

ANALIZA UWARUNKOWAŃ DECYDUJĄCYCH O ODPORNOŚCI SZKLIWA NA ZUŻYCIE CZĘŚĆ II: BADANIA WARSTWY WIERZCHNIEJ ORAZ MIKROTWARDOŚCI SZKLIWA ZĘBOWEGO

WOJCIECH RYNIIEWICZ¹, MARIOLA HERMAN², ANNA M. RYNIIEWICZ^{1,3*}

¹ UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI COLLEGIUM MEDICUM,
WYDZIAŁ LEKARSKI, KATEDRA PROTETYKI STOMATOLOGICZNEJ,
UL. MONTELUPICH 4, 31-155 KRAKÓW

² V WOJSKOWY SZPITAL KLINICZNY Z POLIKLINIKĄ,
ODDZIAŁ STOMATOLOGII ZACHOWAWCZEJ Z ENDODONCJĄ,
UL. WROCŁAWSKA 1-3, 30-901 KRAKÓW

³ AKADEMIA GÓRNICZO HUTNICZA,
WYDZIAŁ INŻYNIERII MECHANICZNEJ I ROBOTYKI,
AL. MICKIEWICZA 30, 30-059 KRAKÓW

* E-MAIL: GHRYNIEW@CYF-KR.EDU.PL

Streszczenie

Opracowanie stanowi kontynuację zagadnień, w których wskazano uwarunkowania decydujące o odporności szkliwa naturalnego na zużycie. W części II opisano badania obejmujące ocenę stereometrii warstwy wierzchniej szkliwa z wykorzystaniem mikroskopii sił atomowych (AFM) oraz wyznaczenie mikrotwardości zębów z wykorzystaniem metody Oliver & Pharr.

Analizę statystyczną parametrów morfologicznych szkliwa z zębów przedtrzonowych i trzonowych przeprowadzono z zastosowaniem programu Scanning Probe Image Processor. Analiza pozwoliła identyfikować obrazy o różnym zakresie skanowania, wyznaczyć parametry chropowatości powierzchni na poziomie nano oraz różnicować struktury w sposób jakościowy i ilościowy. Zmiany chropowatości miały charakter okresowy o zbliżonych parametrach amplitudy, a częstotliwość była stała lub była wielokrotnością parzystą. Badania parametrów mikromechanicznych, poprzez nanoindentację, pozwoliły wyznaczyć twardość szkliwa oraz moduł sprężystości (Younga) na powierzchniach koron zębów trzonowych dolnych. Na podstawie charakterystyk wytrzymałościowych i pomiarów ustalono, że twardość zawarta była w przedziale od 337,2 HV do 335,3 HV, a moduł sprężystości w przedziale od 95,8 GPa do 106,3 GPa. Stwierdzono daleko posuniętą regularność w strukturach warstwy wierzchniej szkliwa oraz dużą powtarzalność w badaniach mikromechanicznych.

Słowa kluczowe: szkliwo zębowe, warstwa wierzchnia, chropowatość, mikrotwardość

[Inżynieria Biomateriałów, 102, (2011), 23-27]

Wprowadzenie

Szkliwo stanowi najbardziej wytrzymałą tkankę w ustroju człowieka. Pokrywa ono korony zębów, co decyduje o ich odporności na zużycie tribologiczne, szczególnie przy realizacji funkcji żucia w złożonych warunkach obciążeń okluzyjnych.

THE ANALYSIS OF ENAMEL RESISTANCE TO WEAR DETERMINING FACTORS PART II: STUDY OF SUPERFICIAL LAYER AND MICROHARDNESS IN TOOTH ENAMEL

WOJCIECH RYNIIEWICZ¹, MARIOLA HERMAN², ANNA M. RYNIIEWICZ^{1,3*}

¹ JAGIELLONIAN UNIVERSITY MEDICAL COLLEGE,
FACULTY OF MEDICINE, DEPARTMENT OF PROSTHETIC DENTISTRY,
4 MONTELUPICH STR., 31-155 CRACOW

² 5TH MILITARY HOSPITAL WITH POLYCLINIC IN CRACOW,
CONSERVATIVE DENTISTRY AND ENDODONTICS WARD,
1-3 WROCŁAWSKA STR., 30-901 CRACOW

³ AGH UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY,
FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING AND ROBOTICS,
30 MICKIEWICZA Av., 30-059 CRACOW

* E-MAIL: GHRYNIEW@CYF-KR.EDU.PL

Abstract

This paper is a continuation of the issues that has pointed determinants deciding about the resistance of natural enamel to wear. Part II contains the examinations including the assessment of enamel superficial layer stereometry using Atomic Force Microscopy (AFM) and determination of teeth microhardness using Oliver & Pharr method.

Statistical analysis of morphologic parameters in enamel from premolar and molar teeth was made using Scanning Probe Image Processor software. The analysis allowed the identification of images with various range of scanning, determination of roughness parameters of the surface in nanoscale and quantitative and qualitative differentiation of the structures. Changes in roughness are periodic, with similar parameters of amplitude, and a frequency can be constant or is an even multiple. Determination of enamel hardness and Young's modulus for the surface of dental crowns in lower molar teeth were possible by micromechanical study using nanoindentation. Based on performance characteristics and measurements it was established, that the hardness ranged from 337.2 HV to 335.3 HV, and Young's modulus ranged from 95.8 GPa to 106.3 GPa. Highly regular pattern in structures of enamel superficial layer and high repeatability in micromechanical examinations were found.

Keywords: tooth enamel, superficial layer, roughness, microhardness

[Engineering of Biomaterials, 102, (2011), 23-27]

Introduction

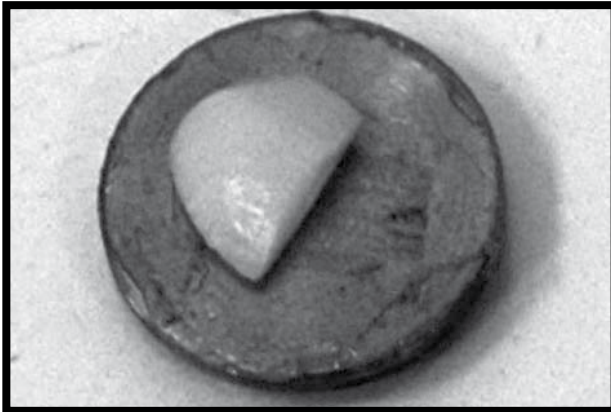
Enamel is the most durable tissue in a human body. It covers dental crowns, which comprise of its resistance to tribological wear, especially during the act of mastication in compound conditions of occlusional loading. Tribological conditions are improved by saliva that moistens dental crowns, and formation of a durable lubricating film is related to the stereometry of enamel superficial layer. AFM was used for a spatial shape examination and the analysis of that layer.

Zwiltowanie koron zębów przez ślinę poprawia warunki tribologiczne, a wytworzenie trwałego filmu smarującego związane jest ze stereometrią warstwy wierzchniej szkliwa. Do badań przestrzennego ukształtowania i analizy tej warstwy wykorzystano AFM. W procesie rozdrabniania kęsów pokarmowych, z równoczesnym zapewnieniem odporności na zużycie, istotną cechą szkliwa jest jego twardość i moduł sprężystości, które wyznaczono z zastosowaniem nanoindentacji.

Celem przeprowadzonych badań była identyfikacja ukształtowania warstwy wierzchniej prawidłowego szkliwa z wykorzystaniem AFM wraz ze statystyczną analizą chropowatości tej powierzchni oraz wyznaczenie mikrotwardości i modułu Younga koron zębów przy użyciu maszyny Scratch Tester CSM Instruments.

Materiał badań

Materiałem do badań stereometrii warstwy wierzchniej były próbki szkliwa z powierzchni zużywającej zębów przedtrzonowych i trzonowych. Zęby zostały usunięte ze względów ortodontycznych i posiadały prawidłowe szkliwo. Do badań warstwy wierzchniej wytypowano 20 próbek szkliwa (RYS. 1). Do badań mikrotwardości zostało użytych 10 zębów trzonowych dolnych prawidłowo ukształtowanych usuniętych ze względów ortodontycznych. Próbkę przechowywano w soli fizjologicznej, a bezpośrednio przed badaniem stabilizowano woskiem w tulejach badawczych (RYS. 2).



RYS. 1. Próbkę szkliwa przeznaczoną do badań stereometrii warstwy wierzchniej.
FIG. 1. A sample of enamel used for superficial layer stereometric examinations.

Metoda badań

AFM stanowi nowoczesne narzędzie stosowane m.in. do badania powierzchni tkanek i biomateriałów. Technika ta daje możliwość analizy chropowatości powierzchni z niepewnością pomiaru 1 nm i dlatego na obecnym poziomie rozwoju metrologii wydaje się najbardziej przydatną metodą do oceny ukształtowania warstwy wierzchniej [1-4].

Badania warstwy wierzchniej szkliwa wykonano na mikroskopie sił atomowych NT-NDT sprzężonym z mikroskopem optycznym firmy Olympus (RYS. 3). Mikroskop pracował w trybie bezkontaktowym, który polegał na wykonywaniu pomiarów przy ostrzu odsuniętym od obiektu na odległość 10-100 nm. W tego typu obrazowaniu wykorzystano siły długo zasięgowe, takie jak: siły magnetyczne, elektrostatyczne czy przyciągające siły van der Waalsa.

Hardness and Young's modulus, which were determined using nanoindentation, are essential features of enamel in grinding process of a food morsel with simultaneous providing of resistance to wear.

The aim of conducted examinations was the identification of superficial layer shape of normal enamel, using AFM and statistical analysis of roughness in that surface, and also determination of microhardness and Young's modulus in dental crowns using Scratch Tester CSM Instruments.

Study material

Enamel samples from the masticatory surface of premolar and molar teeth were taken to the stereometric study. The teeth were removed because of orthodontic reasons and they had normal enamel. 20 enamel samples were taken for superficial layer examinations (FIG. 1). 10 lower molar teeth, which had normal structure and were removed because of orthodontic reasons, were used in microhardness examinations. The samples were stored in saline and stabilized in an examination sleeve with wax directly before the examination (FIG. 2).



RYS. 2. Ząb stabilizowany woskiem w tulei badawczej do badań wytrzymałościowych.
FIG. 2. A tooth stabilized in an examination sleeve with wax used for strength tests.

Study method

AFM is a modern tool which is used e.g. in examinations of superficial layer of tissues and biomaterials. This technique allows to make an analysis of surface roughness with measurement uncertainty of 1 nm, and therefore it seems to be the most useful method for assessment of superficial layer shape at the present development level of metrology [1-4].

The examinations of enamel superficial layer were conducted using NT-NDT Atomic Force Microscope coupled with Olympus Optical Microscope (FIG. 3). The microscope worked in non-contact mode, and took measurements with a tip-to-sample distance of 10-100 nm. Long range forces were utilized in this imaging modality, such as: electromagnetic, electrostatic and attracting van der Waals forces.

In the examination procedure, a cantilever was set in oscillation with near-resonant frequency by a piezoelectric component. Changes in an amplitude and oscillation frequency were reactions to force acting on the cantilever, and this constituted information which allowed for acquisition of stereometric images of examined superficial layer. Maps of shape of superficial layer in enamel samples were subject of statistical analysis using Scanning Probe Image Processor software for determination of morphologic parameters.



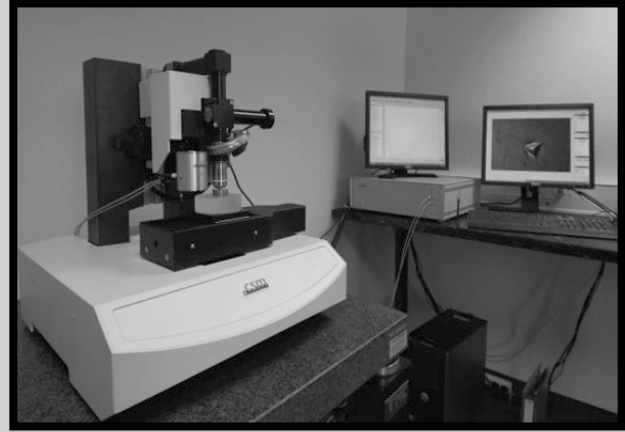
RYS. 3. Stanowisko do badań AFM.
FIG. 3. AFM setup used in examinations.

W zastosowanej procedurze badawczej wprawiano dźwignię w drgania o częstotliwości zbliżonej do częstotliwości rezonansowej za pomocą piezoelementu. Reakcją na siłę działającą na dźwignię była zmiana amplitudy i częstotliwości drgań, co stanowiło informację pozwalającą uzyskać stereometryczne obrazy badanej warstwy wierzchniej. W celu wyznaczenia parametrów morfologicznych mapy ukształtowania warstwy wierzchniej na próbkach szkliva poddano analizie statystycznej z zastosowaniem programu Scanning Probe Image Processor.

Badania parametrów mikromechanicznych warstwy wierzchniej wykonano poprzez nanoindentację [5,6]. W odróżnieniu od tradycyjnych metod badania twardości, opartych na pomiarze wielkości odcisku powstałego na powierzchni w miejscu penetracji wgłębnika, nanoindentacja pozwoliła rejestrować charakterystykę podczas cyklu obciążania i odciążania wgłębnika. Uzyskana charakterystyka stanowiła podstawę do obliczenia twardości i modułu Younga. Powierzchnie zębów badano metodą Oliver&Pharr na maszynie Scratch Tester CSM Instruments (RYS. 4). Maksymalne obciążenie wgłębnika wynosiło 20 mN, a prędkość obciążania 40 mN/min. Wykonano 10-15 odcisków na powierzchni każdego zęba z użyciem diamentowego indentora Vickersa VG-73.

Wyniki badań i ich omówienie

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano mapy opisujące ukształtowanie warstw wierzchnich szkliva naturalnego zębów przedtrzonowych i trzonowych (RYS. 5). Topografię badanych powierzchni scharakteryzowano metodą Root Mean Square (RMS) [7] poprzez podanie statystycznych parametrów chropowatości, takich jak S_a (średnie arytmetyczne odchylenie profilu chropowatości od linii średniej), S_q (średnie kwadratowe odchylenie powierzchni – określane od powierzchni odniesienia jako odchylenie standardowe wysokości nierówności powierzchni, $S_q = \text{RMS}$), S_z (maksymalna wysokość chropowatości w obszarze próbkowania). Jednak jak wiadomo, powyższe parametry podlegają prawu skalowania, a więc są ściśle związane z wielkością analizowanego obszaru, zwłaszcza jeżeli rozważany był stan powierzchni na poziomie nano. Na RYS. 6 i 7 zamieszczono mapy i wykresy do statystycznej analizy chropowatości szkliva. Na podstawie tej analizy można wnosić, że zmiany chropowatości szkliva mają charakter okresowy o zbliżonych parametrach amplitudy. Wskazuje na to parametr RMS liczony metodą najmniejszych kwadratów, który w losowo wybranych dziesięciu obszarach ma bardzo zbliżoną wartość (6,017 nm – 7,651 nm). Na podstawie map ukształtowania powierzchni szkliva wyznaczono częstotliwość rozkładów występowania określonych wysokości nierówności (RYS. 8). Uzyskane rozkłady pozwalają stwierdzić dużą regularność w chropowatości powierzchni szkliva.



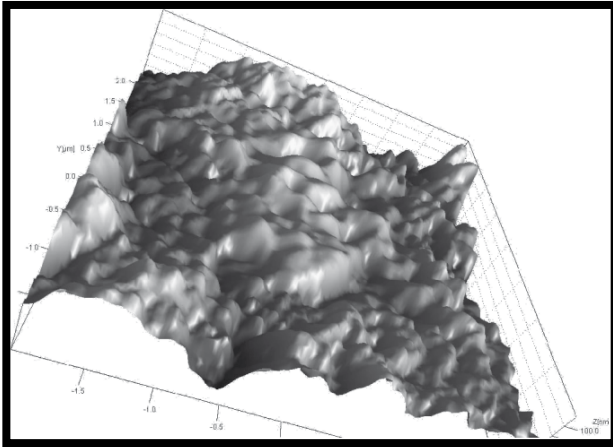
RYS. 4. Stanowisko do badań nanoindentacji.
FIG. 4. A nanoindentation station used in examinations.

A nanoindentation method was utilized to examine micromechanic parameters of superficial layer [5,6]. As opposed to traditional methods of hardness examination, based on a measurement of residual indentation size caused by penetration of a tip on the surface, nanoindentation allows to record characteristics of a load and unload tip cycle. Obtained characteristic was a basis for hardness and Young's modulus calculations. The teeth surface was examined with Oliver & Pharr method using Scratch Tester CSM Instruments (FIG. 4). The maximum load of a tip was 20 mN and a loading rate was 40 mN/min. On the surface of every tooth, 10-15 indentations were made using Vickers VG-73 diamond indenter.

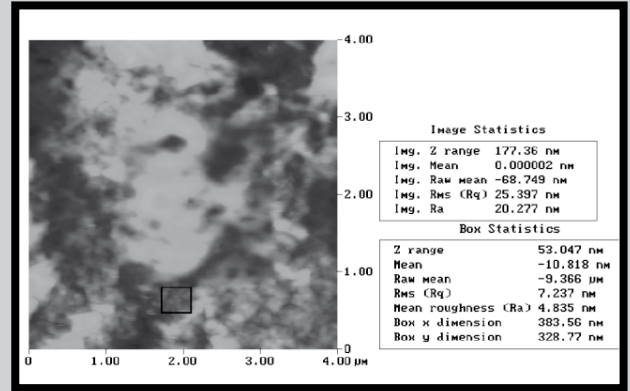
Study results and discussion

Based on conducted examinations, we have obtained maps describing the shape of superficial layers in natural enamel of premolar and molar teeth (FIG. 5). Examined surfaces topography was described using Root Mean Square (RMS) method [7], by passing statistical parameters of roughness, such as S_a (mean arithmetic deviation of roughness profile from a midline), S_q (mean square deviation of the surface – derived from a reference surface as a standard deviation of irregularity height of a surface, $S_q = \text{RMS}$), S_z (the maximum height of roughness in a sampled area). However, as we know, the above-mentioned parameters are subject to scaling law, so they are strictly bound with an area of analyzed region, especially if a surface condition was considered in nanoscale. In FIG. 6 and 7 there are maps and diagrams for a statistical analysis of glass roughness. We can assume, based on that analysis, that changes of glass roughness are periodic, with similar parameters of amplitude. It is indicated by RMS value, calculated by least squares method, and it has very similar value in ten randomly selected areas (6,017 nm – 7,651 nm). The frequency of distribution of selected heights of roughness was determined based on the shape maps of the enamel surface (FIG. 8). Obtained distributions allowed to find a highly regular pattern in enamel surface roughness.

Microhardness and Young's modulus of a superficial layer in normal teeth were determined based on the analysis of tip imprints and obtained curves. Performed load-unload cycles allowed to obtain characteristics in randomly selected areas of measurement on the superficial layer (FIG. 9).

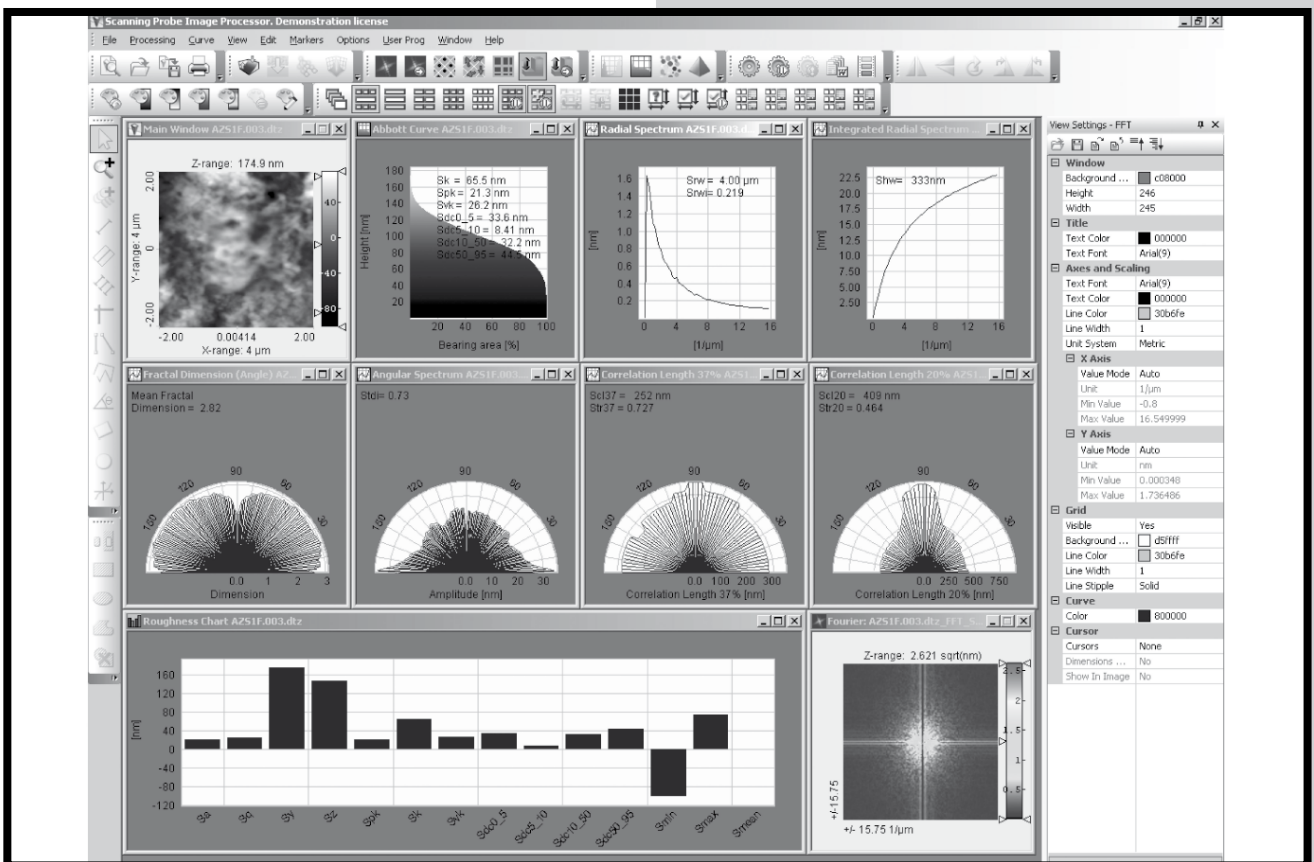


RYS. 5. Przestrzenny obraz prawidłowego szkliwa zębego z AFM.
FIG. 5. A spatial view of natural enamel obtained by AFM.



RYS. 6. Przykładowa mapa do statystycznej analizy chropowatości szkliwa z zaznaczeniem obszaru ocenianego.

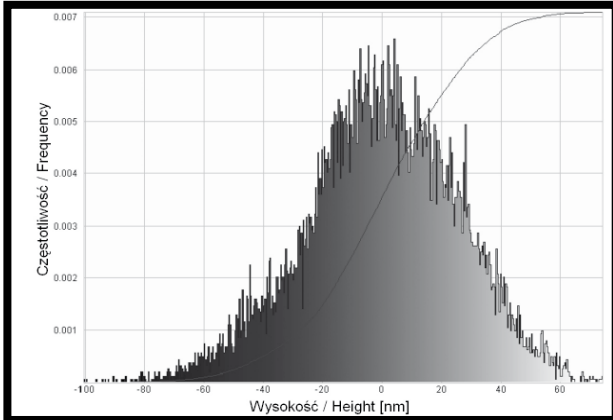
FIG. 6. An example of map used for statistical analysis of glass roughness with marked area for an assessment.



RYS. 7. Parametry warstwy wierzchniej szkliwa prawidłowego.
FIG. 7. Superficial layer parameters of normal enamel.

Mikrotwardość i moduł sprężystości warstwy wierzchniej zębów prawidłowych wyznaczono na podstawie analizy odcisków wgłębnika oraz otrzymanych krzywych. Przeprowadzenie cyklu obciążania i odciążania pozwoliło wyznaczyć charakterystyki w losowo wybranych obszarach pomiarowych warstwy wierzchniej (RYS. 9). Mikrotwardość wyznaczana w trakcie testu była równoznaczna naciskom występującym pomiędzy badaną powierzchnią zęba i wgłębnika diamentowego przy maksymalnym obciążeniu. Moduł sprężystości Younga zależał od właściwości zarówno wgłębnika, jak i badanej struktury zębów. Przy znanych parametrach identora można było ocenić właściwości sprężyste tkanki zębowej. Parametr ten identyfikował tkankę pod względem odpowiedzi sprężystej, której skutkiem była sztywność kontaktowa.

Microhardness determined during the test was equal to pressures which existed between examined tooth surface and a diamond indenter with the maximum load. Young's modulus was dependent upon either of indenter and examined teeth structure properties. Elastic properties of a dental tissue could be assessed with known indenter parameters. This parameter identified a tissue according to its elastic response, resulting in a contact rigidity. Contact rigidity it is essential to food grinding and rubbing processes, and also protects dental crowns from excessive wear [8,9]. Microhardness determined for normal teeth ranged from 337.2 HV to 335.3 HV, and longitudinal elasticity defined by Young's modulus ranged from 95.8 GPa to 106.3 GPa.



RYS. 8. Rozkład wartości wysokości nierówności w warstwie wierzchniej szkliwa prawidłowego w funkcji częstotliwości ich występowania.
FIG. 8. Distribution of irregularity height values of a superficial layer in normal enamel as a function of their incidence.

Szywność kontaktowa ma zasadnicze znaczenie dla procesu rozdrabniania i rozcierania pokarmu, a także zabezpiecza korony zębów przed nadmiernym zużyciem [8,9]. Wyznaczone mikrotwardości zębów prawidłowych zawierały się w przedziale od 337,2 HV do 335,3 HV, a wartości sprężystości wzdłużnej określonej modułem Younga w przedziale od 95,8 GPa - 106,3 GPa.

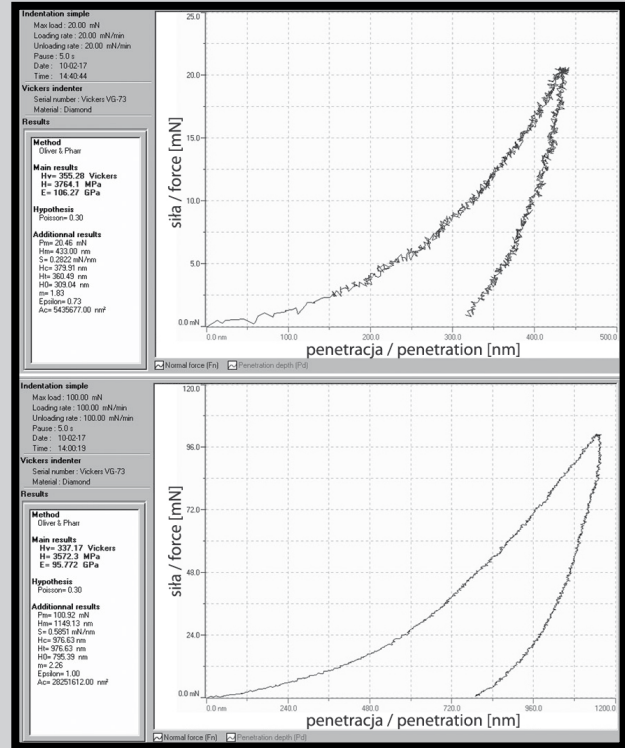
Podsumowanie i wnioski

Mikroskopia AFM jest wiarygodną metodą badawczą w poznaniu właściwości morfologicznych warstwy wierzchniej szkliwa. Na podstawie map otrzymanych z AFM można wyznaczyć przestrzenne obrazy powierzchni oraz przeprowadzić analizę chropowatości warstwy wierzchniej. Analiza statystyczna pozwoliła identyfikować obrazy o różnym zakresie skanowania, wyznaczać parametry chropowatości powierzchni na poziomie nano oraz różnicować struktury w sposób jakościowy i ilościowy. Zmiany chropowatości miały charakter okresowy o zbliżonych parametrach amplitudy, a częstotliwość była stała lub stanowiła wielokrotność parzystą. Taki regularny obraz warstwy wierzchniej będzie sprzyjał tworzeniu filmu smarnego na koronie zęba, a w kontakcie z zębem przeciwstawnym powstaną warunki do tworzenia nanoklinów, które mogą zapobiegać nadmiernemu zużyciu powierzchni okluzyjnych. Analiza obrazów przestrzennych szkliwa zębowego pozwala stwierdzić daleko posuniętą regularność w strukturach warstwy wierzchniej.

Wysoka mikrotwardość szkliwa oraz wysokie wartości modułu sprężystości zabezpieczają odpowiednią szywność kontaktową, co przekłada się na optymalne warunki do rozgniataania i rozcierania kęsów pokarmowych z równoczesną odpornością na zużycie.

Piśmiennictwo

- [1] Drelich J., Tormoen G.W., Beach E.R.: Determination of solid surface tension from particle – substrate pull – off forces measured with the atomic force microscope, *Journal of Colloid and Interface Science*, 2004, vol. 280, 484-497.
- [2] Lehenkari P.P., Charras G.T., Nykanen A., Horton M.A.: Adapting atomic force microscopy for cell biology, *Ultramicroscopy* 2000, 82, 289.
- [3] Mainsah E., Greenwood I.A., Chetwynd D.G.: *Metrology and properties of engineering surfaces*, Kluwer Academic Publisher, 2001.
- [4] Vie V., Giocondi M.C., Leśniewska E. et. al.: Tapping – mode atomic force microscopy on intact cells: optimal adjustment of tapping conditions by using the deflection signal, *Ultramicroscopy* 2000, 82, 279.



RYS. 9. Przykładowe charakterystyki wytrzymałościowe dla zębów prawidłowych.
FIG. 9. An example of strength characteristics for normal teeth.

Conclusions

AFM is a reliable study method, which is utilized in learning of morphologic properties of enamel superficial layer. Based on maps obtained from AFM, it is possible to make spatial images of the surface and conduct the analysis of superficial layer roughness. Statistical analysis allowed the identification of images with various range of scanning, determination of roughness parameters of the surface in nanoscale and quantitative and qualitative differentiation of the structures. Changes in roughness are periodic, with similar parameters of amplitude, and a frequency can be constant or is an even multiple. Such a regular image of superficial layer will support formation of lubricating film on dental crowns, and by contact with opposite tooth, it will create conditions to nano-wedge formation, which can prevent from excessive wear of occlusal surfaces. The analysis of spatial images of tooth enamel allowed us to identify a highly regular pattern in the superficial layers.

High microhardness of enamel and high values of Young's modulus protect an appropriate contact rigidity, which results in optimal conditions to crush and rub food morsels and resistance to wear at the same time.

References

- [5] Cuy J. et al. „Nanoindentation mapping of mechanical properties of human molar tooth enamel” *Arch. Oral Biology*, 2002 (474) 281-291.
- [6] Habelitz S. et al. „Mechanical properties of human dental enamel on the nanometer scale”, *Archives of Oral Biology* 46 (2001) 173-183.
- [7] Wieczorkowski M., Cellary A., Chajda J.: *Przewodnik po pomiarach nierówności powierzchni czyli o chropowatości i nie tylko*, Wyd. Politechniki Poznańskiej, Poznań 2003.
- [8] Ryniewicz W., Ryniewicz A. M. „Modelowanie mechaniki kontaktu filarów i uzupełnień protetycznych metodą elementów skończonych” *Implantoprotetyka* 2004 (913) 31-36.
- [9] Las Casas E.B. et al. „Enamel wear and surface roughness characterization using 3D profilometry” *Tribology International* 2008 (41) 1232-1236.