 190 ml 0,5 mM wodnego roztworu AgNO₃ i gotowanie przez 11 minut. Przygotowany w ten sposób roztwór został poddany odwirowaniu w wirówce UNIVERSAL 320/320R firmy Hettlich GmbH & Co. KG, w celu jego oczyszczenia.

Po 45-minutowym wirowaniu (prędkość wirowania: 4500 obrotów/min.) AgNPs zebrano z brzegów naczynia i dodano do przygotowanego roztworu z pastą. Stężenie nanocząsteczek srebra w roztworze z pastą wynosiło 35 ppm.

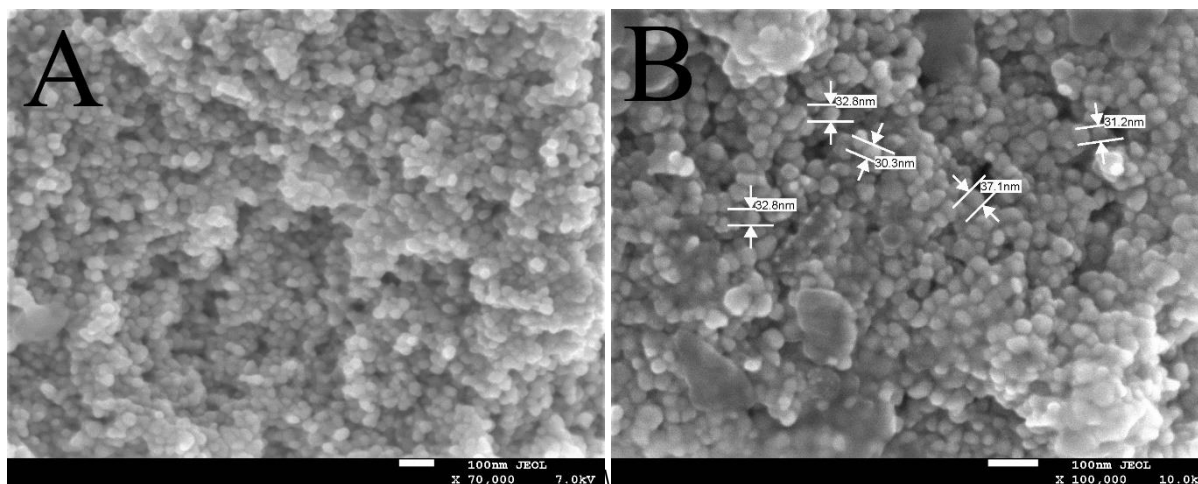
2.4 Charakterystyka zęba

Mikroskopową ocenę morfologii ludzkich zębów przed i po szczotkowaniu przeprowadzono przy użyciu Skaningowego Mikroskopu Elektronowego z Emisją Polową (FE-SEM) JEOL 7600F. Elektrochemiczną ocenę ścieralności szkliwa ludzkich zębów przeprowadzono za pomocą pomiaru potencjału stacjonarnego (OCP) oraz metodą elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (EIS). Badania EIS oraz OCP przeprowadzono w standardowym układzie trójelektrodowym, w którym elektrodą pracującą była wcześniej przygotowana próbka zęba, elektrodą odniesienia była elektroda chlorosrebrowa ($E_{Ag/AgCl} = 0,222$ V), natomiast przeciwelektrodę stanowiła blaszka platynowa. Elektrolitem do badań był roztwór sztucznej śliny o pH równym 7,4. Pomiar potencjału OCP przeprowadzono w czasie 600 s. Pomiary impedancyjne EIS wykonano w zakresie częstotliwości $0,1 \div 100$ kHz, stosując amplitudę 0,01 V w temperaturze 25 ± 2 °C.

3. Wyniki i ich dyskusja

3.1 Charakterystyka mikroskopowa wytworzonych nanocząsteczek srebra

Zdjęcia SEM wytworzonych nanocząsteczek srebra wg procedury opisanej w punkcie 2.3 przedstawiono na rysunku 1.

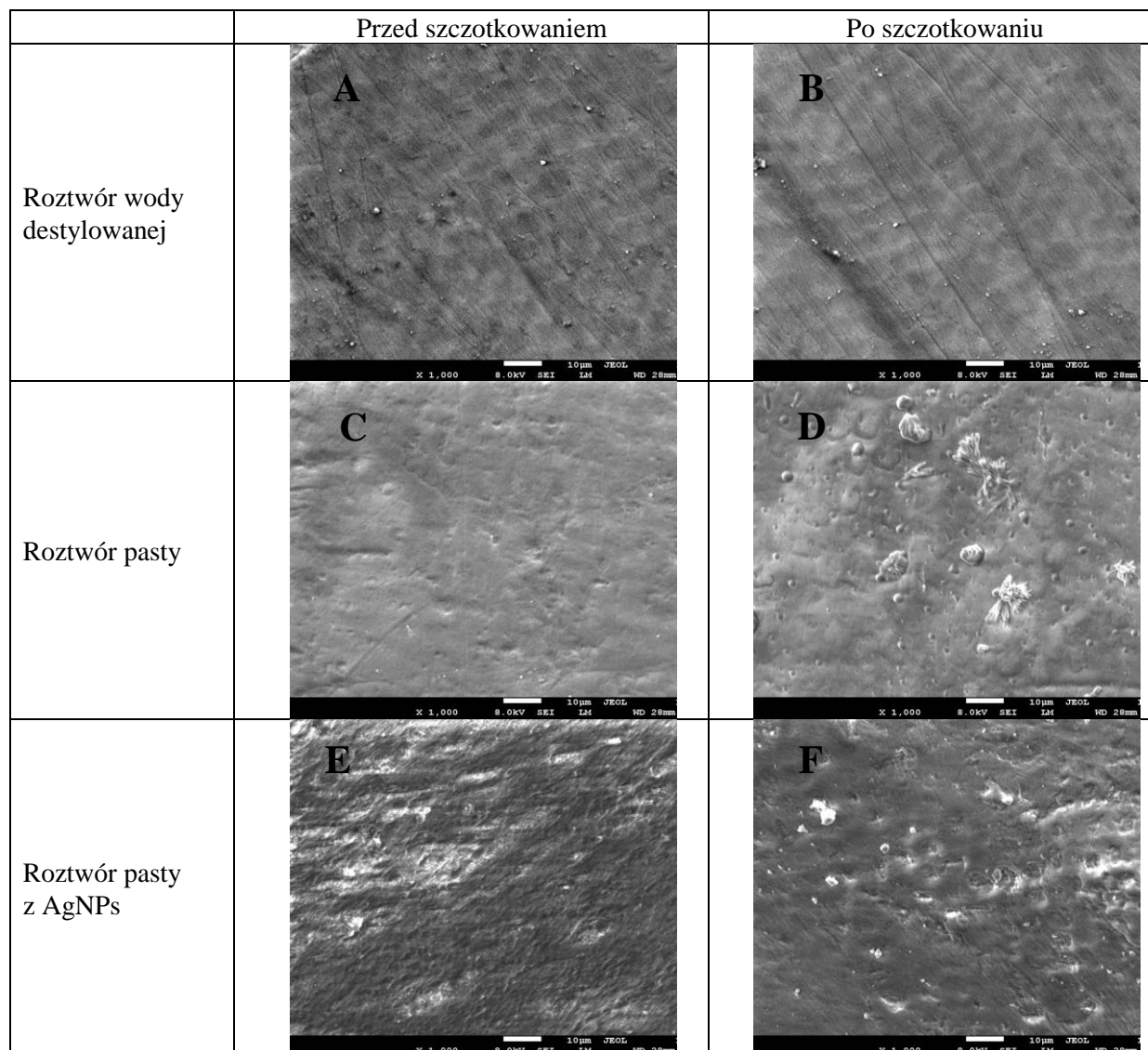


Rys. 1. Zdjęcia SEM nanocząsteczek srebra wytworzonych z liści magnolii w warunkach laboratoryjnych

Wytworzone nanocząsteczki srebra posiadają kształt sfer o średnicy 30 ± 5 nm (p. rys. 1B). Średnicę AgNPs wybrano na podstawie przeglądu badań tribologicznych nanocząsteczek w roztworach koloidalnych, wskazujących na właściwości przeciwcierne nanostruktur o średnicy większej niż 30 nm [16]. W dalszej części badań AgNPs zostały dodane do przygotowanego roztworu pasty w celu określenia ich wpływu na tarcie oraz zużycie szkliwa w procesie szczotkowania. Stężenie AgNPs w roztworze określono metodą spektrofotometryczną i było równe 35 ppm. Na podstawie badań Chinas-Castillo [1] jest to optymalna wartość stężenia – dalszy wzrost stężenia AgNPs w roztworze nie wykazywał znaczącego wpływu na zmniejszenie tarcia i/lub zużycia materiału.

3.2 Charakterystyka mikroskopowa ludzkich zębów

Zdjęcia SEM powierzchni ludzkich zębów wykonane przed oraz po 31-dniowym procesie szczotkowania w różnych roztworach przedstawiono na rysunku 2.



Rys. 2. Analiza mikroskopowa ludzkich zębów przed (A, C, E) i po (B, D, F,) szczotkowaniu prowadzonym w czasie 31 dni w różnych roztworach: wody, pasty do zębów, pasty do zębów z nanocząsteczkami srebra

Przed przystąpieniem do szczotkowania na szkliwie zębów widoczne były regularnie przebiegające pryzmaty (p. rys. 2A, 2C, 2E), które podczas szczotkowania mechanicznego w roztworze wody destylowanej zostały częściowo starte (p. rys. 2B). Zwiększona liczba rys widoczna na powierzchni zęba po szczotkowaniu świadczy o jego degradacyjnym działaniu na szkliwo ludzkich zębów.

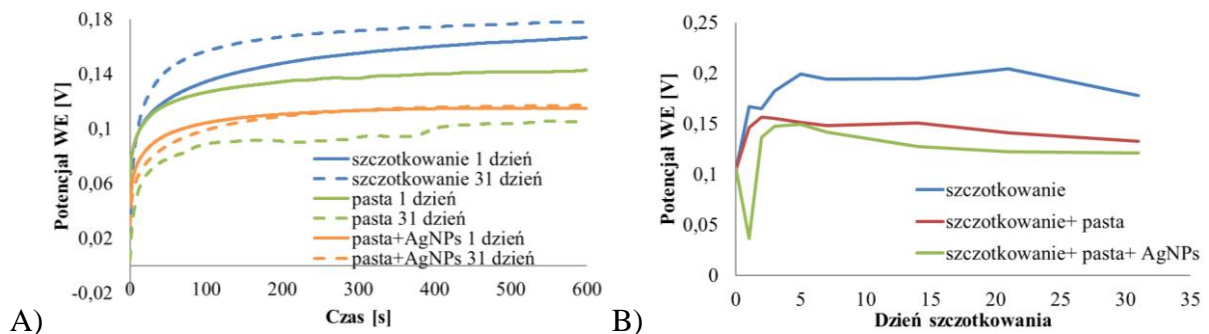
Szczotkowanie w obecności roztworu pasty również spowodowało zmniejszenie pryzmatów (p. rys. 2D). Pojawiły się wytrącenia na skutek reakcji elektrolitu (roztwór sztucznej śliny) ze związkami białkowymi znajdującymi się na powierzchni szkliwa. Dzięki substancjom zmniejszającym tarcie zawartym w paście nie zaobserwowano rys na powierzchni zęba.

Zastosowanie pasty zawierającej AgNPs wykazało pozytywny wpływ działania na szkliwo ludzkich zębów. Nanocząsteczki srebra wniknęły w strukturę szkliwa wypełniając drobne ubytki i wyrównując jego powierzchnię (p. rys. 2F). AgNPs poprzez możliwość wniknięcia w strukturę szkliwa, zwiększyły jego właściwości ochronne oraz antybakteryjne. Wzrost stężenia nanocząsteczek srebra zwiększyłby jeszcze bardziej właściwości ochronne i antybakteryjne panujące w jamie ustnej oraz zmniejszyłyby tarcie i zużycie szkliwa ludzkich zębów.

3.3 Pomiar potencjału stacjonarnego ludzkich zębów

Na podstawie uzyskanych wyników pomiaru potencjału stacjonarnego ludzkich zębów przed i po szczotkowaniu mierzonym w czasie 600 s (p. rys. 3) zaobserwowano wzrost wartości potencjału stacjonarnego wraz z kolejnym dniem szczotkowania mechanicznego. Warstwa szkliwa zęba poddanego szczotkowaniu mechanicznemu uległa degradacji. Nastąpiło ścieranie pryzmatów szkliwnych.

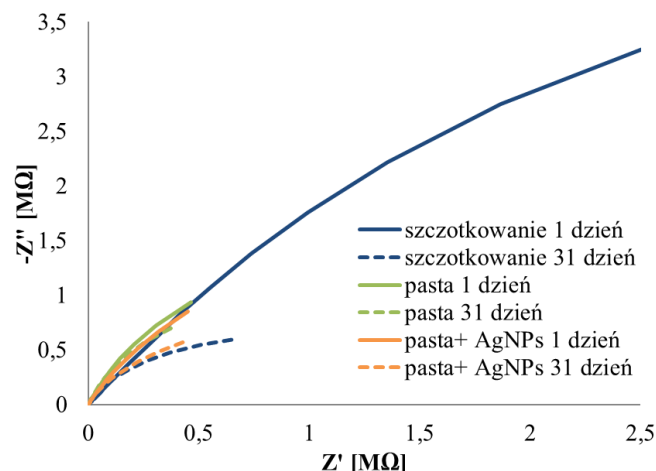
Pomiar potencjału stacjonarnego w kolejnych dniach szczotkowania (p. rys. 3B), w obecności roztworu pasty wykazał początkowy wzrost wartości OCP, wywołany ścieraniem substancji białkowych znajdujących się na powierzchni szkliwa, natomiast po trzecim dniu szczotkowania nastąpił spadek wartości OCP do wartości 0,132 V. Zastosowanie pasty zawierającej substancje antyścierne (m.in. gliceryna oraz substancje pieniące tj. laurylosiarczan sodu SLS) zmniejszyło ścieralność szkliwa ludzkich zębów. Podobne zmiany zarejestrowano w przypadku szczotkowania mechanicznego w obecności wodnego roztworu pasty wzbogaconego o nanocząsteczki srebra. Początkowy wzrost wartości potencjału stacjonarnego wywołany był ścieraniem substancji białkowych z powierzchni szkliwa zębów, jednak już po piątym dniu szczotkowania zaobserwowano spadek jego wartości do 0,121 V.



Rys. 3. Potencjał stacjonarny (OCP) zębów ($n=3$) po 1. oraz po 31. dniu szczotkowania (A) i zależność potencjału stacjonarnego od czasu szczotkowania zębów w różnych roztworach (B) mierzony w roztworze sztucznej śliny ($\text{pH}=7,4$) względem elektrody chlorosrebrowej ($E_{\text{Ag}/\text{AgCl}} = 0,222 \text{ V}$) w czasie 600 s

3.4 Charakterystyka impedancyjna ludzkich zębów

Charakterystyki impedancyjne zębów szczotkowanych w obecności różnych roztworów rejestrowano w zakresie częstotliwości od 0,1 kHz do 100 kHz z amplitudą 0,01 V i przedstawiono w reprezentacji Nyquista na rysunku 4.



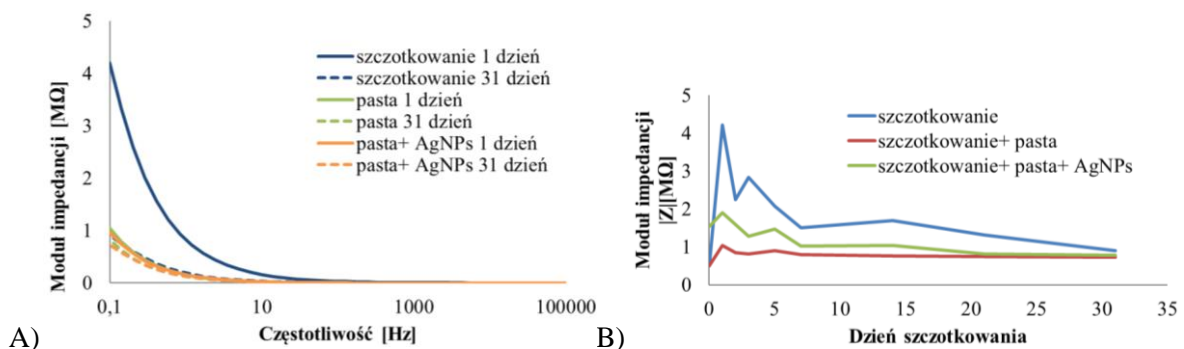
Rys. 4. Reprezentacja Nyquista badanych zębów po 1. oraz po 31. dniu szczotkowania w różnych roztworach, mierzona względem elektrody chlorosrebrowej ($E_{\text{Ag}/\text{AgCl}} = 0,222 \text{ V}$) w roztworze sztucznej śliny o $\text{pH}=7,4$, w zakresie częstotliwości od 0,1 Hz do 100000 Hz ($n=3$)

Części rzeczywista i urojona impedancji zębów po szczotkowaniu mechanicznym mieściły się w zakresach odpowiednio 0–2,7 M Ω i 0–3,4 M Ω . Zaobserwowano spadek wartości zarówno oporu czynnego, który po 31. dniu szczotkowania mieścił się w zakresie 0–0,7 M Ω , jak i oporu biernego, którego zakres po przeprowadzonym szczotkowaniu mechanicznym wynosił 0–0,7 M Ω . Nastąpiło ścieranie przyzmatów szklanych, czego skutkiem było zwiększenie przepuszczalności szkliwa. Całkowita warstwa ochronna szkliwa nie uległa degradacji.

W przypadku zębów szczotkowanych w obecności roztworu pasty zakres części rzeczywistej i urojonej impedancji wynosił odpowiednio 0–0,40 M Ω i 0–1,05 M Ω . Wraz z kolejnym dniem szczotkowania nastąpił spadek wartości zarówno oporu biernego, jak i oporu czynnego, jednak nie tak wyraźny, jak w przypadku szczotkowania mechanicznego. Świadczyło to o wzroście przepuszczalności szkliwa, wnikięciu substancji zawartych w paście w szkliwo i zwiększeniu jego właściwości ochronnych. Na każdym z wykresów zaobserwowano jeden łuk zakrzywienia w kierunku osi rzeczywistej impedancji Z' , w porównaniu do wyników badań Liao [14], w których wykresy próbek po krótszym czasie zanurzenia w roztworze posiadały dwa łuki zakrzywienia w kierunku osi rzeczywistej impedancji Z' , świadczące o naruszeniu warstwy szkliwa.

Zakres wartości oporu czynnego oraz oporu biernego zęba poddanego szczotkowaniu w obecności roztworu pasty z AgNPs wynosił odpowiednio 0–47 M Ω oraz 0–87 M Ω . Wraz z kolejnym dniem szczotkowania nastąpił spadek wartości oporu biernego, co świadczyło o wzroście przepuszczalności szkliwa, czego skutkiem mogło być wnikięciu nanocząsteczek srebra wraz z jonami fluoru w strukturę szkliwa. Wzrost przepuszczalności szkliwa wykazywał także spadek wartości kąta nachylenia części urojonej do rzeczywistej impedancji. W przypadku zastosowania AgNPs nie doszło do naruszenia warstwy ochronnej szkliwa, o czym świadczy kształt niepełnych półokręgów w reprezentacji Nyquista.

Zmiany modułu impedancji $|Z|$ dla zęba poddanego szczotkowaniu mechanicznemu wraz z kolejnym dniem szczotkowania przy częstotliwości równej 0,1 Hz (p. rys. 5) wykazały spadek wartości $|Z|$ związany ze ścieraniem się powierzchni szkliwa i pojawieniem się uszkodzeń w postaci rys oraz mikropęknięć, które mogły doprowadzić do naruszenia warstwy ochronnej. Zmiany w wynikach zębów poddanych szczotkowaniu w obecności roztworu pasty o nieliniowym charakterze wzrostu oraz spadku wartości modułu $|Z|$ świadczyły o zawartych w roztworze pasty jonach fluoru, które charakteryzowały się dobrą przewodnością elektryczną. Jony te wnikięły w porowatą strukturę szkliwa i połączyły się z hydroksyapatytem, minimalizując przy tym ścieranie. Podobną tendencję zauważono w charakterystyce impedancyjnej zębów poddanych szczotkowaniu mechanicznemu w obecności wodnego roztworu z pasty wzbogaconego o nanocząsteczki srebra. Nanocząsteczki te wnikiąc w strukturę szkliwa połączyły się z hydroksyapatytem zwiększając przy tym właściwości ochronne szkliwa.



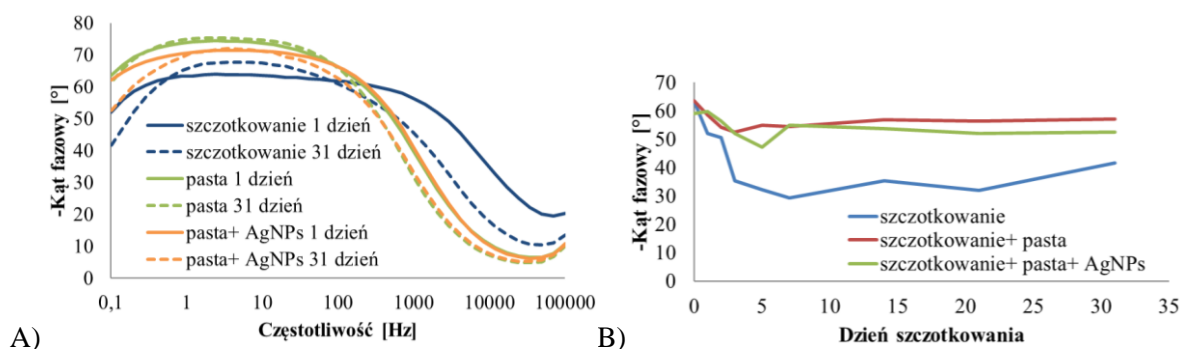
Rys. 5. Reprezentacja Bodego charakterystyki impedancyjnej zębów po 1. oraz po 31. dniu szczotkowania (A) oraz zależność modułu impedancji od czasu szczotkowania w różnych roztworach (B) mierzone względem elektrody chlorosrebrowej ($E_{Ag|AgCl} = 0,222$ V) w roztworze sztucznej śliny o pH=7,4, w zakresie częstotliwości 0,1–100000 Hz (n=3)

Wartości kąta fazowego przy częstotliwości równej 0,1 Hz (p. rys. 6B) rejestrowane dla zębów wraz z kolejnym dniem szczotkowania mechanicznego w roztworze wody malały aż do 7. dnia szczotkowania. Nastąpiło wówczas ścieranie warstwy substancji białkowych osadzonych na szklawie.

Po 7. dniu szczotkowania nastąpił wzrost wartości kąta fazowego na skutek odsłonięcia powierzchni szkliwa. Nastąpiło wówczas ścieranie pryzmatów szkliniwych znajdujących się na jego powierzchni.

W przypadku szczotkowania w obecności roztworu pasty zaobserwowano spadek wartości kąta fazowego (oczyszczenie z substancji białkowych). Jony zawarte w paście dyfundowały w głąb oczyszczonego szkliwa, nie ścierając warstwy ochronnej.

Zęby poddane szczotkowaniu mechanicznemu w obecności wodnego roztworu z pasty wzbogaconego o nanocząsteczki srebra szybko zostały oczyszczone z substancji białkowych o czym świadczył minimalny, początkowy wzrost wartości kąta fazowego, a następnie nanocząsteczki dostały się do warstwy szkliwa i dyfundowały wżerami do kolejnej warstwy – zębiny, o czym świadczy ponowny wzrost wartości kąta fazowego. Wydłużenie czasu przechowywania próbki z zębem w roztworze w przypadku badań Andrei zwiększyło przebieg w przebiegu kąta fazowego [13].

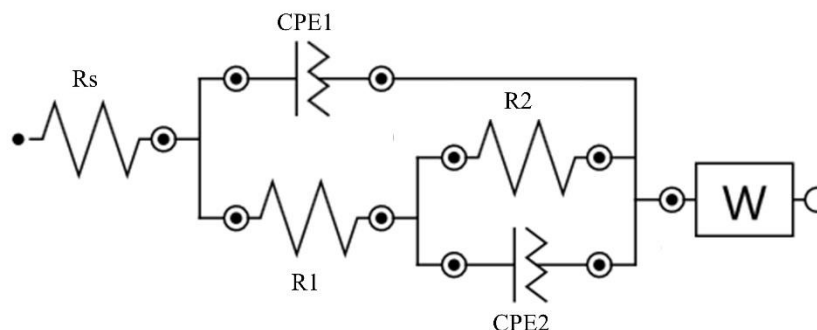


Rys. 6. Reprezentacja Bodego (kąt fazowy) przedstawiająca wyniki badań zębów po 1. oraz po 31. dniu szczotkowania (A) oraz zależność kąta fazowego od czasu szczotkowania w różnych roztworach (B) mierzone względem elektrody chlorosrebrowej ($E_{Ag/AgCl} = 0,222$ V) w roztworze sztucznej śliny o $pH=7,4$, w zakresie częstotliwości 0,1–100 000 Hz ($n=3$)

3.5 Dopasowanie układu zastępczego

Układ zastępczy dobrano za pomocą oprogramowania Nova 1.8 uwzględniając najmniejszy błąd dopasowania i przedstawiono na rysunku 7, w którym:

- R_s – opór elektrolitu
- $CPE1$ – pojemność szkliwa
- $R1$ – opór szkliwa
- $R2$ – opór zębiny
- $CPE2$ – pojemność zębiny
- W – pozostałości miazgi



Rys. 7. Układ charakteryzujący badane zęby ludzkie

Dopasowany model zastępczy przedstawiony na rysunku 7 wykazał znaczące różnice w wartościach parametrów określających rezystancję elektrolitu R_s , współczynnik niedoskonałości N elementu CPE określającego pojemność oraz rezystywność szkliwa $R1$ (p. tabela 1).

Tabela 1. Parametry charakteryzujące ludzkie zęby przed oraz po 31. dniu badań elektrochemicznych

| Składowa układu zastępczego | | Przed szczotkowaniem | Szczotkowanie | Szczotkowanie z pastą | Szczotkowanie z pastą i z AgNP |
|-----------------------------|-----------|---------------------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------------------|
| R_s [Ω] | | 131,38 | 470,9 | 446,66 | 566,92 |
| CPE1 | Y01 [Mho] | $2,8224 \cdot 10^{-6}$ | $1,19 \cdot 10^{-7}$ | $1,3281 \cdot 10^{-6}$ | $1,6466 \cdot 10^{-6}$ |
| | N1 | 0,88992 | 1,1 | 0,90685 | 0,82343 |
| RI [Ω] | | $9,7005 \cdot 10^5$ | 2013,8 | 77183 | $2,0725 \cdot 10^5$ |
| $R2$ [$10^6 \Omega$] | | 1,0098 | 1,5852 | 2,6891 | 1,6285 |
| CPE2 | Y02 [Mho] | $2,0381 \cdot 10^{-8}$ | $1,1599 \cdot 10^{-6}$ | $3,7261 \cdot 10^{-7}$ | $1,7762 \cdot 10^{-8}$ |
| | N2 | 0 | 0,7787 | 0,75575 | 1,1 |
| W [Mho] | | 0,00026567 | 0,000018718 | 0,00012109 | 0,00028003 |
| x^2 | | 0,061 | 0,044 | 0,044 | 0,051 |

Wzrost rezystancji elektrolitu R_s po przeprowadzonych: szczotkowaniu mechanicznym, szczotkowaniu w obecności pasty oraz szczotkowaniu w obecności pasty wzbogaconej o AgNPs świadczył o ograniczonym przepływie wody w zewnętrznej warstwie korony zęba. Wysoka wartość oporności szkliva RI świadczyła o sumarycznej dyfuzji roztworu w szkliwie i po szczotkowaniu w roztworze pasty wzbogaconej o nanocząsteczki srebra wartość ta porównywalna była z wartością RI zęba przed szczotkowaniem. W przypadku zarówno samego szczotkowania mechanicznego, jak i szczotkowania w obecności pasty, nastąpiło zmniejszenie oporu szkliva RI , co świadczyło o ubytku substancji mineralnych. Nastąpiło ścieranie warstwy szkliva.

Współczynnik niedoskonałości N elementu CPE , charakteryzującego porowatość, chropowatość oraz heterogeniczność badanej warstwy, dla elementu określającego warstwę szkliva zęba wykazał wzrost niejednorodności powierzchni pod wpływem szczotkowania. Największa niejednorodność wystąpiła u zęba poddanego szczotkowaniu w roztworze wody. Wzrost niejednorodności zaobserwowano również dla zęba szczotkowanego w roztworze pasty. W przypadku szczotkowania z użyciem AgNPs nastąpiło zmniejszenie niejednorodności, co mogło świadczyć o wnikanii nanocząsteczek srebra w szczeliny ludzkiego zęba.

4. Podsumowanie

W dotychczasowych badaniach dotyczących charakterystyki nanocząsteczek srebra pominięto wpływ ich mechanicznego oddziaływania na szklivo ludzkich zębów, dlatego też celem pracy było zbadanie przewodnictwa jonowego ludzkich zębów za pomocą elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej oraz określenie wpływu AgNPs na ścieralność szkliva ludzkich zębów.

W przeprowadzonych badaniach odwzorowano proces szczotkowania zębów ludzkich w obecności wody destylowanej, wodnego roztworu pasty oraz wodnego roztworu pasty wzbogaconego nanocząsteczkami srebra (średnica: 30 ± 5 nm). Badania prowadzono w czasie 31 dni. Zmiany w strukturze szkliva ludzkich zębów charakteryzowano metodami: pomiaru potencjału stacjonarnego, elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej oraz skaningowej mikroskopii elektronowej.

Na podstawie uzyskanych wyników zaobserwowano, że szczotkowanie zębów ludzkich bez użycia pasty wpływa niszcząco na szklivo ludzkich zębów. Ulega ono ścieraniu. Należy podkreślić, że podczas eksperymentów nie odwzorowano procesu remineralizacji zębów, stąd degradujący wpływ szczotkowania w rzeczywistości jest mniejszy. Użycie pasty do zębów zmniejsza tarcie powierzchniowe szkliva, a zawarte w niej substancje antyścierne niwelują powierzchnie zębów.

Dzięki zastosowaniu nanocząsteczek srebra zaobserwowano niewielki, pozytywny wpływ na ścieralność szkliva ludzkich zębów o czym świadczy: (a) spadek potencjału stacjonarnego zęba poddanego szczotkowaniu w obecności wodnego roztworu pasty wzbogaconego o AgNPs, który sugeruje ścieranie się substancji białkowej z powierzchni szkliva ludzkiego zęba, w które wnikają nanocząsteczki srebra zwiększając przy tym właściwości antybakteryjne i uniemożliwiając deminerali-

zacież zęba, (b) wzrost wartości kąta fazowego – nanocząsteczki srebra wnikając w strukturę hydroksyapatytu, zwiększając właściwości ochronne ludzkiego szkliwa.

Badania wykazały pozytywny wpływ oddziaływania nanocząsteczek srebra na szkliwo ludzkich zębów. Zaobserwowano zmniejszenie jego ścieralności pod wpływem szczotkowania mechanicznego. Nanocząsteczki wnikając w strukturę hydroksyapatytu zwiększają właściwości ochronne szkliwa. Dalsze prace mogą obejmować określenie właściwości antycywnych AgNPs w zależności od średnicy nanocząstek.

LITERATURA

- [1] F. Chiñas-Castillo, J. Lara-Romero, J.F. Jiménez-Jarquín: *Tribological Characteristics of Protected Silver Nanoparticles in Oil*, Journal of Dispersion Science and Technology, vol. 12(35), 2014, s. 1665–1674.
- [2] E. Wiatr, D. Nowakowska: *Zastosowanie nanocząstek w materiałach stomatologicznych-przegląd piśmiennictwa*, Protetyka Stomatologiczna, vol. 63(6), 2013, s. 466–475.
- [3] M. Ziąbka, M. Dziadek, K. Gryń, K. Klesiewicz, E. Menaszek: *Badania biologiczne kompozytów polimerowych zawierających nanocząsteczki srebra*, Acta Bio-Optica et Informatica Medica, vol. 23, 2017, s. 75–86.
- [4] M. Kasiak, M. Kasiak: *Pasty do zębów - skład i działanie*, Farmacja Polska, vol. 9, 2009, tom 65, s. 665–672.
- [5] R. Pokrowiecki, A. Mielczarek: *Wybrane przykłady wykorzystania nanocząstek srebra w procedurach medycznych*, Borgis-Nowa Stomatologia, vol. 3, 2012, s. 117–121.
- [6] A. P. Berczyński, A. Gmerek, J. Buczkowska-Radlińska: *Ocena zaawansowania choroby próchnicowej zębów stałych za pomocą urządzeń Diagnodent i Diagnodent Pen 2190*, Acta Bio-Optica et Informatica Medica, vol. 15, 2009, s. 235–237.
- [7] M. Penkowski, B. Kochańska, K. Lewandowska, J. Wtorek, A. Wąsek, B. Truyen, P. Bottenberg: *Zastosowanie spektroskopii dielektrycznej do badania szkliwa zębów ludzkich*, Annales Academiae Medicae Gedanensis, vol. 35, 2005, s. 23–28.
- [8] Y. Jiang, I.R. Spears, G.A. Macho: *An investigation into fractured surfaces of enamel of modern human teeth: a combined SEM and computer visualisation study*, Archives of Oral Biology, vol. 48, 2003, s. 449–457.
- [9] J. Woźniak, U. Kaczmarek, D. Piesiak-Pańczyszyn, A. Czajczyńska, P. Łoś: *Powtarzalność pomiarów impedancji spektroskopowej zębów w badaniu In vitro*, Dental and Medical Problems, vol. 44(1), 2007, s. 11–17.
- [10] A. Conde, J.J. de Damborenea: *Electrochemical impedance spectroscopy for studying the degradation of enamel coatings*, Corrosion Science, vol. 44, 2002, s. 1555–1567.
- [11] V. Penta, C. Pirvu, I. Demetrescu: *Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) Investigation on Dental Hard Tissue Whitening Process Using Fluoride and Non-Fluoride Carbamide Peroxide Gels*, APCBEE Procedia, vol. 7, 2013, s. 67–72.
- [12] M.C. Huysmans, C. Longbottom, N.B. Pitts, P. Los, P.G. Bruce: *Impedance Spectroscopy of Teeth with and without Approximal Caries Lesions in vitro Study*, Journal of Dental Research, vol. 75(11), 1996, s. 1871–1878.
- [13] M. Andrei, C. Pirvu, I. Demetrescu: *Electrochemical impedance spectroscopy in understanding the influence of ultrasonic dental scaling on the dental structure-dental filling interface*, European Journal of Oral Sciences, vol. 122, 2014, s. 411–416.
- [14] Y.M. Liao, Z.D. Feng, Z.L. Chen: *In situ tracing the process of human enamel demineralization by electrochemical impedance spectroscopy (EIS)*, Journal of Dentistry, vol. 35, 2007, s. 425–430.
- [15] J.Y. Song, B.S. Kim: *Rapid biological synthesis of silver nanoparticles Using plant leaf extracts*, Bioprocess and Biosystems Engineering, vol. 32, 2009, s. 79–84.
- [16] H. Mishina, A. Kohnno, U. Kanekama, K. Nakajama, M. Mori, M. Iwase: *Lubricity of the metallic ultrafine particles*, Japanese Journal of Tribology, vol. 38, 1993, s. 1109–1120.

otrzymano / submitted: 07.11.2017
wersja poprawiona/revised: 23.01.2018
zaakceptowano / accepted: 20.02.2018