

ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ
V PRAZE

Fakulta stavební

Katedra mechaniky



Bakalářská práce

**Vliv vnějšího prostředí na mikromechanické
vlastnosti zubní skloviny**

Autor: Martin Tomanec

Vedoucí práce: Ing. Aleš Jíra, Ph.D.

Praha, 2018

CZECH TECHNICAL UNIVERSITY
IN PRAGUE

Faculty of Civil Engineering
Engineering
Department of Mechanics



Bachelor Thesis

**External environment effect on the
micromechanical properties of tooth enamel**

Author: Martin Tomanec

Supervisor: Ing. Aleš Jíra, Ph.D.

Prague, 2018



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: Tomanec Jméno: Martin Osobní číslo: 438400

Zadávající katedra: katedra mechaniky

Studijní program: stavební inženýrství

Studijní obor: konstrukce a dopravní stavby

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce: Vliv vnějšího prostředí na mikromechanické vlastnosti zubní skloviny

Název bakalářské práce anglicky: External environment effect on the tooth enamel mikromechanical properties

Pokyny pro vypracování:

1. popis základní anatomie a histologie lidského zubu, mechnické parametry základních částí zubu
2. popis metody nanoindentace
3. příprava vzorků pro mikromechanickou analýzu (zalévání, řezání, broušení, leštění)
4. mikromechaická analýza vlivu tekutin (cola, citrusová šťáva, alkohol atd.) na modul pružnosti a tvrdost zubní skloviny
5. vyhodnocení výsledků z nanoindentace

Seznam doporučené literatury:

odborné články indexované v databázích WoS a Scopus

R. De Santis, L. Ambrosio, L. Nicolais. Mechanical properties of tooth structures, Springer, 2002.

A. C. Fischer-Cripps. Nanoindentation testing, Springer, 2011

J. Mazánek a kol, Zubní lékařství Grada 2015

L. Nedorost, V. Tomanová, L. Eberlová, et al.: Atlas histologie tvrdých tkání. LF UK v Plzni 2009

Jméno vedoucího bakalářské práce: Ing. Aleš Jíra, Ph.D.

Datum zadání bakalářské práce: 14.2.2018

Termín odevzdání bakalářské práce: 27.5.2018

Údaj uveďte v souladu s datem v časovém plánu příslušného ak. roku

Podpis vedoucího práce

Podpis vedoucího katedry

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Beru na vědomí, že jsem povinen vypracovat bakalářskou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je nutné uvést v bakalářské práci a při citování postupovat v souladu s metodickou příručkou ČVUT „Jak psát vysokoškolské závěrečné práce“ a metodickým pokynem ČVUT „O dodržování etických principů při přípravě vysokoškolských závěrečných prací“.

19.2.2018

Datum převzetí zadání

Podpis studenta(ky)

Rád bych poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Aleši Jírovi, Ph.D. za pomoc s měřením ochotu, trpělivost a vstřícnost při konzultacích.

Tato práce vznikla za podpory Studentské grantové soutěže ČVUT v Praze.
(SGS17/168/OHK1/3T/11)

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně, pouze za odborného vedení Ing. Aleše Jíry, Ph.D. Dále prohlašuji, že všechny podklady, ze kterých jsem čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

V Praze, dne 26. května 2018

Martin Tomanec

Název práce: Vliv vnějšího prostředí na mikromechanické vlastnosti zubní skloviny

Autor: Martin Tomanec

Katedra: Katedra mechaniky

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Aleš Jíra, Ph.D.

E-mail vedoucího: jira@fsv.cvut.cz

Abstrakt: Práce je zaměřena na mikromechanickou analýzu negativního vlivu tekutin s vysokým podílem cukru a nízkým pH na vlastnosti zubní skloviny. Analýza je prováděna metodou nanoindentace a mikroskopie atomových sil, které umožňují podrobné zkoumání mikrostruktury zubních tkání. Cílem je determinace mechanických vlastností – tvrdosti a indentačního modulu pružnosti, jejich změna vlivem působení tekutin, následná analýza kontaminovaného povrchu a redukce tloušťky skloviny, která chrání dentin a dřeňovou dutinu protkanou nervy. Při jejím oslabení může dojít k iniciaci trhlin a následné infekci nebo tvorbě zubního kazu, které mohou zapříčinit i nutnost vytržení zubu.

Klíčová slova: zub, sklovina, nanoindentace, afm, mikromechanické vlastnosti, modul pružnosti, tvrdost, cola, džus, tekutiny

Title: External environment effect on the micromechanical properties of tooth enamel

Author: Martin Tomanec

Department: Department of mechanics

Supervisor: Ing. Aleš Jíra, Ph.D.

Supervisor's e-mail address: jira@fsv.cvut.cz

Abstract: The thesis is dedicated to determining the adverse effects of low-pH beverages containing sugar on the micromechanical properties of human enamel. The analysis is carried out by means of nanoindentation and microscopy of atomic forces which enable a detailed analysis of the microstructure of dental tissues. The aim of the thesis is to determine the mechanical properties, namely hardness and indentation modulus, their change under the exposure of beverages and subsequent analysis of the contaminated area. Also, the work observes the change in enamel wall thickness as enamel protects dentin and the densely innervated dental pulp. As the thickness of enamel reduces, various cracks may form. With the development of cracks comes the possibility of infection and dental caries, both of which are common causes for tooth extraction.

Key words: tooth, enamel, nanoindentation, afm, micromechanical properties, elastic modulus, hardness, coke, juice, beverages

Obsah

1	Cíle bakalářské práce	13
2	Úvod	14
3	Anatomie a histologie lidského zubu	15
3.1	Rozdělení zubů	15
3.1.1	Značení zubů	15
3.2	Stavba zubu	17
3.3	Sklovina	18
3.4	Dentin	20
3.4.1	Druhy dentinu	21
3.5	Zubní cement	22
3.6	Zubní dřev	22
4	Nanoindentace	23
4.1	Princip metody	24
4.2	Metodika odvození materiálových charakteristik	25
4.2.1	Funkce kontaktní plochy	28
4.3	Indentační hroty	30
4.3.1	Indentační hrot – roh krychle	32
4.4	Indentační přístroj CSM	33
5	AFM	35
5.1	Princip metody	35
5.2	Metody měření	37
5.2.1	Kontaktní mód	37
5.2.2	Bezkontaktní mód	37
5.2.3	Tapping mód	37
5.2.4	Měření materiálových charakteristik	38
6	Mikromechanická analýza vlivu tekutin	39
6.1	Přehled dosaženého poznání	39

6.2	Příprava vzorků pro mikromechanickou analýzu	41
6.3	Metodologie měření	43
6.3.1	Měření mikromechanických vlastností	43
6.3.2	Měření degradace povrchu skloviny	45
7	Vyhodnocení výsledků	46
7.1	Měření mikromechanických vlastností	46
7.2	Měření degradace povrchu skloviny	54
8	Závěr	57

Seznam obrázků

3.1	Zubní vzorec	16
3.2	Stomatologické značení	16
3.3	Stavba zubu	17
3.4	Sklovinné prizma a krystal hydroxyapatitu	18
3.5	Růstové linie sklovinného prizmatu	19
3.6	Odontoblasty a dentin	20
3.7	Druhy dentinu	21
4.1	Indentační křivka	24
4.2	Řez indentačním vpichem	26
4.3	Indentační hroty	31
4.4	Indentační hrot roh krychle	32
4.5	Indentační přístroj CSM	33
4.6	Software Nanoindentation 5.16	34
5.1	AFM	36
5.2	Přístroj AFM – DME, DEN	36
5.3	Barevný mapping modulu pružnosti vzorku	38
6.1	Příprava vzorků 1	42
6.2	Příprava vzorků 2	42
6.3	Graf zatěžovacího cyklu	43
6.4	Měření – matice indentů	44

6.5	Graf zatěžovacího cyklu 2	45
7.1	Vyloučení indentů	46
7.2	Průměrné indentační křivky pro vzorky 1–4	47
7.3	Průměrné indentační křivky – srovnání pro všechny vzorky	49
7.4	Průměrné indentační křivky – srovnání pro všechny vzorky bez vlivu tekutin	49
7.5	Indentační tvrdost – krabicový graf	51
7.6	Indentační modul pružnosti – krabicový graf	52
7.7	Hloubka vpichu – krabicový graf	52
7.8	Degradace povrchu	54
7.9	Naleptání povrchu	55
7.10	Indenty s rozdílnou hodnotou maximálního zatížení	56
7.11	Srovnání degradace povrchu vlivem působení coly – AFM	56

Seznam tabulek

6.1	Výsledky měření jiných autorů [32]–[36]	40
7.1	Hodnoty pH a obsah cukru tekutin	48
7.2	Hodnoty ind. tvrdosti (H_{it}), ind. modulu pružnosti (E_{it}) a hloubky vpichu (h_c)	50

1. CÍLE BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

1 Cíle bakalářské práce

Bakalářská práce je zaměřena na mikromechanickou analýzu zubní skloviny ovlivněné krátkodobým působením sladkých nápojů (cola, pomerančový džus, čaj s medem) a čisté vody. Mezi dílčí cíle patří zejména:

- Popis základní anatomie a histologie lidského zubu
- Popis a seznámení se základními principy měření pomocí nanoindentace a AFM
- Příprava vzorků zubů pro mikromechanickou analýzu
- Provedení analýzy se zaměřením na hodnoty modulu pružnosti a tvrdosti
- Analýza degradace povrchu zubní skloviny vlivem působení tekutin
- Statistické zpracování hodnot materiálových charakteristik
- Vyhodnocení výsledků analýzy

2 Úvod

Zuby jsou důležitou součástí trávicí soustavy většiny na Zemi žijících obratlovců. Nachází se v dutině ústní a jejich hlavní funkcí je práce s přijímanou potravou a následné rozmělnění pro její jednodušší přijímání a trávení. Jejich další důležitou funkcí je funkce dorozumívací. Zuby podstatně přispívají ke správné artikulaci a společně s dalšími částmi dutiny ústní slouží k tvorbě zvuku. Některé hlásky by tak bez nich nebylo možné vyslovit. Poslední, avšak jistě neopomenutelnou funkcí je funkce estetická. Vzhled člověka je v současnosti důležitým měřítkem v zaměstnání, ale i v jeho sociálním životě. Zdravý a čistý chrup je proto dobrou vizitkou každého člověka. Důkladná ústní hygiena je tak důležitou každodenní činností již od dětství. Při stravování však zuby používáme každodenně a ty jsou tak neustále vystaveny vnějším mechanickým i chemickým vlivům, které vlastnosti zubní tkáně s rostoucím věkem jedince i přes správnou hygienu oslabují.

Tato práce je zaměřena na mikromechanickou analýzu zubní skloviny a vlivu vybraných vnějších činitelů na její vlastnosti. V tomto případě se tím rozumí vliv tekutin. Analýza je prováděna metodou nanoindentace, která spočívá v počítačem řízeném zatlačování hrotu o velikosti v řádech nanometrů až mikrometrů do vnějších vrstev materiálu. Díky malé velikosti těchto hrotů je tak metoda ideální pro testování malých vzorků lidských tkání s možností eliminace velkých heterogenit. Na základě zjištěných deformačních parametrů umožňuje vypočítat indentační tvrdost a indentační modul pružnosti testované vrstvy.

Hlavním cílem této práce je provedení analýzy mikromechanických vlastností zubní skloviny vystavené vlivu čtyř rozdílných tekutin: Coly, džusu, čaje s medem a obyčejné neperlivé vody.

3 Anatomie a histologie lidského zubu

3.1 Rozdělení zubů

Lidský chrup je tvořen ze čtyř typů zubů. Jsou to řezáky, špičáky, třenové zuby a stoličky. Každý z těchto zubů má trochu odlišnou funkci, která souvisí s jejím umístěním ve chrupu a jejich tvarem. Řezáky (*dentes incisivi*), jak již jejich název napovídá, slouží k řezání a krájení potravy na menší kousky. Špičáky (*d. canini*) přitom potravu napichují a přidržují. Třenové zuby (*d. premolares*) a stoličky (*d. molares*) mají mnohem větší okusnou plochu a slouží k drcení a rozemílání takto připravené potravy. Stoličky jsou nejsilnějším zubem a dokážou rozdrtit i kost. [1, 2]

Chrup vzniká ve dvou generacích. Nejprve zuby dočasné (neboli mléčné), které tvoří celkem 20 zubů. V každé polovině čelisti 2 řezáky, 1 špičák a 2 stoličky. Již od druhého roku věku dítěte však dochází k tvorbě zubů stálého chrupu. Přibližně od šestého roku se začínají tyto zuby prořezávat z čelisti a postupně vytlačují a nahrazují dočasné. Poslední stoličky se prořezávají zpravidla až někdy mezi 17–30. rokem a dokončují tak tento dlouhý vývoj chrupu, který tvoří 32 zubů – na každé polovině čelisti 2 řezáky, 1 špičák, 2 třenové zuby a 3 stoličky. [1, 2]

3.1.1 Značení zubů

Značení zubů slouží k orientaci v chrupu a vyjadřuje typ a pořadí jednotlivých zubů. Toto označení má význam pro lékařství a pro srovnávací anatomii. Prvním takovým označením je vzorec chrupu používaný hlavně pro anatomii. Každé značení obsahuje písmeno a číslici, kde písmeno označuje typ zubu a odpovídá iniciálu pro jeho latinský název. Pro zuby chrupu stálého se užívají písmena velká a pro zuby dočasného písmena malá. Číslo pak označuje pořadí tohoto typu zubu směrem od středu čelisti. (Obr. 3.1) [2]

MLÉČNÝ CHRUP

m_2	m_1	c	i_2	i_1	i_1	i_2	c	m_1	m_2
m_2	m_1	c	i_2	i_1	i_1	i_2	c	m_1	m_2

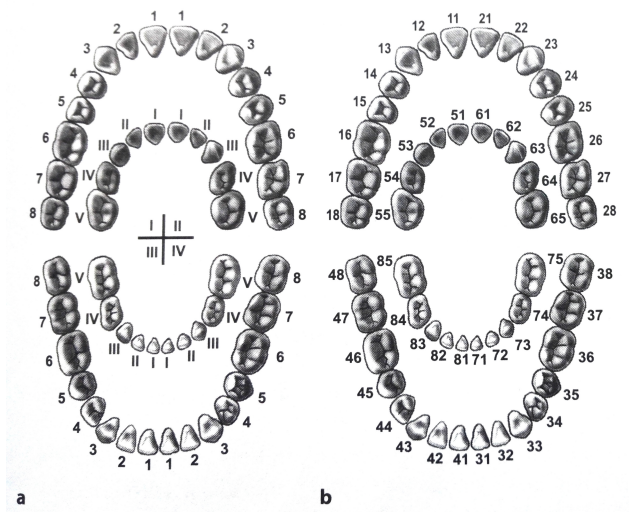
TRVALÝ CHRUP

M_3	M_2	M_1	P_2	P_1	C	I_2	I_1	I_1	I_2	C	P_1	P_2	M_1	M_2	M_3
M_3	M_2	M_1	P_2	P_1	C	I_2	I_1	I_1	I_2	C	P_1	P_2	M_1	M_2	M_3

Obrázek 3.1: Zubní vzorec [2].

Dalším značením je značení stomatologické. V ČR je stále hojně používán tzv. Palmerův systém. V něm je chrup rozdělen do čtyř kvadrantů, značených římskými číslicemi I–IV. Jednotlivé, po sobě (směrem od středu čelisti) jdoucí zuby jsou pak označeny příslušnými arabskými číslicemi 1–8. Pro dočasný chrup se používají číslice římské. (Obr. 3.2a) [1, 2]

Obecně platné a používané je však mezinárodní značení dle schématu FDI (Fédération Dentaire Internationale.) Toto značení je prakticky stejné, s tím rozdílem, že je dvojciferné a pro počítač tak lépe zpracovatelné. První cifra určuje kvadrant – pro chrup stálý 1–4 a pro dočasný analogicky 5–8. Římské číslice pro pořadí zubu jsou nahrazeny za arabské. (Obr. 3.2b) [1, 2]



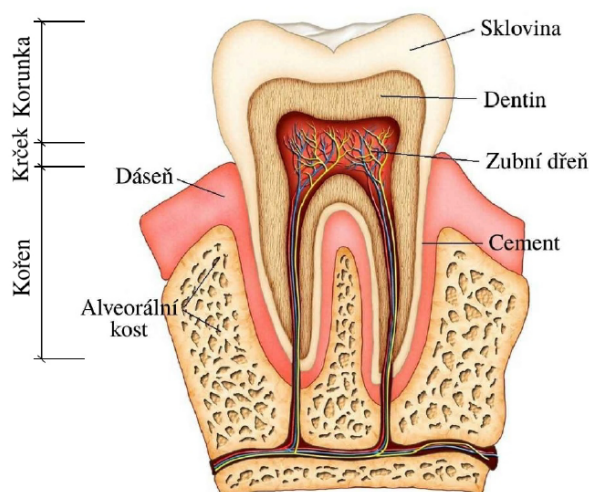
Obrázek 3.2: Stomatologické značení: a) Palmerův systém b) Značení FDI. [2]

3. ANATOMIE A HISTOLOGIE LIDSKÉHO ZUBU

3.2 Stavba zubu

Zub má tři základní části: Korunku, krček, kořen. Korunka je část, která po prořezání vyčnívá z dásně. Je na ní nejtlustší vrstva skloviny - nejtvrďší tkáň v lidském těle. [6] Krček tvoří přechod mezi korunkou a kořenem. Je místem, kde je již vrstva skloviny tenčí a kde je zub připojen k okolní měkké tkáni dásně (*gingiva*). Kořen upevňuje zub v kosti pomocí speciálních vazivových vláken označovaných jako *periodontium*. [2] Základním kamenem tohoto spojení jsou Sharpeyho vlákna, pronikající zubním cementem až do krčku. Kořenem je navíc veden kořenový kanálek, uvnitř něhož se nachází cévní systém, nervová vlákna a zubní dřev. Zásobuje tak zub živinami a přenáší vzruchy ze zubu. Kořenový kanálek ústí do dřevové dutiny - prostorné dutiny uvnitř zubu. [1]

Zubní tkáň jsou čtyř různých druhů. Sklovina, zubovina (dentin), cement a zubní dřev. Kromě poslední zmíněné se jedná o tkáň tvrdé, které jsou z většiny tvořeny minerály. Zubní dřev je tkáň měkkou, protkanou nervy a cévami, která je ostatními chráněna před vnějšími vlivy. [5] Při proniknutí zubního kazu do zubní dřevě nebo otevření dřevové dutiny může dojít k infekci [6]. Stavba zubu je blíže popsána na následujícím obrázku[2]. (Obr. 3.3)

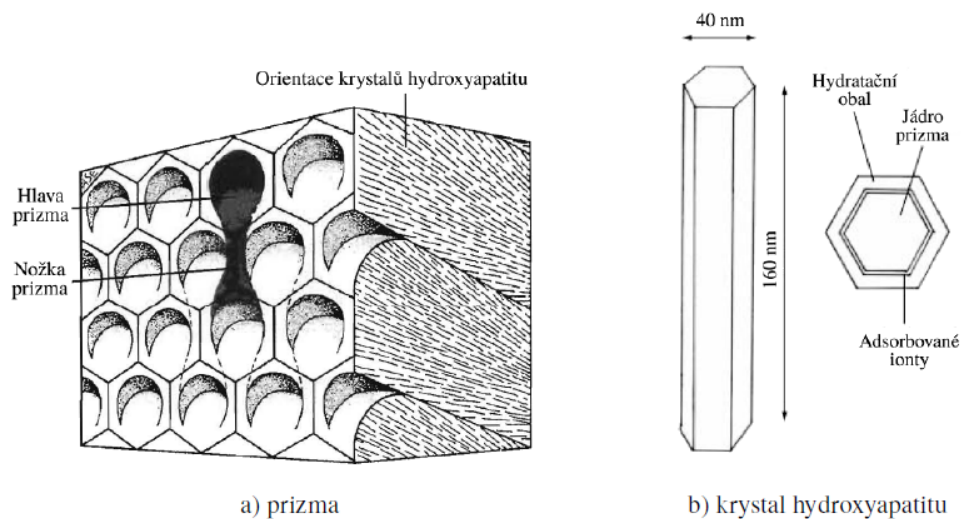


Obrázek 3.3: Stavba zubu [7].

3.3 Sklovina

Sklovina je zhruba 1–2,5mm silná vrstva, která kryje povrch zubní korunky [2]. Je částečně průsvitná a ovlivňuje tak barvu zubu. To je způsobeno vysokým stupněm kalcifikace. Obecně čím je vrstva tenčí, tím viditelnější je vrstva žlutého dentinu a zub žlutější. To však závisí i na obsahu minerálních látek. U zubů dočasného chrupu je toto zastoupení nižší a vrstva je tak méně průsvitná. To tvoří zuby viditelně bělejší a je to i důvod, proč se jim také říká zuby mléčné. Nejsilnější je u stoliček, čemuž taky odpovídá jejich pevnost. V oblasti krčku je tloušťka skloviny již výrazně nižší. Obsahuje totiž až 96 % minerálních látek a je tak nejtvrďší tkání v lidském těle. Zbytek tvoří organické látky a voda. [3]

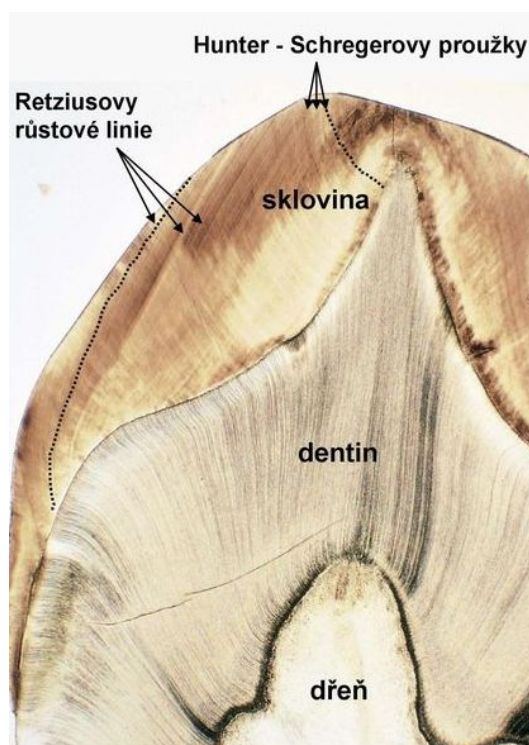
Tato hmota je převážně tvořena krystaly hydroxyapatitu, minerálu tvořeného hlavně vápníkem a fosforem. Tyto krystaly tvaru šestihorných sloupečků jsou vzájemně překryté a svou rozdílnou orientací vytvářejí složité a pevně mechanicky spojené komplexy označované jako sklovinná prizmata. (Obr. 3.4) Každé z těchto prizmat je silné zhruba 5 μm a je tvořeno přibližně z 1000 krystalů hydroxyapatitu. Prizmata prorůstají prakticky od hranice skloviny a dentinu až na její povrch, ke kterému jsou zpravidla přibližně kolmo orientována. [1, 5]



Obrázek 3.4: Sklovinné prizma je tvořeno z krystalů hydroxyapatitu [3].

3. ANATOMIE A HISTOLOGIE LIDSKÉHO ZUBU

Sklovina vzniká z buněk zvaných ameloblasty, které postupnou mineralizací zanikají. Neobsahuje tedy buňky a nemůže se proto obnovovat. Její tvorba probíhá pravidelnými přírůstky ve vlnách, kdy se střídá období růstu a období klidu. Z toho důvodu se ve struktuře skloviny tvoří méně mineralizovaná místa na hranici přírůstků, která se projevují typicky jako nahnědlé proužky, tzv. Retziusovy. V místě, kde se tyto proužky dostávají na povrch skloviny se na jejím jinak hladkém povrchu tvoří typické vroubky nazývané se perikymata. Tento růst vrstev navíc není přímý a ani prizmata tak netvoří přímou linii napříč vrstvou a jsou po její tloušťce propletena ve složité a různě zvlněné svazky. Při pohledu mikroskopem lze vidět překrývající se struktury prizmat, z nichž vznikají tzv. Hunter-Schregerovy linie. [1, 3]



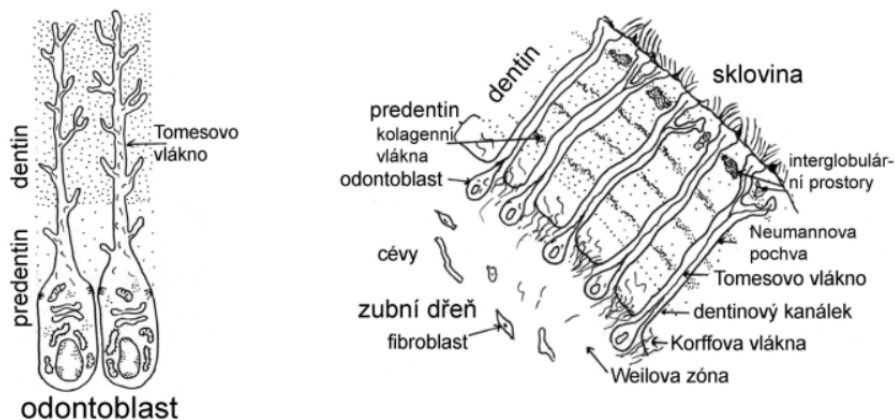
Obrázek 3.5: Růstové linie sklovinného prizmatu [3].

Spojení mezi sklovinou a dentínem je arkádovité z důvodu vytvoření jamek ve sklovině při zanikání ameloblastů. Do nich pronikají výběžky odontoblastů z dentínu a tvoří pevné spojení mezi oběma vrstvami. Tyto výběžky se podle jejich délky dělí na sklovinná vřeténka, trsy a lamely. [1] Povrch skloviny kryje slabá, asi 1 μm tlustá blanka *cuticula dentis* [3].

3.4 Dentin

Dentin, neboli českým názvem zubovina je hlavní hmotou zubu [2]. Je žlutý, což díky průsvitnosti zubní skloviny ovlivňuje i barvu zubu [3]. Jde o vrstvu tvrdé tkáně, která kryje zubní dřev. V korunkové a krčkové části je kryt sklovinou, v kořenové části cementem. [1] Je pevnější než kost a společně se sklovinou tvoří pevnou vazbu, která je schopna odolat velkému tlakovému namáhání. Narozdíl od skloviny je navíc poměrně elastický. To hlavně díky svým tubulům a většímu obsahu organických látek. Tvoří se během celého života, ale oproti sklovině je mnohem citlivější k vnějším vlivům. Z hlediska hmotnosti je dentin složen zhruba ze 70 % anorganických látek a 20 % organických. Zbytek (10 %) tvoří voda. Anorganickou složku tvoří krystaly kalciumhydroxyapatitu. Hlavními organickými zástupci jsou kolagen I, fosforoproteiny a proteoglykany. [3]

Vzniká činností odontoblastů - buněk, které vedou z dřevové dutiny Tomesova vlákna, která zajišťují jeho výživu. Kolem nich je tvořen dentinový kanálek (tubulus), kterým tyto vlákna vedou napříč dentinem společně s nervy. Obdobně jako u skloviny, tubulus není rovný. Jeho prohnutí lze rozdělit na primární a sekundární. Primární vzniká vlivem nerovnoměrného růstu a vznikají tak Schregerovy linie. Sekundární prohnutí vzniká vrstvením hmoty tvořeného dentinu. Nejmenší linie se označují jako Ebnerovy ($4-8 \mu\text{m}$). Výraznější jsou označovány jako Owenovy. [1, 3]



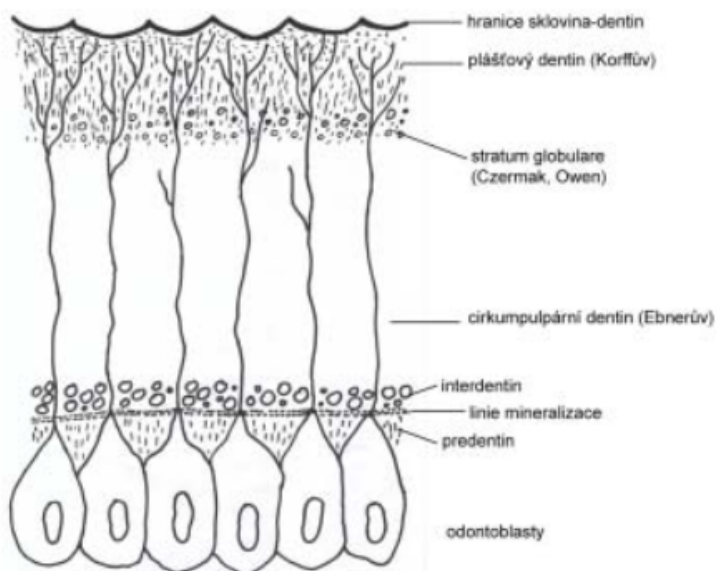
Obrázek 3.6: Odontoblasty a dentin [3].

3. ANATOMIE A HISTOLOGIE LIDSKÉHO ZUBU

3.4.1 Druhy dentinu

Dentin se během života člověka vyvíjí. To ho umožňuje dělit na jednotlivé druhy. Nejčastějším používaným dělením je dle období vývoje – dělí se na primární, sekundární a terciární. [3]

Primární dentin vzniká společně s vývojem kořene zubu. Dělí se na plášťový a cirkumpulpární. Plášťový ($\sim 150 \mu\text{m}$) je nejstarší vrstvou zuboviny a nachází se nejbližze sklovině. Cirkumpulpární ($\sim 6\text{--}8 \text{ mm}$) představuje nejsilnější vrstvu a dělí se dále na intertubulární a peritubulární. Intertubulární, složený převážně z hydroxyapatitu, se tvoří jako první. Peritubulární neobsahuje kolagen, tvoří se po prořezání zubu a postupně vystylá tubuly, dokud se jím nezavřou. [5] Takový dentin se poté nazývá sklerotický. Podle postupu tohoto děje se dá určit stáří zubu. Po ukončení vývoje kořene se začíná vyvíjet dentin sekundární. Tvoří se nerovnoměrně po celý život jedince a vyplňuje dřeňovou dutinu. Terciární dentin vzniká jako reakce dřene na zubní kaz nebo jiný úraz. Dochází tak k tvorbě buněk podobným odontoblastům, produkujících kolagen I a pomáhajících tkáni se zotavit. Speciálním druhem je tzv. predentin, který je tvořen pouze organickou složkou a prochází skrz něj silnější části Tomesových vláken. [3]



Obrázek 3.7: Druhy dentinu [3].

3.5 Zubní cement

Zubní cement je tkáň, chrání zubovinu v oblasti krčku a kořene. V okolí kořene je vrstva nejtlustší (100–500 μm) a v části je krčku naopak je vrstva jen velmi tenká (20 μm). Při dráždění krčku tak může dojít k poškození dentinu. Je světle žluté barvy a výrazně měkčí než dentin. Jde o modifikovanou vláknitou kost spojenou s dentinem pomocí kolagenních vláken. Obsahuje asi 60 % minerálních látek, 28 % organických a 12 % vody. Jsou v něm zalita Sharpeyho vlákna, tvořená kolagenními fibrilami, která pokračují v periodontální a upevňují zub do alveolární kosti. Cement se dělí na dva typy – acelulární a celulární. V acelulárním, který se vyskytuje v okolí krčku, nejsou uvnitř přítomny buňky. Leží vně cementu, na povrchu cementové vrstvy. V apikální (kořenové) části cement obsahuje buňky cementocyty. Tento cement je označován jako celulární, neboli buněčný. [1, 3, 5]

3.6 Zubní dřev

Zubní dřev je měkká růžová tkáň z řídkého vaziva, ve které jsou uloženy nervy a cévy. Je uložena v dřevové dutině a v kořenových kanálcích. Po jejím obvodu je vrstva odontoblastů, určená k tvorbě dentinu. Při porušení vrstvy skloviny a zuboviny nebo vzniku zubního kazu je riziko vzniku infekce. Při takové situaci dochází k obranné reakci a tvorbě terciárního cementu. Dřevová dutina, ve které leží, se během života zmenšuje tvorbou sekundárního dentinu. [1, 3]

4 Nanoindentace

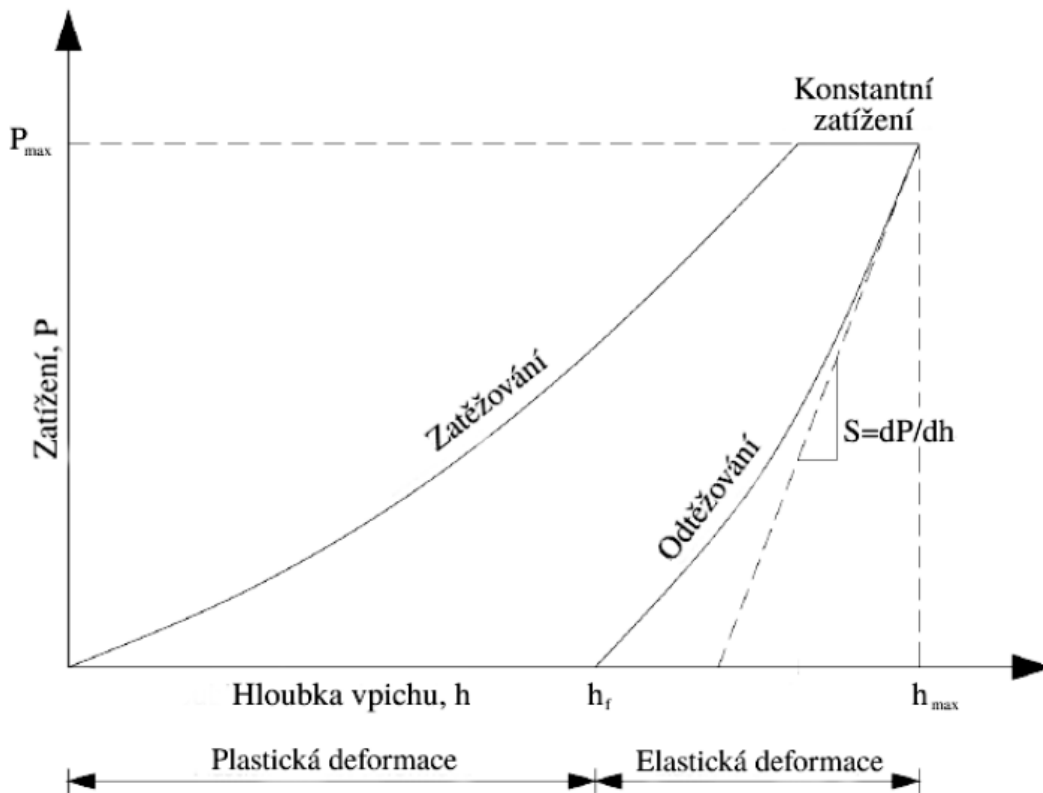
Nanoindentace je v současnosti využívanou a moderní metodou, sloužící k determinaci mechanických vlastností mikroskopických struktur materiálů. Hlavní výhoda spočívá v možnosti využití i pro testování vzorků malých rozměrů a v možnosti měřit jednotlivé struktury materiálů zvláště, čímž zohledňuje jejich nehomogenitu na mikroskopické úrovni. [8] Nanoindentaci tak lze využít ke zjištění základních mikromechanických parametrů biologických materiálů jako jsou například tvrdé tkáně. Lidská tkáň je v některých ohledech stále ještě ne zcela pochopeným materiálem a chybí stále mnoho informací spojených s její remodelací. Nanoindentace je tak důležitým prostředkem pro získání nových vědeckých poznatků, vedoucích ke zdokonalení klinické medicíny a vývoji biomateriálů, které je pro její potřeby možné využít. Z tohoto důvodu se tato metoda stále dále vyvíjí. [18]

Nejčastějšími měřenými parametry jsou indentační modul pružnosti (E_{it}) a indentační tvrdost (H_{it}). Tyto dvě veličiny jsou určovány na základě měřené hloubky indentačního vpihu, při kterém je silou v řádech několika milinewtonů (mN) zatlačován miniaturní hrot do vnějších vrstev testovaného materiálu. [18] Velikost hrotu ovšem přináší i několik nevýhod. Indenty jsou velmi malé, což způsobuje špatnou orientaci na povrchu vzorku. Při případném pohybu vzorkem je velmi obtížné, často až téměř nemožné je znovu najít. V případě analýzy vlivu tekutin je tak nutné vystavovat vzorek tekutinám v čase, kdy je upevněn v přístroji. To vyžaduje zvýšenou opatrnost při práci.

Následující kapitola popisuje základní princip této metody, způsob kterým jsou zjišťovány již zmíněné materiálové charakteristiky, typy indentačních hrotů běžně využívaných pro tuto zkoušku a v poslední řadě i přístroj CSM, který byl využit k nanoindentaci vzorků materiálů posuzovaných v kapitolách 6 a 7.

4.1 Princip metody

Princip spočívá v zatlačování indentačního hrotu do povrchu vzorku. To odpovídá indentačnímu cyklu, který se skládá ze dvou fází - zatížení na maximální určenou mez (P_{max}) a následném úplném odtížení. Mezi oběma fázemi lze po zvolenou dobu držet konstantní zatížení. [8] Po celý čas zkoušení je kontinuálně zaznamenáván časový průběh síly vpichu (zatížení P) a jeho hloubka (h). Ze závislosti těchto dvou hodnot lze sestavit tzv. indentační křivku (P - h křivka, Obr. 4.1), která je grafem závislosti hodnot P a h . Tato závislost je hlavním výstupem metody. Křivka má zřetelně oddělenou zatěžovací a odtěžovací větev, které odpovídají zatěžovacímu cyklu. Průběh obou větví je rozdílný při použití rozdílných indentačních hrotů. Během cyklu vzniká jak elastická, tak plastická složka deformace materiálu. Metodu tak nelze užít ke zkoušení materiálů s vratnou plastickou deformací. [9]



Obrázek 4.1: Indentační křivka [9].

4. NANOINDENTACE

Maximální hloubky v pichu (h_{max}) dosáhneme na konci zatěžovací fáze, těsně před odtížením. Ta je rovna součtu elastické a plastické deformace. Po odtížení se hodnota hloubky vpichu sníží o hodnotu elastické deformace a získáme tak konečnou hloubku vpichu (h_f), která je rovna hodnotě plastické deformace. Posledním parametrem, který je z grafu možno určit je tzv. kontaktní tuhost (S). Jde o počáteční sklon odtěžovací větve ($S = dP/dh$). Na základě parametrů indentační křivky jsou odvozovány požadované materiálové charakteristiky. [10]

4.2 Metodika odvození materiálových charakteristik

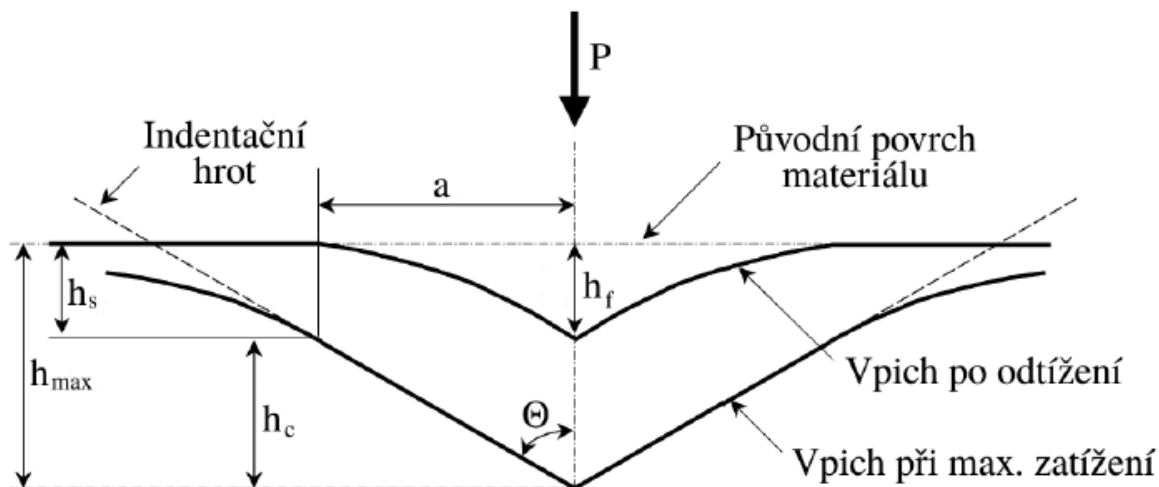
První známé vztahy pro odvození indentační tvrdosti (H_{it}) a indentačního modulu (E_{it}) pro nanoindentaci byly popsány roku 1986 M.F. Doernerem a W.D. Nixem pod záštitou Stanfordovy univerzity v Kalifornii [13]. Později (1992, 2003) na ně navázali G.M. Pharr a W.C. Oliver z univerzity v Cambridgi, kteří vztahy upravili a zobecnili z původních rovnic, platných pro Berkovichův hrot, na hrot obecný - osově symetrický [10, 11]. Jejich poznatky jsou využity pro měření přístroje CSM, který byl pro tuto práci použit [15]. Doerner a Nix navíc původně uvažovali lineární odtěžovací větev, ale Pharr a Oliver při experimentech dokázali, že při odtížení dochází k plastické deformaci materiálu. (Obr.3.2). Výraz vyjadřující průběh odtěžovací větve tak nebyl přesný a musel být aproximován do podoby vztahu:

$$P = \alpha(h - h_f)^m \quad (4.1)$$

kde parametry α a m jsou kalibrační konstanty určené experimentem s Berkovichovým indentačním hrotem. Pro m platí $1,2 \leq m \leq 1,6$. Hrot nejlépe vystihuje odtěžovací křivku pokud $m = 1,5$. [11] Po odtížení lze u vzorku materiálu zpozorovat značnou plastickou deformaci konvexního charakteru, naznačenou na obr. 4.2, kde je znázorněn řez rovinou indentačního vpichu. Pro maximální hloubku vpichu platí:

$$h_{max} = h_c + h_s \quad (4.2)$$

kde h_c je kontaktní hloubka a h_s zbývající svislá vzdálenost k povrchu vzorku. [10, 11]



Obrázek 4.2: Řez indentačním vpichem [19].

Θ je polovina vrcholového úhlu indentačního hrotu. Tento úhel ovlivňuje jeho ostrost a tím pádem i indentační hloubku. Poloměr kruhu opisující indentační vpich na hladině původního povrchu se značí a . Hloubku h_s lze odvodit jako podíl maximálního zatížení (P_{max}) a kontaktní tuhosti (S):

$$h_s = \epsilon \frac{P_{max}}{S} \quad (4.3)$$

kde ϵ je konstanta, která závisí na geometrii hrotu. Bylo zjištěno, že ačkoliv je Berkovichův hrot kónického tvaru, jeho chování při indentaci se podobá nejbližší rotačnímu paraboloidu, pro který se $\epsilon = 0,75$. Jde tak o nejčastěji využívanou hodnotu této konstanty. [10, 11]

Kontaktní hloubka (h_c) je pak dopočítána vyjádřením ze vztahu pro maximální hloubku vpichu.

$$h_s = h_{max} - \epsilon \frac{P_{max}}{S} \quad (4.4)$$

Jelikož se pohybujeme v přesnosti v řádech mikrometrů až nanometrů, není dostupného dostatečně přesného optického měření kontaktní plochy vpichu, která je důležitým vstupním parametrem pro výpočet požadovaných materiálových charakteristik. Ta je tak odvozena ze

4. NANOINDENTACE

známé geometrie hrotu a vyjádřena funkcí kontaktní hloubky (h_c), která plochu popisuje pomocí vzdálenosti bodů od vrcholu hrotu. [8]

$$A = F(h_c) \quad (4.5)$$

Výpočet kontaktní plochy je naprosto stěžejní pro další vyjádření a je tak požadována přesná kalibrace přístroje, která umožňuje minimalizovat odchylky měření, způsobené geometrickými odlišnostmi hrotu od výpočtem uvažovaného ideálního tvaru. Požadovanou tvrdost pak lze přímo vyjádřit jako podíl maximálního zatížení zatěžovacího cyklu a této vyjádřené kontaktní plochy. [11]

$$H_{it} = \frac{P_{max}}{A} \quad (4.6)$$

Je nutné si uvědomit, že takto definovaná hodnota tvrdosti založená na kontaktní ploše pod zatížením se může od typicky určované hodnoty lišit. Ta je totiž přímo určována z hodnoty reziduálního napětí vyvolaném na povrchu materiálu. K výrazným rozdílům však dochází pouze při značném návratu deformace způsobeném její elastickou složkou. Děje se tak při extrémně nízkých hodnotách poměru E/H . [11]

Měření modulu pružnosti vychází ze vztahu pro kontaktní tuhost (S). Konkrétně jde o modul pružnosti redukovaný (také efektivní, E_r)

$$S = \frac{2}{\sqrt{\pi}} E_r \sqrt{A} \quad (4.7)$$

Po vyjádření:

$$E_r = \frac{S\sqrt{\pi}}{2\sqrt{A}}, S = \frac{dP}{dh} \quad (4.8)$$

Tento redukovaný modul pružnosti zahrnuje fakt, že při deformaci vzorku dochází také k deformaci indentačního hrotu [11].

Redukovaný modul pružnosti lze vyjádřit i z rovnice závislosti modulů pružnosti materiálu na Poissonově součiniteli (ν):

$$\frac{1}{E_r} = \frac{1 - \nu^2}{E_{it}} + \frac{1 - \nu_i^2}{E_i} \quad (4.9)$$

kde E_{it} a ν jsou hodnoty vztahující se k materiálu vzorku a E_i a ν_i hodnoty vztahující se k materiálu indentačního hrotu. Vyjádřením E_{it} tak dostaneme hodnotu modulu pružnosti materiálu nejbližší k hodnotě Youngova modulu pružnosti (E). [10, 11] Pro výstup z měření nanoindentace je tak vhodné použít hodnotu E_{it} , která je označována jako indentační modul.

4.2.1 Funkce kontaktní plochy

Již bylo zmíněno, že kontaktní plocha indentačního hrotu je důležitým parametrem pro následující výpočet a její odvození tak vyžaduje vysokou přesnost měření, při kterém může dojít k výrazným odchylkám, a to nejen z důvodu odchylek hrotu od ideálního tvaru, způsobených např. obroušením materiálu hrotu. Funkci kontaktní plochy je tak nutné aproximovat uvážením několika dalších faktorů, kterému se Oliver a Pharr rovněž věnovali. [11]

V první řadě jde o zohlednění poddajnosti zatěžovacího aparátu, protože ta podstatně ovlivňuje výslednou hloubku vpichu. Jelikož hodnota celkové deformace závisí na součtu deformací obou medií, hodnota celkové poddajnosti tak analogicky musí být rovněž jejím součtem. Proto platí:

$$C = C_f + C_s \quad (4.10)$$

kde C je celková poddajnost, C_f je poddajnost zatěžovacího aparátu a C_s poddajnost materiálu testovaného vzorku. [11] Jak je známo, poddajnost je převrácenou hodnotou tuhosti, pro C_s lze tedy z rce 4.7 vyjádřit, že platí:

$$C = C_f + \frac{\sqrt{\pi}}{2E_r\sqrt{A}} \quad (4.11)$$

4. NANOINDENTACE

Pokud známe hodnotu C_f , funkci kontaktní plochy pak lze vyjádřit pouze funkcí hloubky vpichu. Pro Berkovichův hrot platí:

$$A(h_c) = 24,5h_c^2 \quad (4.12)$$

Alternativně pokud známe funkci kontaktní plochy, můžeme vyjádřit hodnotu C_f . Kombinací těchto rovnic (4.11 a 4.12) lze iterovat a následně určit oba parametry. K přesné iteraci C_f bohužel dochází pouze při větší kontaktní ploše, k jejíž zvětšení dojde až po zatlačení hrotu do hlubších povrchových vrstev, kde je nižší poddajnost vzorku C_s . Poddajnost zatěžovací soustavy C_f naopak s rostoucí hloubkou roste. [11]

Rozměrově větší indentační vpichy mají v ohledu nerovností povrchu a následného rizika vzniku podstatných odchylek měření velkou výhodu. Rozdíly kontaktní plochy od plochy ideální jsou skoro zanedbatelné. Je tak možné uvažovat plochu ideální jako kontaktní. (Pro ideální plochu platí rce 4.12) [11]

To ovšem také znamená, že hodnoty parametrů pro mělké indenty a pro indenty malých rozměrů mohou být výrazně zkresleny. Další problém může vzniknout, pokud není hrot dostatečně ostrý. V iteraci pak roste riziko chyb a může se stát, že nebude vůbec možné najít reálné řešení pro hledané konstanty. Pro přesnější výpočet se proto vzorec upravuje o další konstanty a uvažuje se následující řada:

$$A(h_c) = C_0h_c^2 + \sum_{n=1}^8 C_nh_c^{1/n} \quad (4.13)$$

$$A(h_c) = C_0h_c^2 + C_1h_c^1 + C_2h_c^{1/2} + C_3h_c^{1/4} + \dots + C_8h_c^{1/128} \quad (4.14)$$

kde konstanty $C_0 - C_8$ upravují geometrický popis kontaktní plochy indentačního hrotu. První člen ($C_0 = 24,5$) popisuje plochu jehlanu nebo kužele (ideální Berkovichův hrot). Druhý člen popisuje plochu rotačního paraboloidu, který lze při malých hloubkách aproximovat do tvaru koule. Ostatní členy vyjadřují geometrické odchylky hrotu od ideálního stavu způsobené poškozením nebo otupením hrotu. [11]

Joslin a Oliver poté přišli se zásadním a novým poznatkem pracujícím s možností E a H nezávisle na indentační hloubce a kontaktní ploše, pomocí poměru P/S^2 . Lze tak využít vztahu:

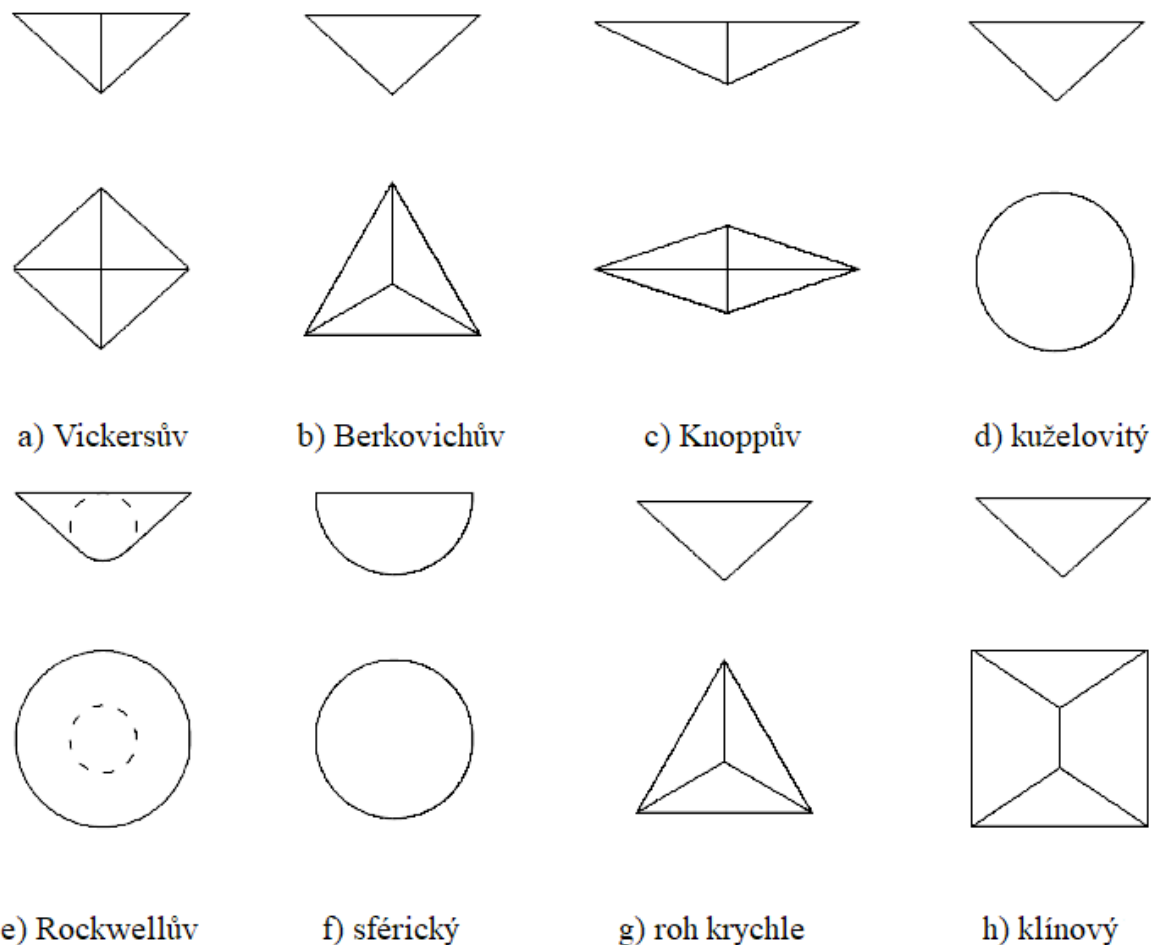
$$\frac{P}{S^2} = \frac{\pi H}{(2\beta)^2 E_r^2} \quad (4.15)$$

kde β je opravný faktor. β závisí na zvoleném typu indentačního hrotu a typu testovaného materiálu. Nejčastěji se pohybuje v mezích $1 \leq \beta \leq 1,05$. Tento vzorec je výhodné využít pro determinaci charakteristik vzorku s nerovnoměrným povrchem nebo při tvorbě pile-up efektu, při kterém dochází k deformaci vrstev materiálu v podobě stlačování směrem k vrcholu hrotu. Pro jeho užití je však nutné znát jednu z charakteristik E_r a H. Touto metodou se poddajnost C_f určí tak, že je iterací měněna dokud není hodnota P/S^2 konstantní. [12]

4.3 Indentační hroty

Indentační hrot je jedním z nejdůležitějších prvků každého nanoindentoru. Pro každý experiment je nutné užít správný typ hrotu. Výběr takového hrotu závisí zejména na typu parametrů, k jejichž zjištění hodláme nanoindentor použít. Dalším důležitým měřítkem je i materiál vzorku, který indentujeme. Z důsledku jejich rozdílných vlastností můžeme získat úplně jiné výstupní parametry. Na základě tohoto faktu se indentační hroty dělí do dvou základních skupin – na hroty ostré a tupé. (Obr. 4.3) [9] Ostré hroty ve vzorku vytváří typicky rozeznatelné plastické deformace, které jsou vhodné k exaktnímu určení materiálových charakteristik indentačního modulu pružnosti (E_{it}) a indentační tvrdosti (H_{it}) nebo k užití při testu lomové houževnatosti [14]. Typickými hroty řadícími se do této skupiny jsou Vickersův, Berkovichův, Knoopův a kuželovitý. (Obr. 4.3) [9] Naopak hroty tupé vytvářejí ve vzorku zřetelnější přechod mezi elastickou a plastickou deformací. [14] Proto jsou vhodné například pro určení meze pružnosti materiálů. Mezi hroty tupé patří například Rockwellův, sférický, roh krychle nebo klínový [9]. (Obr. 4.3) Pro mikromechanickou analýzu zubní skloviny, která je předmětem této práce byl využit hrot "roh krychle".

4. NANOINDENTACE



Obrázek 4.3: Indentační hroty: ostré a–d), tupé e–h) [14]

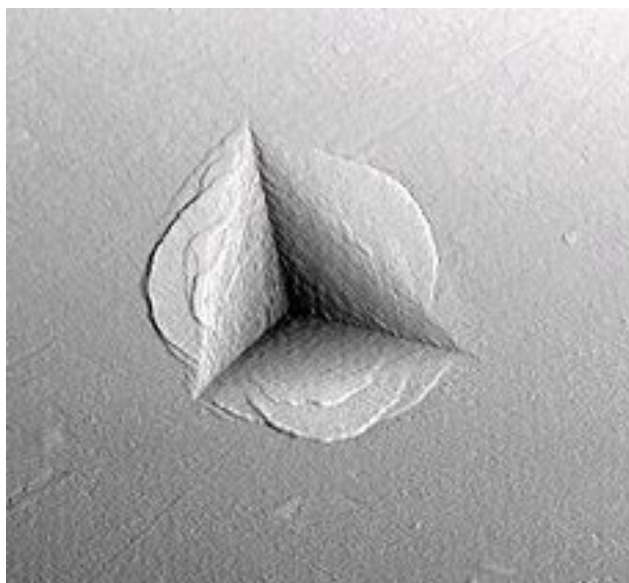
Jednotlivé typy hrotů se liší svým geometrickým tvarem (jehlan, kužel, koule, apod.) a velikostí vrcholového úhlu hrotu (Θ). Liší se i parametry konstant užívané ve výpočtu (α, β, ϵ). [14] Nejběžnějším materiálem pro výrobu indentačních hrotů je technický diamant. Jelikož jde o anizotropní materiál krystalické struktury, mohou být jeho vlastnosti ovlivněny různou orientací krystalické mřížky. Jeho průměrná hodnota modulu pružnosti je v rozmezí 800–1200 GPa. [9] Poissonův součinitel (ν) je roven 0,07. Dalšími běžně používanými materiály jsou například křemen, wolfram, ocel nebo keramika. Výhodou diamantu je především tvrdost, tepelná vodivost a inertnost. Nevýhodou je již zmíněná anizotropní struktura. [16]

4.3.1 Indentační hrot – roh krychle

Indentační hrot "roh krychle" má tvar trojbokého rovnostranného jehlanu. Jeho rovnice kontaktní plochy je:

$$A(h_c) = 3\sqrt{3}h_c^2 \tan^2 \Theta \quad (4.16)$$

Hodnota poloviny vrcholového úhlu Θ je 35,26 deg. Koeficient $\alpha = 0,75$, opravný faktor $\beta = 1,034$. Je vhodný k měření materiálových charakteristik E_{it} a H_{it} , vrypovým zkouškám nebo k determinaci lomové houževnatosti. Výhodou je snadno definovatelná geometrie hrotu a zřetelný, dobře viditelný přechod mezi elastickou a plastickou deformací vzorku. 4.4 [14]



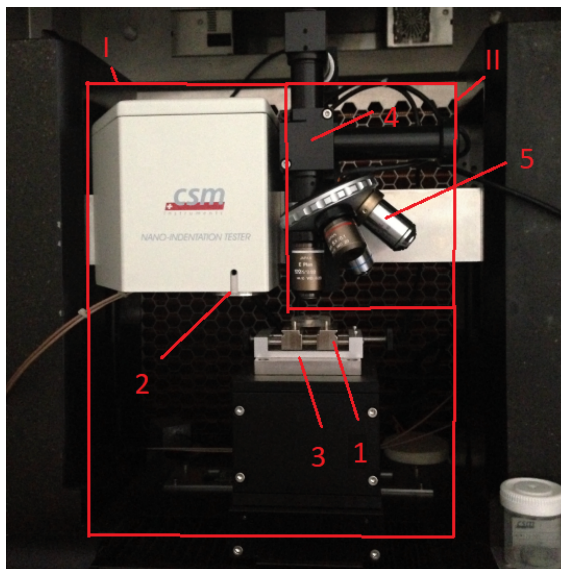
Obrázek 4.4: Indentační hrot roh krychle. [14]

4. NANOINDENTACE

4.4 Indentační přístroj CSM

K nanoindentaci vzorků pro tuto práci byl využit indentační přístroj CSM Instruments Nano Hardness Tester (CSM Instruments SA, SUI; *pozn.: dnes již firmu vlastní Anton Paar GmbH, AUT*). Přístroj se skládá ze tří základních částí. První část (I) slouží k indentaci vzorku a skládá se z držáku indentačního hrotu (2), držáku vzorku (1) umístěném na pohyblivé plošině (3). Tato plošina zajišťuje všesměrný pohyb vzorku mezi indentačním hrotem a mikroskopem. Druhá část (II) umožňuje observaci vzorku pomocí optického mikroskopu (5) se čtyřmi objektivy různých zvětšení (50x, 250x, 500x a 1000x). Obě části jsou pevně upevněny v zatěžovacím rámu (4), který zajišťuje pevné umístění. Navíc jsou umístěny ve speciální klimatické komoře, která (při potřebě) zajišťuje stálé teplotní a vlhkostní podmínky. Třetí část je sestavena z řídicí jednotky připojenové k osobnímu počítači s monitorem a nainstalovaným softwarem umožňujícím ovládání celého přístroje. [15]

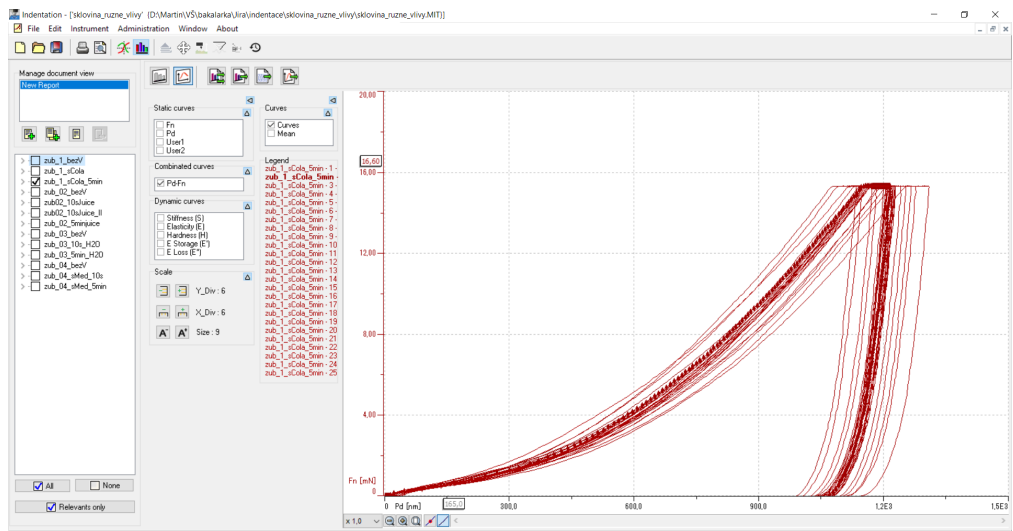
Rozsah aplikovatelného zatížení je 0,1–500 mN, s rozlišením 0,04 μm . Maximální rychlost zatěžování 10 N/min. Maximální možná hloubka vpichu 200 μm s rozlišením 0,04 nm.



Obrázek 4.5: Indentační přístroj CSM, část I a II., držák vzorku (1), držák indentačního hrotu (2), pohyblivá plošina (3), zatěžovací rám (4), mikroskop (5)

Přístroj umožňuje dva hlavní zatěžovací módy. První způsob je klasický, kde je určenou rychlostí nárůstu zatížení (mN/s) vzorek zatěžován na definované maximální zatížení (mN) a poté zcela odtížen. Během měření stanovuje kontaktní tuhost a z následně vykreslené indentační křivky se dopočítá průměrná hodnota požadované materiálové charakteristiky. Druhým způsobem je technika kontinuálního měření kontaktní tuhosti (CSM – Continuous stiffness measurement), kdy je vzorek zatěžován dynamicky oscilující silou. Celý cyklus se skládá ze sekundárních cyklů a umožňuje stanovit závislost měřených materiálových charakteristik na kontaktní hloubce (h_c). Pro tento experiment byla použita varianta první. [15]

Při měření se náležitě upravený vzorek pečlivě umístí do držáku. Poté se přemístí pod mikroskop a ve specializovaném softwaru se najde pomocí mikroskopu místo vhodné pro indentaci. Poté se nastaví parametry měření - zatěžovací mód, program zatěžování (síla a rychlost zatěžování, počet a rozmístění vpichů, apod.) Před každým měřením je potřeba provést kalibrační vpich, při kterém je s asistencí počítače nastavena správná citlivost měření. Po takovém kalibračním vpichu se vybere místo, ve kterém se bude měřit. Následně počítač provede nastavený zatěžovací program o jednotlivých cyklech a průběh indentační křivky se pro každý indent zaznamená do programu. Nakonec se z těchto hodnot vypočítají potřebné materiálové charakteristiky.



Obrázek 4.6: Software Nanoindentation 5.16 s výsledky jednoho měření – 25 indentů).

5 AFM

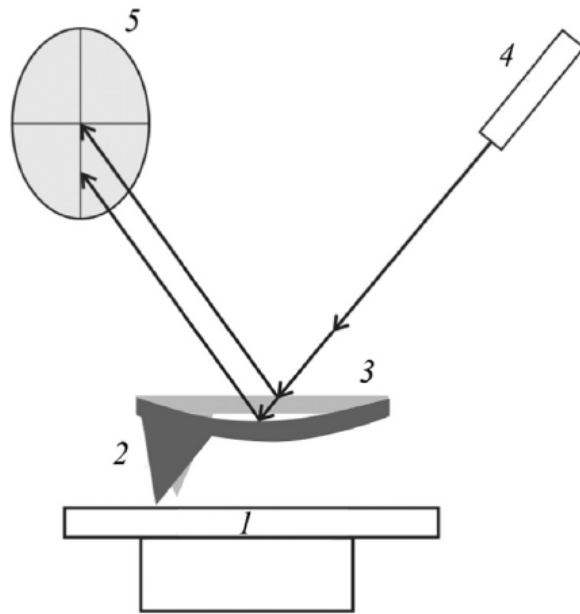
AFM (Atomic force microscopy, česky mikroskopie atomárních sil) je technika, sloužící k trojrozměrnému grafickému zobrazování morfologie a topografie povrchu na nanoúrovni [21, 17]. Poprvé ji realizovali G. Binnig, C. Quate a Ch. Gerber v roce 1986. První zmíněný je dokonce držitelem Nobelovy ceny za fyziku za vynález přechůdce této techniky – vzorkovacího tunelového mikroskopu (STM, Scanning tunnelling microscope.) [29] Stejně jako metoda nanoindentace je tak AFM vhodná k testování malých vzorků biologických tkání, jakou jsou i zuby. [22]

5.1 Princip metody

Princip metody spočívá v pohybu ohebného konzolového nosníku (cantilever) s ostrým hrotem na jeho konci nad pečlivě fixovaným vzorkem. Tyto pohyby jsou realizovány piezometrickým skenerem, který řídí pohyb hrotu v rastrové síti. Přesnost pohybu dosahuje až řádu desetin nanometrů. [21] Pohyb nosníku je následně skenován laserovým paprskem, jehož odraz je promítán na fotodiodu, která paprsek zaznamenává a předává data počítači, který je následně zpracovává a vytváří 3D obraz. (Obr. 5.1) AFM bývá obvykle umístěn na antivibračním stole a řízen externí výpočetní jednotkou. [17]

Nevýhodou této metody je velmi nízká rychlost skenování, při kterém navíc dochází k teplotním změnám, které celé měření ovlivňují. Z toho důvodu je možné skenovat pouze velmi malé plochy, standartně o rozměrech (200x200 mikrometrů). [29] To zapříčiňuje i špatnou prostorovou orientaci na povrchu vzorku.

V kombinaci s poznatky mikromechaniky lze AFM využít i k výpočtu mat. charakteristik ze zatěžovací síly hrotu [26]. (Podrobněji v kap. 5.2.) To umožňuje určení vlastností, které pak mohou sloužit dalším účelům – například k určení míst s oslabenými vlastnostmi materiálů. To je velmi užitečnou funkcí jak pro vývoj materiálů, tak pro zdravotnictví. Typicky lze zaměřit morfologické změny tkáně oslabené nemocí nebo naopak pozitivním účinkem léků. [24]



Obrázek 5.1: Princip zobrazení AFM. 1 – Povrch vzorku, 2 – Hrot. 3 – konzolový nosník – cantilever, 4 – Laser, 5 – Fotodioda [23]



Obrázek 5.2: AFM – DME, DEN – použitý k zobrazení povrchu skloviny v této práci.

5. AFM

5.2 Metody měření

5.2.1 Kontaktní mód

První, tzv. kontaktní mód spočívá v mírném zatlačování zkoumacího hrotu do povrchové vrstvy vzorku. Následným posunem po povrchu se zaznamenávají jeho nerovnosti. Při tomto módu však dochází k poškození povrchu vrstvy i hrotu. Při zvýšené vlhkosti se tedy nabízí využít spíše mod kontaktní, který je schopný měřit i ve vodou napuštěném materiálu. Hodí se tak pro testování biologických vzorků tkání. [24]

5.2.2 Bezkontaktní mód

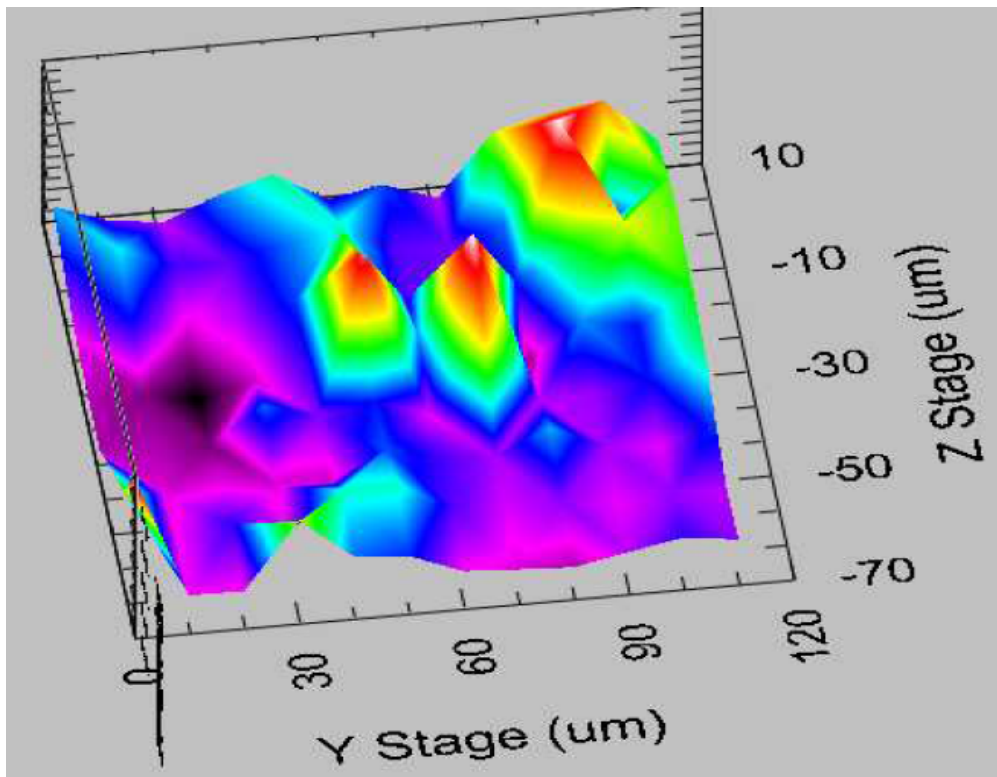
Druhou možností je mód bezkontaktní. Při něm je nosník s hrotem rozvibrován na určenou frekvenci a amplitudu. Nosníkem je pohybováno nad povrchem vzorku. Při přiblížení k povrchu je kmitání hrotu ovlivněno van der Waalsovými silami působícími mezi atomy nebo molekulami látek, z kterých je povrch tvořen. [22] Tyto atomární síly v řádu až několika nanonewtonů způsobují změnu amplitudy kmitání nosníku. Piezometrický skener reaguje na změny amplitudy a mění vzdálenost kmitajícího hrotu od vzorku tak, aby byla při pohybu hrotu udržena výchozí amplituda. To umožňuje udržovat konstantní vzdálenost od povrchu vzorku a z pohybu hrotu tak vykreslit obraz povrchu. Tento mód bohužel není tak přesný a jeho přesnost může být ovlivněna zvýšenou vlhkostí vzorku. [24]

5.2.3 Tapping mód

Alternativním řešením při zvýšené vlhkosti je "tapping" mód, který je v podstatě průnikem kontaktního a bezkontaktního módu. Hrot osciluje a dotýká se povrchu ("tapping"). Při pohybu je obdobně jako u módu bezkontaktního udržována frekvence a výchylka, což umožňuje následné vykreslení povrchu. To vede ke zvýšené přesnosti měření, avšak za cenu porušení vzorku. Toto porušení je však výrazně menší, než u módu kontaktního. [29]

5.2.4 Měření materiálových charakteristik

Metodu AFM je také možné použít pro indentaci vzorku, kde hrot na konci cantileveru funguje stejně jako indentační hrot. Pomocí síly P , kterou působí hrot na povrch vzorku, indentační hloubky určené z pohybu hrotu a materiálových charakteristik cantileveru lze určit materiálové charakteristiky jednotlivých bodů povrchu vzorku. [24] Ze síly P a vzdálenosti hrotu od vzorku lze sestavit P-h křivku a následně odvodit jeho materiálové charakteristiky E_{it} a H_{it} obdobně jako pro nanoindentaci. [28] (Rce. 4.5–4.9) To umožňuje například mapping povrch vzorku v závislosti na těchto charakteristikách. (Obr. 5.3) Nicméně přístroj AFM, který byl použit k tomuto měření, tuto možnost neposkytuje.



Obrázek 5.3: Barevný mapping modulu pružnosti vzorku. [19]

6 Mikromechanická analýza vlivu tekutin

6.1 Přehled dosaženého poznání

Sklovina má, jak již bylo popsáno v kap. 3.3, anizotropní a nehomogenní strukturu [1, 5]. Z toho vyplývá, že i hodnoty měření jejích materiálových vlastností udávané různými autory se mohou výrazně lišit. Měření závisí na mnohých faktorech. Příkladem může být původ vzorků (muž/žena, věk, apod.) nebo orientace indentačního hrotu při indentaci vzhledem k orientaci sklovinných prizmat. To dokazují i studie, které prokázaly vyšší hodnoty naměřených parametrů při orientaci hrotu rovnoběžně s orientací sklovinných prizmat [31]. Dále měření závisí na zvolené metodě testování nebo na síle a rychlosti zatěžování/odtěžování. Při testování vlivu tekutin navíc závisí i na složení tekutin samotných nebo na době jejich působení na sklovinu. Nicméně většina autorů se celkem shoduje - indentační modul pružnosti (E_{it}) je udáván okolo 80–85 GPa [4]. V případě indentační tvrdosti (H_{it}) je to okolo 3–5 GPa [30].

Hodnoty naměřené při testování vlivu tekutin vykazují výrazné rozdíly. Ve většině případů autoři udávají pouze hodnoty tvrdosti, a to v KHN (Knoop Hardness Number) nebo VHN (Vickers Hardness Number) – v závislosti na přístroji užitém k měření. Přehled výsledků jejich měření je uveden v tabulce 6.1.

Vliv coly testuje např. C. Machado a kol. na nanoindentoru MTS Systems s Berkovichovým hrotem [32]. H. Devlin a kol. použili stejný přístroj, který byl použit pro indentaci vzorků analyzovaných v této práci – CSM NHT, s Vickersovým hrotem a rychlostí zatěžování/odtěžování 1N/min na až maximální hodnotu 500 mN [34]. Wonghanktee a kol. na Vickersově indentoru testují colu a pomerančový džus. Zvláštností tohoto měření bylo vystavení cyklickému zatížení, kde byl zub vždy namočen na 5 s do tekutiny a na 5 s z tekutiny vyjmut, s celkovým počtem 10ti cyklů pro každé měření. [36] Ren a kol. na Knoopově indentoru testují účinky pomerančového džusu a vody. Měření proběhlo po pěti dnech, kdy byl vzorek vystaven vždy ráno 20 min působení a následně uložen na zbytek dne do slin. [33]

Všichni zmínění autoři však poukazují na výraznou degradaci povrchové vrstvy skloviny z důvodu působení kyselého pH na vzorek.

Tabulka 6.1: Výsledky měření jiných autorů [32]–[36]

E_{it}						
autor	bez vl. [GPa]	tek.	doba půs. [min]	s vl. [GPa]	pokles [%]	pH tek.
Machado	111,6	cola	30	62,6	43,9	2,7
Machado	115,2	džus	30	92,1	20,1	3,5
Machado	117,9	voda	30	107,9	8,5	8,0
H_{it}						
autor	bez vl. [GPa]	tek.	t půs. [min]	s vl. [GPa]	pokles [%]	pH tek.
Machado	4,62	cola	30	1,28	72,3	2,7
Devlin	4,48	cola	60	4,15	7,4	2,5
Devlin	4,48	cola	120	4,18	6,8	2,5
Tantbirojn	**3,41	cola	4	**3,00	12,0	2,6
Tantbirojn	**3,41	cola	8	**2,41	29,2	2,6
Wonghanktee	*2,67	cola	10x0,17	*1,69	37,0	2,7
Machado	5,54	džus	30	3,18	42,6	3,5
Wonghanktee	*2,61	džus	10x0,17	*2,45	6,1	3,8
Ren	**3,38	džus	5x20	**0,54	84,4	3,8
Machado	4,35	voda	30	4,28	1,6	8,0
Devlin	4,45	voda	60	4,42	0,7	7,5
Devlin	4,45	voda	120	4,41	0,9	7,5
Ren	*3,24	voda	5x20	*3,14	3,0	7,0

Výsledky indentační tvrdosti v tabulce označené hvězdičkou jsou přepočítané z tabulkových hodnot pro VHN (*) nebo KHN (**) a mohou se od hodnot běžně uváděných hodnot v GPa mírně lišit [37].

6.2 Příprava vzorků pro mikromechanickou analýzu

Pro mikromechanickou analýzu zubní skloviny byly použity čtyři stoličky (se třemi kořeny) bez viditelných povrchových defektů. Vzorky byly vloženy do umělé formy a k jejímu dnu přichyceny modelínou. K zalití vzorků byla použita epoxidová pryskyřice (Struers Epo-Fix), která byla připravena smícháním vlastní pryskyřice a tvrdidla v poměru doporučeném výrobcem. Vzorek byl poté odložen k vytvrdnutí.

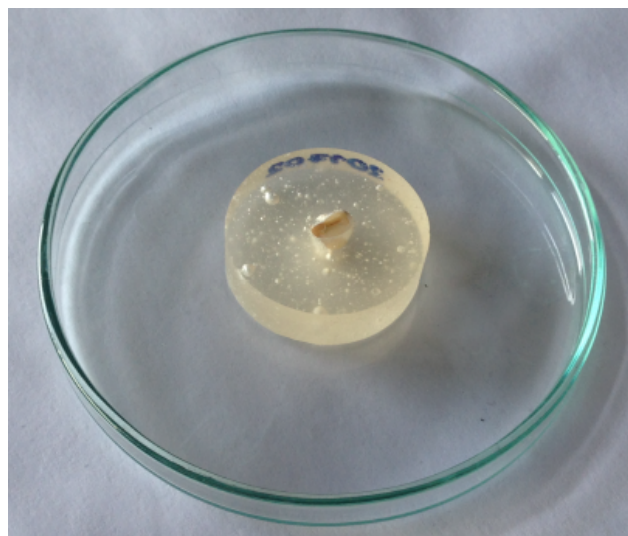
Po vytvrdnutí (1–2 dny) byly vzorky vyjmuty z formy a následně nařezány na kotoučové řezačce s diamantovým kotoučem (ATM Brillant 2010, Rakousko, Obr. 6.1a), chlazeným vodou. Na řezačce byly každým ze vzorků vedeny dva řezy, kolmo k podélné ose vzorku zubu. Nejprve na jedné straně kus před okusnou plochou (aby mohl být vzorek následně co nejnáze vyleštěn až na povrch zubní skloviny) a na druhé straně tak, aby byl cca 10–15 mm vysoký. Vzorky byly řezány rychlostí cca 700–1000 otáček za minutu.

Pak byly vybroušeny a vyleštěny na leštičce (Struers LaboPol–5, USA, Obr. 6.1b) pomocí křemičitokarbidových brusných papírů různých hrubostí (600, 1200 a 2000) a za přívodu vody, která vymílá vybroušené nečistoty z povrchu papíru. Pak byl brusný papír vyměněn za plátno s diamantovou pastou (Struers DP–Spray P), na kterém byly vzorky vyleštěny.

Vyleštěné vzorky byly nakonec vnořeny na několik minut do čističky, kde byly vyčištěny od zbytku nečistot v destilované vodě. Pro čištění byla využita ultrazvuková čistička (Notus – Powersonic PS03000A, SK). Takto byly připraveny celkem čtyři vzorky (každý z jedné stoličky) výšky 10–15 mm (Obrázek 6.2).



Obrázek 6.1: a) Řezačka. b) Leštička



Obrázek 6.2: Připravený vzorek.

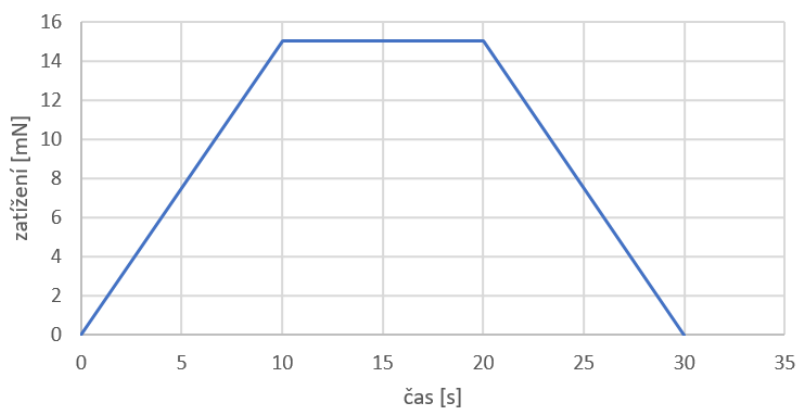
6. MIKROMECHANICKÁ ANALÝZA VLIVU TEKUTIN

6.3 Metodologie měření

6.3.1 Měření mikromechanických vlastností

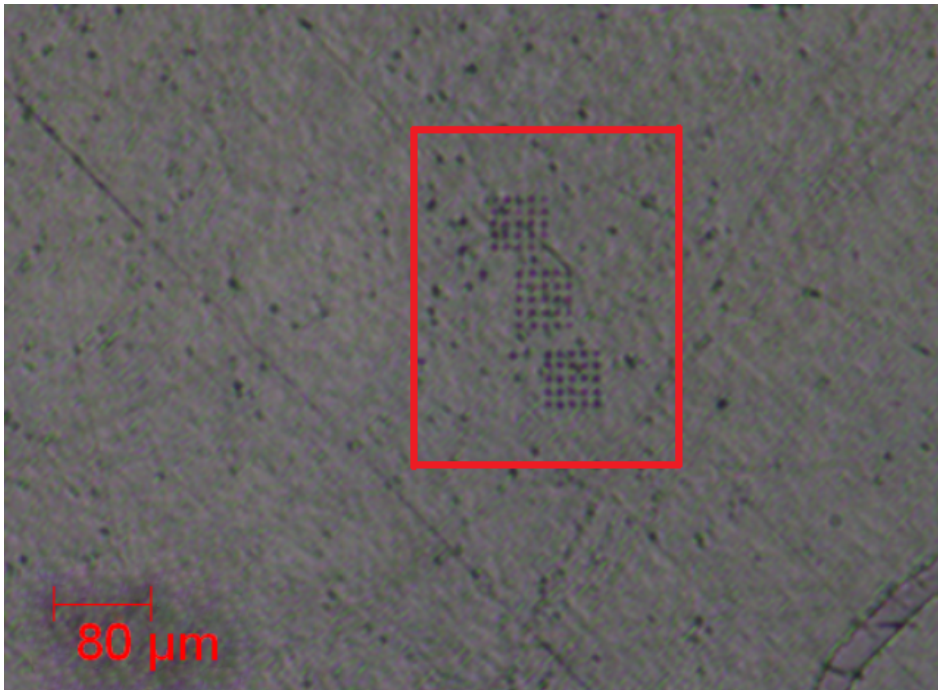
První část analýzy byla zaměřena na nanoindentaci připravených vzorků a zjištění jejich materiálových charakteristik. Nanoindentace byla prováděna pomocí indentačního přístroje CSM NHT (Nano Hardness Tester; CSM Instruments SA/Anton–Paar, AUT), použitím ind. hrotu "roh krychle". (kap. 4.3 a 4.4). Vzorek byl upevněn do nanoindentoru a pod mikroskopem byla vybrána vhodná oblast s co nejlépe vyleštěným povrchem bez výrazných heterogenit a rýh. V této oblasti bylo provedeno měření ve třech fázích. První fáze na neporušeném vzorku – bez vlivu externích látek a poté dvě další – s vlivem tekutiny, ve kterých bylo na místo vyleštěné zubní skloviny kápnuto 20 μl zvolené tekutiny. V druhé fázi byl vzorek vystaven působení tekutiny po dobu 10 sekund a ve třetí po dobu 5 minut. Po uplynutí dané doby byla tekutina vždy řádně setřena z povrchu a vzorek indentován. Všechny tři fáze měření proběhly co nejlépe sobě, aby byly výsledky co nejméně ovlivněny polohou jednotlivých indentů.

K tvorbě každého indentu byl nastaven stejný zatěžovací cyklus s lineární zatěžovací i odtěžovací větví. Vzorek byl zatížen vždy na maximální hodnotu 15 mN, po dobu deseti sekund byla držena konstantní hodnota zatížení a poté byl zcela odtížen. Rychlost zatížení i odtížení byla 90 mN/min. (Obr. 6.3) Délka jednoho indentačního cyklu byla tedy 30 sekund.



Obrázek 6.3: Graf zatěžovacího cyklu.

Pro analýzu mikromechanických vlastností byly na každém vzorku indentovány 3 matice po 5x5 indentech. Pro každou matici tedy celkem 25 indentů, tři matice pro měření každého vzorku. (Obr. 6.4) Před každým měřením byl vždy řádně proveden kalibrační vpich.



Obrázek 6.4: Měření jednoho vzorku – 3 matice o 5x5ti indentech.

Pro každý vzorek byl aplikován stejný postup, kromě faktu, že byly vystaveny účinku rozdílných tekutin. Pro vzorek 1 byla použita cola, pro vzorek 2 stoprocentní pomerančový džus, pro vzorek 3 čistá voda a pro vzorek 4 čaj s medem.

Čaj pro vzorek 4 byl připraven následující cestou: Nejprve byla do hrnku nalita vařící voda a do ní přidán sáček s ovocným čajem (příchuť zázvor a citron). Sáček byl louhován po dobu sta sekund a následně vyjmut. Zvážený čaj měl 196 g. Poté bylo přidáno množství medu o váze 24 g. Celková hmotnost tedy 220 g. Poté byl čaj o množství 20 μl kápnut na povrch vzorku. V tu chvíli byla změřena jeho teplota – 58,4 stupňů Celsia a vzorek byl indentován.

Výstupem tohoto měření je soubor indentačních křivek, z jejichž dat byly metodou Oliver & Pharr (kap. 4.2) dopočítány materiálové charakteristiky [11].

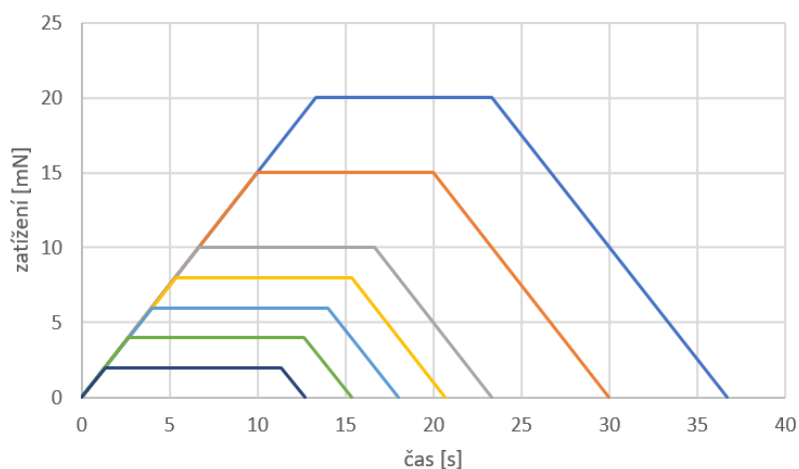
6. MIKROMECHANICKÁ ANALÝZA VLIVU TEKUTIN

6.3.2 Měření degradace povrchu skloviny

Druhá část analýzy byla zaměřena na observaci povrchu degradovaného vlivem tekutin. K ní byly použity snímky povrchu vzorků z optického mikroskopu nanoindentoru, které byly vytvořeny v propojení s osobním počítačem již při nanoindentaci.

Z předchozího měření bylo usouzeno, že nejhorší účinky na vlastnosti zubní skloviny má cola. V návaznosti na toto zjištění bylo provedeno druhé nanoindentační měření na novém vzorku, určené ke zjištění hloubky degradované vrstvy vlivem působení coly. Toto měření bylo složeno ze dvou částí. Nejdříve byl vzorek bez vlivu tekutiny indentován sedmi zatěžovacími cykly, s lineární zatěžovací i odtěžovací větví, avšak s rozdílnými hodnotami maximálního zatížení: 20, 15, 10, 8, 6, 4 a 2 mN. Před odtižením byla držena konstantní hodnota maximálního zatížení po dobu deseti sekund. (Obr. 6.5) Z indentační křivky byla ke každé síle přiřazena odpovídající hloubka vpichu. V druhé části byl vzorek vystaven působení coly na dobu 5 minut, po jejichž uplynutí byla cola opět důkladně setřena, vzorek indentován stejným způsobem a pod mikroskopem byly vytvořeny snímky důležité pro následné vyhodnocení.

Poté byl použit pH metr (Hanna Instruments, USA) pro zjištění pH použitých tekutin. Nakonec byl použit přístroj AFM (DME, DEN) pro observaci povrchu vystavenému účinkům coly. V bezkontaktním módu bylo vytvořeno několik snímků povrchu v různých rozlišeních.

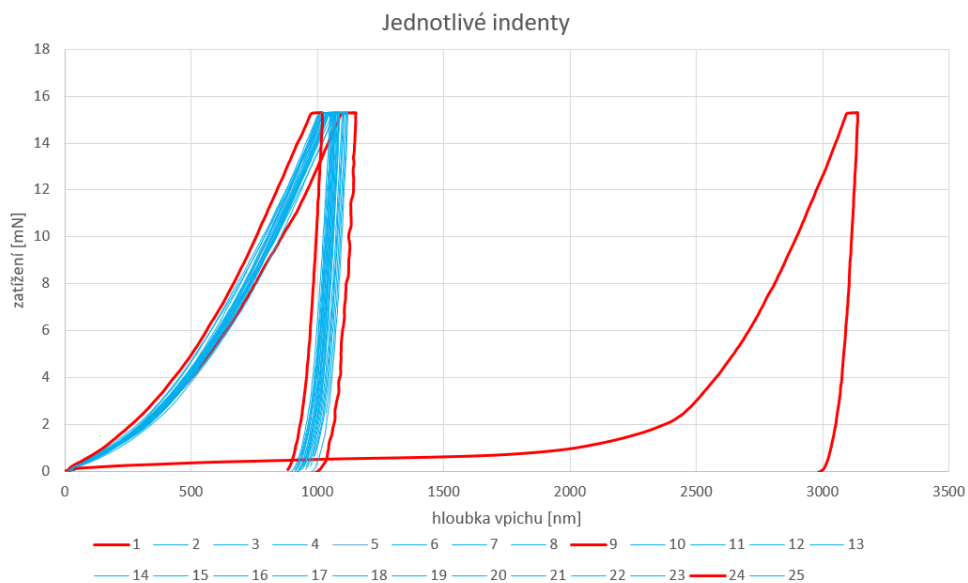


Obrázek 6.5: Graf zatěžovacího cyklu.

7 Vyhodnocení výsledků

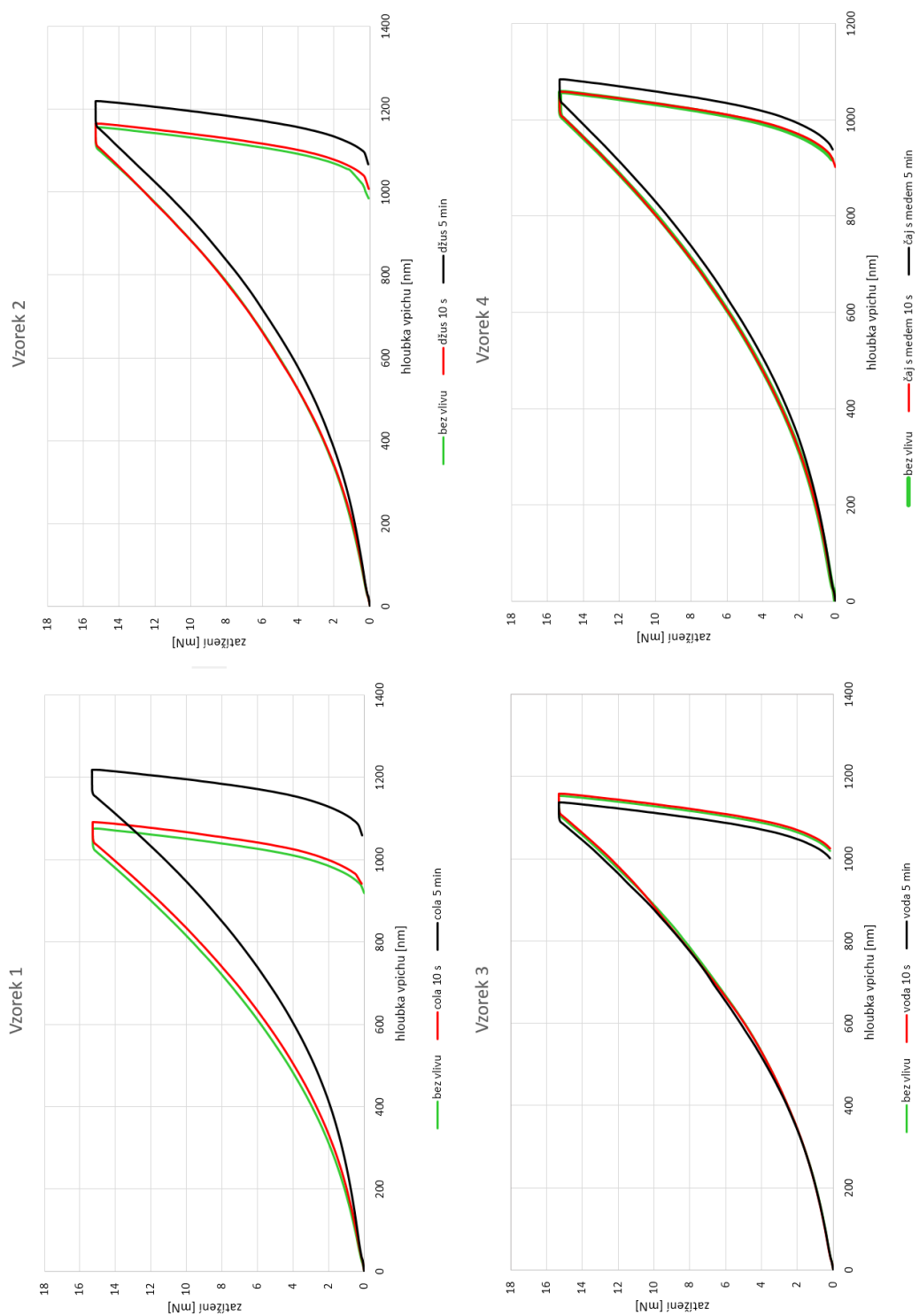
7.1 Měření mikromechanických vlastností

První část analýzy byla zaměřena na výpočet materiálových charakteristik, zvláště pak rozdíly jejich hodnot vlivem působení tekutin. Ze statistického souboru každého vzorku bylo vyřazeno několik indentů, které nereprezetují skutečné vlastnosti skloviny. Tyto indenty byly vyřazeny na základě zřetelně viditelných odlišností indentačních křivek. Tyto odlišnosti se nejčastěji projevují z důvodu vytvoření indentu v místě trhliny nebo jakékoliv jiné nehomogenity materiálu vzorku. První zmíněný jev lze typicky pozorovat u indentu č. 24. Dochází k razantnímu zvýšení hloubky vpichu při stejném zatížení vzorku. Takové indenty musí být ze statistického souboru vyřazeny, neboť by byla vnesena nepřesnost do odvození průměrných hodnot materiálových charakteristik, které na indentační hloubce závisí. Takovými charakteristikami jsou jak indentační modul pružnosti tak indentační tvrdost. (kap. 4.2)



Obrázek 7.1: Vyloučení indentů necharakterizujících chování materiálu.

7. VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ



Obrázek 7.2: Průměrné indentační křivky pro vzorky 1–4.

Na obrázku 7.2 jsou znázorněny čtyři grafy průměrných indentačních křivek pro vzorky 1–4. Na každém grafu jsou tři křivky, jedna pro každou fázi působení tekutiny na povrch vzorku. První křivka odpovídá stavu neovlivněného vzorku a zbylé dvě stavu po působení deseti sekund a pěti minut. Na každém z grafů je patrná změna těchto křivek v závislosti na době působení tekutiny. Srovnáme-li stav bez vlivu a vliv po dobu deseti sekund, změny nejsou příliš patrné. Pro vliv působení po dobu pěti minut jsou však změny mnohem zřetelnější.

Důležitým faktorem ovlivňujícím mikromechanické vlastnosti je kyselost prostředí, ve kterém se zub nachází. Součástí analýz bylo i změření hodnoty pH použitých tekutin pomocí mobilního pH metru Hanna Instruments. U každé tekutiny bylo měření provedeno na pěti vzorcích. Výsledná hodnota tvoří aritmetický průměr z naměřených hodnot. (Tab. 7.1)

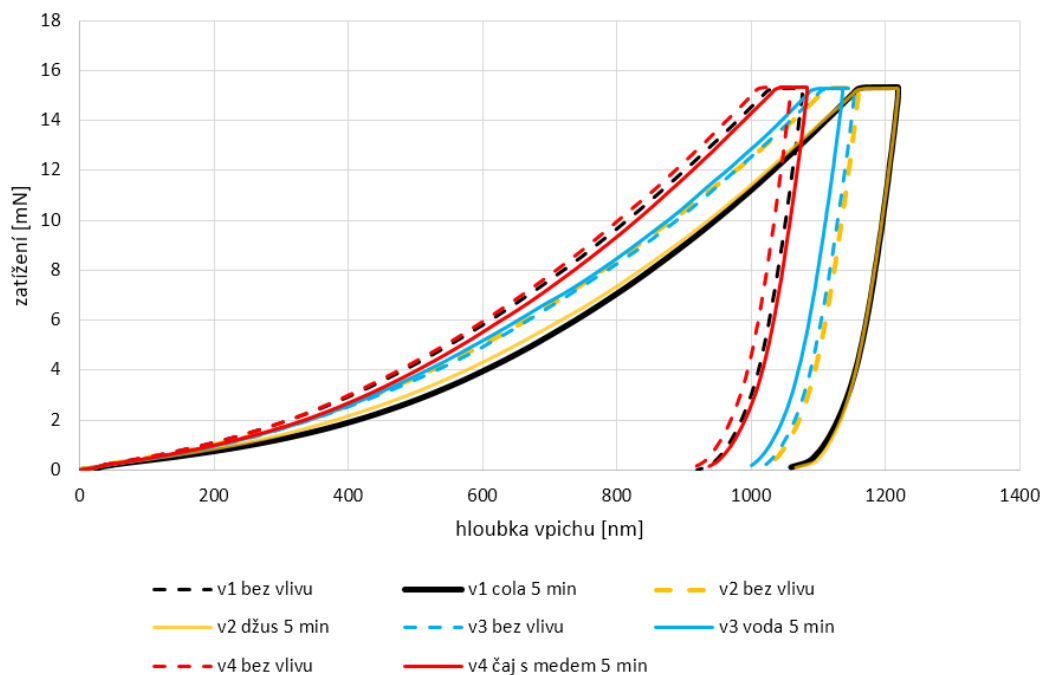
Tabulka 7.1: Hodnoty pH a obsah cukru tekutin

vzorek	tekutina	pH	obsah cukru [g/100 ml]
1	cola	2,74	11,20
2	pomerančový džus	3,97	10,00
3	voda	7,74	0,00
4	čaj s medem	4,58	8,90

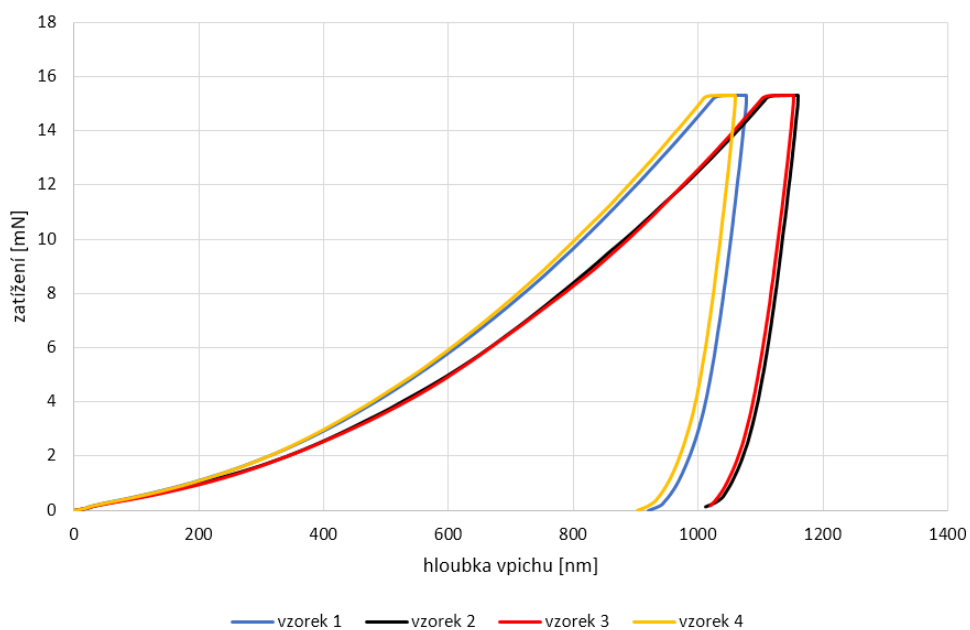
Na obrázku 7.3 jsou pro přehlednost znázorněny průměrné indentační křivky pro všechny vzorky ještě dohromady, v jednom grafu. Byly vynechány křivky pro vliv tekutin po dobu deseti sekund, aby byl graf přehlednější. Tečkované čáry značí průběh křivek neovlivněných vzorků a plné průběh křivek s vlivem tekutin po dobu pěti minut. Pro testované vzorky lze říci, že čím je tekutina kyselejší, tím více se zvyšují indentační hloubky při vnášení stejného zatížení a indentační křivka se tak protahuje do kladných hodnot osy x (hloubky vpichu.) Největší rozdíly průběhu indentačních křivek lze pozorovat u coly a džusu. Pro čaj s medem se křivka mění o mnoho méně a pro vodu skoro vůbec.

Na obrázku 7.4, kde jsou znázorněny čtyři indentační křivky vzorků bez vlivu tekutin, je dále doloženo, že každý vzorek zubní skloviny má jinou indentační křivku. Jelikož se z indentačních křivek přímo odvozují i materiálové charakteristiky, lze tak už na základě jejich rozdílnosti s jistotou říci, že každý vzorek bude mít i rozdílné hodnoty indentační tvrdosti i indentačního modulu pružnosti.

7. VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ



Obrázek 7.3: Průměrné indentační křivky – srovnání pro všechny vzorky.



Obrázek 7.4: Průměrné indentační křivky – srovnání pro všechny vzorky bez vlivu tekutin.

Dle metody Oliver & Pharr (kap. 4.2) byly ze souboru indentačních křivek dopočítány hodnoty materiálových charakteristik tvrdosti (H_{it}) a (E_{it}) [11]. V tabulce 7.2 jsou společně s indentační hloubkou (h_c) uvedeny jejich průměrné hodnoty, směrodatné odchylky a procentuální pokles jejich průměrných hodnot vlivem působení tekutin.

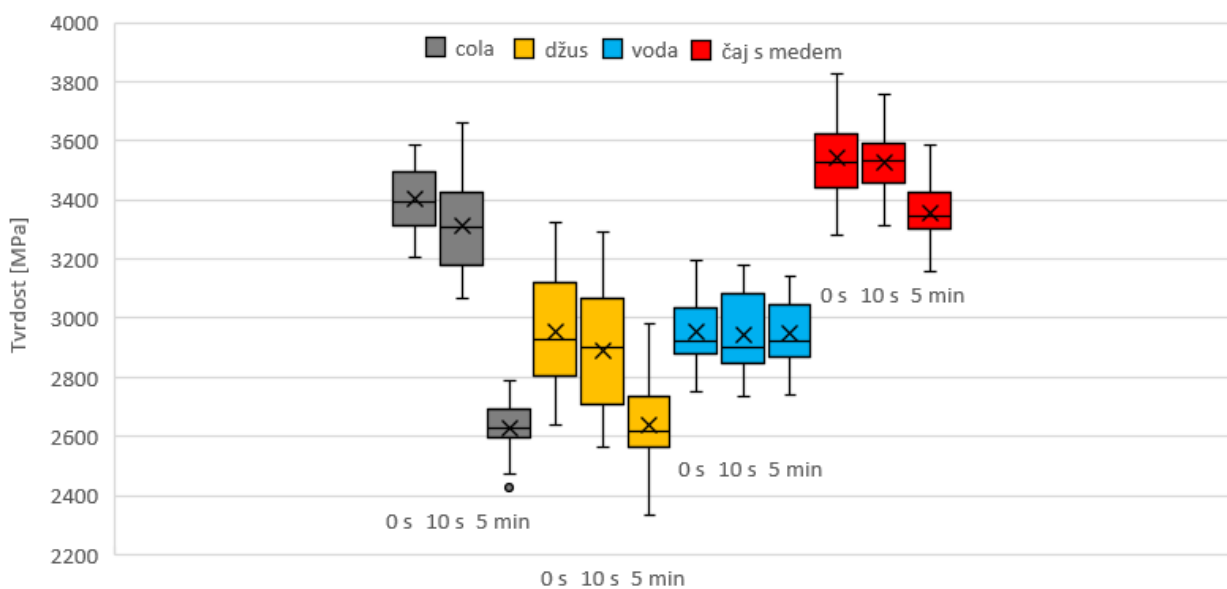
Tabulka 7.2: Hodnoty ind. tvrdosti (H_{it}), ind. modulu pružnosti (E_{it}) a hloubky vpichu (h_c)

		cola			džus		
		0 s	10 s	5 min	0 s	10 s	5 min
Hit	Průměr [GPa]	3405	3314	2626	2956	2892	2636
	Směr. odch. [GPa]	115	167	86	204	203	173
	Pokles [%]		2,68	22,87		2,15	10,80
Eit	Průměr [GPa]	95,73	95,56	91,45	89,55	89,38	88,58
	Směr. odch. [GPa]	6,56	11,42	7,59	7,83	4,20	4,11
	Pokles [%]		0,17	4,47		0,19	1,08
hc	Průměr [GPa]	1026	1040	1172	1106	1109	1172
	Směr. odch. [GPa]	18	26	20	39	39	40
	Nárůst [%]		1,40	14,31		0,25	5,92
		voda			čaj s m.		
		0 s	10 s	5 min	0 s	10 s	5 min
Hit	Průměr [GPa]	2953	2942	2950	3544	3529	3357
	Směr. odch. [GPa]	115	140	140	110	105	112
	Pokles [%]		22,87	0,13		0,43	5,28
Eit	Průměr [GPa]	89,24	88,33	88,67	100,45	98,36	94,41
	Směr. odch. [GPa]	5,69	6,07	4,78	7,92	6,89	3,52
	Pokles [%]		4,47	0,64		2,08	6,01
hc	Průměr [GPa]	1103	1104	1099	1008	1009	1033
	Směr. odch. [GPa]	22	27	26	16	16	18
	Nárůst [%]		0,09	-0,33		0,10	2,48

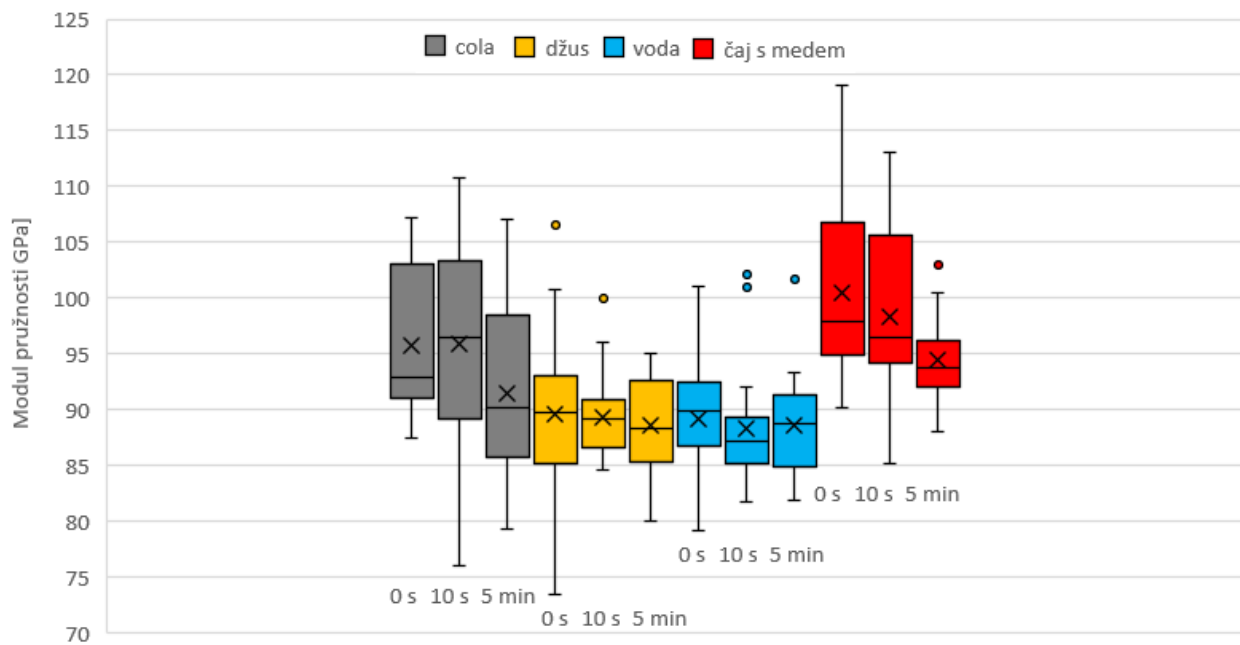
Z tabulky vyplývá, že působením tekutin na vzorky dochází k poklesu hodnot ind. tvrdosti a ind. modulu pružnosti a naopak k nárůstu indentační hloubky. V případě tvrdosti má nejhorší účinky cola, jejímž působením (H_{it}) klesla z 3405 MPa na 2626 MPa. Jde o rozdíl skoro 23 %. Působením pomerančového džusu tvrdost klesla o 10,80 %. V případě čaje s medem to bylo 4,28 %. Rozdíly hodnot pro vodu nedosahují ani pro jeden posuzovaný parametr jednoho procenta. Lze je tak přisoudit spíše odchylce vlastností zubní skloviny, způsobenou

7. VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

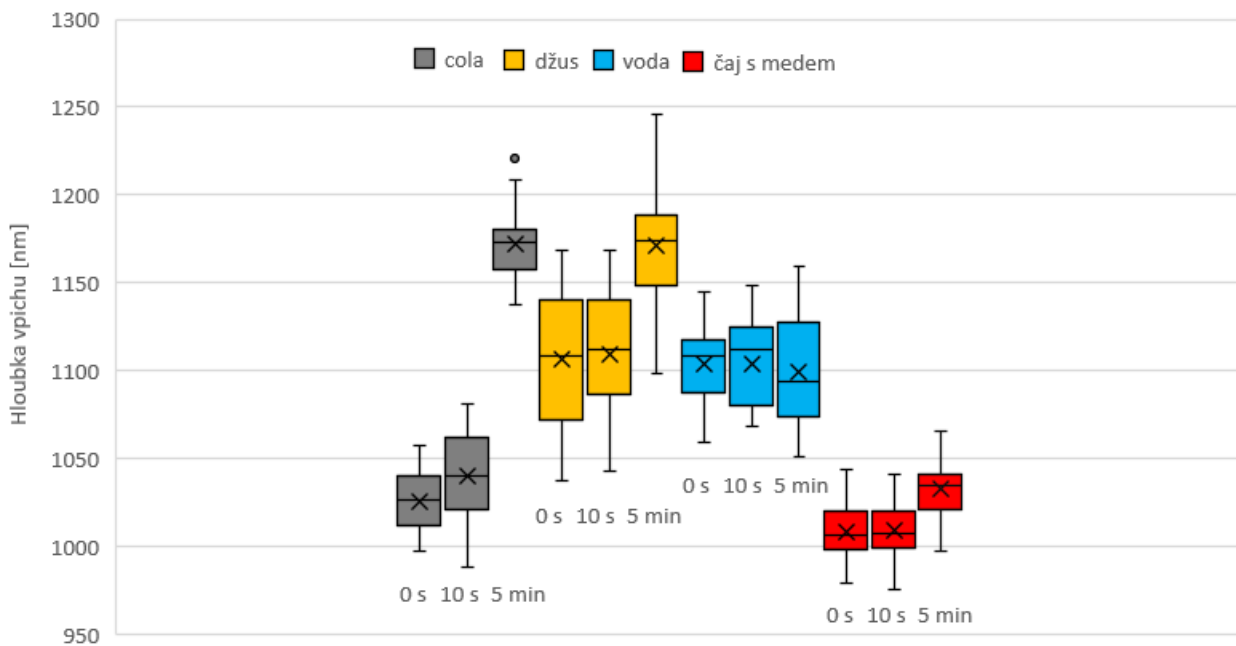
rozdílnou polohou indentačních matic. Nejvyšší hodnoty poklesu modulu pružnosti (E_{it}) lze pozorovat u čaje s medem, jehož působením hodnota ind. modulu klesla ze 100,45 GPa na 94,41 GPa, tedy o 6,01%. Pro colu je tato hodnota o něco nižší - 4,47 % a pro džus pouhých 1,08 %. Nejvyšší nárůst kontaktní hloubky lze pozorovat u vzorků kontaminovaných colou a džusem, shodně 14 %. Hodnoty indentační tvrdosti a indentačního modulu pružnosti jsou znázorněny pomocí statistického krabicového grafu na obrázcích 7.5–7.7.



Obrázek 7.5: Indentační tvrdost – krabicový graf.



Obrázek 7.6: Indentační modul pružnosti - krabicový graf.



Obrázek 7.7: Hloubka vpichu – krabicový graf.

7. VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Park a kol. uvádí hodnoty indentační tvrdosti pro neovlivněné vzorky v rozmezí 3–5 GPa [30]. Tomu odpovídají průměrné hodnoty pro vzorky 1 a 4. Vzorky 2 a 3 vykazují hodnoty o něco nižší, oba shodně 2,95 GPa. Pro hodnoty indentačního modulu pružnosti je uváděna průměrná hodnota mezi 75–90 GPa [4]. Tomu odpovídají naopak průměrné hodnoty vzorku 2 a 3. Vzorky 1 a 4 mají průměrný indentační modul pružnosti o něco vyšší – 95,73 a 94,41 GPa.

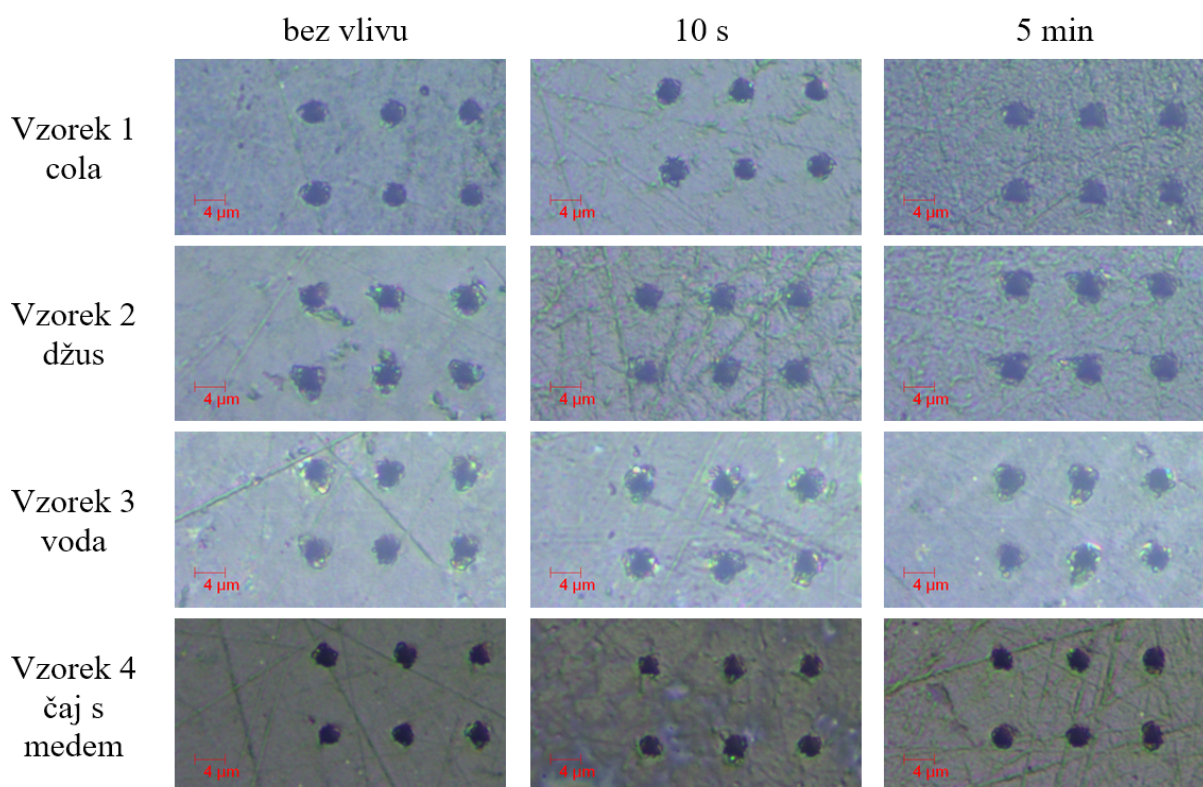
Pokles hodnot indentačního modulu pružnosti (E_{it}) pro vzorky vystavené účinkům coly a pomerančového džusu je uváděn jako výrazně vyšší. Zdroje uvádí až 44 % pokles pro colu, a 20 % pro pomerančový džus po 30 minutách působení [32]. To odpovídá desetinásobku naměřených hodnot pro pětiminutové působení.

V případě indentační tvrdosti (H_{it}) se hodnoty uváděné zdroji s hodnotami naměřenými rovněž neshodují. Machado a kol. uvádí pokles tvrdosti o 72 % vlivem působení coly po dobu 30 minut a Wonghanktee a kol. o 37 % vlivem cyklického působení po dobu 10x10 sekund [32, 36]. Pro džus je uváděn pokles o 43 % pro působení po dobu 30 minut [32]. To jsou ve všech případech hodnoty dvakrát až třikrát vyšší oproti pětiminutovému působení. Jediný, kdo udává podobnou hodnotu poklesu je Tantbirojn a kol. Pro působení coly po dobu čtyř minut uvádí změnu o 12% a pro působení po dobu osmi minut o 29 % [35].

7.2 Měření degradace povrchu skloviny

Druhá část analýzy je zaměřena na degradaci povrchu vzorků vlivem chemického působení použitých tekutin. K podrobnému snímkování všech vzorků byl využit optický mikroskop nanoindentoru s 1000x přiblížením a pro vzorek s colou byl využit i atomový mikroskop.

Degradace povrchu již zmíněných běžně používaných tekutin je srovnána na obrázku 7.8, kde je vidět výrazné zdrsnění povrchu vlivem působení coly a džusu po dobu 10 s a 5 min.

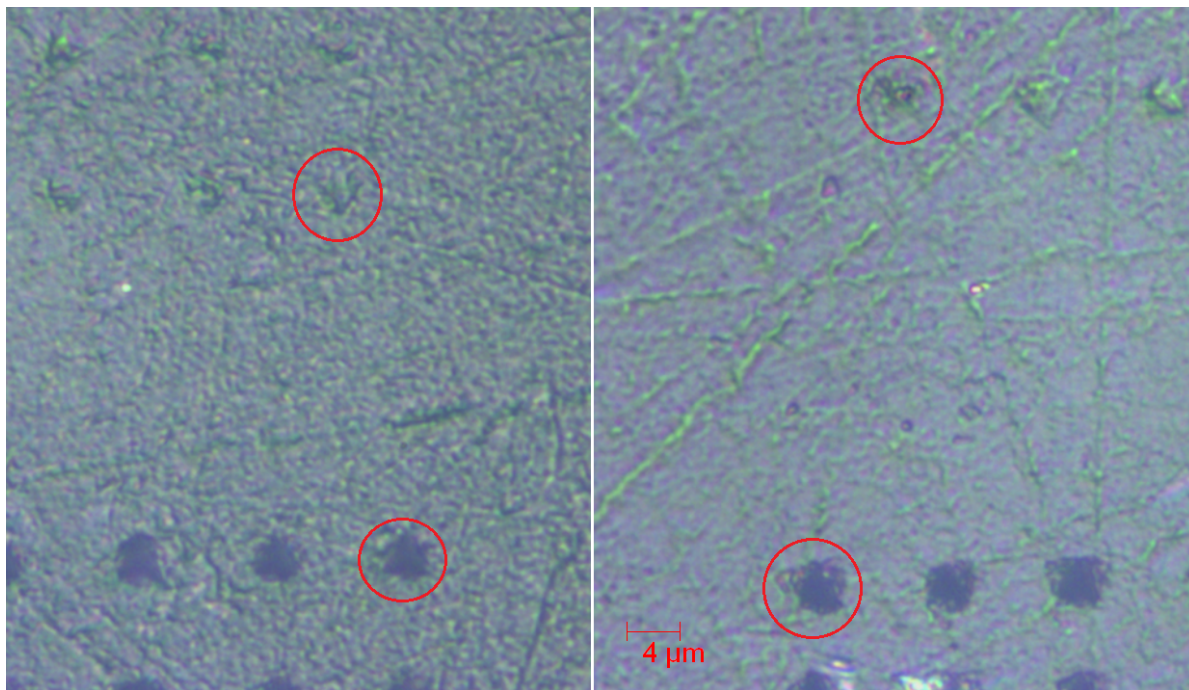


Obrázek 7.8: Degradace povrchu působením tekutin.

Vliv naleptání colou (vlevo) a pomerančovým džusem (vpravo) je nejlépe vidět na obrázku 7.9, z rozhraní dvou indentačních matic, kde je vidět jedna starší (nahore), indentovaná před vystavením vzorku působení kapaliny a druhá mladší (dole), která byla indentována až po působení. V každé části je pro přehlednost červeně zakroužkován jeden indent. Starší indenty v horní části obrázku jsou v mnohých případech velmi obtížně viditelné, což naznačuje

7. VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

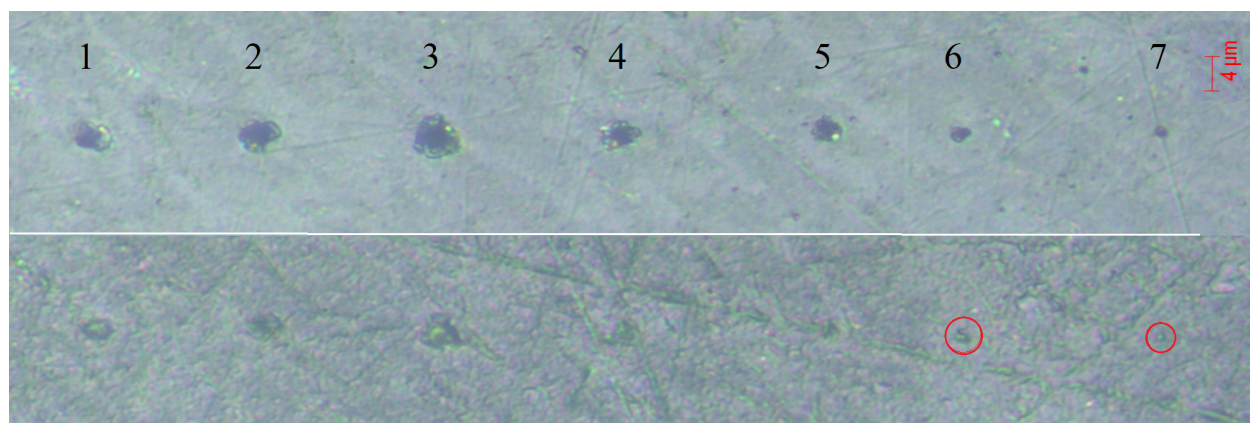
hloubku degradace povrché vrstvy jen o něco menší než je indentační hloubka těchto indentů.



Obrázek 7.9: Naleptání povrchu: a) cola b) pomerančový džus

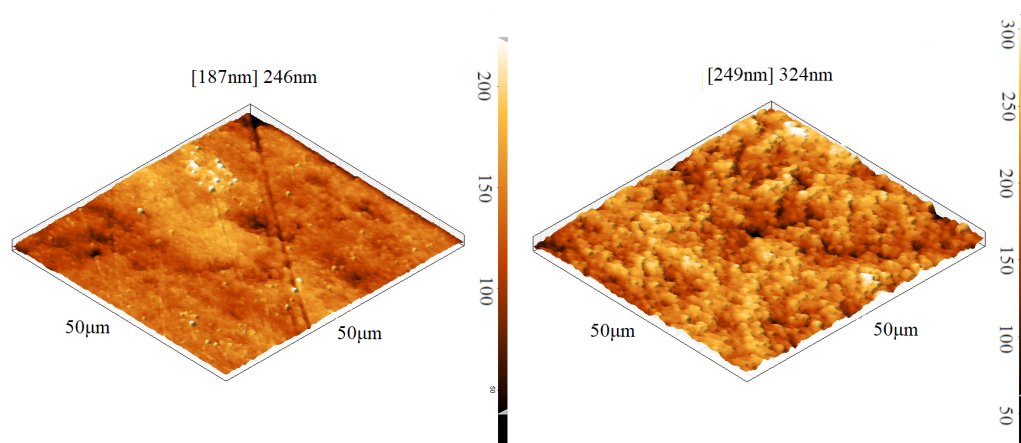
Přesné určení hloubky degradace povrchové vrstvy je pro ploché vzorky velmi problematické. Bylo proto provedeno srovnávací nanoindentační měření na novém vzorku, vystaveném působení coly, která měla dle předchozího měření nejhorsí účinky na vlastnosti zubní skloviny. Vzorek bez vlivu tekutiny byl indentován sedmi zatěžovacími cykly, s rozdílnými hodnotami maximálního zatížení: 20 (1), 15 (2), 10 (3), 8 (4), 6 (5), 4 (6) a 2 (7) mN. (Obr. 7.10 - nahoře) Pro každou sílu byla určena odpovídající hloubka vpichu z P-h křivky: 1240 (1), 1040 (2), 810 (3), 730 (4), 680 (5), 550 (6) a 400 (7) nm. Poté byl vzorek vystaven působení coly na dobu 5 minut. Ze snímku povrchu po vystavení působení coly po dobu pěti minut není indent 7 skoro vidět a indent 6 (červeně zakroužkované) jen velmi obtížně. (Obr. 7.10 – dole) Z toho vyplývá, že hloubka naleptání vzorku a ztráta tloušťky zubní skloviny se blíží jejich indentační hloubce, tedy přibližně 300–500 nm.

Na závěr byl použit atomový mikroskop pro observaci degradované povrchové vrstvy



Obrázek 7.10: Indenty s rozdílnou hodnotou maximálního zatížení: 20 (1), 15 (2), 10 (3), 8 (4), 6 (5), 4 (6) a 2 (7) mN. Obr. nahoře – před naleptáním. Obr. dole – po naleptání.

vzorku vlivem účinků coly. Bylo vytvořeno několik snímků s různým rozlišením: 25x25, 50x50, 100x100 a 200x200 μm . (Obr. 7.11)



Obrázek 7.11: Srovnání degradace povrchu vlivem působení coly – AFM, 1000x přiblížení, plocha 50x50 μm : a) bez vlivu b) vliv působení coly po dobu pěti minut.

Na obrázku vlevo je vidět hladký povrch bez vlivu tekutiny. Na obrázku vpravo je vidět zdrsnění povrchových struktur zubní skloviny vlivem působení coly po dobu pěti minut. Nerovnosti povrchu naleptaného vzorku dosahují výškových rozdílů až cca 200 nm, oproti původním 120 nm.

8 Závěr

Byla provedena mikromechanická analýza vlivu tekutin na zubní sklovinu s využitím metod nanoindentace a mikroskopie atomových sil. Hlavním cílem analýzy bylo stanovit hodnoty materiálových charakteristik - indentačního modulu pružnosti (E_{it}) a indentační tvrdosti (H_{it}) pro vzorky zubů vystavené vlivům různých, běžně požívaných tekutin. Bylo tak nutné vybrat tekutiny, od nichž se dají očekávat negativní účinky na vlastnosti zubní skloviny. Dalším cílem bylo sledovat odezvu povrchových vrstev těchto vzorků vlivem tohoto působení. Byly vybrány celkem čtyři tekutiny - cola, pomerančový džus, čaj s medem a voda. Od prvních dvou byly očekávány razantní změny hodnot z důvodu jejich kyselosti. Pro vodu byl očekáván neutrální účinek. Pro každý vzorek byly stanoveny hodnoty ve třech fázích. V první z nich nebyl vzorek vystaven žádnému působení a ve zbývajících dvou byl vystaven působení určených tekutin po dobu deseti sekund a pěti minut. V každé fázi byly vzorky zatíženy pomocí nanoindentoru a z odpovídajícího průběhu indentačních křivek byly dopočítány hodnoty materiálových charakteristik, které byly důkladně zpracovány do statistického souboru.

Bylo zjištěno, že nejhorší účinky na tvrdost skloviny má cola, jejíž pětiminutové působení na vzorek snížilo její hodnotu o 22,87 %, z 3,41 GPa na 2,63 GPa. Účinky džusu nebyly tak výrazné, tvrdost jím zatíženého vzorku poklesla o 10,8 % – z 2,96 GPa na 2,64 GPa. Vlivem těchto dvou tekutin došlo i k nápadnému hloubek jednotlivých indentačních vpichů. Pro obě to bylo zhruba o 14 %. Největší rozdíly hodnot indentačního modulu pružnosti byly zaznamenány u vzorku 4, na kterém byl testován čaj s medem. Tato hodnota klesla ze 100,45 GPa na 94,41 GPa, tedy o 6,01 %. Pro colu byl pokles o něco menší (4,47 %). Změny všech hodnot pro vodu byly dle očekávání velmi nízké. Žádná z nich nepřekročila 1 %.

Při použití optického mikroskopu a mikroskopu atomárních sil bylo zjištěno, že struktura povrchu se vlivem působení coly a pomerančového džusu výrazně zdrsnila a v případě naleptání colou došlo k redukci tloušťky zubní skloviny 300–500 nm.

Měření tak prokázala, že tekutiny s nízkým pH (cola a pomerančový džus) mohou mít negativní vliv na zubní sklovinu. Následkem jejich působení může dojít ke ztrátě mechanických vlastností skloviny a snížení její tloušťky vlivem naleptání. Je však nejasné, do jaké míry má na tomto vlivu podíl obsah cukru těchto tekutin. Dále bylo prokázáno, že voda na zubní sklovinu žádné znatelné negativní účinky nemá. Z toho plyne, že každý člověk by měl s ohledem na zdraví svých zubů uvážlivě rozhodovat, jaké tekutiny konzumuje a omezit tak požívání slazených a zároveň velmi kyselých nápojů jako jsou zejména cola, džus a další nápoje podobným složením, protože kyselé prostředí a oslabená sklovina jsou ideálním prostředím pro vznik zubního kazu.

REFERENCE

Reference

- [1] R. Čihák, M. Grim. *Anatomie. 2., upr. a dopl. vyd.* Praha: Grada, 2002. ISBN 80-247-0143-x.
- [2] J. Mazánek. *Zubní lékařství: propedeutika.* Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-3534-4.
- [3] L. Nedorost, V. Tomanová, L.Eberlová, et al.: *Atlas histologie tvrdých tkání.* Ústav histologie a embryologie, Lékařská fakulta UK v Plzni 2009.
- [4] P. Marcián, Z. Florián, M. Mrázek. *Výukový materiál pro stomatologickou biomechaniku.* Vysoké učení technické v Brně Fakulta strojního inženýrství. FRVŠ 1403/2010/G1.
- [5] R. Lullmann-Rauch. *Histologie.* Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3729-4.
- [6] uLékaře.cz. - Největší online lékařská poradna *Zuby*. [online].[cit. 12.05.2018]. Dostupné z: <https://www.ulekare.cz/clanek/zuby-1202>
- [7] Jouefct.com. *Anatomy Images*. [online]. Dostupné z: <http://www.jouefct.com/>
- [8] C.A. Schuh. *Nanoindentation studies of materials.* Materials today 9(5):32–40, 2006.
- [9] A.C. Fischer-Cripps. *Nanoindentation testing.* 21–37, Springer, 2011.
- [10] W.C. Oliver, G.M. Pharr. *Measurement of hardness and elastic modulus by instrumented indentation: Advances in understanding and refinements to methodology.* Journal of materials research 19(1):3–20, 2004.
- [11] W.C. Oliver, G.M. Pharr. *An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments.* Journal of materials research 7(6):1564–1583, 1992.
- [12] G.M. Pharr, J.H. Strader, W. Oliver. *Critical issues in making small-depth mechanical property measurements by nanoindentation with continuous stiffness measurement.* Journal of Materials Research 24(3):653–666, 2009.
- [13] M.F. Doerner, W.D. Nix. *A method for interpreting the data from depth-sensing indentation instruments.* Journal of Materials research 1(4):601–609, 1986.
- [14] D.R. Kim. *Nano Indentation Lecture 1.* SlideShare.net [online].[cit. 06.05.2018]. Dostupné z: <https://www.slideshare.net/viet4777/nano-indentation-lecture1>

- [15] Anton-Paar. *Instrumentovaná indentace* [online]. [cit. 10.05.2018]. Dostupné z: <https://www.anton-paar.com/cz-cs/produkty/skupina/instrumentovana-indentace/>
- [16] Micro Star Tech. *Nano indenters*. [online]. [cit. 01.05.2018]. Dostupné z: <http://www.microstartech.com/>
- [17] Nanoscience Instruments. *Atomic Force Microscopy*. [online]. [cit. 12.05.2018]. Dostupné z: <https://www.nanoscience.com/technology/afm-technology/>
- [18] D.M. Ebenstein¹, L.A. Pruitt². *Biomedical Engineering Program*. ¹Bucknell University, Lewisburg, USA; ², Departments of Mechanical Engineering and Bioengineering, University of California, Berkeley, USA.
- [19] J. Němeček, *Výzkum*, CTU Prague. [online]. Dostupné z: <http://mech.fsv.cvut.cz/nemecek/?page=research&lang=cz>
- [20] Y.F. Zhang, J. Zheng, J.X. Yu, H.T. He. *Impact of strain rate on the hardness and elastic modulus of human tooth enamel*. Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials.
- [21] F. Eghiaian, F. Rico, A. Colom, I. Casuso, S. Scheuring. *High-speed atomic force microscopy: Imaging and force spectroscopy*. U1006 INSERM, Aix-Marseille Université, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Marseille, France.
- [22] K.C. Chang et al. *Atomic force microscopy in biology and biomedicine*. Graduate Institute of Medical Biotechnology, Tzu Chi University, Hualien, Taiwan.
- [23] K.I. Krymskaya, N.V. Andreeva, A.V. Filimonov. *A technique for determining Young's modulus of biological objects using atomic-force microscopy in the wide temperature range*. Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russian Federation.
- [24] U. Maver et al. *Recent progressive use of atomic force microscopy in biomedical applications*. University of Maribor, Faculty of Medicine, Institute of Biomedical Sciences, Maribor, Slovenia.
- [25] M. Finke et al. *Mechanical properties of in situ demineralised human enamel measured by AFM nanoindentation*. Department of Oral and Dental Science, University of Bristol, UK.

REFERENCE

- [26] N.E. Kurland, Z. Drira, V.K. Yadavalli, *Measurement of nanomechanical properties of biomolecules using atomic force microscopy*, Department of Chemical and Life Science Engineering, Virginia Commonwealth University, Richmond, USA.
- [27] H.-J. Butt et al. *Force measurements with the atomic force microscope: Technique, interpretation and applications* Max-Planck-Institute for Polymer Research, Mainz, Germany.
- [28] JPK Instruments *Quantitative Imaging* [online].[cit. 13.05.2018] Dostupné z: <https://www.jpk.com/products/atomic-force-microscopy/qi-mode>
- [29] Microscopemaster - *AFM* [online].[cit. 13.05.2018].
Dostupné z: <https://www.microscopemaster.com/atomic-force-microscope.html>
- [30] S. Park, J. Quinn, E. Romberg, D. Arola. *On the brittleness of enamel and selected dental materials*. 24(11):1477–1485, 2008.
- [31] Y.-R. Zhang, W. Du, X.-D. Zhou, H.-Y. Yu. *Review of research on the mechanical properties of the human tooth*. International journal of oral science 6(2):61–69, 2014.
- [32] C.Machado et al. *Human Enamel Nanohardness, Elastic Modulus and Surface Integrity after Beverage Contact* Restorative and Prosthetic Dentistry, Ohio State University, Columbus, Ohio, USA.
- [33] Y.-F. Ren, A. Amin, H. Malmstrom *Effects of tooth whitening and orange juice on surface properties of dental enamel*. University of Rochester Eastman Dental Center, Rochester, NY, USA.
- [34] H. Devlin et al. *Hardness of enamel exposed to Coca-Cola and artificial saliva*. The Dental School, University of Manchester, Manchester, UK.
- [35] D. Tantbirojn et al. *Change in surface hardness of enamel by a cola drink and a CPP-ACP paste*. Department of Restorative Sciences, University of Minnesota, Minneapolis, USA.
- [36] S. Wongkhantee et al. *Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentin, and tooth-coloured filling materials*. Journal of Dentistry 34 (2006) 214-220.
- [37] Gordon England. *Hardness Testing*. [online].[cit. 24.05.2018]. Dostupné z: <http://www.gordonengland.co.uk/hardness/hvconv.htm>