

3. Cel, teza i zakres pracy

3.1. Geneza pracy

Materiały przeznaczone do wykonywania długoczasowych miękkich podścieleni protez są zalecane przede wszystkim pacjentom cierpiącym z powodu całkowitego bezzębia. Stosuje się je między innymi w przypadku zmian w obrębie tkanek podłoża protetycznego, przy niskiej tolerancji błony śluzowej na ucisk, przy protezach natychmiastowych, złej retencji protez, powstawaniu odleżyn, nieodpowiednim przyleganiu płyty protezy do podłoża oraz do podścielenia obturatorów protez pooperacyjnych [40, 55-60]. Na krajowym rynku materiałów protetycznych polimery tego typu nie cieszą się, niestety, popularnością. Sprzyja temu stereotypowa opinia o niskiej trwałości tego typu materiałów oraz o niewystarczającej jakości połączenia z akrylową płytą protezy. Jednak na podstawie niezależnych badań [205-207] stwierdzono, że ów pogląd nie jest słuszny. Przykładowo, Schmidt i wsp. [205] wykazali, że miękkie podścielenia wykonane z Molloplast-B po 4 latach użytkowania we wszystkich analizowanych przypadkach, a po 6 latach w aż 83 % przypadków, funkcjonowały właściwie. Podkreślono jednocześnie znaczenie dla sukcesu klinicznego zachowania zalecanych procedur wykonawczych i przestrzegania zasad higieny. W trakcie sześcioletnich badań klinicznych [206] wykazano także, że praktycznie wszyscy pacjenci, bo aż 95,4 %, wyrażają chęć ponownego zastosowania miękkich podścieleni, kiedy stare wymagają wymiany. Jednocześnie 93 % pacjentów uważa protezy zaopatrzone w miękkie podścielenia za bardziej komfortowe, niż tradycyjne protezy akrylowe. Równocześnie znaczna liczba pacjentów, postrzegających jako komfortowe protezy międko podścielone, wcześniej odczuwała chroniczny dyskomfort związany z użytkowaniem tradycyjnych twardych protez akrylowych. Inne badania kliniczne [207], przeprowadzone dla szerokiego spektrum materiałów podścielających wykazały, że po półrocznym okresie użytkowania, takie cechy, jak: spójność materiału, jakość powierzchni, adhezja podścielenia do płyty protezy, kolor, zapach, liczba złogów płytki protez, elastyczność, stan higieny i stan błony śluzowej pod protezą są wyśmienite lub dobre. Wskazano jednocześnie na szczególnie wysoką trwałość silikonów. Natomiast po roku użytkowania najczęstszą przyczyną ewentualnej złej oceny stanu podścieleni było skolonizowanie powierzchni przez grzyby drożdżopodobne. Wyniki te są zbieżne z wiedzą Autora, opartą o doświadczenia wynikające ze współpracy z lekarzami stomatologii.

Niestety, w Polsce znaczenie miękkich materiałów podścielających jest często postrzegane jako marginalne. Niesłuszności tej obiegowej opinii dowodzi relatywnie duża liczba przytoczonych w rozdziale 2 anglojęzycznych pozycji literaturowych z ostatnich lat, co jest tym bardziej budujące, iż zarówno same materiały podścielające, jak i problematyka związana z użytkowaniem tradycyjnych protez akrylowych, nie mogą przecież liczyć na „zyczliwość” finansową koncernów, zainteresowanych, ze zrozumiałych względów, promowaniem głównie rozwiązań kosztownych dla pacjentów. Fakty te wydają się być szczególnie istotne, jeśli zważyć, że badania [208] wskazują na przewidywany w następnych latach wzrost liczby osób dotkniętych bezzębiem całkowitym. Oczywiście jest jednocześnie, że z przyczyn ekonomicznych, a czasem także medycznych i psychologicznych, u zdecydowanej większości tych pacjentów, nie będzie możliwe zastosowanie nowoczesnego, ale bardzo drogiego [62] i równocześnie niepozbowionego wad, leczenia z wykorzystaniem implantów stomatologicznych. Osoby te będą zmuszone do użytkowania wielokrotnie tańszych, tradycyjnych protez akrylowych. Protezy te w Polsce raz na 5 lat są refundowane przez Narodowy Fundusz Zdrowia. Jednak bardzo często powodują dolegliwości bólowe i obtarcia błony śluzowej, prowadząc do ograniczenia lub nawet całkowitego zaprzestania użytkowania uzupełnień protetycznych [62]. Jednocześnie niezależne badania naukowe wykazały korzystny wpływ zastosowania miękkich materiałów podścielających na odczuwaną przez użytkowników protez jakość życia [61], zmniejszenie urazowości protez i skrócenie okresu adaptacji pacjentów do nowych protez [62]. Z powyższych względów, z punktu widzenia szerokiej grupy pacjentów mniej zamożnych, jak najbardziej zasadne są badania nad polepszeniem jakości i trwałości miękkich materiałów podścielających, umożliwiającymi znaczne podniesienie komfortu użytkowania powszechnych w użyciu protez akrylowych.

Jednocześnie na podstawie przeglądu literaturowego wykazano, że jednym z podstawowych problemów związanych z eksploatacją materiałów miękkich materiałów podścielających jest kolonizowanie tego typu tworzyw przez patologiczne bakterie i grzyby. Sprzyja to powstawaniu stanów zapalnych błony śluzowej jamy ustnej, a w dalszej kolejności, stomatopatii protetycznych, powoduje wydziłanie się nieprzyjemnego zapachu i przyczynia się do odczuwanego przez użytkowników protez dyskomfortu psychicznego. Tymczasem liczne prace badawcze, powstałe w ostatnich latach, udowodniły aktywność grzybobójczą i bakteriobójczą srebra w postaci jonowej i cząstkowej, zwanego potocznie „nanosrebrem”. Częściowo rozpoznano także mechanizmy niszczenia komórek drobnoustrojów przez jony srebra. Dostępne

w literaturze tematu opracowania w przytłaczającej większości dotyczą skuteczności przeciwdrobnoustrojowej zawiesin nanocząstek srebra wykonywanych odmiennymi metodami. Pomimo dużego znaczenia naukowego i poznawczego rezultaty te nie pozwalają na wyciągnięcie daleko idących wniosków, dotyczących skuteczności przeciwdrobnoustrojowej gotowych już materiałów, zawierających nanocząstki srebra. Sprawę komplikuje fakt, że aktywność nanocząstek srebra zależy do wielu czynników, takich jak rozmiar cząstek lub liczba i rozmiar agregacji cząstek w otrzymany materiał. Zatem, ewentualna skuteczność przeciwdrobnoustrojowa nanokompozytu zawierającego nanocząstki srebra jest zawsze w pewnym stopniu niewiadomą.

3.2. Cel, teza i zakres pracy

Z punktu widzenia inżyniera tradycyjna akrylowa proteza całkowita, zaopatrzona w miękkie podścielenie, jest kompozytem warstwowym. Część akrylowa stanowi konstrukcję nośną, natomiast miękkie podścielenie ma za zadanie eliminować niekorzystne oddziaływanie twardego akrylu na tkanki pod płytą protezy. Uzupełnienia protetyczne w jamie ustnej pełnią funkcje rehabilitacyjną i estetyczną, której spełnienie jest uwarunkowane cechami geometrycznymi i materiałowymi. O cechach geometrycznych gotowego uzupełnienia protetycznego decyduje przede wszystkim procedura wykonawcza. Niestety, ze względu na ograniczenia technologiczne i ludzkie generuje ona niedoskonałości wykonawcze, co w przypadku twardych protez akrylowych jest przyczyną niezadowolenia pacjentów. Aktualnie możliwości oddziaływania inżynierów w tym kierunku są ograniczone. Zaopatrzenie protezy w miękkie podścielenie niweluje te niedoskonałości i zmniejsza ucisk protezy na podłoże protetyczne, przyczyniając się znacznie do lepszego spełniania podstawowej rehabilitacyjnej funkcji protez. Niestety, podstawowym problemem, związanym z eksploatacją miękkich podścielen, jest wykazywany przez nie brak odporności mikrobiologicznej. W związku z powyższym, poprawienie funkcjonalności protez akrylowych może być osiągnięte poprzez świadome kształtowanie własności materiałowych tworzyw polimerowych do wykonywania miękkich podścielen w taki sposób, aby zwiększona została ich odporność na kolonizowanie przez grzyby oraz bakterie, a zachowane zostały podstawowe własności mechaniczne i użytkowe. Pomimo oczywistego, medycznego aspektu, związanego z funkcją i przeznaczeniem materiału, jest to typowe zagadnienie z obszaru Inżynierii Materiałowej. Rozwiązaniem problemu, zdaniem Autora, jest

wytworzenie kompozytu zawierającego nanowypełniacz o własnościach przeciwdrobnoustrojowych. Takim nanowypełniaczem jest nanosrebro. Tymczasem problematyka stosowania nanocząstek srebra w materiałach przeznaczonych dla stomatologii w celu nadania im własności przeciwdrobnoustrojowych jest do tej pory praktycznie nierozpoznana. Najprostszą i najczęściej opisywaną metodą otrzymywania kompozytów tego typu jest mechaniczne mieszanie nanowypełniaczy z polimerową osnową. Zastosowanie tej technologii powoduje powstawanie dużej liczby agregacji, co wiąże się z koniecznością wprowadzania dużych udziałów czynnej substancji. W przypadku nanosrebra zwiększyłyby to ryzyko cytotoksyczności oraz koszt otrzymania nanokompozytów. Mniejszy stopień agregowania wprowadzanego do polimeru nanomateriału można otrzymać np. dzięki zastosowaniu metody rozpuszczalnikowej. W związku z powyższym, sformułowano następujący główny cel pracy:

Celem pracy były badania silikonowych materiałów na długoczasowe miękkie podścielenia protez stomatologicznych w kierunku otrzymania nanokompozytu charakteryzującego się zwiększoną odpornością przeciwdrobnoustrojową oraz pożądanymi własnościami mechanicznymi i użytkowymi.

Przyjęto, że osiągnięcie przedstawionego celu wymaga zweryfikowania następującej tezy:

Materiały nanokompozytowe przeznaczone na długoczasowe miękkie podścielenia protez stomatologicznych ulepszone nanocząstkami srebra wykazują korzystne cechy biofunkcjonalne związane z ich aplikacją, zwłaszcza zwiększoną odporność mikrobiologiczną.

Zakres prac badawczych niezbędnych do osiągnięcia założonego celu i udowodnienia przyjętej tezy przedstawiono w formie schematu blokowego na rysunku 3.1.

3.3. Metodyka badań

Do testów wybrano dwa komercyjne tworzywa silikonowe przeznaczone do wykonywania długoczasowych, miękkich podścielen protez stomatologicznych. Każde z tworzyw reprezentowało odmienną grupę pod względem sposobu sieciowania. Podstawowymi kryteriami doboru materiałów do badań były: dostępność w naukowych bazach danych rzetelnych i obiektywnych badań potwierdzających wysoką jakość analizowanego tworzywa oraz rzeczywista obecność producenta i samego produktu na polskim rynku. Wyżej wymienione kryteria umożliwiają odniesienie uzyskanych rezultatów do wyników badań innych autorów i zwiększają prawdopodobieństwo praktycznego wykorzystania rezultatów badań na krajowym rynku materiałów przeznaczonych dla stomatologii.

Jako reprezentanta materiałów sieciujących w temperaturze pokojowej wybrano tworzywo Ufi Gel SC (UG), (VOCO GmbH, Niemcy). Tworzywo dostarczane jest przez producenta w specjalnych kartuszkach, zawierających umieszczone obok siebie Ufi Gel Baza (UGB) i Ufi Gel Katalizator (UGK). Obydwa składniki tworzywa to bezwonne, wysokolepkie ciecze. Baza jest koloru jasnoróżowego, a katalizator jest bezbarwny [209]. Reprezentantem tworzyw sieciujących pod wpływem temperatury był Molloplast-B, (DETAX GmbH & Co, Niemcy). Jednoskładnikowe tworzywo ma konsystencję przypominającą plastelinę. Sieciowanie należy prowadzić w kąpeli wodnej o temperaturze 100°C lub mikrofalowo (850 W, 10 min) [210].

Pierwszym etapem badań było opracowanie skutecznej procedury wprowadzenia nanocząstek srebra do osnowy silikonowej. Badania rozpoczęto od rozpoznania składu chemicznego wybranych materiałów. Wyniki analiz składu chemicznego w trakcie dalszych prac badawczych wykorzystano do oceny wpływu rozpuszczenia składników tworzyw na ich skład chemiczny oraz do oceny skuteczności procedur usuwania bazy rozpuszczalnikowej z układu nanocząstki srebra – składnik tworzywa – rozpuszczalnik. Następnie przeprowadzono testy rozpuszczalności w celu znalezienia rozpuszczalnika, stanowiącego jednocześnie ośrodek dyspersyjny dla nanocząstek srebra i bazę rozpuszczalnikową dla składników tworzyw. Pozytywne wyniki testów rozpuszczalności były warunkiem koniecznym do przeprowadzania aplikacji nanocząstek srebra do tworzywa, dlatego też negatywny wynik dyskwalifikował materiał z dalszych badań. Następnie opracowano skuteczną metodę usuwania bazy rozpuszczalnikowej z układu nanocząstki srebra – składnik tworzywa – rozpuszczalnik. Koniecznym okazało się również dopracowanie procedury sieciowania otrzymanych kompozytów. Potwierdzenia obecności nano-

cząstek srebra w nanokompozytach wraz z oceną stopnia agregowania nanocząstek srebra dokonano w oparciu o badania przeprowadzone na skaningowym mikroskopie elektronowym.

Analizę składu chemicznego przeprowadzono metodami spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego ^1H NMR oraz spektroskopii w podczerwieni FT IR.

Widma ^1H NMR rejestrowano przy użyciu spektroskopu magnetycznego rezonansu jądrowego UNITY/INOVA (VARIAN, FT, 300 MHz). Jako rozpuszczalnik zastosowano deuterowany chloroform (CDCl_3). Po wprowadzeniu próbki badanego materiału do rozpuszczalnika otrzymano opalizującą zawiesinę, którą przed pomiarem przesączono. Przesunięcia chemiczne mierzono względem tetrametylosilanu (TMS).

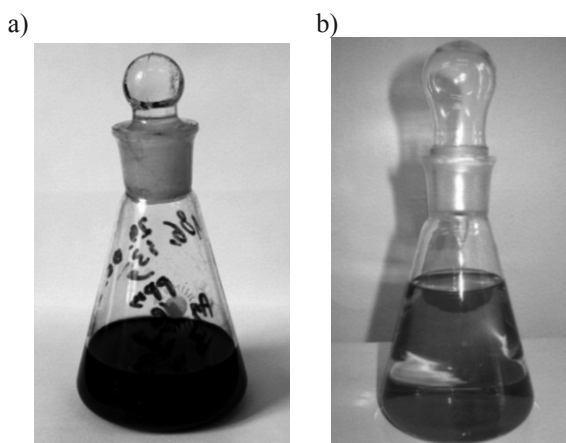
Widma FT IR rejestrowano przy użyciu spektrofotometru Bio-Rad, FTS 175 C. Próbkę materiałów zostały naniesione na pastylki KBr w postaci filmu.

Badania rozpuszczalności próbek tworzyw Molloplast-B oraz UG prowadzono w temperaturze pokojowej. Do badań wykorzystano próbki polimeru Molloplast-B w postaci nieusieciowanej oraz obydwóch składników tworzywa UG. Masa próbek wynosiła $0,25 \pm 0,01$ g. Próbkę wrzucano do kolby, w której znajdowało się 50 g rozpuszczalnika. W przypadku udanej próby rozpuszczenia dawało to roztwór o udziale masowym wynoszącym 0,5 %. Po umieszczeniu testowanego materiału w rozpuszczalniku układ poddawano intensywnemu mieszaniu za pomocą mieszadła magnetycznego. Czas mieszania wynosił do 24 h. Zastosowano 21 różnych rozpuszczalników. W przypadku pozytywnego wyniku próby rozpuszczalności roztwór przelewano do szalki Petriego i pozostawiano do odparowania rozpuszczalnika. Dokonywano oceny organoleptycznej pozostałego na szalce tworzywa. Jeśli nie obserwowano zmian w konsystencji materiału, wykonywano analizę ^1H NMR i porównywano otrzymane widmo z widmem uzyskanym dla tworzywa w stanie pierwotnym. Warunkiem zakwalifikowania pary rozpuszczalnik-tworzywo lub rozpuszczalnik-składnik tworzywa do dalszych testów było uzyskanie satysfakcjonującej rozpuszczalności tworzywa, przy jednoczesnym braku zmian w składzie chemicznym materiału. Wytypowane w ten sposób rozpuszczalniki szeregowano, kierując się takimi kryteriami jak: polarność (preferowane były rozpuszczalniki niepolarne, w których łatwiej jest wytworzyć stabilne zawiesiny nanocząstek srebra) i temperatura wrzenia (istotna podczas odparowywania rozpuszczalnika). Dodatkowym kryterium oceny była toksyczność rozpuszczalnika (zarówno dla człowieka podczas prac laboratoryjnych jak i dla środowiska). Na tej podstawie wybrano rozpuszczalnik do dalszych badań, w którym rozpuszczano próbki materiału o większej masie, aż do momentu, w którym nie obserwowano organoleptycznie

wyraźnego podwyższenia lepkości roztworu. Celem tego testu było dobranie udziału tworzywa w rozpuszczalniku, który umożliwi dokładne wymieszanie roztworu rozpuszczalnik-tworzywo z zawiesiną nanocząstek srebra w rozpuszczalniku.

Następnie dla zakwalifikowanego na podstawie testów rozpuszczalności do dalszych badań materiału UG opracowano procedurę sporządzania nanokompozytów. Zaproponowana „rozpuszczalnikowa” metoda aplikacji nanocząstek srebra do tworzywa silikonowego polega na rozpuszczeniu składnika tworzywa, połączeniu uzyskanego roztworu z koloidem nanocząstek srebra i całkowitym odparowaniu rozpuszczalnika z układu. Procedurę odparowania bazy rozpuszczalnikowej z układu rozpuszczalnik-składnik tworzywa-nanocząstki srebra opracowano dla UGB. Kierując się obserwacjami poczynionymi podczas testów rozpuszczalności założono, że ustalona procedura może być z powodzeniem stosowana w trakcie wprowadzania nanocząstek srebra do drugiego składnika tworzywa. Słuszność tego założenia potwierdzono w końcowej fazie eksperymentu. Procedurę odparowywania bazy rozpuszczalnikowej opracowano dla udziału nanosrebra w tworzywie (u_{AgT}) wynoszącego 20 ppm.

W trakcie badań wykorzystywano zawiesinę nanocząstek srebra o udziale masowym 1000 ppm w heksanie (rys. 3.2a), wykonaną przez Amepox, Łódź. Aby ułatwić równomierne wymieszanie składników i dozowanie koloidu nanocząstek srebra, zawiesinę o udziale 1000 ppm rozcieńczono w 95 % heksanem (POCH S.A.) do udziału masowego wynoszącego 30 ppm, uzyskując stabilną, klarowną, żółto-brązową zawiesinę (rys. 3.2b). Pomiaru wielkości cząsteczek



Rysunek 3.2. Zawiesina nanocząstek srebra w heksanie o udziale 1000 ppm (a)
i po rozcieńczeniu do udziału 30 ppm (b)

w zawiesinie o udziale masowym nanocząstek srebra wynoszącym 30 ppm dokonano metodą dynamicznego rozpraszania światła (DLS – *dynamic light scattering*). Zastosowano goniometr Brookhaven BI-200 z autokorelatorem PCI BI-9000AT, wyposażony w laser He-Ne ($\lambda=632,8$ nm) o mocy 35 mW. Rozmiary cząsteczek zostały określone dla jednego kąta $\theta=90^\circ$.

Masę zawiesiny o określonym udziale cząsteczek srebra (m_{Aghex}), niezbędnej do otrzymania pożądanego udziału nanocząstek srebra w nanokompozycie (u_{AgT}), wyliczano w oparciu o zależność (3.1) wyrażającą udział nanocząstek srebra zawieszonych w heksanie (u_{Aghex}):

$$u_{Aghex} = \frac{m_{AgT}}{m_{Aghex}} \times 10^6 \quad (3.1)$$

więc

$$m_{Aghex} = \frac{m_{AgT} \times 10^6}{u_{Aghex}} \quad (3.2)$$

gdzie: m_{Aghex} – masa zawiesiny nanocząstek srebra niezbędna do uzyskania składnika tworzywa o określonym udziale [g], m_{AgT} – masa nanocząstek srebra niezbędna do uzyskania określonej masy tworzywa o pożądanym udziale masowym nanocząstek [g], u_{Aghex} – udział masowy zawiesiny nanocząstek srebra w haksanie [ppm].

Masę m_{AgT} można wyliczyć w oparciu o wyrażenie określające udział nanocząstek srebra w otrzymywanym kompozycie:

$$u_{AgT} = \frac{m_{AgT}}{m_T + m_{AgT}} \times 10^6 \quad (3.3)$$

z czego wynika:

$$m_{AgT} = \frac{u_{AgT} \times m_T}{10^6 - u_{AgT}} \quad (3.4)$$

gdzie: u_{AgT} – udział masowy nanocząstek srebra otrzymywanym nanokompozycie (lub w jego składniku) [ppm], m_T – masa składnika tworzywa [g].

Podstawiając wyrażenie (3.3) do (3.4), otrzymujemy:

$$m_{Aghex} = \frac{u_{AgT} \times m_T \times 10^6}{u_{Aghex} \times (10^6 - u_{AgT})} \quad (3.5)$$

Równanie to w przypadku stosowania zawiesiny o udziale masowym nanocząstek srebra wynoszącym 30 ppm przyjmuje postać:

$$m_{Aghex} = \frac{u_{AgT} \times m_T \times 10^6}{30 \times (10^6 - u_{AgT})} \quad (3.6)$$

Przed wprowadzeniem zawiesiny nanocząstek srebra do tworzywa w kolbach Erlenmeyera sporządzano 7 % (masowo) roztwór 2,5 g UGB w 95 % heksanie (POCH S.A). Mieszanie prowadzono za pomocą mieszadła magnetycznego w temperaturze pokojowej przez 2 h.

Następnie zawiesinę nanocząstek srebra o udziale 30 ppm mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego przez 15 min, odmierzano wyliczoną według równania 3.6 masę potrzebną do sporządzania kompozycji o pożądanym udziale masowym nanosrebra i wprowadzano ją do roztworu składnika tworzywa. Kompozycję mieszano za pomocą mieszadła magnetycznego przez 15 min. Do odparowania rozpuszczalnika pod obniżonym ciśnieniem zastosowano wyparkę rotacyjną IKA RV-10 i miernik próżni Vacuubrand DVR 2.

Sprawdzono cztery procedury odparowania bazy rozpuszczalnikowej z kompozycji:

- odparowanie heksanu na wyparce rotacyjnej w temperaturze 50°C w próżni 0,001 MPa przy użyciu pompy olejowej (przygotowany roztwór przelewano do kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml, przez pierwsze 30 min rozpuszczalnik odparowywano z układu pod ciśnieniem 0,01 MPa, następnie zastosowano pompę olejową i obniżono ciśnienie do 0,001 MPa),
- odparowanie na wyparce rotacyjnej w temperaturze pokojowej pod obniżonym ciśnieniem do 0,01 MPa przy użyciu pompki wodnej (roztwór kompozycji wprowadzono do kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml, odparowanie prowadzono przez 6 godzin),
- odparowanie na wyparce rotacyjnej w temperaturze 50°C pod obniżonym ciśnieniem do 0,01 MPa przy użyciu pompki wodnej (roztwór kompozycji wprowadzono do kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml, odparowanie prowadzono przez 6 godzin),
- odparowanie w suszarce w temperaturze 50°C przez 2 h i opcjonalnie przez 24 h (roztwór wprowadzono do zlewki o pojemności 150 ml oraz średnicy 60 mm i umieszczono w suszarce w temperaturze 50°C; zastosowano opcjonalnie dwa czasy odparowywania: 6 h lub 24 h).

Uzyskane rezultaty stanowiły podstawę do opracowania finalnych procedur usuwania bazy rozpuszczalnikowej z układu. Procedury te pozwalały na wykonywanie przeznaczonych do dalszych eksperymentów składników nanokompozytów (bazy i katalizatora) o udziałach masowych nanocząstek srebra 10, 20, 40, 80, 120, 200 ppm.

Skuteczność każdej z procedur oceniono na podstawie analizy widm ^1H NMR (spektrometr UNITY INOVA, Varian, 300 MHz, rozpuszczalnik do pomiarów CDCl_3 , Aldrich). Na widmie

^1H NMR 95 % heksanu stosowanego w trakcie eksperymentu obecne były: sygnały: przy $\delta=0,89$ ppm, pochodzący od grupy $-\text{CH}_3$ i przy $\delta=1,28$ ppm, pochodzący od grupy $-\text{CH}_2$.

Następnie dopracowano procedury sieciowania otrzymanych nanokompozytów.

Badanie przeprowadzono w oparciu o własną metodykę. Eksperyment podzielono na dwa etapy. Testy każdego materiału (w stanie wyjściowym i nanokompozytów) wykonywano w pięciu niezależnych próbach. W pierwszym etapie ręcznie mieszano ze sobą składniki uzyskanych kompozytów (1,5 g UGB z 1,5 g UGK) i określano czas pracy (t_p) z materiałem lub opcjonalnie czas wstępnego sieciowania próbek w suszarce w temperaturze 45°C (t_{45}). Czasy sieciowania próbek dobrane w tej części eksperymentu odpowiadają pierwszej fazie sieciowania tworzywa podczas wykonywania miękkich podścielęń protez zalecaną przez producenta procedurą laboratoryjną. Czas t_p określano w temperaturze pokojowej. Za t_p przyjmowano czas, po którym tworzywo było usieciowane w stopniu uniemożliwiającym mieszanie i prawidłowe formowanie materiału. Deklarowany przez producenta czas pracy tworzywa w stanie wyjściowym wynosi około 1 min 45 s [222]. Jeżeli określony w eksperymencie t_p wynosił poniżej 10 min, próbki przed przejściem do etapu 2 pozostawiano w temperaturze pokojowej na kolejne 5 min. Jeżeli czas pracy kompozytu wynosił powyżej 10 min, zamiast t_p wyznaczano czas t_{45} , po którym próbki zawierające nanocząstki srebra osiągały konsystencję zbliżoną do konsystencji próbek tworzywa UG po 7 min (7 min to suma zalecanego przez producenta czasu pracy i czasu sieciowania do momentu przeniesienia do garnka ciśnieniowego). Próbki nanokompozytów bezpośrednio po wymieszaniu umieszczano w suszarce w temperaturze 45°C na 5 min, po czym sprawdzono organoleptycznie stopień usieciowania, oceniając konsystencję materiałów i ewentualną, zauważalną lepkość powierzchni próbek. Jeżeli stopień usieciowania był niezadowalający, próbki umieszczano w suszarce na kolejne 5 min. W przypadku pozytywnej oceny, przechodzono do etapu 2.

Według wskazań producenta sieciowanie należy kontynuować w garnku ciśnieniowym w temperaturze 45°C przez 15 min. Czas sieciowania w garnku ciśnieniowym (t_d) określono w drugiej fazie eksperymentu. Polegała ona na ocenie zmian twardości w czasie w skali Shore'a A. Próbki do badań o grubość 6 mm i średnicy 40 mm wykonywano w formie ze stali nierdzewnej, przeznaczonej do wykonywania próbek do badań twardości miękkich tworzyw do wykonywania podścielęń protez prowadzonych zgodnie z Normą Europejską [223]. Materiał do badań mieszano ręcznie, umieszczano w formie, po czym formę zamykano i ścisano na ręcznej prasie pneumatycznej. Zgodnie z wynikami uzyskanymi w trakcie etapu pierwszego

przeprowadzano wstępne sieciowane. Następnie próbkę razem z formą umieszczano w garnku ciśnieniowym wypełnionym wodą o temperaturze 45°C. Po upływie 5 min próbki wyjmowano z wody i z form oraz osuszano bibułą filtracyjną z widocznej wilgoci. Możliwie szybko mierzono pięciokrotnie twardość w różnych punktach. Następnie próbki umieszczano powtórnie w garnku ciśnieniowym. Pomiary twardości wykonywano w pięciominutowych odstępach czasu, aż do momentu uzyskania powtarzalnych rezultatów w czterech kolejnych seriach (brak zarejestrowanego wzrostu twardości przez 20 min). Za t_d przyjmowano czas od umieszczenia próbki w garnku ciśnieniowym, do uzyskania pierwszego stabilnego rezultatu (całkowity czas przebywania próbki w garnku ciśnieniowym – 20 min). Następnie próbki wyciągano z garnka ciśnieniowego i przetrzymywano w komorze wypełnionej wodą destylowaną o $37\pm 1^\circ\text{C}$ przez 24 h, po czym wykonywano kontrolny pomiar twardości.

Przeznaczone do dalszych badań próbki wykonywane z otrzymanych nanokompozytów o udziale masowym nanocząstek srebra 10, 20, 40, 80, 120 i 200 ppm sieciowano według opracowanych procedur, a próbki z materiału UG według wskazań producenta.

Ocenę skuteczności wprowadzenia nanocząstek srebra do osnowy silikonowej przeprowadzono na podstawie badań mikroskopowych. Próbkę do badań wykonywano z usieciowanych nanokompozytów oraz materiału UG stanowiącego próbę kontrolną. Próbkę materiałów o wymiarach 10×10 mm i grubości 2,5 mm zamrażano w ciekłym azocie i montowano bezpośrednio w uchwycie w kriokomorze ultramikrotomu (Leica, EM UC7), którą schładzano do -120°C . Próbkę cięto z prędkością 5 mm/sec na folie o grubości 100 nm i następnie umieszczano je przy pomocy rzęsy na miedzianej siatce, klasycznej w transmisyjnej mikroskopii elektronowej.

Badania przeprowadzono na wysokorozdzielczym środowiskowym skaningowym mikroskopie elektronowym Quanta 250 ESEM FEG (FEI Company). Zastosowano napięcie przyspieszające 30 kV w trybie środowiskowym. W trakcie badań zastosowano detektor elektronów przechodzących (wet-STEM) umożliwiający badania środowiskowe cienkich folii wykonanych z próbek nieprzewodzących, nasyconych wodą lub emitujących gazy w trybie rozszerzonej niskiej próżni (ESEM™) oraz gazowy detektor elektronów wtórnych (GSED – *Gaseous Secondary Electron Detector*).

Podstawowym zadaniem nanocząstek srebra w otrzymanych nanokompozytach jest podwyższenie odporności mikrobiologicznej miękkich materiałów podścielających. Mikroorganizmem w znacznej mierze odpowiadającym za powstawanie powierzchniowej płytki

bakteryjnej jest *Streptococcus Mutans*, a organizmem najsilniej kolonizującym miękkie podścielenia jest grzyb drożdżopodobny *Candida albicans* [133, 137, 143, 145]. W związku z powyższym przeanalizowano wpływ wprowadzenia nanocząstek srebra do miękkiego materiału podścielającego na aktywność bakterio i grzybobójczą *in vitro* otrzymanych kompozytów. Reprezentantem bakterii w przeprowadzonych testach był *Streptococcus Mutans*, a grzybów *Candida albicans*.

Badania aktywności przeciwdrobnoustrojowej otrzymanych nanokompozytów przeprowadzono, bazując na metodzie przedstawionej w pracy [224]. W badaniach aktywności grzybobójczej testowanych materiałów wykorzystano wzorcowy szczep grzybów *Candida albicans* ATCC 10231. Wysterylizowane plazmowo próbki każdego z badanych kompozytów o rozmiarach 10×10×2 mm umieszczano w 4 ml zawiesiny wzorcowego szczepu grzybów o końcowej gęstości $1,5 \times 10^5$ CFU/ml (jednostek tworzących kolonie bakterii w 1 ml) w wodzie tryptonowej. Jako kontrolę ujemną zastosowano próbkę tworzywa UG w 4 ml wody tryptonowej oraz 4 ml wody tryptonowej, a jako kontrolę dodatnią 4 ml zawiesiny wzorcowego szczepu drobnoustroju o gęstości $1,5 \times 10^5$ CFU/ml.

Próby badaną i kontrolną wykonano w 2 powtórzeniach. Po 17 h inkubacji w temperaturze 37°C w warunkach tlenowych z każdej próby wysiewano objętość 20 µl na stałe podłoże do hodowli grzybów agar Sabourauda. Po 48 h inkubacji w temperaturze 37°C w warunkach tlenowych oceniano liczbę wyhodowanych kolonii grzybów w celu określenia skuteczności grzybobójczej (AFE – ang. *anti-fungal efficacy*). AFE badanych próbek obliczano według zależności (3.7):

$$AFE [\%] = \frac{V_c - V_t}{V_c} \times 100 \% \quad (3.7)$$

gdzie: V_c – gęstość zawiesiny drobnoustroju w kontroli dodatniej (blanc), V_t – gęstość testowej zawiesiny drobnoustroju.

W badaniach aktywności bakteriobójczej wykorzystano wzorcowy szczep bakterii *Streptococcus mutans* ATCC 33535. Wysterylizowane plazmowo próbki każdego z badanych nanokompozytów i materiału UG umieszczano w 4 ml zawiesiny wzorcowego szczepu bakterii o końcowej gęstości $1,5 \times 10^5$ CFU/ml w wodzie tryptonowej.

Kontrolę ujemną stanowiła próbka tworzywa UG w 4 ml wody tryptonowej oraz 4 ml wody tryptonowej, a kontrolę dodatnią stanowiły 4 ml zawiesiny wzorcowego szczepu drobnoustroju o gęstości $1,5 \times 10^5$ CFU/ml (bez próbek materiału).

Próbkę badaną i kontrolną wykonano w 2 powtórzeniach. Po 17 godzinach inkubacji w temperaturze 37°C w warunkach mikroaerofilnych z każdej próby badanej i kontrolnej wysiewano objętość 20 µl na stałe podłoże do hodowli bakterii agar Columbia z 5 % dodatkiem krwi baraniej. Po 48 h inkubacji w temperaturze 37°C w warunkach mikroaerofilnych oceniano liczbę wyhodowanych kolonii bakterii w celu określenia skuteczności bakteriobójczej (ABE – ang. *anti-bacterial efficacy*). ABE badanych próbek obliczano według zależności (3.8):

$$ABE [\%] = \frac{V_c - V_t}{V_c} \times 100 \% \quad (3.8)$$

gdzie: V_c – gęstość zawiesiny drobnoustroju w kontroli dodatniej (blanc), V_t – gęstość testowej zawiesiny drobnoustroju

Sukces badań mikrobiologicznych stał się podstawą zakwalifikowania wszystkich nanokompozytów do badań podstawowych własności mechanicznych i użytkowych.

W pierwszej fazie testów przeprowadzono badania twardości w skali Shore’a A, wytrzymałości połączenia nanokompozytów z materiałami przeznaczonymi na akrylowe płyty protez oraz pomiary nasiąkliwości i rozpuszczalności nanokompozytów. Uzyskane rezultaty zestawiono z wynikami otrzymanymi dla tworzywa UG.

Badania naukowe wskazują, że materiały do wykonywania długoczasowych podścielen protez mogą, wraz z upływem czasu, wykazywać znaczne zmiany twardości oraz zmniejszoną wytrzymałość połączenia wytworzonego z materiałami akrylowymi przeznaczonymi na płyty protez [90]. Zmiany te są spowodowane między innymi nasiąkliwością, rozpuszczalnością, dehydratacją i utlenianiem tworzyw [109]. Utrata pierwotnych własności użytkowych tworzyw, w tym ich elastyczności, prowadzi do zwiększenia dolegliwości odczuwanych przez pacjentów, powoduje bowiem wzrost obciążenia błony śluzowej znajdującej się pod podścieloną protezą [83]. Dlatego też w trakcie badań uwzględniono długoczasowy wpływ środowiska wodnego na mierzone własności.

Badania zmian twardości w skali Shore’a A w czasie przeprowadzono zgodnie z normą [223] ze zmianami dotyczącymi czasu trwania eksperymentu. Próbki do badań wykonano w stalowej, polerowanej formie o średnicy 40 mm i głębokości gniazda 6 mm. Przed wymieszaniem materiału gniazdo formy i przykrywkę zabezpieczano cienką warstwą substancji izolującej (spray teflonowy). Następnie ręcznie mieszano ze sobą składniki tworzywa. Materiał umieszczano w formie, po czym całość przykrywano wieczkiem i ścisano na ręcznej prasie

pneumatycznej i sieciowano próbki. Z każdego z materiałów wykonano po 3 próbki (łącznie wykonano 21 próbek z siedmiu materiałów). Twardość Shore'a A po 5 s obciążenia mierzono przed umieszczeniem próbek w kąpeli wodnej oraz po 24 h, 7, 14, 28, 45, 60, 75 i 90 dniach starzenia (t_{st}) w komorze wypełnionej wodą destylowaną o temperaturze $37\pm 1^\circ\text{C}$. Pomiary wykonywano w ciągu 2 ± 1 min od wyjęcia próbki z kąpeli. Twardość dla każdej z próbek mierzono w pięciu punktach pomiarowych, które były oddalone od brzegu próbki o co najmniej 5 mm i o co najmniej 2 mm od siebie nawzajem. Po zakończeniu pomiaru próbkę niezwłocznie umieszczano z powrotem w kąpeli wodnej.

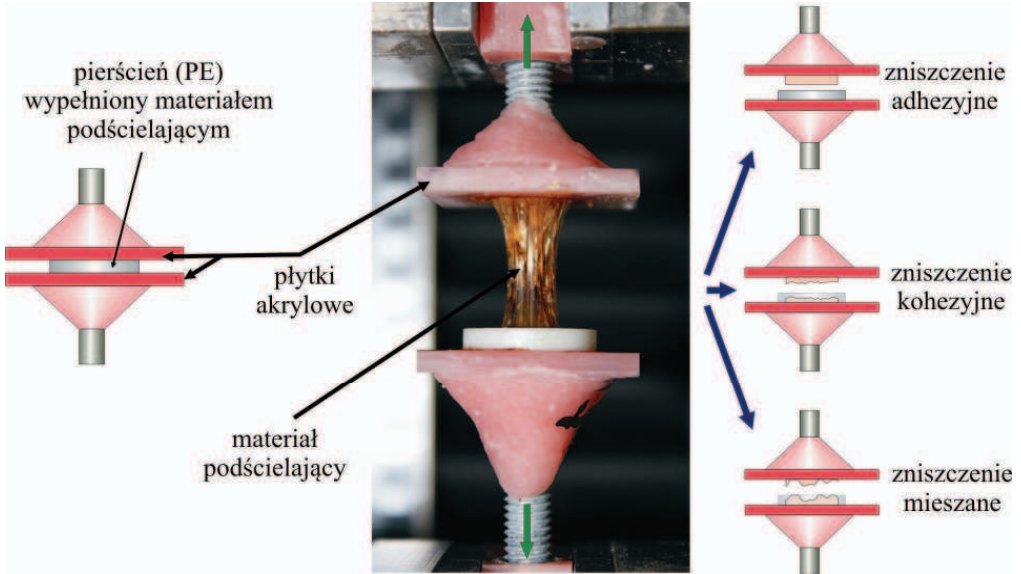
Zbadano wpływ wprowadzenia nanocząstek srebra na twardość oraz stabilność twardości próbek w czasie starzenia w wodzie destylowanej oraz określono stopień spełnienia wskazań normy europejskiej [223] przez otrzymane kompozyty. Norma, na podstawie wyników pomiarów twardości, dzieli miękkie materiały do wykonywania długoczasowych podścielen protez na: typ A – miękkie lub typ B – super miękkie. Kryteria klasyfikacji przedstawiono w tabelicy 3.1, przy czym co najmniej dwie spośród trzech przebadanych próbek muszą spełniać wymagania przewidziane dla danego typu materiału.

Tablica 3.1. Zestawianie wymagań normy [223] dotyczących twardości miękkich materiałów do wykonywania długoczasowych podścielen protez

Typ	Shore A (24 h -5s)	Shore A (28 dni -5s)
A (miękki)	$25 < \text{Shore A} \leq 50$	$\text{Shore A} \leq 55$
B (super miękki)	$\text{Shore A} \leq 25$	$\text{Shore A} \leq 35$

Wytrzymałość na rozciąganie połączenia miękkiego materiału podścielającego z materiałami przeznaczonymi na akrylowe protezy badano metodą przedstawioną w [223] z niewielkimi zmianami, dotyczącymi wykonawstwa próbek oraz czasu prowadzenia eksperymentu. W trakcie badań zastosowano dwie żywice akrylowe. Vertex Rapid Simplified, Vertex-Dental B.V., Holandia (VRS) reprezentował grupę żywic akrylowych polimeryzujących pod wpływem ciepła („na gorąco”). VRS jest przeznaczony do wykonywania protez całkowitych i częściowych. Polimeryzację tworzywa prowadzi się przez 20 min w temperaturze 100°C (gotowanie w wodzie). Vertex Castapress, Vertex-Dental B.V., Holandia (VC) reprezentował grupę żywic akrylowych polimeryzujących „na zimno”. VC jest „samopolimeryzującym” tworzywem akrylowym, przeznaczonym do wykonywania protez całkowitych i częściowych, napraw, podścielenia, rebazacji i uzupełniania protez szkieletowych. Polimeryzację prowadzi się przez 30 min pod ciśnieniem 0,25 MPa w temperaturze 55°C .

Z żywicy wykonywano płytki o wymiarach 10×10 cm i grubości $3,5 \pm 0,3$ mm. Płytki z obu stron poddawano wstępnemu szlifowaniu (na płasko) ruchem posuwisto – zwrotnym na papierze ściernym o ziarnistości 120 (Struers A/S, Kopenhaga, Dania) w celu usunięcia ewentualnych nierówności. Płytki zeszlifowywano do grubości $3,2 \pm 0,3$ mm. Na powierzchni przygotowywanej do badań uzyskiwano rysy przebiegające tylko w jednym kierunku. Po zakończeniu szlifowania płytki dokładnie płukano, a następnie obracano o 90° i ponownie szlifowano i płukano przygotowywaną powierzchnię. Zastosowano kolejno papiery ścierne o grubości ziarna 220 i 320 (aż do zniknięcia rys z poprzedniego papieru), po czym kontrolowano grubość płytek w 5 miejscach ($3,2 \pm 0,3$ mm). Z płytek wycinano kwadratowe próbki o długości boku $25 \pm 0,3$ mm i zeszlifowywano powstałe na krawędziach nierówności. Próbki dokładnie płukano, po czym powierzchnię roboczą próbek szlifowano na mokro na papierze ściernym o ziarnistości 500, aż do zniknięcia rys z poprzedniego papieru. Próbki ponownie płukano, zwracając szczególną uwagę na to, aby nie dotykać przygotowywanej powierzchni, po czym umieszczano je w wodzie destylowanej i starzono w temperaturze $37 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 28 dni ± 5 h. Po 28 dniach próbki wyjmowano z kąpeli parami i powierzchnię osuszano bibułą z widocznej wilgoci. Na powierzchnię roboczą nanoszono pędzelkiem środek wiążący o nazwie handlowej adhesionis przeznaczony do tworzywa UG. Pierwszą płytkę kładziono na zamontowanym w maszynie wytrzymałościowej (Zwick/Roel, Niemcy) stoliku przeznaczonym do ściskania. Pośrodku płytki umieszczano polietylenowy pierścień o średnicy wewnętrznej 11 mm i wysokości 3 mm, w którym umieszczano wymieszany materiał do badań. Nakładano drugą płytkę akrylową i dociskano ją drugim stemplem z siłą 30 N. Po usieciowaniu materiału do próbek dołączano przy pomocy autopolimeru uchwyty. Skalpelem delikatnie usuwano ewentualne wypłytki materiału. Dodatkowo po obydwóch stronach PE pierścienia ostrożnie wsuwano skalpel między pierścień a płytkę i delikatnie podważano płytkę, powodując odklejenie się od siebie złączonych wyciskany silikonem elementów. Próbki umieszczano w komorze wypełnionej wodą destylowaną o temperaturze $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Zastosowano trzy czasy starzenia próbek: 24 h ± 1 h, 7 dni ± 1 h i 28 dni ± 2 h. Wykonano po 10 próbek dla każdego ze skojarzeń testowany materiał – żywica akrylowa – czas starzenia (łącznie 420 próbek). Po wyjęciu z kąpeli próbki niezwłocznie mocowano w szczękach maszyny wytrzymałościowej wyposażonej w specjalnie przygotowane uchwyty i rozciągano z prędkością 10 mm/min, aż do całkowitego rozerwania próbki. Sposób przeprowadzania testu przedstawiono na rys. 3.3.



Rysunek 3.3. *Próbka rozciągana w trakcie testu wytrzymałości połączenia miękkiego materiału podścielającego z żywicą akrylową oraz schematyczne przedstawienie poszczególnych typów zniszczenia próbek*

Dla każdej z zerwanych próbek określano wizualnie rodzaj powstałego w trakcie eksperymentu zniszczenia (rys. 3.3) [95]:

- zniszczenie międzypowierzchniowe, nazywane adhezyjnym (A); polega na oddzieleniu od siebie materiału podścielającego i akrylu, często z cienką warstwą materiału podścielającego na akrylu;
- zniszczenie kohezyjne (K), polega na zerwaniu miękkiego materiału podścielającego łączącego akrylowe płytki;
- zniszczenie mieszane, adhezyjno-kohezyjne (AK).

Następnie obliczano wytrzymałość połączenia σ_B (MPa) na podstawie zależności:

$$\sigma_B = \frac{F_{\max}}{A} \quad (3.9)$$

gdzie: F_{\max} – maksymalna zarejestrowana w trakcie testu siła [N], A – początkowe pole powierzchni połączenia silikonu z akrylem [mm²]

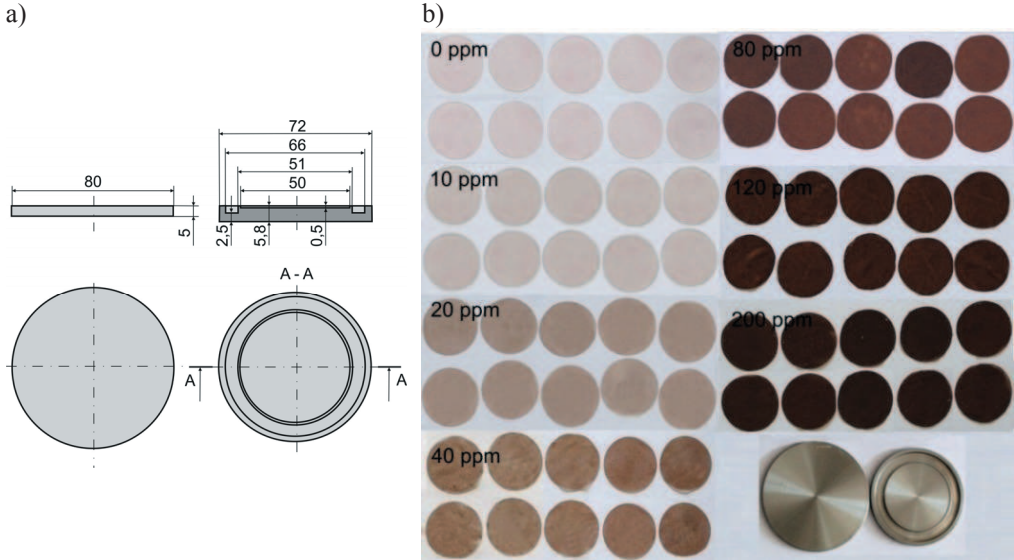
Na podstawie rezultatów uzyskanych dla próbek starzonych przez 24 h oceniano otrzymane materiały pod kątem spełnienia wymagań normy [223]. Wytrzymałość połączenia dla ośmiu z dziesięciu przebadanych próbek, powinna wynosić:

- w przypadku materiałów sklasyfikowanych jako typ A (tablica 3.1), co najmniej 1 MPa,
- w przypadku materiałów sklasyfikowanych jako typ B, co najmniej 0,5 MPa.

Dodatkowo na skaningowym mikroskopie elektronowym Hitachi S-3400N przeprowadzono obserwacje strefy połączenia żywicy akrylowej VC z tworzywem UG i nanokompozytem o u_{AgT} wynoszącym 40 ppm. Przed badaniem próbki nacinano lekko (zarówno akryl, jak i silikon), po czym zanurzano je w ciekłym azocie i udarowo łamano.

Nasiąkliwość i rozpuszczalność kompozytów określono w oparciu o dwie, różniące się między sobą metody obliczeniowe (sposób prowadzenia eksperymentu jest taki sam). Metoda przedstawiona w Normie Europejskiej [223] nakazuje wyliczenie objętościowych zmian mas próbek, a według metody najczęściej spotykanej w literaturze [110], wyznaczana jest względna zmiana masy próbek. Narzucony w normie sposób pomiaru wymiarów próbek przy pomocy suwmiarki budzi pewne zastrzeżenia. Materiały podścielające należą do tworzyw elastycznych, zaś próbki do badań są szerokie i cienkie, co utrudnia przeprowadzenie pomiaru bez ugięcia próbki suwmiarką. Metodę tę jednak zastosowano ze względu na ściśle określone w dokumencie standardy dotyczące nasiąkliwości i rozpuszczalności.

Próbki do badań średnicy 50 mm i grubości 0,5 mm wykonywano w formach ze stali nierdzewnej (rys. 3.4). Mieszanie materiałów odbywało się ręcznie. Każdą próbkę wykonywano z oddzielnej mieszanki. Po wymieszaniu materiał umieszczano w formie, przykrywano izolującym kawałkiem foli poliestrowej o grubości 23 μm (DuPont Teijin Films, USA) i średnicy 80 mm, nakrywano przykrywką i ścisano na ręcznej prasie pneumatycznej. Po zakończeniu procedury sieciowania wyjmowano próbki z formy, a następnie sprawdzano ich jakość, zwracając uwagę na to, czy powierzchnie górna oraz dolna są płaskie i czy w próbkach są pęcherze. Łącznie wykonano 70 próbek, po 10 z każdego materiału (rys. 3.4b). Próbki ważono na wadze analitycznej (Radwag, AS 110/C/2) z dokładnością do 0,1 mg, umieszczano na porcelitowych półkach i wkładano do eksykatorów zawierających świeżo suszony przez 5 h w temperaturze 130°C silica gel (POCH, Gliwice). Eksykatory umieszczano w suszarce w temperaturze 37 \pm 1°C. Po 23 \pm 1 h eksykatory wyjmowano z suszarki. Po godzinie próbki kolejno ważono na wadze analitycznej z dokładnością do 0,1 mg. Po zważeniu wszystkich próbek znajdujących się w danym eksykatorze, półki z próbkami przekładano do przetrzymywanych w temperaturze pokojowej eksykatorów, zawierających świeżo wysuszony silica gel. W pierwszym eksykatorze zmieniano silica gel na świeżo wysuszony, przekładano do niego półkę z próbkami i eksykator umieszczano z powrotem w suszarce.



Rysunek 3.4. Forma służąca do wykonania próbek do badań nasiąkliwości i rozpuszczalności miękkich tworzyw do podścielania protez (a) oraz próbki do testów (b)

Dwudziestoczegorodzinne cykle powtarzano aż do momentu, w którym dzienne zmiany masy były nie większe niż 0,2 mg. Stabilne wartości osiągnano po od 7 do 8 dni i zapisywano je jako „masę kondycjonowaną” m_1 . W tym momencie eksperymentu mierzono suwmiarką trzykrotnie średnicę i pięciokrotnie grubość próbek z dokładnością do 0,01 mm. Wyliczano średnie i obliczano objętość próbek (V). Po zakończeniu pomiarów próbki umieszczano w komorze środowiskowej wypełnionej wodą destylowaną (POCH, Gliwice) o temperaturze $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Próbki starzono przez 7 lub 28 dni. Po starzeniu próbki wyjmowano pojedynczo z komory, osuszano przy pomocy bibuły filtracyjnej z widocznej wilgoci, falowano nimi na powietrzu przez około 15 s i po około minucie od wyjęcia z wody ważono je. Zarejestrowaną masę zapisywano jako m_2 . Próbki umieszczano ponownie w eksykatorach zawierających świeżo wysuszony silica gel i suszono, zgodnie z procedurą przedstawioną powyżej, do uzyskania stabilnej masy, po czym ważono je i rezultat zapisywano jako m_3 .

Sprawdzono, czy próbki spełniają wymogi Normy Europejskiej [223], obliczając nasiąkliwość i rozpuszczalność po 7 dniach starzenia w wodzie destylowanej według zależności:

$$w_{sp} = \frac{m_2 - m_3}{V} \quad (3.10)$$

$$w_{sl} = \frac{m_1 - m_3}{V} \quad (3.11)$$

gdzie: w_{sp} – nasiąkliwość, w_{sl} – rozpuszczalność, m_1 – masa wyjściowa wysuszonych próbek, m_2 – masa po starzeniu, m_3 – masa po drugim suszeniu, V – objętość.

Do wzorów masę podstawiano w μg i objętość w mm^3 . Uzyskany rezultat zaokrąglano do $0,1 \frac{\mu\text{g}}{\text{mm}^3}$. Według normy [223] nasiąkliwość i rozpuszczalność nie mogą przekraczać

odpowiednio $20 \frac{\mu\text{g}}{\text{mm}^3}$ i $3 \frac{\mu\text{g}}{\text{mm}^3}$ dla przynajmniej czterech z pięciu próbek.

Nasiąkliwość i rozpuszczalność najczęściej są jednak określane jako względne zmiany masy próbek na podstawie zależności:

$$w_{sp} = \frac{m_2 - m_3}{m_1} \times 100\% \quad (3.12)$$

$$w_{sl} = \frac{m_1 - m_3}{m_1} \times 100\% \quad (3.13)$$

Zdaniem autora Powyższy sposób przeprowadzenia obliczeń jest nieco prostszy w realizacji i dokładniejszy. W związku z powyższym, objętościowe zmiany masy obliczono tylko po 7 dniach w celu sprawdzenia stopnia spełnienia wymagań normy przez otrzymane nanokompozyty, natomiast do dalszych analiz (starzenie przez 7 i 28 dni) wykorzystywano zależności 3.12 oraz 3.13.

W drugiej fazie testów przeprowadzono badania wybranych własności związanych z cechami lepkosprężystymi miękkich materiałów podścielejających. Protezy stomatologiczne w trakcie użytkowania są poddawane cyklicznemu oddziaływaniu sił żucia. Jak nadmieniono w rozdziale 2, za podstawowe zadanie miękkich podścieleń uważa się zmniejszenie obciążenia błony śluzowej i zapobieganie urazom mechanicznym. Dlatego też właściwe funkcjonowanie miękkich podścieleń jest w naturalny sposób związane z własnościami elastycznymi i lepkosprężystymi materiałów. W związku z powyższym, przeprowadzono badania charakterystyk odkształceniowo-czasowych oraz wyznaczono pracę dyssypowaną przez próbki testowanych materiałów w trakcie cyklicznego ściskania. Rozważając zastosowanie nanokompozytów do wykonywania elastycznych złączy ciernych, analizując zmiany naprężeń relaksacji podczas ściskania, wyznaczono czas, po jakim osiągnana jest stabilna wartość naprężenia, determinująca siłę retencji złącza.

Przeznaczone do wszystkich badań próbki miały średnice 15 mm i grubość 2,25 mm. Wymiary dobrano w taki sposób, aby były zbliżone do geometrii spotykanej w podścieleniach protez. Próbki wycinano wykrojnikiem z usieciowanych płytek o wymiarach 60×60×2,25 mm. Każdą płytkę wykonywano z oddzielnej mieszanki baza – katalizator. Z jednej płytki wycinano nie więcej niż 1 próbkę przeznaczoną do jednego typu badania (łącznie wykonano 210 próbek). Badania realizowano na uniwersalnej maszynie wytrzymałościowej Zwick. Przed wykonaniem każdej próby na stemple i próbki nanoszono ciekłą warstwę oliwy z oliwek, aby wyeliminować przywieranie czołowych powierzchni próbek do powierzchni stempli.

Analizę charakterystyk czasowych przeprowadzono w trakcie obciążenia i odciążenia próbek. Próbki poddawano natychmiastowemu obciążeniu (jednoosiowe ściskanie). Zadawano wynoszące 0,1; 0,2; 0,4 i 0,6 MPa naprężenia umowne, określone zależnością [226]:

$$\sigma_u = \frac{F}{A_0} \quad (3.14)$$

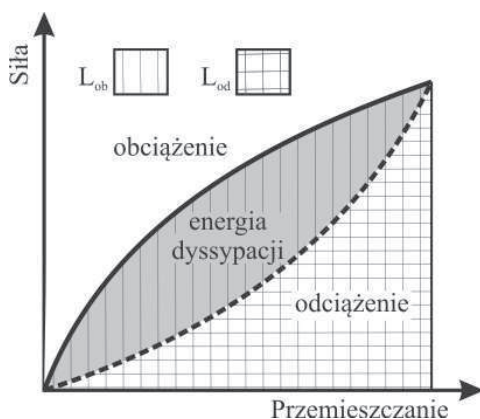
gdzie A_0 – początkowe pole przekroju poprzecznego próbki.

Zastosowane wartości naprężeń odpowiadają obciążeniom występującym pod protezą w czasie użytkowania, przy czym wartości 0,4-0,6 MPa odpowiadają naprężeniom powodującym lokalne doznania bólowe [227-230]. Obciążenie próbek utrzymywano przez 120 s, rejestrując zmiany odkształcenia. Po 120 s od momentu zrealizowania pełnego obciążenia, próbki odciążano natychmiastowo, pozostawiając resztkowe obciążenie 0,5 N i rejestrowano zmiany odkształcenia przez kolejne 120 s. Analizę wyników przeprowadzono w oparciu o wybrane punkty charakterystyk odkształcenie – czas oraz współczynniki określające wielkość zmian odkształcenia w czasie. Dla obciążonych próbek odczytywano wartość odkształcenia w chwili zrealizowania maksymalnego obciążenia próbki (ϵ_0), wyznaczano współczynnik opisujący wzrost odkształcenia po pierwszych pięciu sekundach obciążenia próbki $\epsilon_{5/0}$ (stosunek odkształcenia ϵ_5 po 5 s do ϵ_0) oraz współczynnik opisujący wzrost odkształcenia w kolejnych 25 s obciążenia próbki $\epsilon_{30/5}$ (stosunek odkształcenia ϵ_{30} po 30 s do ϵ_5). Czasy dobrano kierując się danymi literaturowymi oraz przebiegiem samych charakterystyk. Pierwszych pięć sekund, odwzorowywało pierwszą fazę cyklu żucia. Pomiar odkształcenia po 30 s odpowiada w przybliżeniu reakcji materiału na obciążenie podczas żucia: wykazano, że rozdrabnianie pokarmu trwa przeciętnie od 10 do 40 cykli [231, 232] przy czym czas trwania 35 cykli żucia u użytkowników protez całkowitych wynosi około 30 s [233]. Analizując przebieg charakterystyk uznano, że przyrost odkształcenia w kolejnych 90 s nie wymaga

analizy, ze względu na nieznaczne zmiany odkształceń przy niskim prawdopodobieństwie tak długiego cyklu żucia. Na podstawie krzywej odwzorowującej zmiany odkształcenia podczas odciążania określano odkształcenia po 1 s od zdjęcia obciążenia (ϵ_{1od}) oraz odkształcenia po 30 s od zdjęcia obciążenia (ϵ_{30od}). Wyznaczono także współczynnik $\epsilon_{1od/120}$ (stosunek odkształcenia ϵ_{1od} do odkształcenia poprzedzającego rozpoczęcie odciążania), który opisuje zdolność próbek do odzyskania pierwotnej postaci tuż po rozpoczęciu odciążania.

Energię dyssypowaną przez próbki wyznaczono na podstawie badania polegającego na jednoosiowym, cyklicznym ściskaniu. W próbkach wywoływano obliczane według zależności 3.14 naprężenie umowne o wartości 0,15 MPa. Wykonywano 7 pełnych cykli. Liczbę wykonywanych cykli ustalono eksperymentalnie – w siódmym cyklu otrzymywano nakładające się na siebie pętle nawet dla najgorszego pod tym względem materiału. Pętle histerezy mechanicznej zapisywano w układzie naprężenie-odkształcenie [234]. Wyznaczone doświadczalnie pętle histerezy (rys. 3.5) są prostą metodą zbadania energii dyssypacji w otrzymanych kompozytach [235], a ich powierzchnia jest miarą energii dyssypowanej w jednym pełnym cyklu odkształcenia (obciążenie-odciążenie) [236], która zostaje zamieniona głównie na ciepło [236, 239, 240]. Energię dyssypacji (w_d) oblicza się jako różnicę pracy L_{ob} włożonej w odkształcenie próbki (pole pod krzywą obciążania) i pracy L_{od} oddanej podczas odciążania (pole pod krzywą odciążania) charakterystyk w układzie siła-przemieszczenie [226, 234, 237, 238]. Wyznaczono w_d dla pierwszego i siódmego cyklu.

W trakcie oceny naprężeń relaksacji podczas ściskania próbki poddawano natychmiastowemu, stałemu odkształceniu odpowiadającemu zaprojektowanemu podwymirowi



Rysunek 3.5. Pętla histerezy krzywej zależności siły od przemieszczenia

złączy w stosunku do średnicy implantu, wynoszącemu 20 % [64]. W trakcie trwającej 120 min próby rejestrowano zmiany naprężenia. Na podstawie otrzymanych rezultatów sporządzono krzywe relaksacji, wyznaczając procentowe zmiany naprężenia w czasie:

$$\sigma_w = \frac{\sigma_t}{\sigma_{\max}} \times 100\% \quad (3.15)$$

gdzie: σ_w – naprężenie względne relaksacji, σ_t – naprężenie po czasie t , σ_{\max} – naprężenie maksymalne [225, 241].

Rezultaty badań podstawowych własności mechanicznych i użytkowych poddano analizie statystycznej. Wyniki badań twardości, wytrzymałości połączenia nanokompozytów z materiałami akrylowymi przeznaczonymi na płyty protez, nasiąkliwości, rozpuszczalności, analiz charakterystyk czasowych, pracy dyssypowanej podczas cyklicznego ściskania i naprężeń relaksacji podczas ściskania poddano analizie wariancji (ANOVA) dla układów jedno-czynnikowych lub wieloczynnikowych ($\alpha=0,05$). Testy poprzedzono sprawdzeniem założenia o jednorodności wariancji testem Bartela ($p>0,05$, wariancje były jednorodne).

W przypadku badań twardości, wytrzymałości połączenia nanokompozytów z materiałami akrylowymi przeznaczonymi na płyty protez, nasiąkliwości i rozpuszczalności przeprowadzono analizę wariancji dla układów wieloczynnikowych, weryfikując następujące hipotezy zerowe:

- czas starzenia w wodzie destylowanej w temperaturze 37°C nie różnicuje średnich;
- udział masowy nanocząstek srebra w nanokompozytach nie różnicuje średnich;
- nie występuje współdziałanie między poziomami czasu starzenia w wodzie destylowanej i udziału masowego nanocząstek srebra, czyli reakcja badanej zmiennej na jeden czynnik jest jednakowa przy wszystkich poziomach drugiego czynnika.

Wyniki badań charakterystyk czasowych poddano analizie wariancji dla układów jednoczynnikowych (ϵ_0 , $\epsilon_{5/0}$, $\epsilon_{30/5}$) i wieloczynnikowych ($\epsilon_{10d/120}$, ϵ_{10d} , ϵ_{30d}), weryfikując następujące hipotezy zerowe:

- zastosowany udział masowy nanocząstek srebra nie różnicuje średnich wartości (ϵ_0 , $\epsilon_{5/0}$, $\epsilon_{30/5}$, $\epsilon_{10d/120}$, ϵ_{10d} , ϵ_{30d});
- wartość przyłożonego naprężenia umownego nie różnicuje średnich wartości ($\epsilon_{10d/120}$, ϵ_{10d} , ϵ_{30d});
- nie występuje współdziałanie między poziomami udziału masowego nanocząstek i naprężenia umownego ($\epsilon_{10d/120}$, ϵ_{10d} , ϵ_{30d}).

Wyniki badań pracy dyssypowanej podczas cyklicznego ściskania poddano analizie wariancji dla układów wieloczynnikowych, weryfikując następujące hipotezy zerowe:

- zastosowany udział masowy nanocząstek srebra nie różnicuje średnich wartości w_d ;
- numer cyklu nie różnicuje średnich wartości w_d ;
- nie występuje współdziałanie między poziomami udziału masowego nanocząstek srebra i numeru cyklu na średnie wartości w_d .

Wyniki naprężeń relaksacji podczas ściskania poddano analizie wariancji dla układów wieloczynnikowych. Analizie poddano wartości σ_w wyznaczone po 5, 30, 120, 600, 1800, 3600 oraz 7200 s od momentu zrealizowania σ_{\max} . Zweryfikowano następujące hipotezy zerowe:

- zastosowany udział masowy nanocząstek srebra nie różnicuje średnich wartości σ_w ;
- czas nie różnicuje średnich wartości σ_w ;
- nie występuje współdziałanie między poziomami udziału masowego nanocząstek i czasu na średnie wartości σ_w .

W przypadku odrzucenia hipotezy zerowej (stwierdzenia za pomocą analizy wariancji braku równości między średnimi) wykonywano badania różnic między średnimi z poszczególnych grup testem post-hoc Newmana-Keulsa. Sprawdzano w ten sposób, które z n-średnich różnią się między sobą, a które są sobie równe.

Podczas badań wytrzymałości połączenia nanokompozytów z materiałami akrylowymi przeznaczonymi na płyty protez określono także rodzaj powstających złomów. W związku z powyższym, wpływ udziału masowego nanocząstek srebra, czasu starzenia próbek i rodzaju zastosowanej żywicy na rodzaj powstałego zniszczenia określono testem test chi-kwadrat (χ^2) Pearsona. Wpływ zastosowanej żywicy akrylowej na wytrzymałość wytworzonych połączeń sprawdzono testem U Manna-Whitneya.