

## Piśmiennictwo

- [1] Kąkol W., "Symulacja implantowanych stentów"; CadCam Forum: Listopad 2001.
- [2] Duerig T., Pelton A., Stöckel D., "An overview of nitinol medical applications"; Materials Science and Engineering: Volume: 273-275, December 15, 1999, pp. 149-160.
- [3] Yukihiro Saito et al.: "New tubular bioabsorbable knitted airway stent: biocompatibility and mechanical strength"; The journal of thoracic and cardiovascular surgery: 2002, vol.123, number 1
- [4] Rupperecht S, Bloch A, Rosiwal S, Neukam FW, Wiltfang J. "Examination of the bone-metal interface of titanium implants coated by the microwave plasma chemical vapor deposition method."; Int J Oral Maxillofac Implants: 2002 Nov-Dec, 17(6), 778-85.

## References

- [5] S. Mitura, A. Mitura, P. Niedzielski, P. Couvrat, "Nanocrystalline diamond coatings" Biomaterials: Volume: 17, Issue: 6, March, 1996, pp. 587-595.
- [6] Gutensohn K., Beythien C., Bau J., Fenner T., Grewe P., Koester R., Padmanaban K., Kuehul P., "In vitro analyses of diamond-like carbon coated stents. Reduction of metal ion release, platelet activation, and thrombogenicity"; Tromb Res. 2000 September 15; 99(6).
- [7] Gregg W., Stone A.: "Stenty a pierwotna przezskórna angioplastyka wieńcowa"; Ze świata nauki; 2002-04-03.
- [8] Sipehia, Rajender; Mongrain, Rosaire; Rodés, Josep; Tardif, Jean-Claude; et. al., "Biocompatibility aspects of new stent technology"; Journal of the American College of Cardiology Volume: 32, Issue: 3, September, 1998.

## CZY MIKROORGANIZMY MOGĄ MODYFIKOWAĆ TWARDE WARSTWY WĘGLOWE?

AGATA KACZOROWSKA\*, MIROŚŁAWA SZCZĘSNA-ANTCZAK\*, TADEUSZ ANTCZAK\*, STANISŁAW BIELECKI\*, STANISŁAW MITURA\*\*, PIOTR NIEDZIELSKI\*\*, WITOLD KACZOROWSKI\*\*, MARCIN KOZANECKI\*\*\*, PATRICE COUVRAT\*\*\*\*

\*INSTYTUT BIOCHEMII TECHNICZNEJ, WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII I NAUK O ŻYWNOŚCI, POLITECHNIKA ŁÓDZKA, STEFANOWSKIEGO 4/10, 90-924 ŁÓDŹ, POLSKA

\*\*INSTYTUT INŻYNIERII BIOMEDYCZNEJ, WYDZIAŁ MECHANICZNY, POLITECHNIKA ŁÓDZKA,

\*\*\*KATEDRA FIZYKI MOLEKULARNEJ, WYDZIAŁ CHEMICZNY, POLITECHNIKA ŁÓDZKA,

\*\*\*\*ECAM LYON, FRANCE

### Streszczenie

Badano wpływ różnych drobnoustrojów na powierzchnie pokryte warstwami węglowymi. Powłoki diamentopodobne wytworzono na stali medycznej stosując metodę RF PCVD. Do badań zastosowano próbki z warstwami naniesionymi przy różnych parametrach. Próbki te poddano na działanie komórek mikroorganizmów w warunkach hodowli statycznej w podłożu stałym. Powłoki węglowe przed i po wzroście drobnoustrojów analizowano wykorzystując mikroskop optyczny i fluorescencyjny, skaningowy mikroskop elektronowy oraz spektroskop Ramana. Wyniki badań dowiodły, że niektóre z zastosowanych drobnoustrojów silnie oddziałują z twardą warstwą węglową i prawdopodobnie doprowadzają do zmian jej struktury.

### Wstęp

Warstwy węglowe (DLC - diamond-like carbon, NCD - nanocrystalline diamond) zawierają w swym składzie przede

## CAN MICROORGANISMS MODIFY HARD CARBON COATINGS?

AGATA KACZOROWSKA\*, MIROŚŁAWA SZCZĘSNA-ANTCZAK\*, TADEUSZ ANTCZAK\*, STANISŁAW BIELECKI\*, STANISŁAW MITURA\*\*, PIOTR NIEDZIELSKI\*\*, WITOLD KACZOROWSKI\*\*, MARCIN KOZANECKI\*\*\*, PATRICE COUVRAT\*\*\*\*

\*INSTITUTE OF TECHNICAL BIOCHEMISTRY, FACULTY OF BIOTECHNOLOGY AND FOOD SCIENCES, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

\*\*DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING, FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

\*\*\*DEPARTMENT OF MOLECULAR PHYSICS, FACULTY OF CHEMISTRY, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ, POLAND

\*\*\*\*ECAM LYON, FRANCE

### Abstract

An effect of microorganisms on surfaces covered with carbon coatings has been studied. Carbon films on medical stainless steel have been made using RF PCVD method. The samples covered with carbon coatings under different conditions were used. All samples were inoculated with various microorganisms. The carbon layers before and after the growth of the microbes were examined by means of Raman spectroscopy, scanning electron microscopy and optical microscope. It was found that some of the microbes strongly attacked the surface of carbon films and probably changed their structure.

### Introduction

Hard carbon coatings (DLC - diamond-like carbon, NCD - nanocrystalline diamond) consist mainly of the tetragonally coordinated  $sp^3$  carbon atoms (typical of diamond), the trigonal in  $sp^2$  coordinated carbons (typical of graphite) as well

wszystkim wiązania węglowe typu  $sp^3$  - charakterystyczne dla struktury diamentu i  $sp^2$  - charakterystyczne dla grafitu, ale również w niewielkim stopniu wiązania typu  $sp^1$  [1]. Charakteryzują się one godnymi uwagi właściwościami, takimi jak duża odporność na ścieranie i twardość, chemiczna obojętność oraz niski współczynnik tarcia [1, 2].

W artykule przedstawiono wyniki badań nad wpływem wybranych mikroorganizmów na warstwy węglowe wytworzone na stali medycznej z wykorzystaniem metody RF PCVD (radio frequency plasma chemical vapour deposition). Główną cechą powłok węglowych naniesionych na stal jest ich bardzo dobra adhezja do podłoża. Grubość takich warstw wynosi ok. 1  $\mu\text{m}$  i stanowią one bardzo dobry materiał ochronny stali przed korozją [2]. W ramach dotychczas przeprowadzonych badań nad możliwością stosowania do celów medycznych implantów pokrytych powłokami węglowymi dowiedziono, że są one wysoce odporne w mediach biologicznych o charakterze fizjologicznym [3]. Powłoki diamentopodobne poddawano także testom korozyjnym w płynie Tyrod'a, testom histopatologicznym w organizmach zwierzęcych oraz wykonano szereg badań ich wytrzymałości mechanicznej. Nie ma jednak żadnych doniesień literaturowych dotyczących odporności warstw węglowych narażonych na działanie fizjologicznie aktywnych mikroorganizmów, których wciąż nowy potencjał biokatalityczny jest odkrywany. Biotechnolodzy znają np. gatunki pleśni ligninolitycznych (np. *Phanerochaete chrysosporium*), które wykazują zdolność rozpuszczania ligninu (frakcja węgla brunatnego) [4]. Mechanizm tego zjawiska opiera się na degradacji enzymatycznej wspomaganą działaniem substancji alkalicznych oraz chelatujących atomy metali (które są obecne w węglu brunatnym), jak np. szczawiany będące metabolitami przemian u wielu mikroorganizmów. Oprócz drobnoustrojów degradujących ligniny, również inne, np. pleśnie *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma spp.* oraz *Penicillium spp.*, wykazują także zdolność do upłynniania węgla lub jego gazyfikacji [5-7]. Niektóre spośród wymienionych wybrano planując opisane poniżej badania.

## Metodyka

Badania wykonano z użyciem dwóch odmian warstw węglowych (DLC i NCD), które wytworzone zostały z wykorzystaniem metody gęstej plazmy RF PCVD (schemat aparatury, RYS.1) na podłożu ze stali medycznej AISI 316L (parametry procesów zamieszczono w TABELI 1).

Próbki (w formie dysków o średnicy 8 mm) pokryte warstwami DLC i NCD sterylizowano w temperaturze 121°C w ciągu 20 min. Następnie umieszczano je w różnych, odży-

Parametry Main parameters	DLC	NCD
Substrat Substrate	AISI 316 L	AISI 316 L
Gaz Gas	Metan Methane	Metan Methane
Ciśnienie Pressure	10,8 Pa	10,8 Pa
Ujemny potencjał autopolaryzacji zasilanej elektrody rf Negative self-bias voltage of r.f. powered electrode	420-550 V	600 V
Czas nanoszenia Time of deposition	9-11min	9-11 min

TAB.1. Parametry nanoszenia warstw węglowych.  
TAB.1. The main parameters of carbon layers.

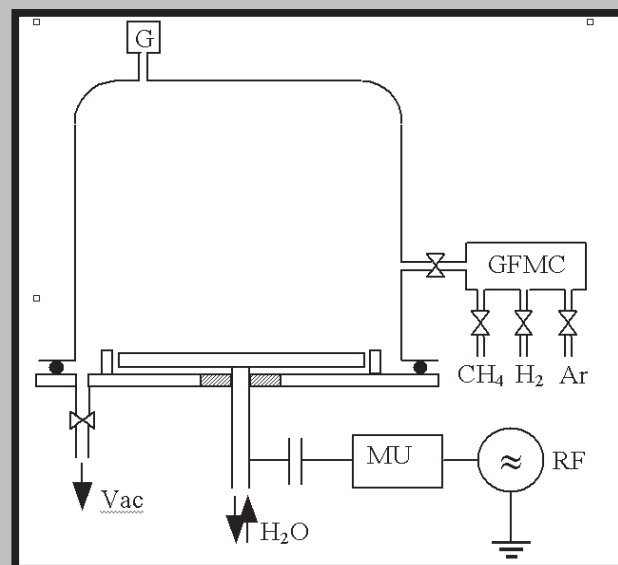
as some  $sp^1$  coordinated ones [1]. They have very attractive properties such as high wear resistance and hardness, chemical inertness and very low friction coefficients [1, 2].

In this paper, we described an influence of viable microorganisms on carbon coatings deposited onto medical stainless steel by RF PCVD (radio frequency plasma chemical vapour deposition) method. The main feature of the thin carbon films is their good adhesion to steel. A thickness of the films is about 1  $\mu\text{m}$ . These coatings show high mechanical strength and ensure good protection of metals against corrosion [2]. The results of studies on biological resistance of implants covered with hard carbon films, histopathological investigations in laboratory animals, the tests of corrosion resistance, as well as mechanical properties and the breakdown tests in Tyrod's solution have been described earlier [3].

However, there is no information on the resistance of carbon coatings against physiologically active microorganisms, well-known are strains of lignin-degrading fungi, which can solubilize lignite (brown coal) like the strain of *Phanerochaete chrysosporium* [4]. The mechanism of this phenomenon probably includes enzymatic degradation assisted by alkalic metabolites and the chelation of atoms of metals (which are present in brown coal) by oxalate ions - metabolites of some microorganisms. Besides typical lignin degrading strains of Basidiomycetes, several other fungi, such as *Aspergillus niger spp.*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma spp.* and *Penicillium spp.* can also solubilize coals [5-7]. Some of these strains were chosen to perform the experiments described below.

## Methodology

The investigations were performed on the variety of carbon films deposited on the surfaces of medical stainless steel AISI 316 L using the r.f. dense plasma CVD method



RYS. 1. Aparatura użyta do syntezy warstw węglowych metodą gęstej plazmy RF PCVD, generator 13,65 MHz, GFMC - system dozowania gazów; G - komora robocza; MU - układ dopasowania.

FIG. 1. An apparatus for carbon film synthesis using the r.f. dense methane plasma CVD method: 13,65 MHz generator; GFMC - gas feeder with microcomputer control; G - vacuum gauge; MU - system power adaptation.

Pleśnie Fungi	Bakterie Bacteria
<i>Aspergillus niger</i> <i>Chaetomium globosum</i> <i>Mucor circinelloides</i> <i>Paecilomyces variotii</i> <i>Penicillium ochrochloron</i> <i>Trichoderma viride</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> Nos-1a
) niezidentyfikowany szczep bakterii rozkładających związki ropopochodne the strain of unidentified bacteria able to growth in petrol-oil	

TAB. 2. Mikroorganizmy wykorzystane w badaniach.

TAB. 2. Strains of microorganisms used in the

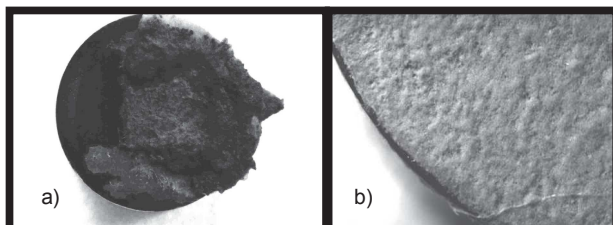
czych podłożach agarowych i szczepiono zawiesiną odpowiedniego mikroorganizmu, spośród wymienionych w TABELI 2.

Szczepy wykorzystane w badaniach uzyskano z kolekcji czystych kultur Instytutu Biochemii Technicznej oraz ŁOCK 105 (WDC) w Politechnice Łódzkiej.

Do hodowli pleśni stosowano podłoża Czapek-Dox i malt agar, natomiast do hodowli bakterii - agar odżywczy (Difco) oraz podłożę MRS. Hodowle prowadzono na szalkach Petriego w 30-37°C przez 2-12 tygodni. W celu utrzymania odpowiedniej wilgotności, niezbędnej do wzrostu mikroorganizmów, hodowle uzupełniano odpowiednim podłożem płynnym w jednodobnych odstępach czasu. Wszystkie próbki przed i po inokulacji drobnoustrojami analizowano z użyciem: spektroskopii ramanowskiej, SEM oraz mikroskopów optycznego i fluorescencyjnego mając na celu określenie siły adhezji komórek do powierzchni warstw węglowych oraz identyfikację ewentualnych zmian w morfologii i strukturze warstw węglowych po działaniu nań mikroorganizmów.

## Rezultaty

Istotnym elementem badań była analiza sił adhezji strzępek grzybni oraz komórek bakteryjnych do warstw diamentopodobnych. W tym celu wszystkie próbki po wyjęciu z



RYS. 2a, 2b. Próbkę ze stali medycznej pokrytą warstwą DLC z silnie przylegającą grzybnią *Aspergillus niger* oraz *Mucor circinelloides*.  
 FIG. 2. The samples of medical steel coated with DLC film with tightly stuck *Aspergillus niger* (left) and *Mucor* (right) mycelia.

(FIG.1).

All samples with NCD and DLC coatings and uncoated medical steel (in the form of disks, 8 mm) were autoclaved at temperature 121°C for 20 minutes. Then the samples were placed on the medium solidified with agar and inoculated with microorganisms listed below (TAB.2).

All strains of microorganisms were obtained from the culture collections at the Institute of Technical Biochemistry and Łock 105 Collection (WDC), both of the Technical University of Lodz. For fungi - Czapek-Dox medium and malt agar, for bacteria - nutrient agar (Difco) and MRS media were used. The microorganisms were cultured in Petri dishes, at the range of temperature 30-37°C for about 2-12 weeks. To ensure proper humidity for growth of the microorganisms, the cultures were supplemented with the proper liquid medium once a week.

All samples, before and after subjecting to treatment with microorganisms, were examined by: Raman spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM) and optical and fluorescence microscopes. The changes in morphology of the carbon layers resulting from the growth of the microorganisms on them were analyzed.

## Results

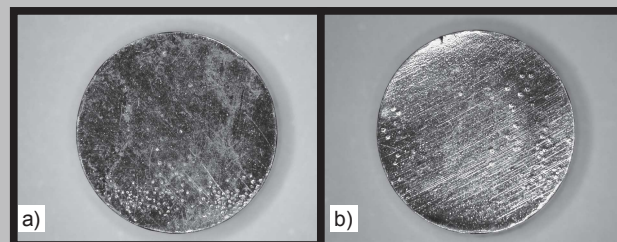
The strength of adhesion of filamentous fungi to the carbon layers was investigated. For this purpose all samples were cleaned up with detergent solution with shaking (120 rpm, for 120 min) and subjected to an ultrasonic cleaning process for 45 min. Then, the specimens were analyzed by using optical and fluorescence microscopes (after Hoechst 33258 or acridine orange treatment).

It was found that most of tested filamentous fungi strongly adhered to the carbon coatings during cultivation. FIGURES 2a and 2b show the samples coated with DLC film and exposed to *Aspergillus niger* and *Mucor circinelloides*.

Furthermore, during the investigation, changes in the color of DLC films from blue to yellow or metallic, and NCD - from yellow to metallic after the growth of the majority of the microscopic fungi, were observed (FIG. 3a, 3b).

The strong influence of some tested microorganisms on carbon coatings deposited on medical stainless steel AISI 316 L was confirmed by using SEM microscopy analysis. FIGURE 4a shows the carbon film morphology and microanalysis of the sample just after the process of deposition, and FIGURE 4b - the same sample after removal of the *Aspergillus niger* mycelium grown on it. The surface of the latter one has the typical structure of medical stainless steel.

The samples subjected to treatment with bacteria (except the *Lactobacillus delbrueckii* and Nos-1a strains) did not show such distinct changes.

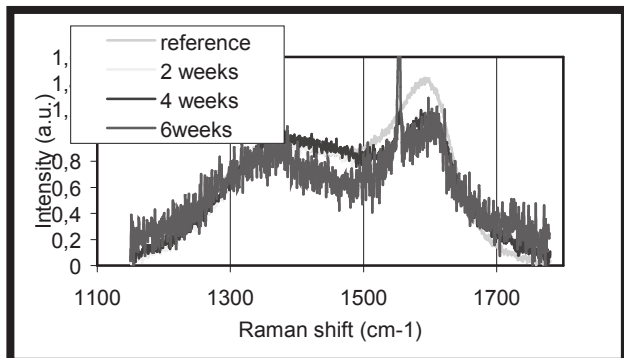


RYS. 3a, 3b. Próbkę z warstwą DLC przed i po hodowli pleśni *Aspergillus niger*.  
 FIG. 3. The sample covered with DLC film before (a) and after (b) the growth of *Aspergillus niger* strain, for approximately 3 months.

hodowli poddawano identycznej procedurze oczyszczania polegającej na wytrząsaniu przez 120 min. przy 120 obrotach/min w roztworze detergentu (TRITON X-100), a następnie działaniu nań ultradźwiękami przez 45 min. Tak oczyszczone próbki analizowano z użyciem mikroskopu optycznego i/lub fluorescencyjnego (po wybarwieniu oranżem akrydyny lub Hoechst 33258). Stwierdzono, że zarówno strzępki pleśni jak i komórki niektórych bakterii silnie przylegają do warstw węglowych. ZDJĘCIA 2a i 2b pokazują próbki pokryte warstwą DLC z przylegającą grzybnią pleśni *Aspergillus niger* oraz *Mucor circinelloides* pozostałą po zastosowaniu wyżej opisanej procedury oczyszczania. Wiele ze stosowanych w badaniach mikroorganizmów spowodowało także zmiany barwy warstw węglowych: prób DLC - z niebieskiej na żółtą lub metaliczną (RYS. 3a, 3b) a NCD - z żółtej na metaliczną.

Silne działanie niektórych mikroorganizmów na warstwy węglowe zostało potwierdzone badaniami z użyciem SEM. ZDJĘCIE 4a obrazuje morfologię i wyniki mikroanalizy składu pierwiastkowego warstw węglowych przed, natomiast ZDJĘCIE 4B - po hodowli pleśni *Aspergillus niger*. Łatwo zaobserwować, iż powierzchnia próbki po oddziaływaniu drobnoustrojów posiada typową strukturę i skład pierwiastkowy stali medycznej. W przypadku próbek poddanych działaniu bakterii i pozostałych pleśni nie stwierdzono aż tak daleko idących zmian.

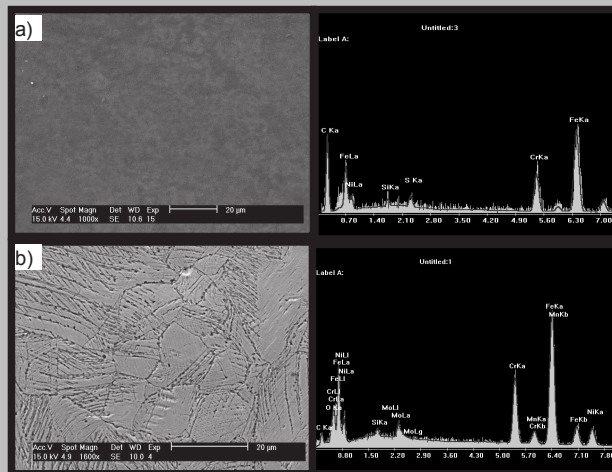
Zastosowanie do badań warstw DLC i NCD, przed i po traktowaniu ich drobnoustrojami, spektroskopii ramanowskiej pozwoliło na zaobserwowanie ubytku fazy grafitowej na powierzchni niektórych próbek. Przykład spektrogramów Ramana dla próbek poddanych działaniu pleśni *Aspergillus niger* przedstawiono na RYS.5. Jak wiadomo warstwy wytwarzane metodą RF PCVD są zbudowane głównie z dwóch faz: o hybrydyzacji atomów  $sp^2$  (typowych dla grafitu) i  $sp^3$  (typowych dla diamentu). Spektra pokazały, że niektóre drobnoustroje prawdopodobnie wykazują zdolność usuwania grafitu z powierzchni powłok węglowych, o czym świadczą mogą zmiany relacji między dwoma widocznymi pikami odpowiadającymi diamentowi ( $1340\text{ cm}^{-1}$ ) i grafitowi ( $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ ).



**RYS. 5.** Porównanie spektrogramów Ramana otrzymanych z warstwy węglowej przed i po 2, 4 i 6 tygodniowej hodowli pleśni *Aspergillus niger*. **FIG. 5.** Comparison of Raman spectra obtained for the diamond-like films: before (reference) and after 2, 4 and 6 weeks of *Aspergillus niger* growth.

## Dyskusja

Większość z zastosowanych w badaniach drobnoustrojów obrosło powierzchnie pokryte warstwami DLC i NCD. Jest to dowód braku toksycznego wpływu tych powłok na



**RYS. 4.** Obraz SEM oraz mikroanaliza rentgenowska próbek pokrytych warstwą DLC przed (a) i po (b) hodowli pleśni *Aspergillus niger*. **FIG. 4.** SEM pictures and microanalysis of the sample covered with DLC film before (a) and after (b) growth of *ASPERGILLUS NIGER* strain on its surface, for about 3 months.

Significant differences between DLC and NCD coatings before and after treatment with some microorganisms were observed by means of the Raman spectroscopy - which is the most suitable method to characterize the graphite phase.

The examples of Raman spectra for samples treated with *Aspergillus niger* are presented in FIGURE 5. The two peaks are referred to as a diamond ( $1340\text{ cm}^{-1}$ ) and a graphite peak ( $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ ). The initial carbon coatings, which are made by RF PCVD method, contains the mixture of  $sp^2$  (typical of graphite) and  $sp^3$  (typical of diamond) hybrid carbon atoms. The picture shows that the microorganisms can remove some graphite phase from DLC coatings.

## Discussion

The majority of microbial strains used in the experiments overgrew the surfaces covered with DLC and NCD layers. It proves that these carbon coatings are not toxic for microorganisms. Furthermore, very strong adhesion of the fungal mycelia to DLC and NCD coatings was noticed.

Among of the microorganisms listed in the TABLE 2, the *Aspergillus niger* strain caused the strongest changes in the thin carbon films. The results obtained indicate that apart from the *A. niger* strain, the other filamentous fungi such as *Chaetomium globosum*, *Phanerochaete chrysosporium* and *Mucor circinelloides* as well as bacteria *L. delbrueckii*, *Pseudomonas fluorescens* and Nos-1a are highly active against diamond coatings. Changes in the color of the diamond films (FIG. 3a, 3b) resulted from appearing of the typical structure of medical stainless steel (FIG. 4b), and the Raman spectra (FIG. 5) both indicated that the microorganisms could remove the graphite from these coatings.

It is well-known that the carbon materials such as diamond and graphite have significantly different chemical bonding structure. There are double bonds between carbon atoms in the structure of graphite. It was assumed that these bonds can be susceptible to chemical reactions, such as oxidation/hydration, catalyzed by biological catalysts (enzymes).

Probably, enzymes and/or other metabolites produced by microorganisms and released from the cells during their growth have played an important role in the observed degradation (modification?) of carbon coatings. The tested microscopic fungi

mikroorganizmy. Zaobserwowano także silną adhezję wielu pleśni i bakterii do warstw węglowych. Spośród drobnoustrojów wymienionych w TABELI 2 pleśń *Aspergillus niger* spowodowała największe zmiany w strukturze powłok diamentopodobnych. Analiza wszystkich powłok węglowych po usunięciu z nich drobnoustrojów wskazuje, że warstwy te są również modyfikowane przez pleśnie *Chaetomium globosum*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Mucor circinelloides* oraz bakterie *Lactobacillus delbrueckii*, *Pseudomonas fluorescens*, jednak w mniejszym stopniu niż przez *Aspergillus niger*.

Charakterystyczna zmiana barwy warstw węglowych (RYS. 3a, 3b) prowadząca do ujawnienia struktury typowej dla stali medycznej (RYS. 4b), oraz wyniki analizy widm Ramana (RYS. 5) wskazują, że drobnoustroje mogą naruszać fazę grafitową obecną w powłokach. Hipotezę tę postawiono biorąc pod uwagę różnice w chemicznej strukturze diamentu i grafitu. W cząsteczce grafitu występują podwójne wiązania pomiędzy atomami węgla o hybrydyzacji  $sp^2$ . Są to wiązania, które mogą ulegać reakcjom utleniania bądź redukcji. Prawdopodobnie enzymy i/lub inne metabolity wytwarzane przez drobnoustroje podczas ich wzrostu mogą odgrywać istotną rolę w obserwowanej modyfikacji warstw węglowych.

Wykorzystane w badaniach drobnoustroje produkują wiele enzymów: różne hydrolazy oraz oksydoreduktazy, takie jak peroksydaza i oksydaza manganowa oraz ligninowa, oksydaza p-difenolowa (lakkaza) [8], jak również w środowisku ich wzrostu znajdują się może wiele reaktywnych substancji niskocząsteczkowych - jony manganu(II), szczawiany, nienasycone kwasy tłuszczowe, które mogą współuczestniczyć w degradacji lub modyfikacjach powłok diamentopodobnych.

## Podsumowanie

Niektóre mikroorganizmy (szczególnie pleśń *A. niger*) modyfikują powierzchnie powłok DLC i NCD. Obserwacje makro- i mikroskopowe oraz analiza rentgenowska (z SEM) i ramanowska warstw węglowych po działaniu drobnoustrojów wskazują na usuwanie (?) fazy grafitowej. Niewątpliwie, należy rozważyć możliwość zastosowania biokatalizatorów (enzymów lub całych komórek drobnoustrojów) do modyfikacji twardych powłok węglowych.

are able to produce plenty of enzymes (biological catalysts), for example various hydrolases, manganese and lignin peroxidases, polyphenol oxidase and other oxidoreductases [8] as well as a number of low-molecular substances, like manganese(II) ions, oxalates and unsaturated fatty acids and their derivatives, which can contribute to the degradation of thin carbon layer deposited on stainless steel.

## Conclusion

Some microorganisms can selectively remove/modify(?) the graphite phase of DLC and NCD thin carbon coatings. Undoubtedly, the possibility of an application of the biocatalysts (enzymes or whole cells of microorganisms) for modification of the carbon coatings to modify (improve) their properties should be taken into consideration.

## Piśmiennictwo

## References

- [1] Lettington A.H., "Applications of diamond-like carbon thin films", Carbon, Vol. 36, No. 5-6, pp. 555-560, 1998.
- [2] S. Mitura, E. Mitura, and A. Mitura, "Manufacture of amorphous carbon layers by r.f. dense plasma CVD", Diamond and Related Materials, Vol. 4 (4), pp. 302-303, 1995.
- [3] S. Mitura, P. Niedzielski, D. Jachowicz, M. Langer, J. Marciniak, A. Stanishevsky, E. Tochitsky, P. Louda, P. Couvrat, M. Denis and P. Lourdin, "Influence of carbon coatings origin on the properties important for biomedical application", Diamond and Related Materials, Vol. 5(10), 1996, pp. 1185-1188.
- [4] J.P. Ralph, D.E.A. Catcheside, "Decolourisation and depolymerisation of solubilized low-rank coal by the white-rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*" Appl Microbiol Biotechnol 42 (1994) 536-542.
- [5] Bumpus, John A., "Regulation of Coal Polymer Degradation by Fungi" NETL Publications, University Coal Research Contractor Review Meeting, 1998 Conference Proceedings.
- [6] U. Holker, S. Ludwig, T. Scheel, M. Hofer, "Mechanism of coal solubilization by the detromycetes *Trichoderma atroviride* and *Fusarium oxysporum*", Appl Microbiol Biotechnol (1999) 52: 57-59
- [7] J.P. Ralph, D.E.A. Catcheside, "Biological processing of coal", Appl Microbiol Biotechnol 52 (1999) 16-24.
- [8] U. Hölker, H. Schmiere, S. Grobe, W. Winkelhöfer, M. Polskiewicz, S. Ludwig, "Solubilization of low-rank coal by *Trichoderma atroviride*: Evidence for the involvement of hydrolytic and oxidative enzymes by using  $^{14}C$ -labeled lignite" Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology 28 (2002) 207-212.

# ZASTOSOWANIE METODY ELEMENTÓW SKOŃCZONYCH DO SYMULACJI NAPRĘŻEŃ POMIĘDZY WYPEŁNIENIAMI A TKANKAMI ZĘBA

LESZEK KLIMEK, JACEK SAWICKI

INSTYTUT INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, POLITECHNIKI ŁÓDZKIEJ  
90-924 ŁÓDŹ, UL. STEFANOWSKIEGO 1, POLSKA

## Streszczenie

Jedną z przyczyn nieskuteczności stomatologicznego leczenia zachowawczego mogą być naprężenia

# FEM APPLICATION IN SIMULATING THE STRESSES BETWEEN DENTAL FILLINGS AND THE TISSUES OF THE TOOTH

LESZEK KLIMEK, JACEK SAWICKI

INSTITUTE OF MATERIALS ENGINEERING, TECHNICAL UNIVERSITY OF LODZ  
90-924 LODZ, UL. STEFANOWSKIEGO 1, POLAND

## Abstract

The stresses present in the teeth tissues and at the boundary between the filling and the these tissues