

Diplomová práce

Charakterizace užitečných vlastností skloionomerních cementů, pro dentální výplně, po přidání nanočástic

Studijní program:

N0914P360003 Biomedicínské inženýrství

Autor práce:

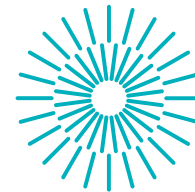
Bc. Magdalena Mrózek

Vedoucí práce:

Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.

Katedra materiálu

Liberec 2023



Zadání diplomové práce

Charakterizace užitečných vlastností skloionomerních cementů, pro dentální výplně, po přidání nanočástic

<i>Iméno a příjmení:</i>	Bc. Magdalena Mrózek
<i>Osobní číslo:</i>	D21000145
<i>Studijní program:</i>	N0914P360003 Biomedicínské inženýrství
<i>Zadávací katedra:</i>	Fakulta zdravotnických studií
<i>Akademický rok:</i>	2022/2023

Zásady pro vypracování:

Cíle práce:

1. Prozkoumat vliv přidaných nanočástic (například nanodiamantu, grafenu nebo TiO_2) na mechanické vlastnosti (např.: pevnost, otěruvzdornost) skloionomerních cementů.
2. Zhodnotit fyzikálně-mechanické vlastnosti (např.: tvrdost, ohyb, otěruvzdornost) a biologické vlastnosti (např.: antibakteriální vlastnosti, hemokompatibilitu) skloionomerního cementu obsahující nanočástice, porovnat je s vlastnostmi běžně používaného skloionomerního cementu.
3. Zhodnotit adheze skloionomerního cementu bez/s nanočásticemi k dalším materiálům (např.: zubní tkáň). Skloionomerní cementy budou hodnoceny na základě provedených experimentů v laboratořích a dle dosažených výsledků testů z hodnocení fyzikálních a mechanických vlastností.

Teoretická východiska (včetně výstupu z kvalifikační práce):

Současné dentální výplně, jako je například skloionomerní cement, jsou používány především z důvodu vyššího bezpečí pacienta a lepší estetiky. Bohužel skloionomerní cement nedosahuje takových fyzikálních a mechanických vlastností, jako například amalgamové výplně. Výstupem kvalifikační práce bude hodnocení vlivu nanočástic na pevnost a fyzikálně-mechanické vlastnosti a biologické vlastnosti skloionomerních cementů. Dalším výstupem může být vytvoření článku do odborného periodika.

Výzkumné předpoklady:

1. Předpokládáme, že skloionomerní výplně používané v současné stomatologii pro vyplnění zubního kazu mají nevyhovující fyzikálně-mechanické vlastnosti než jiné výplně (např. amalgamové výplně či kompozity). To často vede k předčasnému selhání skloionomerních výplní, proto je potřeba hledat řešení pro zlepšení jejich užitečných vlastností.
2. Předpokládáme, že přidáním nanočástic (např. nanodiamantu, grafenu nebo TiO_2) do skloionomerního cementu, v optimálním množství, zamezíme jeho předčasnému selhání a současně zachováme jeho protikazivě účinky a schopnost uvolňovat fluoridové ionty.
3. Předpokládáme, že přidání nanočástic grafenu/diamantu/ TiO_2 do skloionomerního cementu nebude vést ke zhoršení mechanických vlastností ani cytotoxicitě skloionomerních výplní.

Metoda:

Výzkumná.

Technika práce, vyhodnocení dat:

Technika práce: zkoumání skloionomerních cementů pomocí přístrojů.

Vyhodnocení dat: data budou zpracována pomocí tabulek a grafů, bude využito statistického hodnocení.

Místo a čas realizace výzkumu:

Místo: Katedra materiálu, FS.

Čas: září 2022 – březen 2023.

Vzorek:

Běžný skloionomerní cement a skloionomerní cement obsahující nanočástice.

Rozsah grafických prací:

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování práce:

Jazyk práce:

tištěná/elektronická

Čeština

Seznam odborné literatury:

- [1] NAVRÁTIL, Leoš et al. Medicínská biofyzika. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2019. ISBN 978-80-271-0209-9.
- [2] MAZÁNEK, Jiří et al. Stomatologie pro dentální hygienistky a zubní instrumentářky. Praha: Grada Publishing, 2015. ISBN 978-80-247-4865-8.
- [3] KITTNAR, Otomar et al. Lékařská fyziologie. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, 2020. ISBN 978-80-247-1963-4
- [4] MAZÁNEK, Jiří et al. Zubní lékařství: propedeutika. Praha: Grada Publishing, 2014. ISBN 978-80-247-3534-4.
- [5] GAO, X, M. FRAULOB a G. HAAT. Biomechanical behaviours of the bone implant interface: a review. Journal of The Royal Society [online]. 2019, (156). DOI 10.1098/rsif.2019.0259. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6685012/>
- [6] GRONWALD, Helena et al. The Influence of Suspension Containing Nanodiamonds on the Morphology of the Tooth Tissue Surface in Atomic Force Microscope Observations. BioMed Research International. 2018, č. November, 1-9. ISSN 2314-6133.
- [7] ILIE, Nicoleta et al. Academy of Dental Materials guidance – Resin composites: Part I- Mechanical properties. Dental Materials [online]. 2017,(8), 880 – 894. DOI 10.1016/2017.04.013. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564117303901>
- [8] HAFSHEJANI, Tahereh Mohammadi et al. Antibacterial glass-ionomer cement restorative materials: A critical review on the current status of extended release formulations. Journal of Controlled Release [online]. 2017, 262, 317 – 328. DOI 10.1016/2017.07.041. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365917307630>
- [9] SUN, Li et al. Improvement of the mechanical, tribological and antibacterial properties of glass ionomer cements by fluorinated graphene. Dental Materials[online]. 2018, 34(6), 115 – 127. DOI 10.1016/2018.02.006. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564117309715>
- [10] TŮŽŮNER, T., A. DIMKOV a J. W. NICHOLSON. The effect of antimicrobial additives on the properties of dental glass-ionomer cements: a review. Acta Biomaterialia Odontologica Scandinavica [online]. 2018,5 (1), 9 – 21. DOI 10.1080/23337931.2018.1539623. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23337931.2018.1539623>
- [11] TURCHENIUK, Kostiantyn a Vadym N. MOCHALIN. Biomedical applications of nanodiamond (Review). Nanotechnology [online]. 2017,28(25), 252001. DOI 10.1088/1361-6528/aa6ae4. Dostupné také z: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6528/aa6ae4/meta>

Vedoucí práce:

Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.

Katedra materiálu

Datum zadání práce:

25. října 2022

Předpokládaný termín odevzdání:

5. května 2023

L.S.

prof. MUDr. Karel Cvachovec, CSc.,

MBA

děkan

Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci jsem vypracovala samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Jsem si vědoma toho, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má diplomová práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědoma následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

Poděkování

Chtěla bych poděkovat své vedoucí diplomové práce Ing. Lucii Svobodové, Ph.D. za neocenitelnou podporu, vedení a inspiraci během celého procesu mé práce. Rovněž bych ráda poděkovala konzultantkám Ing. Totce Bakalové, Ph.D. a DDS Heleně Gronwald, PhD za poskytnutí odborných informací. Dále patří můj dík všem zaměstnancům Technické univerzity v Liberci, kteří se podíleli a věnovali svůj čas pomoci při měření vlastností skloionomerních cementů, jakož i projektu NanoEnviCz (LM2018124), který umožnil měření FT-IR analýzy. V neposlední řadě chci poděkovat celé své rodině a přátelům, kteří byli pro mě nesmírnou oporou.

ANOTACE

Jméno a příjmení autora: Bc. Magdalena Mrózek

Instituce: Technická univerzita v Liberci, Fakulta zdravotnických studií

Název práce: Charakterizace užitečných vlastností skloionomerních cementů, pro dentální výplně, po přidání nanočástic

Vedoucí práce: Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.

Počet stran: 90

Počet příloh: 5

Rok obhajoby: 2023

Anotace: Tato práce se zaměřuje na charakterizaci užitečných vlastností skloionomerních cementů pro dentální výplně po přidání nanočástic. Cílem práce bylo zjistit, jak přídavek nanočástic ovlivňuje mechanické vlastnosti skloionomerního cementu, jeho odolnost proti opotřebení a biologické vlastnosti. Experimentální část práce zahrnovala přípravu skloionomerních cementů s různými koncentracemi nanočástic a testování jejich mechanických vlastností. Byly provedeny testy pevnosti v tlaku, ohybu, testy otěru a biologické testy.

Klíčová slova: nanočástice, skloionomerní cement, mechanické vlastnosti, tření a opotřebení, dentální výplně

ANNOTATION

Name and surname: Bc. Magdalena Mrózek

Institution: Technical university of Liberec, Faculty of Health Studies

Title: Characterization of the performance of glass ionomer cements, for dental fillings, after the addition of nanoparticles

Supervisor: Ing. Lucie Svobodová, Ph.D.

Pages: 90

Apendix: 5

Year: 2023

Annotation: This thesis focuses on the characterization of the performance of glass ionomer cements for dental fillings after the addition of nanoparticles. The aim of this thesis was to investigate how the addition of nanoparticles affects the mechanical properties of glass ionomer cement, its wear resistance and biological properties. The experimental part of the work involved the preparation of glass ionomer cements with different concentrations of nanoparticles and testing their mechanical properties. Compressive strength, flexural strength, abrasion tests and biological tests were carried out.

Keywords: nanoparticles, glass ionomer cement, mechanical properties, friction and wear, dental fillings

Obsah

Seznam použitých symbolů	11
Seznam použitých zkratk	12
1 Úvod	13
2 Teoretická část	14
2.1 Anatomie zubu	14
2.1.1 Složení zubu	14
2.1.2 Složení slin	14
2.1.3 Zubní kaz	15
2.2 Materiály a metody	16
2.2.1 Dentální výplňové materiály	16
2.2.2 Nanočástice	17
2.2.3 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací	19
2.3 Mechanické vlastnosti	20
2.3.1 Tvrdost	20
2.3.2 Pevnost v tlaku	22
2.3.3 Ohyb	23
2.4 Fyzikálně - chemické vlastnosti	24
2.4.1 Drsnost	24
2.4.2 Adheze	24
2.4.3 Poréznost	25
2.5 Charakterizace třecích vlastností	25
2.5.1 Tření	25
2.5.2 Opotřebenění	26
2.5.3 Opotřebenění ve stomatologii	27
2.5.4 Tribologie	28
2.6 Mikroskopické hodnocení	29
2.6.1 Optická mikroskopie	29
2.6.2 Konfokální mikroskop	29
2.7 Hodnocení biologické kompatibility	30
2.7.1 Cytotoxicita	30
2.7.2 Antibakteriální vlastnosti	31
2.7.3 Hemokompatibilita	31
2.8 Statistická analýza	31

2.8.1	Statistická hypotéza	32
2.8.2	Testování hypotéz	32
3	Výzkumná část	33
3.1	Cíle a výzkumné předpoklady	33
3.1.1	Metodika výzkumu	33
3.2	Popis zkoumaných vzorků	33
3.2.1	Komerční GIC	33
3.2.2	Přehled použitých nanočástic	36
3.2.3	Velikost vzorků	37
3.2.4	Experimentální set-up	38
3.2.5	Příprava GIC s nanočásticemi	39
3.3	Metody	40
3.3.1	Příprava vzorků	40
3.3.2	Tlaková zkouška	42
3.3.3	Zkouška ohybem	42
3.3.4	Adheze	43
3.3.5	Mikrotvrдость	44
3.3.6	Tribologické testy	45
3.3.7	Mikroskopie	46
3.3.8	Hodnocení biologické kompatibility	46
3.4	Analýza výzkumných dat	49
3.4.1	Tlaková zkouška	49
3.4.2	Zkouška ohybem	53
3.4.3	Adheze	56
3.4.4	Mikrotvrдость	57
3.4.5	Tribologie	60
3.4.6	Mikroskopie	64
3.4.7	Antibakteriální účinnost	69
3.4.8	Cytotoxicita	70
3.4.9	Hemokompatibilita	71
4	Diskuze	73
5	Návrh doporučení pro praxi	77
6	Závěr	78
	Seznam použité literatury:	79
	Seznam obrázků	88

Seznam tabulek	89
Seznam grafů	89
Seznam příloh	90

Seznam použitých symbolů

Symbol	Jednotka	Význam symbolu a jednotky
\emptyset	[m]	průměr [metr]
F_{\max}	[N]	maximální zatížení [newton]
f_{cf}	[MPa]	pevnost v tahu [megapascal]
H	[N·mm ⁻²]	tvrdost [newton/milimetr na druhou]
μ	[-]	součinitel tření [-]
pH	[-]	potential of hydrogen [-] potenciál vodíku
R_{\max}	[MPa]	maximální pevnost v tlaku [megapascal]
S_a	[nm]	průměrná aritmetická výška [nanometr]
S_z	[nm]	maximální výška [nanometr]

Seznam použitých zkratek

Zkratka	Význam
3D	trojrozměrný
aj.	a jiné
DND	detonační nanodiamanty
FT-IR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
GIC	Glass Ionomer Cement Skloionomerní cement
hm.	Hmotnost
kgf	kilogramme-force kilogram síly
MTS	(3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium)
např.	například
ND	nanodiamanty
ND-OH	hydroxylované nanodiamanty
TUL	Technická univerzita v Liberci
tzv.	takzvaně
UV	ultrafialové
ZnO	oxid zinečnatý
ZnO-NP/NP-ZnO	nanočástice oxidu zinečnatého

1 Úvod

Pro každého zubního lékaře je v dnešní době na každodenním pořádku léčba zubního kazu. Dlouhou dobu se diskutovalo o škodlivosti amalgamových plomb, a to, ať už z hlediska zdravotní sestry, která plombu připravovala, nebo nás pacientů, kterým se tato plomba vkládala do úst. Z tohoto důvodu se začalo pracovat na nových, alternativních dentálních výplních, zdraví bezpečnějších. V 60. - 70. letech minulého století se začaly objevovat alternativní dentální výplně, jako například skloionomerní cement. Postupem času se tyto dentální výplně dočkaly mnohých vylepšení a velkého úspěchu. Téměř plně nahradily amalgamové plomby. Bohužel, s častějším užíváním skloionomerních cementů se začaly objevovat i jejich mnohé nedostatky. Mezi ně patří například horší mechanické vlastnosti a kratší trvanlivost skloionomerních cementů. Tyto nedostatky přivedly mnohé na otázku, zdali není možné vylepšit jejich vlastnosti a tím omezit jejich selhávání.

V této diplomové práci se budu zabývat, zda je možné zlepšit vlastnosti dentálních výplní pomocí aditiv ve formě nanočástic. Nanočástice v posledním desetiletí získávají na své popularitě nejen díky svým malým rozměrům, ale především díky svým schopnostem vytvářet nové materiály nebo dosáhnout nových vlastností u stávajících materiálů. Jedná se například o odolnější materiály ve strojírenství nebo jako paměťová média v elektronice.

Pro práci byly zvoleny nanočástice diamantu (ND) a oxidu zinečnatého (ZnO). Cílem mé práce bude vylepšit nejen fyzikálně-mechanické vlastnosti skloionomerních cementů, ale i zachovat jejich biokompatibilitu a netoxicitu vůči okolním tkáním nacházejícím se v dutině ústní (zuby, dásně, sliny, ...). Vlastnosti skloionomerních cementů budou zkoumány pomocí 3-bodého ohybu, měřením tlaku, tvrdosti, pomocí konfokálního mikroskopu či tribometru, jakož budou hodnoceny i biocidní vlastnosti a cytotoxicita. Kromě těchto vlastností se ve své práci zaměřím i na to, jak se s takovým GIC materiálem (GIC, glass ionomer cement), který obsahuje nanočástice, pracuje. Cílem této práce není pouze vylepšení vlastností GIC, ale i možné využití v praxi. Pro mnohé stomatology není podstatné pouze životnost a vytrvalost GIC, ale i to, jak se taková výplň nanáší do místa, kde se kaz nacházel nebo zdali není zapotřebí nových vybavení pro tuto výplň.

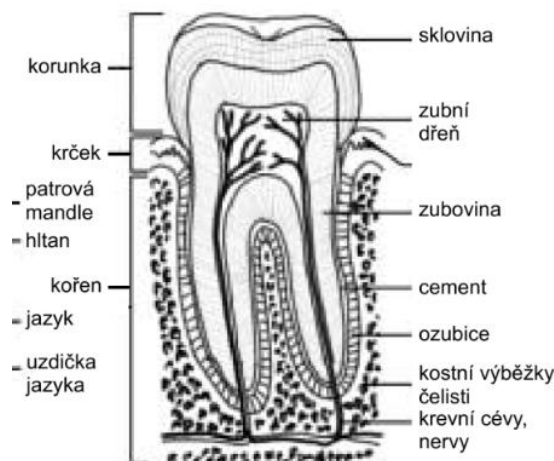
2 Teoretická část

2.1 Anatomie zubu

Zuby jsou nezbytnou součástí dutiny ústní, které odpovídají především za uchopování a drcení potravy. Morfologicky se zub dělí na čtyři části. První z nich je zubní korunka (corona dentis), kterou lze rozdělit na klinickou a anatomickou korunku. Druhou částí zubu je krček (cervix), který se nachází na pomezí korunky a kořene. Zde se setkává sklovina, zubovina a cement. Třetí částí je kořen zubu (radix dentis), jehož funkcí je společně se závěsným aparátem udržení zubu v kosti čelisti. Poslední částí je dřeňová dutina (cavum dentis). Jedná se o vnitřní část zubu, kde nalezneme cévy, nervy a zubní dřeň (1).

2.1.1 Složení zubu

Základní stavební hmotou zubu je zubovina (dentin), která je složena z odontoblastů, mezibuněčné hmoty a Tomesových vláken. Na povrchu anatomické korunky se nachází sklovina (email), jež je nejtvrďší tkání lidského těla. Krček a kořen zubu kryje cement (cementum), viz obr. 1 (1).



Obr. 1 Stavba zubu (2)

2.1.2 Složení slin

Člověk denně vytvoří okolo 1,5-2 l slin přibližně o neutrálním pH. Sliny obsahují z větší části vodu (okolo 99,4 %), dále elektrolyty (HCO_3^- , I^- , K^+ , Cl^- ,

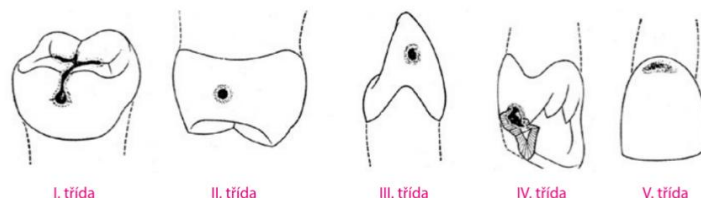
Ca²⁺, fosfáty). V neposlední řadě obsahují i organické látky, jako jsou například: mucin, α-amylaza, lipáza, lysozym, imunoglobulin A a laktoferrin (3).

2.1.3 Zubní kaz

Zubní kaz je jedním z nejčastějších onemocnění dutiny ústní a postihuje téměř 100 % dospělých. Hlavní faktory ovlivňující tvorbu zubního kazu jsou bakterie, potrava a imunitní odpověď hostitele (4). Zubní kaz nejčastěji vzniká při hromadění se zubního plaku na povrchu zubu, ve kterém se můžou vyskytovat kariogenní bakterie. Ty způsobují demineralizaci zubní tkáně, která vede ke vzniku zubního kazu. Nejčastější kariogenní bakterie způsobující zubní kaz jsou z rodu streptokoků, a to zejména *S. mutans* a z rodu *Lactobacillus* (5).

2.1.3.1 Klasifikace zubního kazu

Existuje několik možností, podle kterých je možné klasifikovat zubní kaz, například z hlediska časového působení či dle postižené plochy. Nejčastěji se ale setkáme s klasifikací podle G. V. Blacka nebo Mount a Hume. Klasifikace dle Blacka rozděluje zubní kaz do 5 tříd. Především rozlišuje zdali kaz vznikl na okluzní či na aproximální části zubu a o který zub se jedná (řezák, špičák, moral), tak jak je znázorněno na obrázku č. 2.



Obr. 2 Klasifikace zubního kazů podle G. V. Blacka (6)

Klasifikace dle Mount a Hume (také SI/STA) rozlišuje kaz dle poškozené plochy a dle rozsahu poškození, viz obr. 3 (6).

SI \ STA	iniciální	minimální	střední	velká	destrukce
okluzní část zubu – 1	1.0	1.1	1.2	1.3	1.4
aproximální plochy – 2	2.0	2.1	2.2	2.3	2.4
krčková oblast – 3	3.0	3.1	3.2	3.3	3.4
	remine- ralizace zlepšení hygieny	minimálně invazivní preparace	konvenční preparace	nepřímá výplň	endo- dontické ošetření + korunka

Obr. 3 Klasifikace zubního kazů podle Mount a Hume (6)

2.2 Materiály a metody

2.2.1 Dentální výplňové materiály

Dentální výplňové materiály slouží k ošetření zubů, které byly např. postižené zubním kazem nebo mechanickým poškozením zubu (odštípnutí malé části skloviny). Tyto materiály musí splňovat hned několik kritérií, aby je bylo možné použít v zachované stomatologii. Kromě biokompatibility musí vyhovovat jejich mechanické vlastnosti, adheze k zubní tkáni, teplotní objemové změny, antibakteriální vlastnosti či estetické požadavky (7).

2.2.1.1 Amalgamové výplně

Amalgám je slitinou stříbra, mědi, cínu, zinku a rtuti. Používá se již více jak 150 let a je oblíben především díky svým mechanickým vlastnostem, nenáročnosti či nízké ceně. Bohužel i přes veškeré své výhody jsou zde jisté obavy z jeho toxických účinků na zdraví člověka. Nevýhodou amalgámu je i jeho estetický vzhled, a proto se v dnešní době upřednostňují jiné alternativní výplně. Rovněž se zde velmi často diskutuje o jisté bezpečnosti amalgamových výplní, a to zejména co se týče likvidace amalgamového odpadu (8).

2.2.1.2 Kompozitní pryskyřice

Kompozitní pryskyřice se skládá ze dvou hlavních částí: pojivo a plnivo. Pojivem je pryskyřice ve formě metylmetakrylátu. Plnivo je tvořeno částicemi rozemletého skla. Dále kompozitní pryskyřice obsahuje látky, které obstarávají tuhnutí materiálu, vazby mezi pojivem a plnivem a barevné pigmenty. Kompozitní pryskyřice dělíme dle mechanismu tuhnutí a dle druhu plniva. Hlavní výhodou kompozitních výplní je velmi dobrá adheze ke sklovině. Značnou nevýhodou je však to, že kompozitní pryskyřice je potřeba vkládat postupně a prostředí musí být naprosto suché (7).

2.2.1.3 Skleněný ionomerní cement

Skleněný ionomerní cement (GIC) se v posledních desetiletích velice prosadil ve stomatologii, a to ne pouze jako zubní plnivo, ale i jako například lutingový prostředek či jako endodontické tmely. V zachované stomatologii se využívá zejména pro léčbu zubního kazu u mléčných zubů a kazy třídy III a V (9). GIC vzniká smícháním báze (prášková část) s tekutou částí. Prášek je jemně namleté křemičité sklo,

kteřé dále obsahuje sloučeniny vápníku, hliníku a fluoru. Tekutou částí je polyakrylová kyselina. Smícháním těchto dvou látek ve správném poměru dojde k acidobazické reakci a vytvoří se pevná hmota na tuhnutí. Přestože GIC má mnoho výhod, jako je například: uvolňování fluoridů, dobrá vazba ke sklovině a dentinu či usnadnění remineralizace zubní tkáně, má velmi nízkou odolnost vůči opotřebení a nedostatečnou lomovou houževnatost (10).

2.2.1.4 Nepřímé výplně

Méně běžnou metodou ošetření zubního kazu jsou tzv. nepřímé výplně. Princip spočívá v tom, že zubní lékař nejprve odstraní zubní kaz a poté zhotoví otisk chrupu. Pomocí otisku chrupu zubní laboratoř vytvoří zubní výplň, která je při další návštěvě připevněná pacientovi na onen zub. Výplně jsou v laboratořích nejčastěji zhotovené z kompozitní pryskyřice, celokeramické výplně, popřípadě ze zlata (6).

2.2.2 Nanočástice

Nanočástice jsou částice, jejichž alespoň jeden rozměr je menší než 100 nm. Velikost a tvar nanočástic může ovlivnit fyzikálně-chemické vlastnosti látek. Nanočástice se skládají ze tří vrstev. První je tzv. povrchová vrstva, druhou vrstvou je skořápková vrstva a poslední je jádro. Díky svým vlastnostem, získávají nanočástice v posledních letech na své oblíbenosti, a to zejména v multidisciplinárních oborech (9).

2.2.2.1 Klasifikace nanočástic

Nanočástice můžeme rozdělit do několika skupin, v závislosti na jejich fyzikálních a chemických vlastnostech. Níže je uvedeno několik z nich (11).

2.2.2.1.1 Nanočástice na bázi uhlíku

Mezi nejznámější nanočástice na bázi uhlíku patří fullereny a uhlíkové nanotrubičky. Fullereny mají tvar kulovité duté klece. Uhlíkové nanotrubičky, jak již sám název napovídá, mají tvar protáhle trubičky o průměru přibližně 1-2 nm. Uhlíkové nanočástice vzbudily zájem především díky své elektrické vodivosti, pevnosti a všestrannosti. Můžeme se s nimi setkat například jako druh plniva tzv. nanokompozity či jako nosné médium pro anorganické a organické katalyzátory (11).

2.2.2.1.2 Kovové nanočástice

Kovové nanočástice jsou složeny z jádra, které je obaleno anorganickým či organickým materiálem nebo oxidem kovu. Díky svým vlastnostem a rozmanitosti nachází kovové nanočástice své uplatnění v optice, mikroelektronice či v medicíně. Přesto, že kovové nanočástice dosáhly velkého úspěchu, u mnohých stále není známa jejich toxicita a dopad na lidské zdraví či životní prostředí (12).

2.2.2.1.3 Keramické nanočástice

Jedná se o anorganické nekovové pevné látky, které jsou syntetizované teplem a poté postupně ochlazovány. Vzhledem k tomu, že keramické nanočástice mohou mít různorodou strukturu, např. amorfni či polykrystalickou, zkoumá se jejich využití především v katalýze, fotokatalýze, fotodegradaci barviv (11).

2.2.2.1.4 Ostatní nanočástice

Mezi další nanočástice patří polovodičové částice, které mají vlastnosti mezi kovy a nekovy. Polovodičové nanočástice se využívají ve fotokatalýze či fotooptice. Další skupinou jsou polymerní nanočástice, které jsou na organické bázi. V neposlední řadě se setkáme s nanočásticemi na bázi lipidů, které nachází své využití v mnoha biomedicínských aplikacích (11).

2.2.2.2 Využití nanočástic v biomedicíně

V posledních letech se široce rozšířilo využití nanočástic v biomedicíně. Využívají se zejména ve zobrazovacích metodách, obzvláště v magnetické rezonanci (MRI, magnetic resonance imaging) jako kontrastní látky (nanočástice FeO_3 , Fe_3O_4). Dále v distribuci některých léčiv (kovové nanočástice), detekci proteinů a některých patogenů (nanočástice Au, Ag) či v léčbě nádorů - hypertermie (13).

2.2.2.3 Nanočástice oxidu zinečnatého (ZnO-NP)

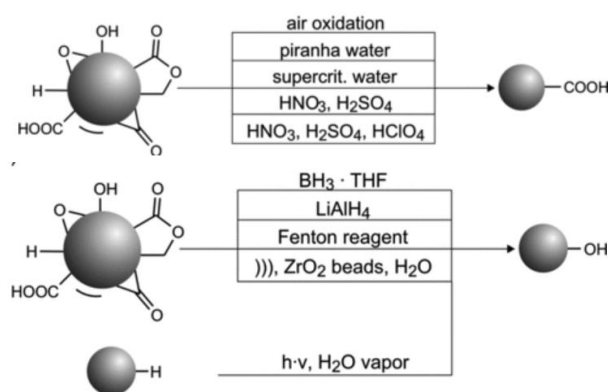
Nanočástice oxidu zinečnatého patří mezi kovové nanočástice. ZnO-NP mají velmi dobré chemické, optoelektrické a antibakteriální vlastnosti. Jedná se o biokompatibilní a netoxické nanočástice. Nanočástice ZnO mají široké využití v různých průmyslových odvětvích, a to zejména v potravinářství, elektronických a optoelektronických aplikacích a kosmetologii (48).

2.2.2.4 Nanočástice diamantu (ND)

Nanodiamanty jsou nanočástice na bázi uhlíku. Mají dobré optické a mechanické vlastnosti a jsou biokompatibilní. Nachází své využití jako optické senzory, mazací oleje a lešticí prostředky, užívají se i v biozobrazování a nanomedicině (49). Mezi nejčastější způsoby vytváření nanodiamantů patří například: detonace výbušných materiálů na bázi uhlíku, broušení diamantů metodou HPHT (High Pressure High Temperature) nebo laserová ablace (55).

2.2.2.5 Modifikované nanodiamanty

Modifikované/funkcionalizované nanodiamanty jsou ND jejichž povrch prošel další úpravou, díky které se na povrchu ND nacházejí pouze specifické chemické skupiny. Mezi nejvíce rozvíjející se modifikované ND patří karboxylované a hydroxylované ND. Karboxylované ND vznikají pomocí oxidace a vytvořením COOH skupin na povrchu ND. Hydroxylované skupiny na nanodiamantech jsou získávány buď redukčními reakcemi ND zakončeného kyslíkem nebo oxidací hydrogenovaného ND. Modifikace ND jsou znázorněny na obrázku č. 4. Jednou z hlavních aplikací funkcionalizovaných nanodiamantů je podávání léčiv. Jsou rovněž zkoumány z hlediska jejich využití při zobrazování, snímání a katalýze (56).



Obr. 4 Vytváření karboxylovaných a hydroxylovaných ND (56)

2.2.3 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací

FT-IR slouží k určení chemických funkčních skupin daného materiálu pomocí infračervených spekter látek. Pro každou skupinu je charakteristická intenzita IR záření, kterou daná látka pohlcuje v závislosti na její frekvenci (resp. vlnové délce, resp. vlnočtu) a rovněž i absorbovaná frekvence IR záření. FT-IR se skládá z IR zdroje,

rozdělovače paprsků, dvou zrcadel (jedno stacionární a jedno pohyblivé) a detektoru. Z IR zdroje vychází paprsek, který je pomocí rozdělovače rozdělen do dvou směrů (kolmo k sobě). Tyto paprsky se poté odrazí od zrcadel a opět prochází rozdělovačem. Zde část paprsků směřuje ke vzorku, které jím projdou a dopadnou na detektor. Pomocí inverzní Fourierovi transformace je převeden signál ze závislosti časové na frekvenční (50).

2.3 Mechanické vlastnosti

2.3.1 Tvrdost

Každý materiál je charakterizován svými fyzikálními a mechanickými vlastnostmi. Pro dentální výplně je obzvláště podstatná tvrdost, která ve velké míře může ovlivnit životnost dentálních výplní. Tvrdost můžeme definovat jako odolnost vůči lokální deformaci. Značí se písmenem H a je uváděná buď bez jednotek nebo s jednotkou $\text{N}\cdot\text{mm}^{-2}$ (14). V praxi rozlišujeme tři typy zkoušek tvrdosti, které se liší způsobem vniknutí indentoru do vzorku. Jedná se o statickou, dynamickou a vrypovou zkoušku. Statická, či též „zkouška vnikající“ se měří pomocí indentoru, který je kolmo vtlačován do vzorku. Při dynamické zkoušce vniká indentor do vzorku rázem, proto se také velmi často nazývá „rázovou zkouškou“. U vrypové zkoušky dochází k poškození vzorku pomocí ostrého nástroje. Nejčastěji se setkáme se statickými zkouškami, které jsou jednoduché a poměrně přesné (15).

Kromě rozdělení dle metody vniknutí indentoru, můžeme zkoušky tvrdosti rozdělit i podle rozsahu působící síly a hloubky vtisku. Jedná se o rozdělení podle ISO normy, přesněji ISO 14577-1:2015. Tato norma definuje měření tvrdosti na makro-, mikro- a nanorozsah. Makro rozsah se pohybuje v rozmezí: $2 \text{ N} \leq F \leq 30 \text{ kN}$; mikrorozsah v rozmezí: $2 \text{ N} > F$, $h > 0,2 \text{ }\mu\text{m}$; a nanorozsah rozmezí: $h \leq 0,2 \text{ }\mu\text{m}$ (F je působící síla a h hloubka vtisku). U nanorozsahu nejvíce záleží na skutečném tvaru hrotu indentoru, na rozdíl od makro- a mikrorozsahu, kde záleží i na působící síle (16).

2.3.1.1 Zkouška podle Vickerse

Při Vickersově zkoušce tvrdosti má diamantový indentor tvar jehlanu s čtvercovou základnou, viz obr. 5. Protilehlé stěny svírají úhel 136° (14). Zkušební zatěžující síla se pohybuje v rozsahu od 1 do 100 kgf (kgf - kilogram síly; jednotka síly) a čas působení indentoru na vzorek trvá v rozmezí od 10 s do 15 s (17). Po odstranění

indentoru zůstanou vtačeny do vzorku dvě úhlopříčky, které se změří pomocí mikrometru nebo mikroskopu a vypočte se jejich průměr. Tvrdot je pak vypočtena jako podíl zatížení a plochy otisku (14). Zkouška podle Vickerse má mnoho výhod, proto dnes patří mezi jedny z nejpoužívanějších testů tvrdosti. Jednou z výhod je například malý rozměr indentoru. Díky tomu lze zabránit poškození testovaného materiálu. Rovněž je možné tuto zkoušku použít na jakýkoliv typ materiálu a výsledné výpočty nejsou závislé na velikosti indentoru (17).

2.3.1.2 Zkouška podle Knoop

Ve zkoušce podle Knoop se používá diamantový indenter ve tvaru podlouhlého čtyřbokého jehlanu s úhly 170° a 130° mezi protilehlými hranami na vrcholu, viz obr. 5. Na rozdíl od Vickersovy zkoušky, kde se měří obě úhlopříčky a poté je z nich vypočten průměr, u Knoopovy zkoušky se měří pouze delší úhlopříčka. Tvrdot je potom vypočtena stejně jako u zkoušky podle Vickerse, tzn. podílem zatížení a kvadrát délky delší příčky. Protože je zkouška podle Knoop šetrnější, měříme pomocí ní tvrdost křehkých materiálů, např. sklo či keramika (18).

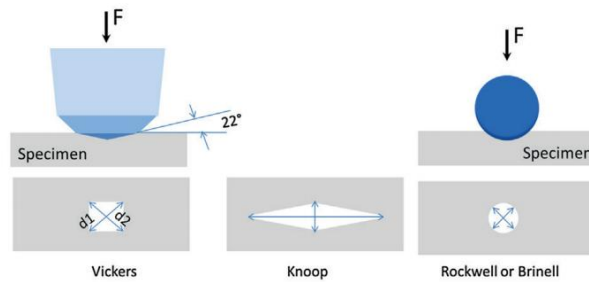
2.3.1.3 Zkouška podle Rockwella

U Rockwellovy zkoušky tvrdosti je použit diamantový indenter ve tvaru kuželu s vrcholovým úhlem 120° a o poloměru 0,2 mm nebo kuličkový indenter o specifikovaném průměru, viz. obr. 5. Pomocí Rockwellovy zkoušky probíhá měření ve dvou fázích. V první fázi působí indenter na vzorek menší silou, tzv. předběžným zatížením po dobu kratší než 3 sekundy. V druhé fázi se zvětší zatížení, které působí na vzorek předem stanovenou dobu, aby umožnilo pružné zotavení materiálu. Jedná se o tzv. hlavní zatížení. Tvrdot je vypočtena z odchylky hloubky vtisku mezi hodnotou předběžného zatížení a hlavního zatížení (16).

2.3.1.4 Zkouška podle Brinella

Ve zkoušce tvrdosti podle Brinella působí na vzorek indenter ve tvaru kuličky s předem stanovenou silou a po předem stanovenou dobu, viz obr. 5. Po ukončení působení indentoru se změří šířka vtisku minimálně ve dvou průměrech a dále se šířky zprůměrují. Tvrdot je vypočtena pomocí zkušební síly dělenou plochou vtisku (16). Při zkoušce podle Brinella se používá velmi velké zatížení. Nejčastěji síla zatížení je v rozmezí od 500 kgf až 3000 kgf. Touto metodou se měří materiály s příliš hrubou

strukturou nebo s příliš drsným povrchem (19). U všech metod je nejdůležitější přesnost měření, kde dochází k největším chybám, a to zejména u měření hloubky/úhlopříček vtisku (16).



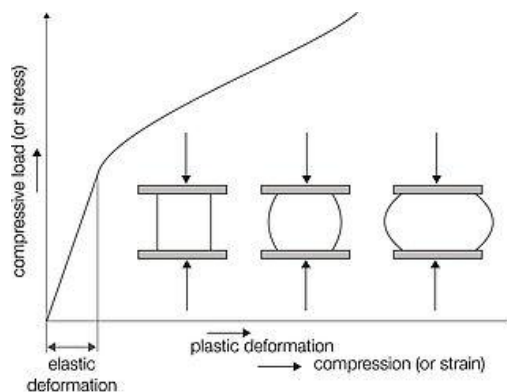
Obr. 5 Otisky indentoru pro jednotlivé zkoušky tvrdosti (16)

2.3.2 Pevnost v tlaku

Zkouška tlakem je poměrně velmi snadné měření pro určení pevnosti v tlaku materiálu. Na válcový vzorek působí axiální síla s konstantní rychlostí. Ta působí tak dlouho, dokud nedojde k poškození vzorku, a to až u jeho úplným roztříštěním nebo pouze vzniku prasklinek, viz obr. 6. Často se na oba konce vzorku umísťuje tenký papír, aby rovnoměrněji rozložil působící síly (16). Mez pevnosti tlaku se vypočte pomocí vztahu:

$$\sigma_h = \frac{F_{hmax}}{A_0} \quad \text{Rovnice 1 (20)}$$

Kde F_{hmax} je maximální tlaková síla tzn. síla při které došlo k poškození vzorku a A_0 je počáteční průřez vzorku (20).



Obr. 6 Průběh zkoušky tlakem (21) (compressive load - tlakové zatížení, elastic deformation - elastická deformace, plastic deformation - plastická deformace, compression - tlak)

2.3.3 Ohyb

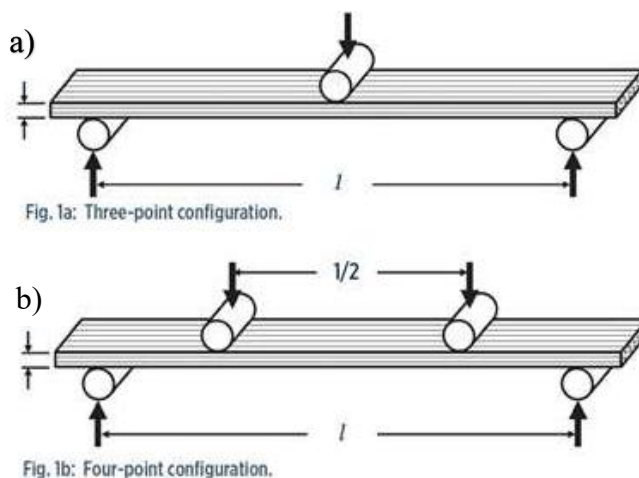
Zkouška ohybem patří mezi jedny z nejčastějších a nejjednodušších zkoušek pevnosti materiálů. Rozlišujeme dva způsoby pro měření zkoušky ohybem: pomocí příčného ohybu a pomocí biaxiálního ohybu. Nejčastější zkouška metodou příčného ohybu je tří a čtyř bodový ohyb (16). Zkouška ohybem se provádí nejčastěji tak, že vzorek je umístěn na podstavce, které se nacházejí od sebe v určité vzdálenosti. Ve středu vzorku je vzorek shora zatěžován až do svého porušení. Pomocí této zkoušky je možné zjistit modul pružnosti v ohybu, ohybové napětí a ohybovou deformaci materiálu (22).

2.3.3.1 Tříbodový ohyb

U tříbodového ohybu funguje vzorek jako nosník o určitých parametrech, který je podepřen na dvou válcích, viz obr. 7. Válce jsou od sebe vzdálené v předem stanovené vzdálenosti. Podepřený vzorek je ve středu ze shora zatěžován třetím válcem. Nosník by měl na obou koncích přesahovat přes podpěry o 10 % celé své délky. Zkouška probíhá nejčastěji až do porušení vzorku (16).

2.3.3.2 Čtyřbodový ohyb

Čtyřbodový ohyb probíhá velmi podobně jak tříbodový, s tím rozdílem, že vzorek je zatěžován dvěma válci ve specifikované vzdálenosti, viz obr. 7. Výhodou čtyřbodového ohybu je to, že napětí je rozloženo na větší plochu a tím dojde k poškození nosníku v této oblasti (16).



Obr. 7 Zobrazení 3-bodového a 4-bodového ohybu (23)

2.3.3.3 Biaxiální ohyb

Při této zkoušce je vzorek ve tvaru disku, který je podepřen nejčastěji na opěře ve tvaru prstence nebo na třínohé opěře. Ze shora je vzorek zatěžován pístem buď ve tvaru válce nebo ve tvaru prstence. V praxi se častěji setkáme se tří a čtyřbodovým ohybem, především pro svou jednoduchost (16).

2.4 Fyzikálně - chemické vlastnosti

2.4.1 Drsnost

Drsnost povrchu je strukturální parametr, který je definován jako nejmenší rozteč nerovnosti. Mezi další struktury povrchu patří vlnitost povrchu a základní profil (24). ISO norma 25178 specifikuje parametry pro trojrozměrnou analýzu plošné povrchové textury. Mezi jedny z nejčastějších používaných 3D parametrů textury jsou tzv. výškové parametry povrchu, které jsou popsány pomocí velikosti hodnot v ose z . Patří zde například průměrná aritmetická výška S_a , maximální hloubka dna S_v nebo maximální výška S_z . Výškové parametry textury lze naměřit například pomocí konfokálního mikroskopu či mikroskopu atomárních sil a vyhodnotit společně s příslušným programem. Mikroskopické techniky jsou uvedeny níže v kapitole 2.6 (25).

2.4.2 Adheze

Adheze velmi jednoduše řečeno, je schopnost atomů či molekul k sobě přilnout a zahrnuje molekulární interakci na rozhraní mezi materiály. Adheze se skládá z “adherenda“ a z aplikovaným “adhezivem“, které společně vytváří “rozhraní“. V případě stomatologie mohou být adherendy takové materiály jako sklovina, dentin, amalgám, kompozit, skloionomer, atd. a adheziva mohou zahrnovat jedno či více rozhraní. K přilnutí dochází uvnitř adherentu, uvnitř adheziva a na rozhraní, ale nejčastěji jsou zkoumány vazby na rozhraní. Existuje několik vazebných sil či mechanismů, které mají vliv na adhezi. Nejjednodušeji je můžeme rozdělit na fyzikální, chemické a mechanické (26).

Při fyzické adhezi se setkáme se sekundárními přitažlivými silami, které mohou být generovány například pomocí interakce dipól - dipól. Pomocí přitažlivých sil, které vznikají mezi kladnými a zápornými náboji dochází k polárním reakcím. Velikost energie interakce je většinou menší než 0,2 eV. Fyzická adheze je poměrně velmi slabá (27). K chemické adhezi dochází pomocí kovalentních nebo iontových vazeb. Tento typ

vazby je silnější než fyzická adheze. Ve stomatologii se nejčastěji setkáme s mechanickou adhezí. Mechanická adheze vyplývá z přítomnosti nepravidelností na povrchu, jako je například drsnost povrchu (26).

Ve stomatologii ale adheze nesouvisí pouze se životností dentálních výplní, ale i s tvorbou sekundárního kazu. Pokud dojde k narušení přilnavosti mezi zubem a dentální výplní, zvýší se riziko možnosti vzniku sekundárního kazu. V prostoru mezi zubem a dentální výplní se hromadí zubní plak, který mimo jiné obsahuje i bakterie, které zodpovídají za tvorbu zubního kazu. Bakteriální adheze je ovlivněná různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi povrchů bakterií a materiálů. Tyto vlastnosti jsou dány například podmínkami prostředí (např. kyselost, teplota), povrchovými vlastnostmi (např. drsnost) či vlastnosti mikroorganismů (např. hydrofobicita, pohyblivost) (28).

2.4.3 Poréznost

Poréznost je vlastností pevných látek, která vyjadřuje poměr prázdného prostoru k celkovému objemu materiálu. Prázdné prostory mohou obsahovat například vzduch či tekutinu. Jedním ze základních rozdělení poréznosti je na póry otevřené a uzavřené. Uzavřené póry ovlivňují mechanické vlastnosti materiálů. Otevřené póry zodpovídají za „komunikaci“ s okolím (např. při filtraci, výměně tepla či difuzi) (29). Dalším rozdělením poréznosti je podle velikosti pórů. Ty dělíme na: makroporézní - větší než 50 nm, mezoporézní mezi 2 a 50 nm a mikroporézní - menší než 2 nm. Poréznost materiálů je možno popsat pomocí optické mikroskopie, rastrovací elektronové mikroskopie (SEM), transmisní elektronové mikroskopie (TEM) či pomocí rtuťové a průtokové porozimetrie (30).

2.5 Charakterizace třecích vlastností

2.5.1 Tření

Pojmem tření rozumíme vzájemné působení dvou či více těles, které jsou v těsném kontaktu, což jim brání v jejich pohybu. Odporové síly působí proti pohybujícímu se tělesu. Vzájemný pohyb těles je znesnadněn povrchovými nerovnostmi. Velikost tření záleží mimo jiné na typu, složení obou těles a okolních podmínkách (38). Existují čtyři základní typy tření. Statické tření vzniká, pokud je těleso vzhledem k druhému tělesu v klidu. Po uvedení tělesa do pohybu se statické tření mění na tření

dynamické. Kluzné tření vzniká, pokud jedno těleso klouže po druhém a valivé tření vzniká převalováním se tělesa po povrchu. Rozlišujeme ještě suché, smíšené a kapalné tření. Velikost tření mezi dvěma tělesy popisuje koeficient tření, který je vyjádřen pomocí vztahu:

$$\mu = \frac{F_T}{N} \quad \text{Rovnice 2 (39)}$$

Kde F_T je třecí síla a N síla normálová (39).

2.5.2 Opotřebení

Tak jako mnoho přírodních útvarů nebo strojírenských součástek jsou vystaveny vnějším působením a dochází k jejich opotřebení, tak ani biomateriály nejsou výjimkou. Opotřebení je proces, kdy dochází k postupnému úbytku materiálu z jednoho nebo více povrchů, při vzájemném pohybu těles (40). Podle způsobu opotřebení dělíme proces na šest typů: abrazivní opotřebení, adhezivní opotřebení, povrchová únava, erozivní opotřebení, korozní opotřebení a opotřebení třením. Mezi další typy opotřebení patří například: nárazové opotřebení, kavitační opotřebení nebo difuzní opotřebení (41).

2.5.2.1 Abrazivní opotřebení

Abrazivní opotřebení vzniká nejčastěji (a) pokud klouže těleso s tvrdším povrchem po tělesu s měkčím povrchem a tím dochází ke ztrátě materiálu nebo (b) když se mezi tělesy nacházejí tvrdé částice, které budou způsobovat opotřebení. Procesy, které především způsobují abrazivní opotřebení povrchu jsou seřezávání a rýhování (42).

2.5.2.2 Adhezivní opotřebení

Adhezivní opotřebení vzniká tehdy, pokud nerovnosti dvou třecích těles do sebe "zapadají" a vzniká tak spojení nerovností. Vzájemným třením dvou těles může dojít k zahřátí materiálu a tím ke vzniku mikrosvarů mezi nerovnostmi. Tento proces má za následek přenesení jednoho materiálu na druhý a může způsobit zvýšení drsnosti povrchu materiálu. Ve strojírenství se tomuto opotřebení nejčastěji zamezí například pomocí mazadel (42).

2.5.2.3 Erozivní opotřebení

Erozivní opotřebení je způsobeno kinetickou energií částic, které dopadají na povrch tělesa. Rychlost erozivního opotřebení je ovlivněna tvarem částic, jejich

tvrdostí, rychlostí dopadu, úhlem dopadu. Erozivní opotřebení můžeme rozdělit do tří skupin. Pokud dochází k opotřebení materiálu v důsledku neustálého narážení pevných částic, hovoříme o tzv. erozi pevných částic. Eroze způsobená kapalinou, jak již sám název napovídá, je způsobená kapalinou, která dopadá na povrch materiálu. Ke kavitační erozi dochází v důsledku rychlé změny tlaku v bublině (pára nebo plyn) v kapalině, což způsobuje opotřebení materiálu (41).

2.5.2.4 Opotřebení třením

Opotřebení třením je velmi podobné adhezivnímu opotřebení, s tím rozdílem, že při adhezivním opotřebení jsou dva materiály ve vzájemném pohybu. Při opotřebení třením jsou materiály téměř ve stacionární poloze. K opotřebení mezi dvěma materiály dochází při zatížení a mezi nimi dochází k mikroskopickým pohybům. Protože jsou materiály v těsném kontaktu, zůstávají částičky mezi nimi a tím urychlují opotřebení (41).

2.5.2.5 Únavové opotřebení

Pojmem únava se rozumí oslabení materiálu v důsledku neustálého zatěžování materiálu. Dochází k popraskání materiálu a následně ke vzniku důlků na povrchu materiálu. Trhlinky mohou vzniknout na povrchu materiálu nebo pod povrchem. Pokud na materiál působí dlouhodobě zatížení, může dojít ke vzniku mnohých podpovrchových trhlinek což vede k rozpadu povrchu a tvorbě velkých důlků (41).

2.5.2.6 Korozivní opotřebení

Ke korozivnímu opotřebení dochází při tření dvou korozivních materiálů. Nejčastěji se setkáme s opotřebením pomocí oxidace. Pokud by nedocházelo ke tření, tak na povrchu materiálu vznikne velmi tenká vrstva, která zpomaluje či dokonce brání postupu další koroze. Protože ale dochází ke tření, je tato vrstva stále stíraná a tím dochází k opětovné korozi (41).

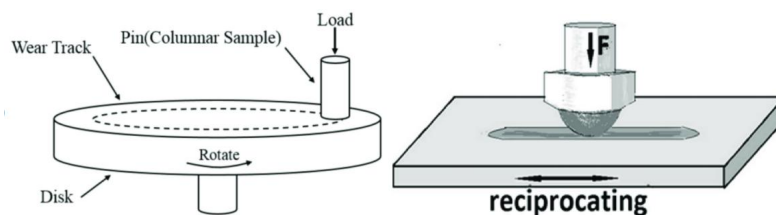
2.5.3 Opotřebení ve stomatologii

Nejvíce náchylná na opotřebení zubů je sklovina a dentin, a to proto, že se jedná o vnější vrstvu zubu, tudíž je nejvíce vystavená opotřebení a tření. K poškození povrchu zubů dochází v důsledku konzumace potravin a nápojů, stárnutím či špatnými návyky používání dentálních hygienických prostředků. V dutině ústní se setkáme nejčastěji

s procesy: abraze, koroze, atrice a abfrakce. Při abrazi dochází ke ztrátě tvrdé zubní tkáně. Tento jev se může vyskytnout buď fyziologicky, kdy s přibývajícím věkem dochází k náhradě dentinu sekundárním dentinem nebo patologicky. Abraze může vzniknout například v důsledku špatného mytí zubů, kousáním tvrdých předmětů nebo žvýkáním tabáku. Koroze vzniká v důsledku působení chemických látek. Ke korozi může dojít špatným stravováním např. častým pitím coca-coly nebo častým zvracením (bulimie). Atrice vzniká při tření “zub o zub“. Abfrakce je ztráta zubní tkáně v místě, kde dochází ke koncentraci většiny zátěže (43).

2.5.4 Tribologie

Tribologie je vědecký obor, který se zabývá zkoumáním povrchu. Zahrnuje tři základní okruhy: tření, opotřebení a mazání. Tření a opotřebení bylo popsáno v předchozích kapitolách. Mazání je zajištěno použitím například tekutiny či jiného mazadla, které sníží tření a opotřebení. Jedná se o interdisciplinární obor, neboť zahrnuje strojírenství, vědu o materiálech, chemii, chemické inženýrství aj. (44). K určení tribologických veličin slouží tribometry nebo tribotesty. Většina těchto přístrojů měří především třecí sílu a míru opotřebení. Přístroj nebo metodika měření by měly být zvoleny tak, aby co nejvíce napodobovaly způsob opotřebení nebo parametry sledovaného procesu. Nejčastěji je hodnoceno opotřebení tzv. hmotnostní, lineární nebo objemové; dále se stanovuje třecí síla a koeficient tření. Tribometry se skládají z jedné, ve výjimečném případě z více nehybných desek. Na nehybné desce se pohybuje pevně uchycené malé těleso nejčastěji ve tvaru válce, kuličky nebo prstence, které způsobuje opotřebení na nehybných deskách. Tribometry měří kluzné tření a nejčastěji se setkáme s metodou Pin/Ball-on-Disc nebo pro měření vratného pohybu s metodou Ball-on-flat, viz obr. 8. a 9. Na tribometru se nastavuje velikost zatížení, počet cyklů či frekvence pohybu tělíska, resp. délka dráhy, a to s cílem se co nejvíce přiblížit tomu, aby průběh měření odpovídal skutečnému opotřebení materiálu (45).

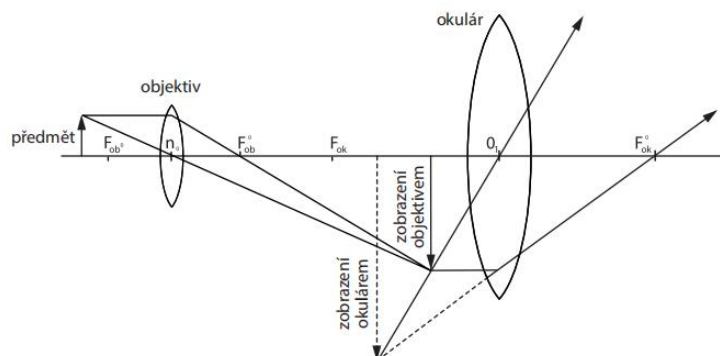


Obr. 8 Tribologický test metodou Pin/Ball-on-Disc (46) a Obr. 9 Tribologický test metodou Ball-on-flat (47)

2.6 Mikroskopické hodnocení

2.6.1 Optická mikroskopie

Mikroskop je přístroj, pomocí kterého je možné zobrazit drobné struktury malých objektů. Mikroskopy se skládají z osvětlovací části, kterou tvoří zrcadlo a spojná čočka. Dále ze stolku, revolveru s objektivy, makro- a mikrošroubů, zaostřovací části a okuláru (31). Obraz vzniká tak, že pomocí objektivu se vytvoří první obraz pozorovaného objektu, který je zvětšený, převrácený a skutečný. Obraz předmětu vzniká mezi ohniskovou vzdáleností objektivu a jejím dvojnásobkem. Sledováním vzniklého obrazu přes okulár získáme obraz zvětšený, převrácený, neskutečný. Základní parametry, které popisují vlastnosti objektivu jsou: ohnisková vzdálenost, příčné zvětšení a numerická apertura, viz obr. 10 (32).

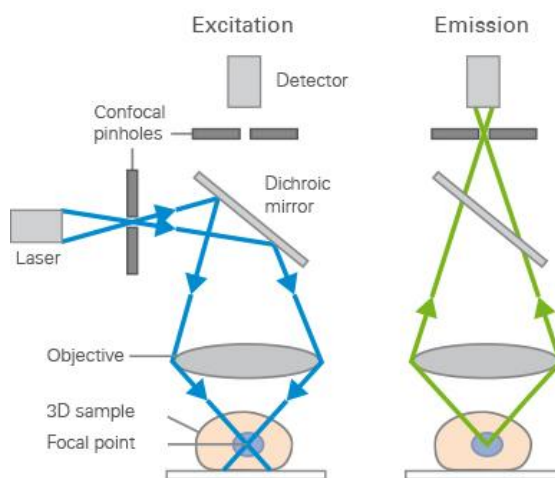


Obr. 10 Schéma zobrazení obrazu pomocí mikroskopu (32).

2.6.2 Konfokální mikroskop

U konfokálního mikroskopu je zdroj světla nahrazen laserovým zdrojem. Laserový svazek prochází přes první tzv. zdrojovou clonku a odráží se od dichromatického zrcadla k čočce objektivu. Čočka soustředí svazek do bodu uvnitř vzorku. Poté se paprsek buď od vzorku odrazí nebo dojde (v případě fluorescenčního vzorku) k emisi fluorescence, která projde zpět přes čočku. Paprsek následně projde přes druhou clonu tzv. detektorovou, která zabraňuje průchodu záření z nezaostřených míst ve vzorku. Nakonec paprsek dopadá na fotonásobič, pomocí kterého je paprsek zaznamenán. Obraz zaostřené roviny je získán pomocí rastrování bodu po bodu, viz obr. 11.

Výhodou konfokálního mikroskopu je, že filtruje nezaostřené paprsky zkoumaného vzorku. Díky tomu získáme obraz s vysokým rozlišením a s vysokou hloubkou ostrosti. Rovněž je možné snímek zrekonstruovat do 3D obrazu (33).



Obr. 11 Schéma konfokálního mikroskopu (34)

2.7 Hodnocení biologické kompatibility

2.7.1 Cytotoxicita

Dentální výplně jsou biomateriálem, který přichází do přímého kontaktu s lidskou tkání a tím může ovlivňovat okolní struktury. Nejčastěji prostřednictvím látek, které jsou uvolňovány z materiálu. K tomuto procesu může docházet v průběhu vytvrzování dentální výplně, ale i poté. Proto je velmi důležité zkoumat biokompatibilitu dentálních výplní. Jedním z nejzákladnějších testů posuzujících biokompatibilitu jsou testy cytotoxicity in-vitro (35). Pomocí těchto testů se hodnotí počet buněk v kontaktu s testovaným materiálem (v porovnání se standardním vzorkem) nebo jejich aktivita. Jedním z nejčastěji prováděných testů je pomocí MTT testu (MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyltetrazolium bromid]). Jedná se o kolorimetrický test, který hodnotí buněčnou aktivitu. Mezi další podobné testy na cytotoxicitu patří například NBT, XTT, MTS nebo WST testy. Testy biokompatibilitu pro biomateriály jsou popsány v normě ISO 10993. Později z tohoto dokumentu vyústila norma ISO 7405:2008 „Zkušební metody pro dentální materiály“, která je nejnovějším dostupným ISO standardem pro testování biokompatibilitu dentálních materiálů (36).

2.7.2 Antibakteriální vlastnosti

Jak již bylo výše uvedeno, důvodem vzniku zubního kazu jsou kariogenní bakterie, které se nacházejí v dutině ústní. Cílem tedy není pouze zlepšit mechanické a fyzikální vlastnosti dentálních výplní, ale i vylepšit (nebo alespoň zachovat) jejich antibakteriální účinky. Zvýšením antibakteriální aktivity dentálních výplní by bylo možné zamezit vzniku sekundárního kazu a tím i zamezit selhání dentální výplně. Mnoho studií, a ne pouze ve stomatologii, se již zabývalo antibakteriálními vlastnostmi některých látek či prvků. Mezi nejznámější látky či prvky patří například propolis, stříbro či oxid titaničitý (5).

Nejznámější a nejčastěji používaná metoda pro zkoumání antibakteriální citlivosti je test diskové difúze. Princip testu je velmi snadný: na porch agaru v Petriho misce se nanese tenká vrstva inokula testovaného mikroorganismu; poté se na povrch agaru vloží testované materiály; Petriho misky se nechají inkubovat za vhodných podmínek po určitou dobu a poté se změří průměry zóny inhibice, které se porovnají s referenčními hodnotami (37).

2.7.3 Hemokompatibilita

Protože zuby jsou velmi dobře zásobovány krevním řečištěm, je kromě cytotoxicity důležité, aby dentální výplně byly hemokompatibilní. To znamená, že daný materiál nesmí nepříznivě interagovat s žádnými krevními složkami tak, aby došlo k jejich poškození nebo dokonce zničení. Krev se skládá z několika typů buněk a vícesložkových proteinových systémů, jejichž funkčnost může být daným materiálem ovlivněná.

Pokyny pro hodnocení hemokompatibility jsou popsány v normě ISO 1099-4 „*Výběr testů pro interakce s krví*“. V normě jsou zahrnuté strukturované systémy výběru testů. Neposkytuje však podrobné zkušební metody nebo hodnotící kritéria. Mezi testovací kategorie patří: koagulace, trombóza, počet krevních destiček, hemolýza a imunologie (57).

2.8 Statistická analýza

Statistika je matematický obor, který se zabývá sběrem, prezentací, analýzou a interpretací dat. Pod pojmem daty rozumíme hodnoty, které popisují vlastnosti pozorovaných objektů a získáváme je pomocí měření nebo pozorování. Statistiku

dělíme na deskriptivní a induktivní. Deskriptivní statistika popisuje získaná data matematickým nebo grafickým způsobem. Mezi deskriptivní statistiku patří například aritmetický průměr, medián, směrodatná odchylka, šikmost, špičatost nebo různé typy grafů. Induktivní statistika nepopisuje získaná data, ale hledá mezi nimi zákonitost, například, jestli má na výši platu vliv vzdělání (58).

2.8.1 Statistická hypotéza

Statistická hypotéza je tvrzení o rozdělení náhodné proměnné nebo jejich parametrů. Pro ověření statistické hypotézy je potřeba si na začátku stanovit dvě hlavní hypotézy H_0 a H_1 . H_0 je nulová hypotéza a většinou vyjadřuje žádný nebo nulový rozdíl. H_1 je alternativní hypotéza a je opakem nulové hypotézy, tedy potvrzuje závislost mezi proměnnými (59).

2.8.2 Testování hypotéz

Statistické hypotézy jsou testovány pomocí parametrických a neparametrických testů. Parametrické testy se používají pro data, která mají normální rozdělení. Pokud data nemají normální rozdělení, je potřeba zvolit neparametrický test. Oba typy testů mají své výhody i nevýhody. Pro parametrické testy platí, že mají větší statistickou sílu. Neparametrické testy zase jsou vhodnější pro menší počet dat. Mezi parametrické testy patří například: t-test nebo jednosměrný ANOVA test, mezi neparametrické testy patří například: Wilcoxon test nebo Mann-Whitney test (60).

3 Výzkumná část

3.1 Cíle a výzkumné předpoklady

Cílem této práce je zvolit dle známých vlastností vhodné nanočástice, které přidáme do dentální výplně (známý předem definovaný materiál), kterým je skloionomerní cement (GIC). V práci se zaměříme na hodnocení vlastností výsledného GIC kompozitu po přidavku nanočástic. Konkrétně budeme zkoumat fyzikálně-mechanické a biologické vlastnosti GIC a modifikovaného GIC (GIC + nanočástice). Kromě výše uvedených vlastností, zhodnotíme i adhezi GIC k jiným materiálům. Nakonec porovnáme výsledky z našich experimentů s odbornou literaturou a data vyhodnotíme. Porovnávány budou výsledky námi modifikovaných GIC (pomocí nanočástic) s referenčními vzorky, tedy GIC bez nanočástic.

Předpokládáme, že současně používané skloionomerní cementy nemají vyhovující fyzikálně-mechanické vlastnosti, jako například amalgamové plomby. Dochází tak k jejich předčasnému selhání, a proto se tento druh dentální výplně používá převážně při léčbě zubního kazu dětského chrupu nebo zubního kazu III a V třídy. Předpokládáme, že přidáním vhodných nanočástic v optimálním množství, je možné zamezit předčasnému selhání skloionomerních cementů. Rovněž předpokládáme, že přidáním nanočástic negativně neovlivníme jejich schopnost uvolňovat fluoridové ionty či jejich cytotoxicitu.

3.1.1 Metodika výzkumu

Výzkum probíhal na různých pracovištích Technické univerzity v Liberci. Měření fyzikálně-mechanických vlastností, tribologie a mikroskopie probíhala na Katedře materiálu FS TUL a v laboratořích CxI TUL. Biologické testy proběhly v laboratořích FZS TUL v Liberci a EDX analýza skloionomerního cementu byla provedena v laboratořích CxI TUL. Časové rozmezí výzkumu bylo od září 2022 do března 2023.

3.2 Popis zkoumaných vzorků

3.2.1 Komerční GIC

Pro diplomovou práci jsme zvolili skloionomerní cement *SDI Riva Self Cure* značky *SDI Dental Limited* systém prášek/tekutina. Jedná se o samovytvrzující GIC,

používaný převážně při léčbě zubního kazu třídy V, malých zubních kazů třídy I a II a k léčbě mléčných zubů. Prášková část s tekutou částí se míchá v poměru 1 : 1, tzn. jedna kapka tekuté části a jedna plastová odměrka (lžička) práškové části. Odměrka je součástí balení. Pomocí odměrky přeneseme práškovou část na desku určenou kmíchání. Počet odměrek závisí od velikosti léčené plochy/objemu (v našem případě od velikosti vzorku). Poté odměříme počet kapek tekutiny, které přeneseme na míchací desku, vedle práškové části. Pomocí plastové špachtle nejprve smícháme část prášku s tekutou částí a poté postupně přidáváme zbytek práškové části. Doba míchaní obou složek by měla být přibližně 30 vteřin. Doba vytvrzení GIC je cca 2 minuty. Po vytvrzení se doporučuje potříit skloionomerní cement vrstvou ochranného laku *Riva Coat*. Tento lak je potřeba pro vytvrzení nasvítit polymerační UV lampou s modrým světlem.

3.2.1.1 Analýza skloionomerního cementu

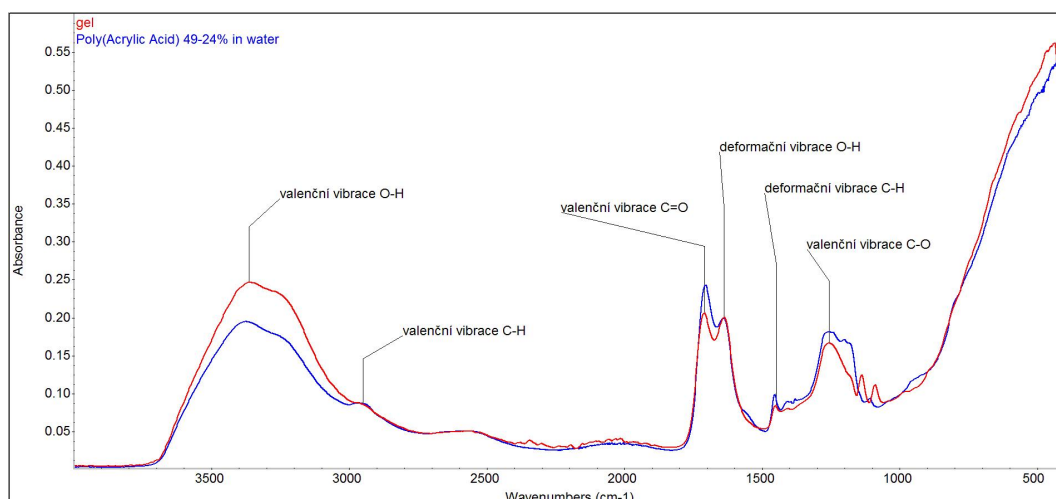
Předtím, než jsme začali s výběrem vhodných nanočástic pro náš výzkum, tak jsme nejprve provedli analýzu složení dodávaného komerčního skloionomerního cementu (*SDI Riva Self Cure značky SDI Dental Limited*). V teoretické části jsme uvedli, že GIC se skládá z práškové a z tekuté části (takto je dodáván i komerčně), rovněž jsme popsali jejich základní složky, viz kapitola 2.2.1.3. Pro náš výzkum bylo ale nezbytné zjistit, které funkční skupiny a v jakém množství jsou zastoupeny v práškové i v tekuté formě a zda se jedná o hydrofobní či hydrofilní materiál. Analýzu jsme provedli v laboratoři CxI TUL pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací, zkráceně FT-IR.

3.2.1.2 Analýza spektra

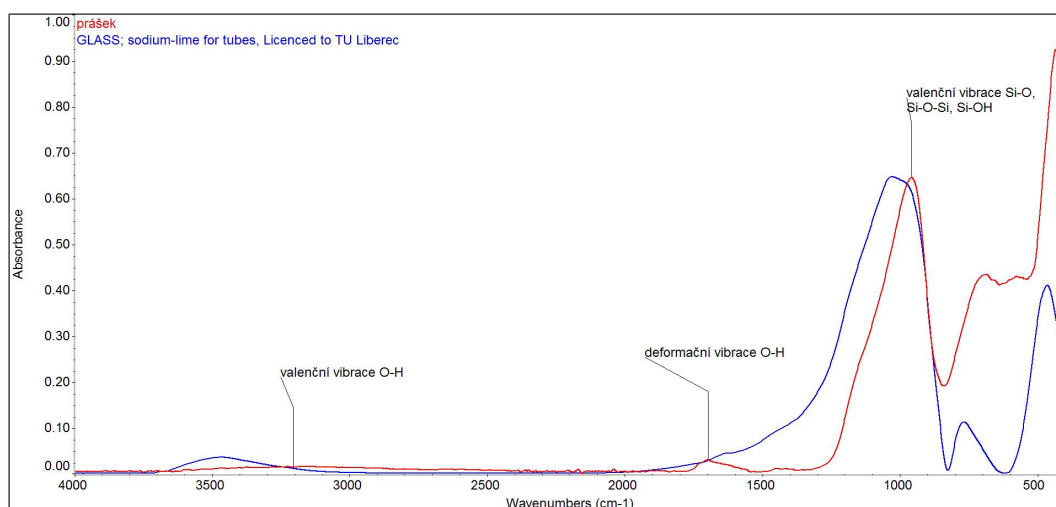
Chemické funkční skupiny GIC byly měřeny pomocí přístroje *Nicolet iZ10*, ATR technikou na krystalu z diamantu. ATR technika znamená, že spektrum se měří odrazem od povrchu vzorku. Obrázky č. 12. a 13. znázorňují výsledná spektra, v grafech jsou vyznačené jednotlivé funkční skupiny jak pro tekutou tak i pro práškovou složku (analýzu a vyhodnocení provedla Ing. Jana Müllerová, Ph.D., Katedra chemie, Fakulta přírodovědně-humanitní a pedagogická, TUL).

Infračervené spektrum je znázorněno graficky pomocí funkční závislosti energie, v našem případě absorbance, na vlnočtu (definován jako počet vlnových délek

připadajících na jednotku délky, tj. $1/\lambda$, kde λ je vlnová délka). Červená křivka označuje vzorek, pro který jsme chtěli určit jeho funkční skupiny. Modrá křivka znázorňuje vzorek, který byl použit z komerční knihovny programu přístroje. Výsledná spektra byla upravena atmosférickou korekcí, vyhlazena a normalizována na intenzitu 1. Pomocí tabulek jsme byli schopni přibližně určit, které funkční skupiny daná látka obsahuje. Například na obr. 12 vidíme vysoký peak v rozmezí od 3300 až 3400 cm^{-1} , v tabulkách pak můžeme dohledat, že se jedná o vazby OH. V rozsahu vlnové délky 2900-3000 cm^{-1} se nachází valenční vazby funkční skupiny CH. Další vysoký peak se nachází přibližně kolem hodnoty 1700 cm^{-1} , v této oblasti se nachází dvojné vazby CO. Přibližně od 1600-1500 cm^{-1} začínají deformační vibrace. Pomocí této analýzy jsme určili, že obě látky jsou hydrofilní a byli jsme schopni přibližně určit, které nanočástice bude vhodné použít.



Obr. 12 Výsledné spektrum pro tekutou složku GIC



Obr. 13 Výsledné spektrum pro práškovou složku GIC

3.2.2 Přehled použitých nanočástic

Z analýzy skloionomerního cementu jsme zjistili, že potřebujeme takové nanočástice, které vykazují hydrofilní vlastnosti. Z průzkumu dostupných nanočástic a vědeckých článků jsme se rozhodli pro tři typy nanočástic.

1. Prvním typem jsou **nanočástice oxidu zinečnatého**. Ty jsme zvolili pro jejich antibakteriální vlastnosti (51) a díky jejich vhodné barvě pro dentální výplně (bílá). V dalších studiích se dozvídáme, že zinek nemá problém vytvářet cementy s vodnými roztoky kyseliny akrylové. Využívá se toho například ve skloionomerech používaných v ortopedii či kranioplastice (52). Prozatím se mnoho studií nezabývalo přidáním nanočástic ZnO do skloionomerního cementu používaného ve stomatologii. Diskutuje se zde zejména o jejich cytotoxicitě. Jak ale uvádí jedna studie, cytotoxicitu nanočástic ZnO ovlivňuje především jejich koncentrace a také, s jakou rychlostí se budou částice uvolňovat v biologickém prostředí (62). Rovněž bezpečnostní list pro práci s nanočásticemi oxidu zinečnatého uvádí jisté riziko pro vodní organismy, tzn. ryby, řasy, vodní bezobratlí. Pro savce nebyly klasifikované jako akutně toxické (*Bezpečnostní list podle nařízení ES č. 1907/2006*). Pro náš výzkum jsme použili ZnO-NP *Zinc oxide, nanoROTI®nanoMETIC* ≥ 99 %, velikost nanočástic 25 nm.
2. Druhým typem jsou **nanočástice diamantu (ND)**. Jsou vhodné hlavně díky svým mechanickým vlastnostem a nízké cytotoxicitě. Menší nevýhodou může být barva ND, která je tmavě šedá (54). S použitím ND v dentálních výplních se setkáváme v několika studiích, např. *Ion release of chitosan and nanodiamond modified glass ionomer restorative cements* (63). Pro naši práci jsme zvolili nanočástice diamantů *Detonation Nanodiamond Powder, AdamasNano*, velikost částic 30-35 nm.
3. Třetí typ nanočástic je **modifikovaný ND**. Přesněji - funkcionalizované detonační nanodiamanty, které díky své úpravě dosahují lepší tvrdosti a chemické odolnosti, a tím zvyšuje mechanické a chemické vlastnosti materiálu, k němuž jsou přidány (53). Byly použity nanočástice diamantů *Hydroxylated Detonation Nanodiamond Powder, AdamasNano* ≥ 98 %, velikost nanočástic 30-40 nm.

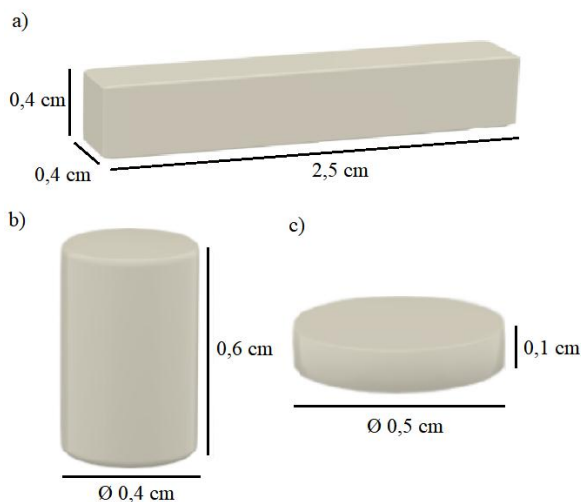
3.2.2.1 Použité koncentrace nanočástic

Mnohdy se stává, že dentální výplň je potřeba odstranit, například z důvodu vzniku sekundárního kazu. Proto jsme hledali takovou koncentraci nanočástic, abychom získali GIC s lepšími mechanickými vlastnostmi, ale ne “super tvrdý“ materiál, který nebude možné odstranit. Pro náš výzkum jsme zvolili dvě koncentrace nanočástic: 0,25 hm. % a 0,50 hm. %. Opět jsme vycházeli z vědeckých článků, které zmiňují, že již při malých koncentracích ND (méně jak 0,50 hm. %) dochází ke zlepšení mechanických vlastností materiálů (54).

3.2.3 Velikost vzorků

Každá sada obsahovala tři různé velikosti a tvary vzorků, viz obr. 14. Velikost a tvar vzorků byly zvoleny dle metodiky daného měření.

- a) První typ vzorků měl tvar kvádrů o rozměrech: 2,5 × 0,4 × 0,4 cm (Obr. 14 a). Vycházeli jsme z normy *ISO 4049:2019 Dentistry — Polymer-based restorative materials*. Pro naše měření jsme si velikost vzorků přizpůsobili kvůli tribologickým testům. Tyto vzorky jsme použili k měření 3-bodového ohybu, adhezi, tribologickým testům, mikrotvrdosti a hemokompatibilitě. Dále byly vzorky zkoumány pomocí digitálního konfokálního mikroskopu.
- b) Druhý typ vzorků jsme použili pro tlakovou zkoušku a měly tvar válce o rozměrech: Ø 0,4 cm, výška 0,6 cm (Obr. 14 b). Velikost a tvar vzorků byl použit podle normy *ISO 7489:1986 Dental glass polyalkenoate cements*.
- c) Třetí typ vzorků měl tvar malých disků a byly použity pro biologické testy (testy cytotoxicity a antibakteriálních vlastností), rozměry byly: Ø 0,5 cm, výška 0,1 cm (Obr. 14 c). Velikost vzorku byla zvolena s ohledem na testy cytotoxicity, jejichž finanční náročnost lze eliminovat právě použitím vzoru s malými rozměry (menší objem použitých reagensů během testu).



Obr. 14 Tvary a rozměry vzorků

3.2.4 Experimentální set-up

Vzorky jsme si rozdělili do osmi tzv. “sad“. Pro každou z těchto jednotlivých sad byly provedeny všechna měření. První dvě sady byly referenční. V první sadě se nacházely vzorky, které byly připravené z čistého skloionomerního cementu (distributorem uvedeného složení, uvedeným postupem, bez jakékoliv modifikace postupu či složení). V druhé sadě byly opět vzorky obsahující čistý skloionomerní cement, ale po vytvrzení byly navíc pokryté vrstvou ochranného laku (*SDI Riva Coat*, značky *SDI Dental Limited*). Tento ochranný lak po dobu prvních několika dní chrání GIC před vodou a slinami. V průběhu několika dnů dojde ke zlepšení vazeb v samotném skloionomerním cementu, ale i v adhezi mezi GIC a zubní tkání, což napomáhá v ochraně proti předčasnému selhání skloionomerní výplně. Další dvě sady vzorků byly připravené ze skloionomerního cementu s přidávkem nanočástic ZnO, o koncentraci 0,25 hm. % a druhá v koncentraci 0,50 hm. %. Zbylé čtyři sady vzorků byly vyrobené ze skloionomerního cementu obsahující nanočástice diamantu. První dvě sady obsahovaly běžné ND (0,25 hm.% a 0,50 hm.%) a další dvě sady obsahovaly funkcionalizované hydroxylované detonační nanodiamanty (ND-OH), o koncentraci 0,25 hm.% a 0,50 hm.%. Konkrétně viz tabulka 1.

Tab. 1: Experimentální set-up

	Experimentální set-up		
	Po sedmi dnech	Po 24 hodinách	Po 30+ dnech
Referenční	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	12x disk
Referenční s lakem	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	12x disk
GIC + ZnO-NP 0,25 hm. %	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	12x disk
GIC + ZnO-NP 0,50 hm. %	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	12x disk
GIC + ND 0,25 hm. %	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	12x disk
GIC + ND 0,50 hm. %	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	12x disk
GIC + ND-OH 0,25 hm. %	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	12x disk
GIC + ND-OH 0,50 hm. %	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	6x kvádr, 4x válec, 4x disk	12x disk

3.2.5 Příprava GIC s nanočásticemi

Nanočástice byly přidávány do práškové části skloionomerního cementu. Nejprve jsme si vypočítali přibližné množství práškové části, které bude potřeba pro přípravu všech vzorků jedné sady. Poté jsme pomocí trojčlenky dopočítali, kolik je potřeba přidat nanočástic abychom získali 0,25 hm. % a 0,50 hm. % koncentraci.

Na váhu značky *BOECO* s přesností vážení $d=0,01/0,1$ mg jsme položili vážící misku a pomocí tlačítka TARE jsme na váze vynulovali hmotnost vážící misky. Poté jsme na misku přibližně odměřili hmotnost ZnO-NP/ND/ND-OH pro danou koncentraci. Misku společně s nanočásticemi jsme opět položili zpět na váhu a dle potřeby jsme přidali nebo odebrali nanočástice. Tentýž postup jsme zopakovali pro GIC. Protože není možné zcela přesně odměřit předem spočtenou hmotnost nanočástic a GIC, proto jsme zapsali každou hmotnost nanočástic/skloionomerního cementu na vážící

misce. Z naměřených hmotností jsme poté dopočetli pomocí trojčlenky přesnou koncentraci. Například, pro ZnO-NP o koncentraci 0,25 hm. % jsme odměřili 0,0549 g nanočástic a 21,9489 g GIC. Po provedení výpočtů jsme spočetli, že výsledná koncentrace je 0,2501 hm. %.

V digestoři jsme obě tyto směsi vsypali do misky hmoždíře a po dobu několika minut jsme směs míchali, aby se oba prášky dobře promísili a vznikla homogenní směs. Příprava skoionomerního cementu s nanočásticemi musela probíhat velmi rychle, protože prášková část GIC má hydrofilní vlastnosti, tedy dobře interagují s vodou (resp. i vzdušnou vlhkostí). Po důkladném promíchání obou prášků byl finální prášek vložen v digestoři zpět do lahvičky společně se sáčkem silikagelu, který pohlcuje vlhkost a lahvička byla důkladně uzavřena a utěsněna parafilmem (termoplastická těsnící fólie, zabraňuje kontaminaci vzorků a odpařování, jakož i průniku vlhkosti z okolí ke vzorku).

3.3 Metody

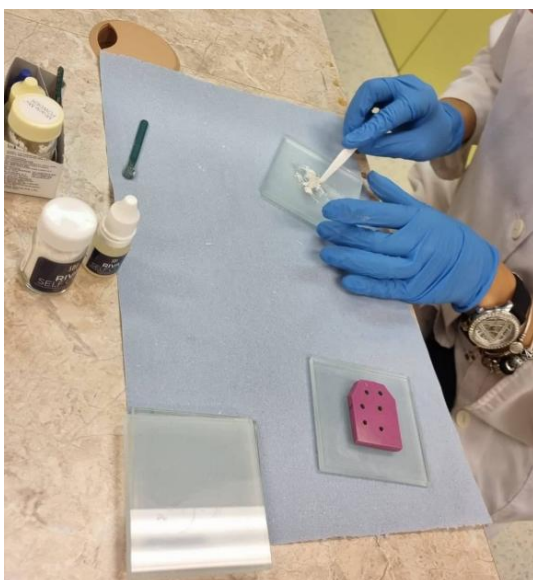
3.3.1 Příprava vzorků

Před zahájením práce jsme si ověřili, zda máme vše nezbytné pro přípravu vzorků. Připravili jsme si krabičku se skoionomerním cementem (čistý GIC či modifikovaný); ta obsahovala práškovou část, tekutou část a lžičku na nabírání práškové části, která současně fungovala jako odměrka. Tekutou část bylo potřeba položit do vodorovné polohy, aby při vytékání gelu na skleněnou desku, nevznikly v kapkách vzduchové bublinky.

Dále bylo potřeba mít připravené tři skleněné desky. První skleněná deska sloužila na míchání GIC. Množství práškové a tekuté části záležel od toho, který vzorek budeme připravovat. Pro vzorky na tlak postačily dvě lžičky prášku a dvě kapky tekutiny. Pro velké vzorky (na tvrdost, ohyb, tribologii a mikroskopii) bylo potřeba šest odměrek prášku a šest kapek tekutiny. Na mikrobiologické testy jsme si odměřili dvě lžičky a dvě kapky pro přípravu přibližně deseti vzorků. Nejdůležitější bylo dodržet poměr 1:1. Na druhou desku se umístila forma, do které se po promíchání práškové a tekuté části vložil smíchaný GIC (referenční nebo modifikovaný nanodiamanty). Třetí skleněná deska sloužila k přiklopení naplněné formy. Třetí desku bylo potřeba silně přitlačit k formě, aby vyteklo přebytečné množství GIC, tím bylo definováno stejné množství materiálu (objem a rozměry) pro všechny vzorky a všechny testy.

Další nezbytnou součástí pro přípravu vzorku byla plastová špachtle, pinzeta a skalpel. Pomocí plastové špachtle jsme smíchali dohromady práškovou a tekutou část skloionomerního cementu, pomocí pinzety jsme vyjmuli vzorky z forem a skalpelem jsme ze vzorku odřezali přebytečné okraje, viz obr. 15. Část vzorků, které sloužily jako referenční vzorky jsme pomocí aplikátoru potřeli vrstvou ochranného laku (*SDI Riva Coat, značky SDI Dental Limited*). Ochranný lak jsme vytvrdili pomocí polymerizační lampy.

Každou sadu jsme připravovali ve dvou časových úsecích. První část vzorků jsme si připravili týden před měřením mechanicko-fyzikálních a chemických vlastností. Druhou část vzorku jsme připravili den před měřením. Výše uvedený postup jsme takto zvolili, protože skloionomerní cement v průběhu několika prvních dnů stále “pracuje”, tzn. že dochází k dalším reakcím, pomocí kterých materiál stále zraje. V průběhu zrání se neustále mění jeho fyzikální a mechanické vlastnosti. Opět vycházíme z několika článků, které tento postup zmiňují. Výjimkou byly vzorky pro měření biologických interakcí, konkrétně pro cytotoxicitu a antibakteriální rezistenci, které bylo vhodnější připravit již 30 dnů před zahájením měření. Hotové vzorky jsme přechovávali při pokojové teplotě v označených zkumavkách Eppendorf s destilovanou vodou. Pokud by jsme vzorky nevložili do zkumavek s vodou, vzorky by se na vzduchu po několika minutách začaly vysoušet a prskat.

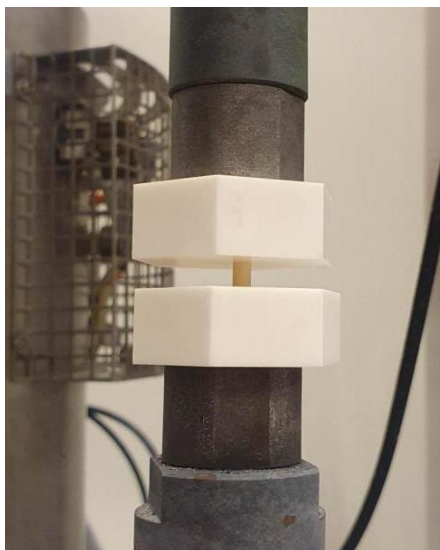


Obr. 15 Příprava vzorků

3.3.2 Tlaková zkouška

Tlaková zkouška byla prováděná v laboratořích budovy G Technické univerzity v Liberci, Katedra strojírenské technologie, FS, společně s Ing. Šárkou Bukovskou. Měření probíhalo za použití přístroje značky *Testometric*. Před započítím tlakové zkoušky jsme v příslušném programu nastavili rychlost posuvu tlakového válce, předpětí a kritéria pro ukončení zkoušky, tedy při dosažení maximální síly nebo při poklesu síly v %Fmax. Rychlost posuvu tlakového válce byla 0,05 mm/min, předpětí činilo 300 N a pokles síly %Fmax byl 50 %Fmax. Teplota okolního prostředí byla 23°C. Rovněž jsme si zvolili výstupní hodnoty, které nás nejvíce zajímají pro náš výzkum.

Před vložením válcového vzorku (Obr. 14 b) do přístroje jsme pomocí digitálního posuvného měřítka změřili jeho průměr a výšku. Hodnoty jsme poté zapsali do příslušného programu. Po nastavení všech parametrů jsme uložili vzorek mezi dva pravidelné šestiboké hranoly a ty jsme upevnili do přístroje, viz obr. 16. Tlaková zkouška probíhala do celkového poškození vzorku. Příslušný program vykresloval diagram průběhu tlakové zkoušky. Tento postup jsme opakovali pro každý vzorek.



Obr. 16 Umístění vzorku mezi dva pravidelné šestiboké hranoly

3.3.3 Zkouška ohybem

Pro naši práci jsme zvolili zkoušku ohybem metodou 3-bodového ohybu. Zkouška ohybem proběhla v laboratořích CxI TUL, a to ve spolupráci s Ing. Ladislavem Lemberkem, Oddělení pokročilých materiálů. Pro toto měření byl použit přístroj *Bruker Nano Surfaces Division*. Opět před zahájením samotné zkoušky jsme si nastavili

v příslušném programu rychlost posuvu horního válečku, počáteční pozici horního válečku a výstupní hodnoty. Rychlost posuvu horního válečku byla přibližně 0,02 mm/sec a počáteční pozice horního válečku přibližně 13 mm. Tyto hodnoty nebyly pevně stanoveny a proto se s každým vzorkem mohly lišit v desetinných místech.

3-bodový ohyb byl prováděn na vzorcích ve tvaru kvádrů (Obr. 14 a). Před umístěním vzorku do přístroje jsme pomocí digitálního posuvného měřítka změřili rozměry příčného řezu vzorku a tyto si zapsali. Tyto parametry byly potřeba k pozdějšímu vyhodnocení výsledků. Poté jsme pomocí pinzety umístili vzorek na dva podpěrné válečky. Vzdálenost mezi podpěrnými válečky byla 20 mm a průměr jednoho válečku byl roven 5 mm. Vzorek musel být umístěn na dva opěrné válečky tak, aby horní válec se dotýkal přesně středu kvádrů, viz obr. 7a a obr. 17. Po správném umístění vzorku do přístroje bylo možné zahájit měření. Zkouška probíhala do porušení vzorku, tedy do jeho zlomení a příslušný program opět vykresloval diagram průběhu měření. Výše popsany postup jsme opakovali pro každý jednotlivý vzorek.



Obr. 17 Umístění vzorku mezi 3 válečky

3.3.4 Adheze

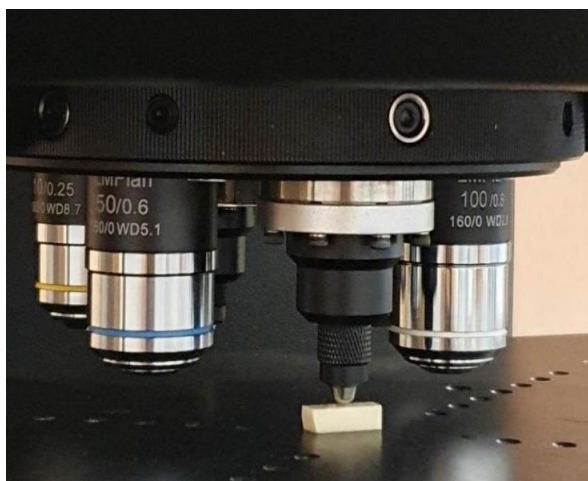
Protože měření pro adhezi námi zkoumaného skloionomerního cementu k zubní tkáni by bylo velmi náročné, ať už z hlediska legislativního (práce s biologickým materiálem odebraný pacientům) či z hlediska technického (příprava vzorků, uchopení zubu do přístroje), zvolili jsme alternativní metodu. Namísto zubní tkáně jsme použili skloionomerní cement. Inspiraci jsme hledali v jiných vědeckých člancích, kde rovněž

k testování adheze dentální výplně použili jiný výplňový materiál např. *Effect of different surface treatments on shear bond strength of ceramic brackets to old composite* (74). Pro výběr metody jsme využili jiné studie, ve kterých bylo popsáno hned několik postupů měření *Assessment of Bonding Effectiveness of Adhesive Materials to Tooth Structure using Bond Strength Test Methods: A Review of Literature* (75). Po odborné konzultaci jsme zvolili metodu 3-bodového ohybu, který je obdobou PUSH-OUT testu.

Vzorky měly stejný tvar i velikost (Obr. 14 a), ale od předchozích vzorků se lišily tím, že jedna polovina byla vytvořena z čistého GIC (bez nanočástic). Po krátkém vytvrzení čistého GIC (ještě ve formě, cca 2 minuty) byla druhá část vzorku doplněná skloionomerním cementem obsahujícím nanočástice (ZnO nebo ND nebo ND-OH). Jako referenční vzorek nám sloužil kvádr, vytvořený pouze z čistého GIC, ale postup přípravy byl stejný, jako u ostatních vzorků na adhezi (tj. čistý GIC byl doplněn čistým GIC). Při testování adheze jsme zanedbali referenční vzorky s coatingem, které by pro toto měření neměly podstatný význam.

3.3.5 Mikrotvrdost

Měření tvrdosti probíhalo na Katedře materiálu FS TUL, ve spolupráci s Ing. Michalem Krafkou, za použití přístroje značky *Struers Duramin-40*. Tento přístroj umožňuje měření tvrdosti metodou Vickers, Knoop a Brinell. Pro náš výzkum jsme zvolili metodu Vickers. Dále jsme v programu nastavili zatížení - 0,015 kg a počet vtisků - 10 vtisků. Protože rozměry indentorů jsou malé, bylo možné použít již rozlomené vzorky ze 3-bodového ohybu (Obr. 14 a). Kromě výměnných indentorů přístroj disponuje čtyřmi objektivy, viz obr. 18. Pomocí těchto objektivů dojde k zmapování plochy vzorku určené ke vtisku. Díky otáčecí věži s indentory a objektivy se přístroj po každém vtlačení zkalibruje a je schopen určit polohu a velikost úhlopříčky každého jednotlivého vtisku. Tím je možné alespoň částečně zamezit chybám způsobených lidským faktorem. Kromě určení polohy a velikosti úhlopříček vtisku přístroj po každém vtlačení pořídí snímek povrchu vzorku v daném místě. To umožňuje (v případě nesrovnalostí) ručně upravit plochu vtisku určenou pro vyhodnocení.



Obr. 18 Otáčecí věž s indenty a objektivy

3.3.6 Tribologické testy

Pro tribologické testy byl použit tribometr značky TRB3 od firmy *Anton Paar*, který umožňuje provádět měření v suchém i v kapalném prostředí a je shodný s normami ASTM G99 a ASTM G133. Tribometr umožňuje testování metodou Pin/Ball-on-Disc nebo Lineární vratný tribologický test. Měření proběhlo v Laboratoři tribologie na Katedře materiálu FS TUL ve spolupráci s Ing. Totkou Bakalovou, Ph.D.

Pro náš výzkum jsme zvolili metodu lineární vratný tribologický test a byly použity vzorky ve tvaru kvádrů (Obr. 14 a). Vzorek byl upevněn ve svěráku mezi dvě kovové úchytky. Protože se jednalo o křehký materiál, vzorek musel být zafixován tak, aby při měření nedošlo k jeho pohybu, ale zároveň, aby se nepoškodil. Jako protitěleso byla použita keramická kulička (Al_2O_3) o průměru 6 mm, která je pevně zafixovaná, aby v průběhu měření nedošlo k jejímu protáčení.

V příslušném programu jsme nastavili zatížení, rychlost pohybu protitělesa a ujetou dráhu, při které dojde k ukončení měření. Zatížení jsme zvolili 5N (při větším zatížení (10N) se vzorky hned poškodily). Rychlost pohybu kuličky jsme nastavili na 4,50 cm/s a ujetou dráhu na 10 m.

Po ukončení měření jsme zkoumali míru opotřebení povrchu vzorku pomocí konfokálního mikroskopu *SENSOFAR S Neox*. Především nás zajímala hloubka zanechané stopy na vzorku po opotřebení a její šířka. Protože je skloionomerní cement nehomogenní materiál, hodnocení protitělesa jsme zanedbali.

3.3.7 Mikroskopie

Vzorky byly zkoumané pomocí dvou typů mikroskopů. Prvním typem mikroskopu byl konfokální mikroskop *SENSOFAR S Neox*. Druhým typem mikroskopu byl digitální mikroskop značky *Leica DVM6*. Měření proběhlo na Katedře materiálu FS TUL ve spolupráci s vedoucí této DP práce.

U konfokálního mikroskopu jsme zkoumali strukturu povrchu, zejména povrchovou poréznost vzorků a jejich drsnost (Obr. 14 a). Poréznost je jedním z aspektů, které ovlivňují životnost dentálních výplní. Mezi faktory, které mají vliv na poréznost výplně patří například práce s materiálem či vlastnosti samotného materiálu. Obecně platí, že větší poréznost zkracuje životnost dentálních výplní. S větším množstvím pórů dochází ke zvýšení rizika tvorby sekundárního kazu. V pórech, obzvláště na okraji zubu a výplně, se usazuje zubní plak, kde se rovněž nacházejí bakterie, které mají za následek tvorbu zubního kazu (29). Pro dentální výplně má veliký význam rovněž drsnost povrchu, která ovlivňuje adhezi výplně k jiným materiálům. S větší drsností roste přilnavost výplně k jiným tkáním, konkrétně k zubní, ale rovněž roste i adheze bakterií k výplni, což může mít za následek opět tvorbu zubního kazu. Tudíž by drsnost neměla být ani příliš moc velká ani příliš malá (69). U konfokálního mikroskopu jsme pořídili snímky se 20 a 150 násobným zvětšením.

Digitální mikroskop byl použit k pořízení snímků vzorků po 3-bodovém ohybu a po tlakové zkoušce. U vzorků z 3-bodového ohybu jsme zkoumali místo zlomu vzorku. Zaměřili jsme se na to, jestli se po poškození nevytvořily v místě zlomu prasklinky. U vzorků z tlakové zkoušky jsme zkoumali směr poškození, tzn. jestli se jednalo o podélné či o příčné prasknutí.

3.3.8 Hodnocení biologické kompatibility

K hodnocení biologické kompatibility jsme použili vzorky ve tvaru disku (Obr. 14 c). Při testech na hemokompatibilitu jsme zanedbali vzorky s coatingem, vzhledem k tomu, že ochranný lak se nanáší pouze na povrch GIC, tudíž nepřichází do přímého kontaktu s krví. Měření proběhlo na Katedře materiálu FS TUL ve spolupráci s vedoucí této DP práce; jakož i na Oddělení vědy a výzkumu (laboratoře FZS TUL) ve spolupráci s Mgr. Olgou Buchar Klinovskou.

3.3.8.1 Antibakteriální účinnost

Pro hodnocení antibakteriální aktivity jsme zvolili tzv. Kirby-Bauerův test. Před zahájením testu bylo potřeba vytvořit bakteriální populaci. Byly použity dva typy bakterií. Prvním typem byla bakteriální populace, která se běžně vyskytuje v lidských ústech (slinách). Získaly jsme je pomocí stěru z úst zdravých dobrovolníků pomocí sterilní vatové tyčinky. Poté byly nanесeny na krevní agar a kultivované po dobu 48h při 37°C. Následně byly z povrchu krevního agaru vyselektovány bakterie, které byly dále namnoženy pro provedení celého níže uvedeného testu v jednom běhu. Druhým typem bakterii byla *Escherichia coli*, která se běžně vyskytuje v lidském těle (je součástí střevní mikroflóry teplokrevných živočichů včetně člověka). Jedná se o jeden z nejčastěji používaných mikroorganismů pro hodnocení antibakteriální aktivity, a tudíž je i nejvíce probádaný. Kromě vytvoření bakteriální populace, jsme si rovněž připravili Petriho misky společně s agarem: Mueller-Hinton agar (běžně používaný v diskové difúzní metodě) byl připraven dle návodu (15,2 g prášku bylo rozpuštěno ve 400 ml demineralizované vody a byla provedena sterilizace média autokláfováním), tekutý a vychladlý agar byl rozlit do Petriho misek a ponechán ke ztuhnutí.

V den testu jsme si připravili bakteriální inokulum. Z agarové plotny s namnoženými bakteriemi jsme pomocí sterilní mikrobiologické kličky (předem opálené plamenem) setřeli malé množství bakterií, které jsme rozmíchali ve fyziologickém roztoku. Následně jsme si pomocí *Denzitometru McFarland typ DEN-1* ověřili koncentraci bakteriálního inokula. Pro bakterie ze stěru jsme naměřili koncentraci 0,6 McF (tzv. stupnice McFarland) a pro *E. coli* 0,5 McF. Dále jsme si připravili všechny Petriho misky s agarem takto: dle typu bakteriálního kmene (tj. dvě skupiny), dle typu vzorků (vzorky dle tabulky 1); další dvě skupiny byly kontrolní - tzv. negativní kontrola (na misku byly inokulovány pouze bakterie, nebyl použit žádný vzorek – sloužilo k ověření růstu bakterií) a dvě tzv. pozitivní kontroly (používají se zde definované disky napuštěné antibakteriálním činidlem, u nichž se předpokládá antibakteriální aktivita a k nimž se vztahují testované vzorky; námi zvolenými byla antibiotika Cefazolin o koncentraci 30 µg a Gentamicin 10 µg).

Na povrch agaru jsme rovnoměrně rozetřeli testovaný organismus (bakterie) pomocí sterilní skleněné hokejky. Přibližně po 15 minutách byly doprostřed Petriho misky s agarem aplikovány testované vzorky (GIC vzorek s/bez nanočástic, nebo disk

filtračního papíru napuštěný definovaným množstvím antibiotik). Petriho misky se poté inkubovaly po dobu 24 hodin (pro *E. coli*) nebo 48 hodin (pro bakterie ze stěru) při teplotě 37 °C. Nakonec byly výsledky zdokumentovány a vyhodnoceny inhibiční zóny, a to pomocí programu ImageJ.

3.3.8.2 Cytotoxicita

Pro stanovení cytotoxicity materiálů jsme použili lidské buňky odvozené z primárního osteosarkomu (buněčná linie SAOS-2). V sérii experimentů jsme nejprve sledovali metabolickou aktivitu buněk a následně buněčnou proliferaci.

Buňky jsme nasadili v požadované koncentraci do 96jamkových destiček, jejichž jamky obsahovaly vzorky ve tvaru disku (Obr. 14 c), nebo byly prázdné pro standardní kultivaci buněk na plastovém podkladu (kontrolní vzorek). Následovala inkubace po dobu 2 a 48 hodin při teplotě 37°C a atmosféře s 5% CO₂. Po uplynutí stanovených časových intervalů jsme vzorky přenesli do nových 96jamkových destiček a kultivační medium nahradili médiem obsahujícím 10% MTS roztok. Po 2 hodinách kultivace v MTS mediu jsme supernatant přenesli do nové 96jamkové destičky, v níž byla měřena absorbance pomocí multidetekčního readeru (Synergy HT, BIOTEK) při vlnových délkách 490 nm a 650 nm. Po provedení MTS testu metabolické aktivity jsme medium nahradili roztokem pro měření proliferace buněk, jehož součástí je Cyquant barvivo, které je schopno detekovat buněčnou DNA. Po hodinové inkubaci s Cyquant roztokem jsme změřili fluorescenci vzorků a kontrolní jamky pomocí multidetekčního readeru (Synergy, HT, BIOTEK) s využitím vlnových délek 485 nm a 530 nm. Jádra obarvena proliferčním kitem jsme pozorovali fluorescenčním mikroskopem Olympus IX73 s Olympus kamerou DP74 a vytvořené snímky následně zpracovali v programu ImageJ. Výsledná data jsme zpracovali programem Statistica.

3.3.8.3 Hemokompatibila

Posledním z biologických testů, který jsme provedli v rámci diplomové práce byl test interakce povrchu vzorku s lidskou krví. Zaměřili jsme se především na erytrocyty. Zkoumali jsme, jestli po kontaktu krve s povrchem vzorku se změní tvar či velikost.

Od dobrovolného dárce, jehož prst byl řádně vydezinfikován, bylo pomocí sterilní jednorázové lancety odebráno několik kapek krve. Na povrch testovaného

vzorku byl proveden roztěr krve do formy velmi tenkého filmu krve. Pokud by roztěr nebyl dostatečně tenký, červené krvinky by se na povrchu vzorku překrývaly, nebyly by dobře rozlišitelné a především by nedocházelo k přímé interakci buňky s povrchem. Po zaschnutí krve na povrchu (cca 2 minuty) jsme vzorky hodnotili pomocí konfokálního mikroskopu. Jedná se o jednu z nejjednodušších metod zkoumání interakce materiálu s krví, která je levná, nenáročná na přípravu a není potřeba žádných barvicích látek.

3.4 Analýza výzkumných dat

Data jsme zpracovali v programech Microsoft Excel (tabulkový procesor vyvinutý společností Microsoft), RStudio (bezplatný softwarový program s otevřeným zdrojovým kódem pro statistickou analýzu). Pro analýzu obrazu jsme použili programy Gwyddion (modulární program pro vizualizaci a analýzu dat výškových polí, např. získaných technikou rastrovací nebo konfokální mikroskopie; bezplatný a otevřený software) a ImageJ (program pro zpracování digitálního obrazu založený na Javě vyvinutý v National Institutes of Health a Laboratory for Optical and Computational Instrumentation, University of Wisconsin).

Statistickou analýzu jsme provedli pomocí jednosměrné analýzy rozptylu (One-Way ANOVA). Pro stanovení rozdílu mezi referenčními a modifikovanými vzorky a mezi prvním a sedmým dnem jsme zvolili Tukey's test a Wilcoxon test. Interval spolehlivosti pro Tukey's test byl 95% (= hladina spolehlivosti 5%, $p < 0,05$). Výsledky ze statistické analýzy nalezneme v příloze A.

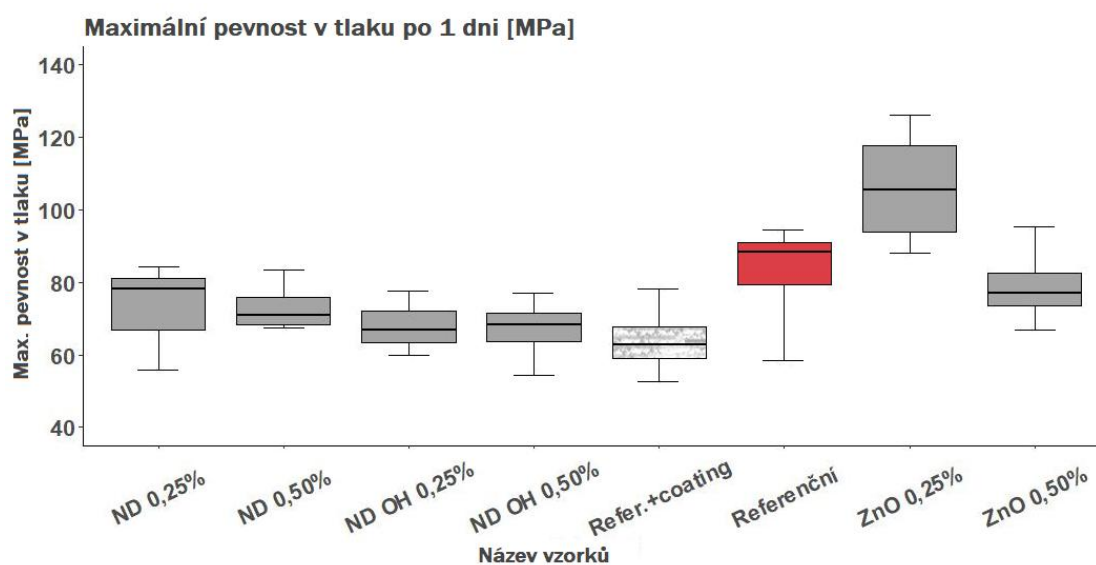
3.4.1 Tlaková zkouška

Po dokončení měření příslušný program vygeneroval pro každý typ vzorku protokol. Protokol obsahoval tabulku s námi zvolenými výstupními hodnotami a graf s průběhem tlakové zkoušky pro každý vzorek. Nejdůležitějšími parametry pro vyhodnocení tlakové zkoušky pro diplomovou práci byly maximální pevnost v tlaku R_{max} a maximální zatížení F_{max} . Jedná se o maximální hodnoty, kdy dojde k poškození vzorků. V programu Excel jsme vypočetli medián, první a třetí kvartil z naměřených hodnot a poté je zapsali do tabulky číslo 2 (R_{max}) a tabulky 3 (F_{max}). Pro naši práci jsme zvolili medián, protože je vhodnější pro data, která mají odlehle hodnoty a pro data s malým počtem měření. Pokud bychom zvolili průměr, výsledek by byl zkreslen

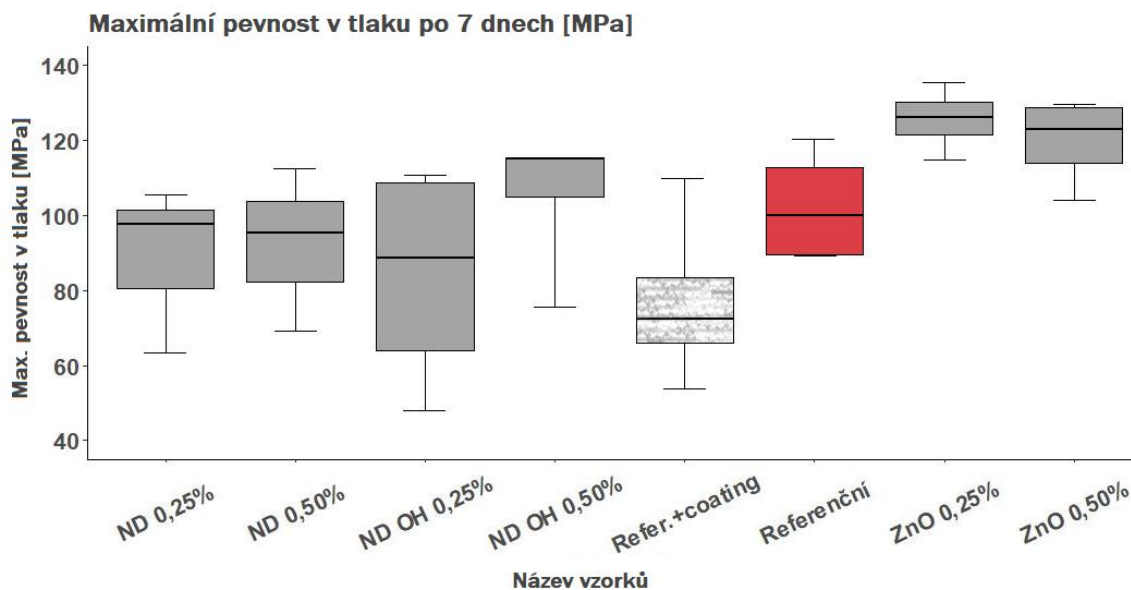
odlehlými hodnotami. Následně jsme z naměřených hodnot vytvořili v programu RStudio grafy typu tzv. box-plot (krabicový graf). Rovněž jsme RStudio použili pro statistickou analýzu.

Tab. 2 Maximální pevnost v tlaku po 1 dni a po 7 dnech

	Maximální pevnost v tlaku po 1 dni [MPa]			Maximální pevnost v tlaku po 7 dnech [MPa]		
	Medián	1. kvartil	3. kvartil	Medián	1. kvartil	3. kvartil
Referenční	88,19	79,48	90,92	100,06	89,64	112,77
Refer.+coating	62,83	59,08	67,77	72,39	65,90	83,48
ZnO 0,25%	105,46	93,81	117,79	126,01	121,46	130,08
ZnO 0,50%	77,15	73,65	82,54	122,77	113,83	128,55
ND 0,25%	78,04	66,86	81,04	97,68	80,58	101,44
ND 0,50%	70,93	68,19	75,81	95,43	82,33	103,74
ND-OH 0,25%	66,95	63,47	72,07	88,72	64,08	108,60
ND-OH 0,50%	68,33	63,70	71,57	114,91	104,76	115,37
One-way ANOVA	F=4,519, p=0,00298 (Sig.diff. **p<0,01)			F=2,355, p=0,0556 (Sig.diff. .p<0,1)		
One-way ANOVA	F=4,004, p=0,00014 (Sig.diff. ***p<0,001)					



Graf 1: Maximální pevnost v tlaku po 1 dni

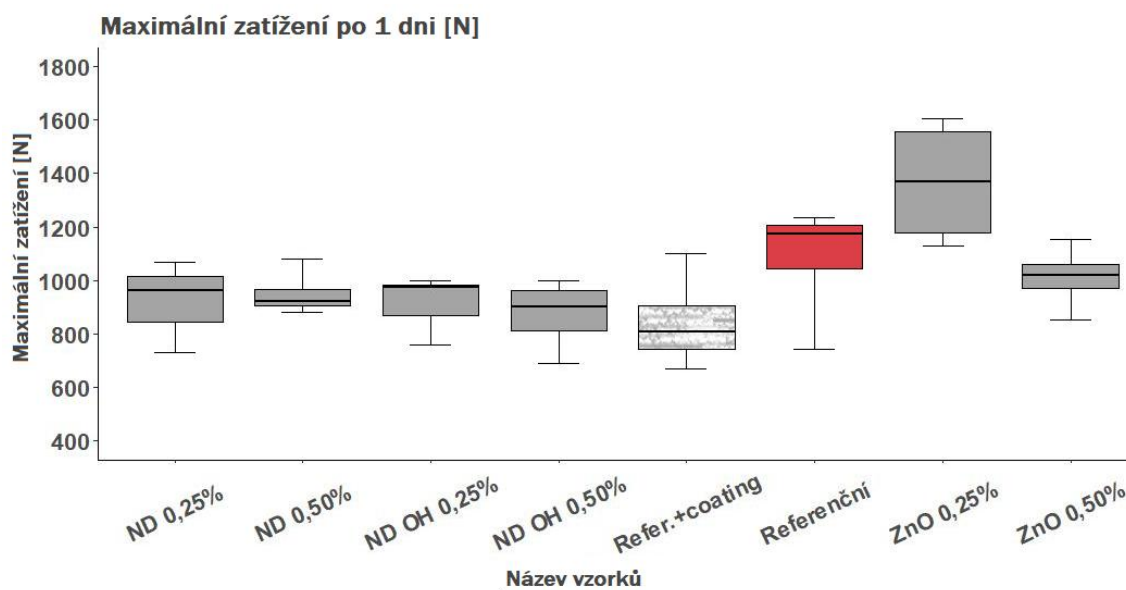


Graf 2: Maximální pevnost v tlaku po 7 dnech

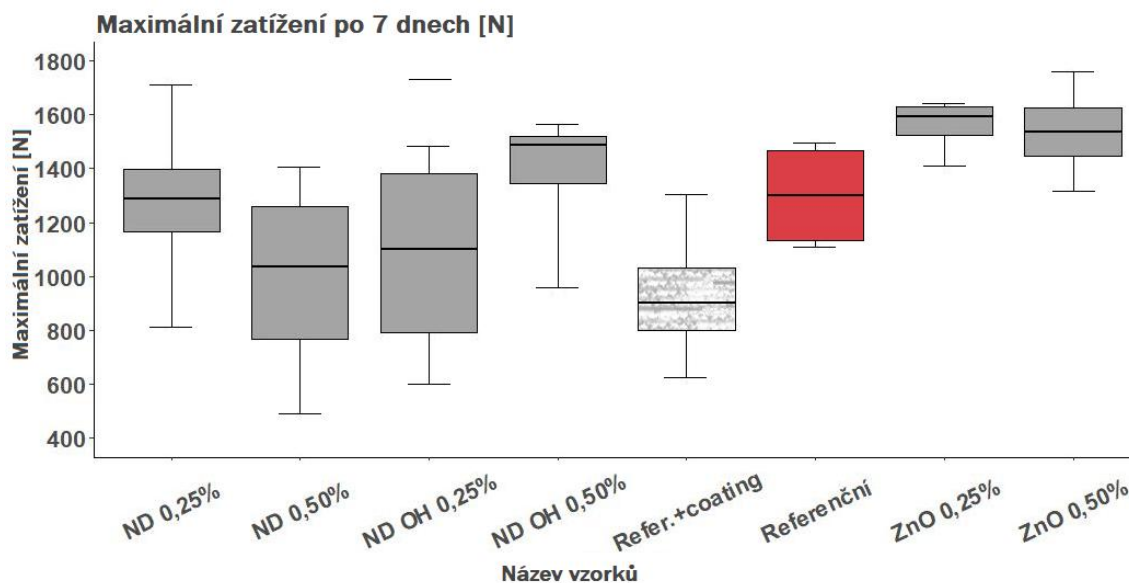
Z tabulky číslo 2 a grafu číslo 1 je patrné, že po jednom dni se pevnost v tlaku zvýšila pouze u vzorků obsahující nanočástice ZnO v koncentraci 0,25 hm. % (105,46 MPa) vzhledem k referenčním vzorkům (88,19 MPa). Po sedmi dnech dochází ke zvýšení pevnosti v tlaku u více vzorků. V tabulce č. 2 a grafu č. 2 vidíme, že oproti referenčním vzorkům (100,06 MPa) se zvýšila pevnost v tlaku u vzorků obsahující nanočástice ZnO v obou koncentracích (126,01 MPa a 122,77 MPa), s nanočásticemi ND-OH v koncentraci 0,50 hm. % (114,91 MPa) a mírně i u vzorků s nanočásticemi ND v koncentraci 0,25 hm. % (101,91). Dále je zřetelné, že na pevnost v tlaku má vliv i čas zrání skloionomerního cementu, ať už bez úprav či obsahující nanočástice. Po sedmi dnech se u všech typů vzorků zvýšila maximální pevnost v tlaku. Přestože podle tabulek a grafů měly některé přidané nanočástice vliv na zvýšení pevnosti v tlaku GIC, po provedení statistické analýzy, ani jeden výsledek neprokázal, že by došlo k významným změnám (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$).

Tab. 3 Maximální zatížení po 1 dni a po 7 dnech

	Maximální zatížení po 1 dni [N]			Maximální zatížení po 7 dnech [N]		
	Medián	1. kvartil	3. kvartil	Medián	1. kvartil	3. kvartil
Referenční	1172,30	1045,08	1207,00	1299,20	1133,15	1466,03
Refer.+coating	806,95	744,65	907,63	903,35	801,78	1033,95
ZnO 0,25%	1367,50	1176,73	1557,63	1594,30	1523,23	1628,78
ZnO 0,50%	1020,95	972,18	1060,45	1534,10	1444,75	1624,40
ND 0,25%	961,20	846,40	1013,85	1289,50	1165,98	1397,88
ND 0,50%	922,10	904,83	968,88	1034,05	765,78	1258,63
ND-OH 0,25%	974,70	868,00	984,85	1102,80	791,38	1382,55
ND-OH 0,50%	900,80	811,68	961,60	1487,65	1343,53	1518,28



Graf 3: Maximální zatížení po 1 dni



Graf 4: Maximální zatížení po 7 dnech

Z výsledků v tabulce číslo 3 a grafů číslo 3 a 4 vidíme, že téměř koreluje s výsledky v tabulce č. 2 a s grafy č. 1 a 2. Přesto byly pro nás hodnoty maximálního zatížení důležité pro srovnání se svírací silou zdravého lidského chrupu. Maximální zatížení pro referenční vzorky po sedmi dnech bylo 1299,2 N. Nejvyššího maximálního zatížení dosáhly vzorky s obsahem nanočástic oxidu zinečnatého v obou koncentracích a s obsahem ND-OH ve vyšší koncentraci, všechny po sedmi dnech.

3.4.2 Zkouška ohybem

Při zkoušce ohybem pro nás nejpodstatnějším parametrem bylo maximální zatížení F , kterého jsme dosáhli při poškození vzorku. Ke každému vzorku jsme si v příslušném programu vygenerovali soubor, kde se nacházely všechny námi nastavené výstupní hodnoty. V daném souboru jsme našli sloupec s maximálním zatížením a v tomto sloupci jsme vyhledali maximální hodnotu. Protože k poškození vzorku nedošlo okamžitě, ale maximální síla působila nějakou dobu, vypočítali jsme v programu Excel průměr z 13ti nejvyšších hodnot pro každý vzorek. Rovněž jsme v Excelu vytvořili tabulky s rozměry příčného řezu vzorků. Následně jsme pomocí rovnice vypočítali pevnost v tahu ohybem.

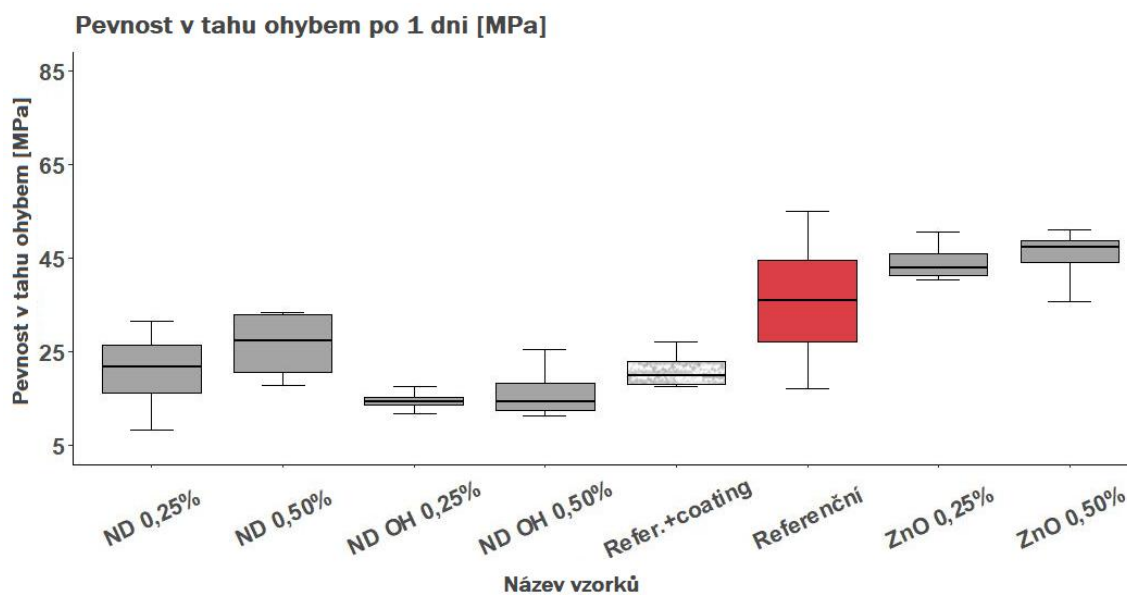
$$f_{cf} = \frac{F \times l}{d_1 \times d_2} \quad \text{Rovnice 3. (61)}$$

Kde F je maximální zatížení [N], l je vzdálenost mezi podpěrnými válečky [mm], d_1 a d_2 jsou rozměry příčného řezu vzorku [mm]. Výsledek je vyjádřen v MPa.

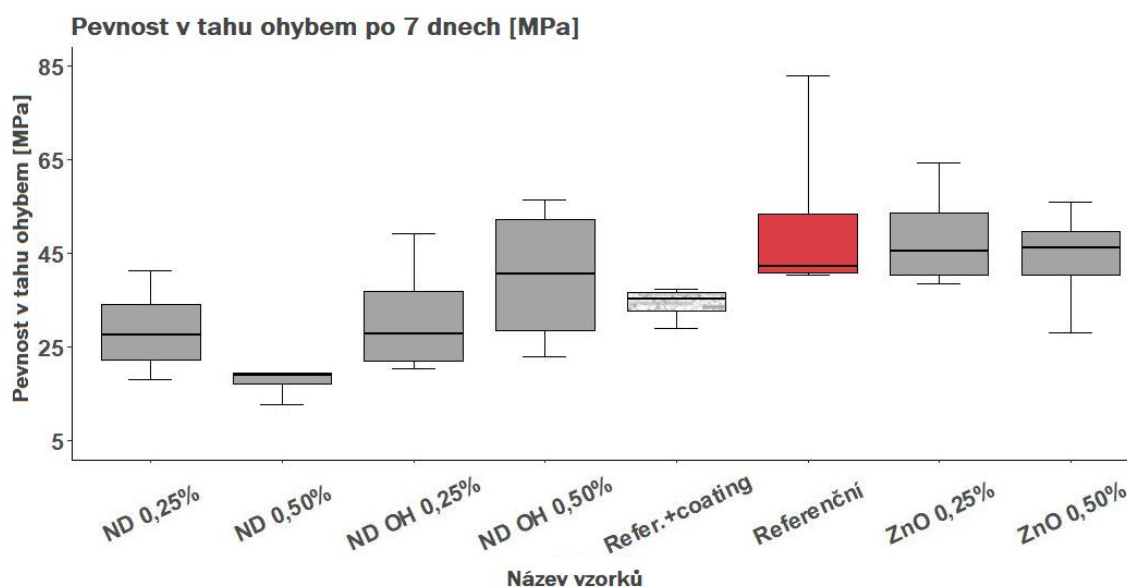
Z vypočítaných hodnot pro pevnost v tahu ohybem jsme vypočítali medián, první a třetí kvartil pro každý typ vzorku. Výsledné hodnoty jsme zapsali do tabulky a vytvořili pro ně grafy, které vyhodnocují pevnost v tahu ohybem pro všechny typy vzorků po jednom dni a po sedmi dnech, viz tabulka č. 4 a grafy č. 5 a 6.

Tab. 4: Pevnost v tahu ohybem po 1 dni a po 7 dnech

	Pevnost v tahu ohybem po 1 dni [MPa]			Pevnost v tahu ohybem po 7 dnech [MPa]		
	Medián	1. kvartil	3. kvartil	Medián	1. kvartil	3. kvartil
Referenční	35,89	27,15	44,69	42,26	40,85	53,36
Ref. + coating	19,90	18,05	22,96	35,29	32,84	36,64
ZnO 0,25%	43,02	41,26	45,95	45,52	40,32	53,68
ZnO 0,50%	47,36	44,02	48,71	46,18	40,47	49,82
ND 0,25%	21,81	16,19	26,52	27,60	22,21	34,05
ND 0,50%	27,30	20,78	32,99	18,98	17,10	19,43
ND-OH 0,25%	14,39	13,62	15,27	27,80	21,99	37,05
ND-OH 0,50%	14,41	12,43	18,37	40,71	28,68	52,20
One-way ANOVA	F=8,778, p=0,000024 (Sig.diff. ***p<0,001)			F=3,326, p=0,0128 (Sig.diff. *p<0,05)		
One-way ANOVA	F=5,416, p=0,00000346 (Sig.diff. ***p<0,001)					



Graf 5: Pevnost v tahu ohybem po 1 dni



Graf 6: Pevnost v tahu ohybem po 7 dnech

Po jednom dni zrání GIC vyšších hodnot než referenční vzorky (35,89 MPa) dosáhly pouze vzorky s obsahem nanočástic oxidu zinečnatého v obou koncentracích (43,02 MPa a 47,36 MPa). Taktéž po sedmi dnech zrání byly u vzorků s obsahem nanočástic ZnO v obou koncentracích (45,52 MPa a 46,18 MPa) naměřené vyšší hodnoty než u vzorků referenčních (42,26 MPa). K hodnotám pevnosti v tahu ohybem referenčních vzorků se přiblížily i vzorky s obsahem nanočástic ND-OH ve vyšší koncentraci (40,71 MPa). V tabulce č. 3 vidíme, že téměř u všech vzorků došlo po sedmi dnech zrání GIC ke vzrůstu pevnosti v tahu ohybem. Výjimkou jsou pouze

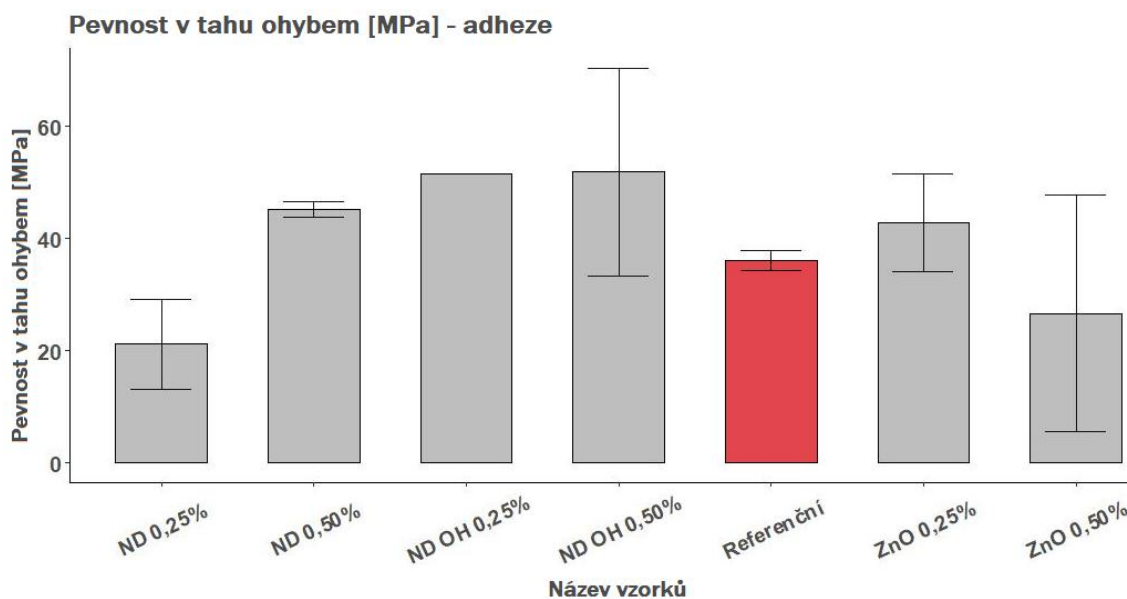
vzorky s obsahem nanočástic ND 0,50 hm. %, kde pevnost v tahu klesla a vzorky s obsahem NP-ZnO 0,50 hm. %, kde nedošlo ke změnám. Po vyhodnocení statistickou analýzou bylo definováno, že ani hodnocení pevnosti v tahu ohybem neprokázalo významný rozdíl naměřených dat (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$).

3.4.3 Adheze

Postup pro zpracování dat z testu na adhezi byl totožný, jako při testování vzorků v pevnosti v tahu ohybem, viz kapitola 3.4.2. Tentokrát jsme ale namísto mediánu, 1. a 3. kvartilu spočítali pouze průměr a směrodatnou odchylku, viz tab. č. 5. Rovněž jsme místo box-plot grafu zvolili sloupcový graf s odchylkami, viz graf č. 7. Důvodem změny statistických parametrů a volby grafu je menší počet naměřených dat, tudíž graf typu box-plot by byl méně přehledný.

Tab. 5: Adheze

	Pevnost v tahu ohybem [MPa] - adheze
	Průměr \pm σ - Směrodatná odch.
Referenční	36,00 \pm 1,76
ZnO 0,25%	42,80 \pm 8,77
ZnO 0,50%	26,61 \pm 21,06
ND 0,25%	21,14 \pm 7,94
ND 0,50%	45,18 \pm 1,42
ND OH 0,25%	51,55 \pm 0,01
ND OH 0,50%	51,86 \pm 18,52
One-way ANOVA	F=2,145, p=0,17 (Sig.diff. ' ' p<1)



Graf 7: Adheze

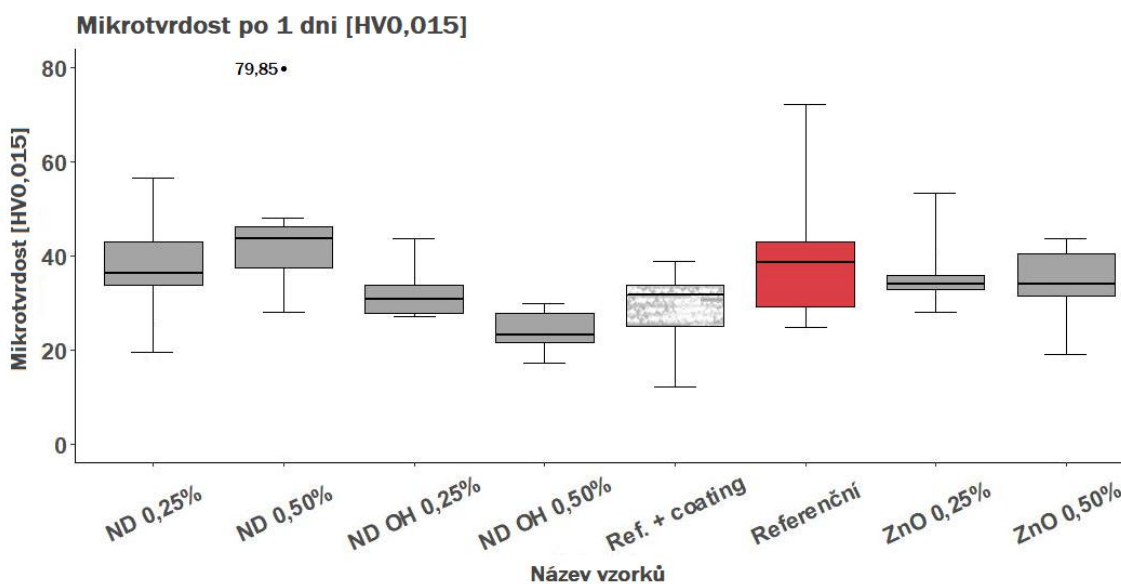
Z tabulky číslo 5 a grafu číslo 7 můžeme vidět, že největší pevnosti v tahu ohybem dosáhly vzorky s obsahem nanočástic ND-OH v obou koncentracích a s obsahem nanočástic ND ve vyšší koncentraci. S výjimkou vzorků obsahující nanočástice ND-OH v koncentraci 0,50 hm. % byla u těchto vzorků spočtena i nejmenší směrodatná odchylka. Naměřené hodnoty budeme dále porovnávat s hodnotami pro drsnost povrchu (viz kapitola 3.4.6.1). Jak již bylo zmíněno v kapitole 3.3.7, drsnost povrchu má vliv na přilnavost materiálu k jiným materiálům/tkáním.

3.4.4 Mikrotvrдость

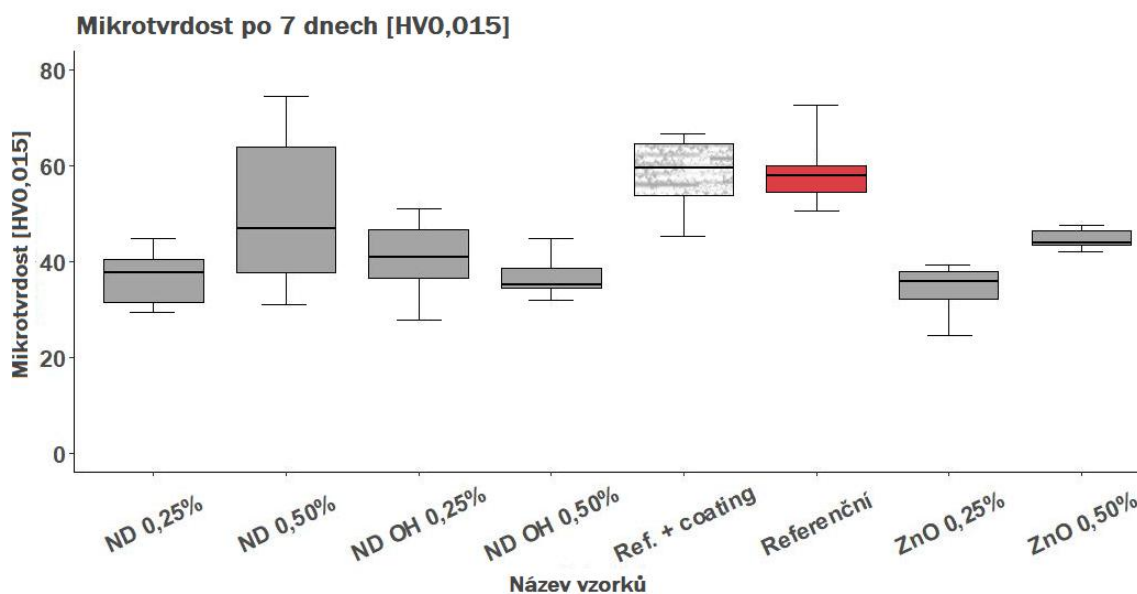
Po dokončení měření mikrotvrđosti jsme si pro každý vzorek vygenerovali v příslušném programu protokol, který obsahoval: hodnotu mikrotvrđosti každého vtisku, délku obou uhlopříček, místo vtisku a snímek vtisku. Získané hodnoty pro mikrotvrđost jsme zapsali do tabulek v Excelu a posléze jsme pro každý vzorek spočetli medián, 1. a 3. kvartil, viz tab. č. 6. Nakonec jsme v RStudio vytvořili grafy č. 8 a 9 pro vzorky po 1 dni a po 7 dnech a provedli statistickou analýzu.

Tab. 6: Mikrotvrдость po 1 dni a po 7 dnech

	Mikrotvrдость po 1 dni [HV0,015]			Mikrotvrдость po 7 dnech [HV0,015]		
	Medián	1. kvartil	3. kvartil	Medián	1. kvartil	3. kvartil
Referenční	38,52	29,24	42,92	57,90	54,54	60,00
Ref. + coating	31,74	25,00	33,72	59,44	53,70	64,51
ZnO 0,25%	33,97	32,78	35,80	35,78	32,16	37,89
ZnO 0,50%	33,94	31,50	40,51	43,83	43,49	46,50
ND 0,25%	36,27	33,74	43,01	37,58	31,42	40,40
ND 0,50%	43,78	37,47	46,11	46,99	37,61	64,03
ND-OH 0,25%	30,68	27,76	33,77	40,92	36,57	46,65
ND-OH 0,50%	23,24	21,50	27,88	35,07	34,42	38,71
One-way ANOVA	F=3,854, p=0,00151 (Sig.diff. **p<0,01)			F=14,7 p=2,56e ⁻¹¹ (Sig.diff. ***p<0,001)		
One-way ANOVA	F=10,41, p=6,44e ⁻¹⁶ (Sig.diff. ***p<0,001)					



Graf 8: Mikrotvrдость po 1 dni



Graf 9: Mikrotvrđost po 7 dnech

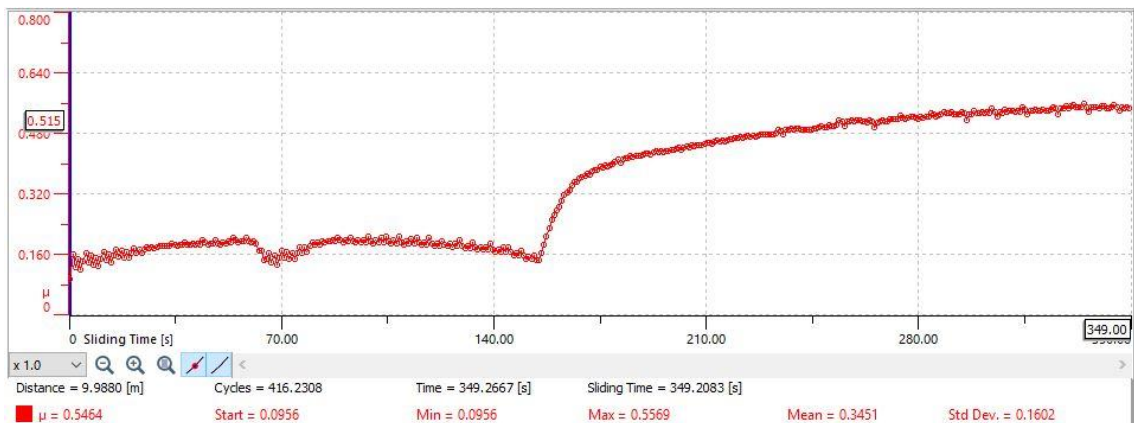
Jak vidíme v tabulce č. 6, po jednom dni nejvyšší hodnota mikrotvrđosti byla naměřená u vzorků s obsahem nanočástic ND při koncentraci 0,50 hm. % (43,78 HV0,015). Po sedmi dnech nejvyšší hodnota mikrotvrđosti byla naměřená u referenčních vzorků (57,90 HV0,015) a referenčních vzorků s coatingem (59,44 HV0,015). Poměrně vysoká mikrotvrđost byla naměřená u vzorků s obsahem NP-ZnO při koncentraci 0,50 hm. % (43,83 HV0,015), nanočástic ND 0,50 hm. % koncentraci (46,99 HV0,015) a ND-OH 0,25 hm. % koncentraci (40,92 HV0,015). Dále vidíme, že čas zrání GIC měl rovněž vliv na mikrotvrđost vzorků. Na tento fakt poukázala i statistická analýza, když při použití Wilcoxon testu téměř u všech vzorků byla překročena hladina významnosti $\alpha=0,05$. Výjimkou byly pouze vzorky s obsahem ND v obou koncentracích a NP-ZnO 0,25 hm. %. Při hodnocení vzorků po sedmi dnech (referenční/modifikace GIC) byla rovněž u většiny překročena hladina významnosti, bohužel se ale nejednalo o zvýšení mikrotvrđosti. Hodnoty mikrotvrđosti budeme dále porovnávat s výsledky z tribologických testů (viz kapitola 3.4.5). Tvrđost materiálu úzce souvisí s opotřebením, především s hloubkou stopy po opotřebením.

Dále jsme pozorovali, jestli v okolí místa vtisku nevznikly mikrotrhliny. Kromě tvaru mikrotrhlin, se zkoumá jejich počet, délka či vzdálenost od místa vtisku. Rozlišuje se několik tvarů mikrotrhlin, mezi nejznámější patří: radiální, křídlové (wing crack) a prstencové (ring/cone crack). Radiální trhliny se šíří z rohů vtisku směrem ke středu, kolmo k okrajům vtisku. Křídlové se šíří také z rohu, ale pod úhlem, čímž vytvářejí tvar křídel. Prstencové jak již sám název napovídá, vytvářejí prstence kolem místa vtisku.

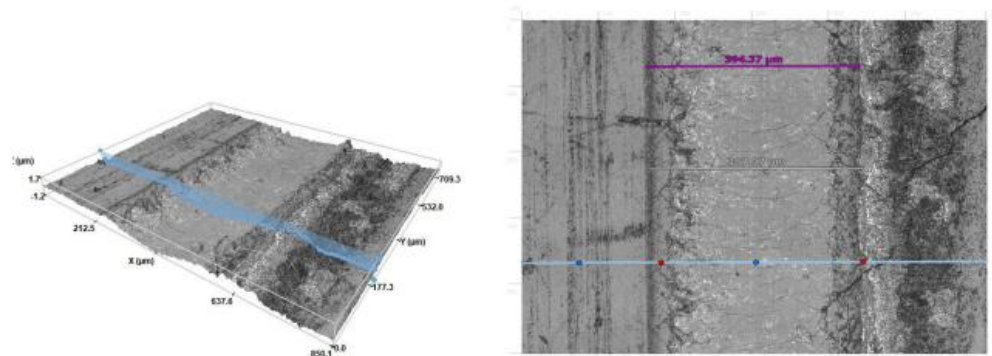
Snímky s mikrotrhlinami se nachází v příloze B. U všech vzorků byly patrné prstencové mikrotrhliny, které jsou charakteristické pro křehké materiály, jako je například keramika. Výjimkou byly referenční vzorky s coatingem po 7 dnech a vzorky s obsahem ND v obou koncentracích taktéž po 7 dnech. Největší prstence (nejvíce vzdálené trhliny od místa vtisku) jsme zaznamenali u vzorků s obsahem NP-ZnO a u vzorků s obsahem nanočástic ND-OH. Rovněž po sedmi dnech došlo ke snížení počtu mikrotrhlin u všech vzorků, vyjma vzorků s obsahem NP-ZnO v obou koncentracích. Dále jsme se zaměřili na vzdálenost prstenců od místa vtisku. Pokud se prstence shlukují poblíž místa vtisku, znamená to, že materiál je méně křehký a má vyšší houževnatost.

3.4.5 Tribologie

Po ukončení měření, příslušný program vygeneroval pro každý vzorek graf s průběhem koeficientu tření, viz obr. 19. Následně jsme pomocí konfokálního mikroskopu změřili hloubku zanechané stopy po opotřebení a její šířku, viz obr. 20.



Obr. 19 Koeficient tření v průběhu tribologické zkoušky

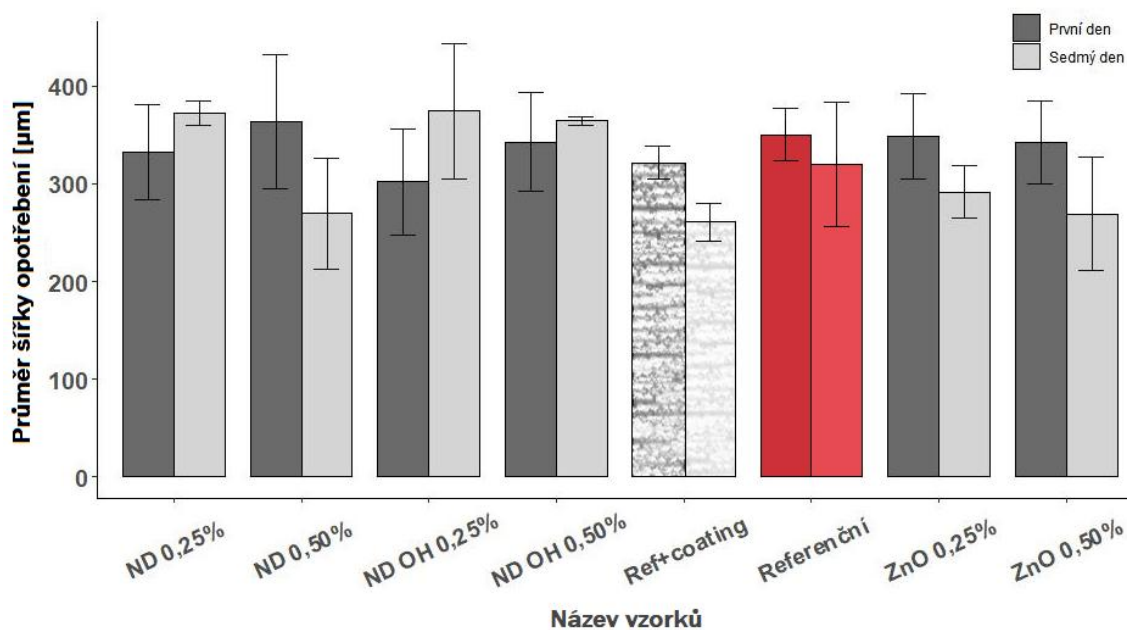


Obr. 20 Fotodokumentace stopy na vzorku po opotřebení

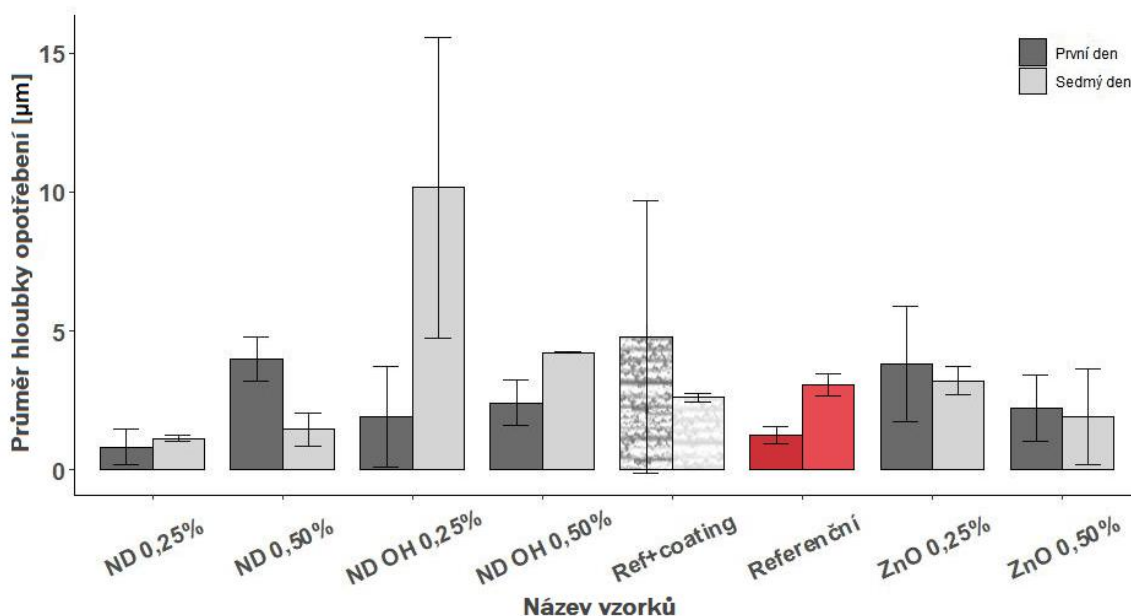
Hodnoty pro všechny tři parametry jsme si zapsali do tabulky vytvořené v Excelu. Poté jsme vypočetli průměr a směrodatnou odchylku koeficientu tření, hloubku a šířku stopy pro každý vzorek, viz tabulka č. 7 a 8. Nakonec jsme v RStudio vytvořili pro všechny parametry grafy a provedli statistickou analýzu, viz graf č. 10, 11 a 12.

Tab. 7: Šířka a hloubka stopy po opotřebení

	Šířka opotřebení [μm] 1. den	Šířka opotřebení [μm] 7. den	Hloubka opotřebení [μm] 1. den	Hloubka opotřebení [μm] 7. den
	Průměr ± σ	Průměr ± σ	Průměr ± σ	Průměr ± σ
Referenční	350,18±26,83	320,17±63,43	1,24±0,31	3,05±0,40
Ref. + coating	321,55±16,59	260,82±19,52	4,78±4,92	2,60±0,15
ZnO 0,25%	348,45±43,91	291,53±26,83	3,79±2,08	3,21±0,50
ZnO 0,50%	342,25±41,95	268,76±58,06	2,20±1,19	1,90±1,72
ND 0,25%	332,24±48,30	371,92±12,68	0,82±0,63	1,13±0,12
ND 0,50%	363,29±68,79	269,45±57,08	3,98±0,81	1,45±0,60
ND OH 0,25%	301,88±54,16	374,67±69,28	1,92±1,81	10,16±5,43
ND OH 0,50%	342,93±50,74	364,68±4,39	2,41±0,82	4,22±0,03
One-way ANOVA	F=0,337, p=0,915 (Sig.diff. 'p<1)	F=2,321, p=0,131 (Sig.diff. 'p<1)	F=0,896, p=0,551 (Sig.diff. 'p<1)	F=4,016, p=0,0348 (Sig.diff. *p<0,05)
One-way ANOVA	F=1,355, p=0,277 (Sig.diff. 'p<1)		F=2,338, p=0,0512 (Sig.diff. .p<0,1)	



Graf 10: Šířka opotřebení



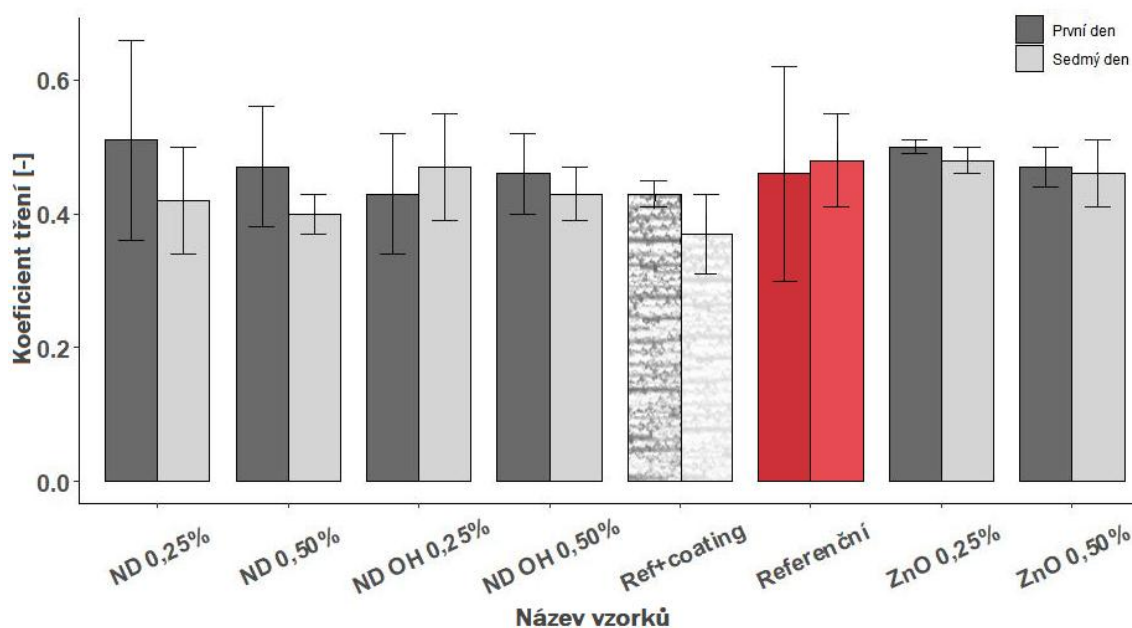
Graf 11: Hloubka opotřebení

Ke zmenšení šířky opotřebení (v porovnání s referenčním vzorkem) došlo u vzorků s obsahem ND v 0,50 hm. % koncentraci a u vzorků s obsahem NP-ZnO v obou koncentracích. Hloubka opotřebení poklesla u vzorků s ND v obou koncentracích a mírně i u vzorků s NP-ZnO 0,50 hm. %. Jak jsem zmiňovala v kapitole 3.4.4, tvrdost materiálu souvisí s hloubkou opotřebení materiálu. Pokud hodnoty porovnáme, nejvyšší tvrdosti (kromě referenčních vzorků) dosáhly vzorky s obsahem ND 0,50 hm. % a nanočástice ZnO 0,50 hm. % (porovnááme pouze vzorky po sedmi dnech, kdy materiál je již dostatečně "uzrálý"). Můžeme tedy říci, že přidáním

nanočástic ND nebo ZnO mírně zvýšila odolnost proti opotřebení materiálu. U vzorků s obsahem nanočástic ND-OH v koncentraci 0,25 hm. % došlo k velkému nárůstu hloubky opotřebení, které mohlo být způsobeno odtržením větší plochy vzorku nebo nanočástice. U tribologických testů jsme zanedbali výsledky z měření referenčních vzorků s coatingem, protože se opotřebovával ochranný lak a ne sám materiál.

Tab. 8: Koeficient tření

	Koeficient tření [-] 1. den	Koeficient tření [-] 7. den
	Průměr ± σ	Průměr ± σ
Referenční	0,46±0,16	0,48±0,07
Ref. + coating	0,43±0,02	0,37±0,06
ZnO 0,25%	0,50±0,01	0,48±0,02
ZnO 0,50%	0,47±0,03	0,46±0,05
ND 0,25%	0,51±0,15	0,42±0,08
ND 0,50%	0,47±0,09	0,40±0,03
ND OH 0,25%	0,43±0,09	0,47±0,08
ND OH 0,50%	0,46±0,06	0,43±0,04
One-way ANOVA	F=0,205, p=0,975 (Sig.diff. 'p<1)	F=1,009, p=0,488 (Sig.diff. 'p<1)
One-way ANOVA	F=0,454, p=0,933 (Sig.diff. 'p<1)	



Graf 12: Koefficient tření

Koefficient tření modifikovaných GIC se vzhledem k referenčním vzorkům významně neliší (naměřené průměrné hodnoty byly v rámci chyby měření, resp. směrodatné odchylky). Průměrná hodnota koeficientu tření se u všech vzorků pohybovala v rozmezí od 0,37 do 0,51. Rovněž statistická analýza pro žádný vzorek neprokázala významný rozdíl vzhledem k referenčnímu GIC (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$).

3.4.6 Mikroskopie

3.4.6.1 Drsnost

Drsnost povrchu materiálu jsme měřili pomocí konfokálního mikroskopu při zvětšení 20x. Po pořízení snímku jsme si v příslušném programu vygenerovali protokol, který mezi jiným obsahoval parametry povrchových vlastností materiálů, které jsou definovány podle normy ČSN EN ISO 25178, viz obr. 21. Nejpodstatnějšími parametry byly pro nás *Průměrná aritmetická výška Sa* a *Maximální výška Sz*. Pro toto měření byly opět zanedbány referenční vzorky s coatingem, když samotný lak přibližně po měsíci zmizí, tudíž nemá dlouhodobý vliv na materiál.

ISO 25178 / Height

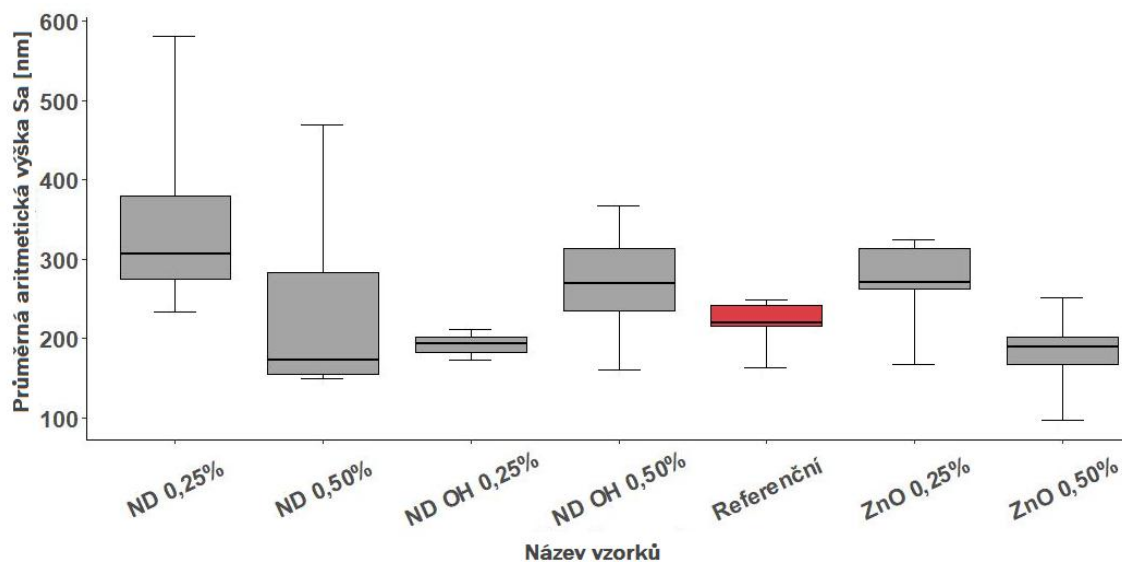
Sa	0.1175 μm	Sq	0.1505 μm
Sku	3.7019	Ssk	0.1468
Smean	0.0000 μm	Sv	0.4394 μm
Sp	0.5536 μm	Sz	0.9930 μm

Obr. 21 Povrchové vlastnosti materiálu

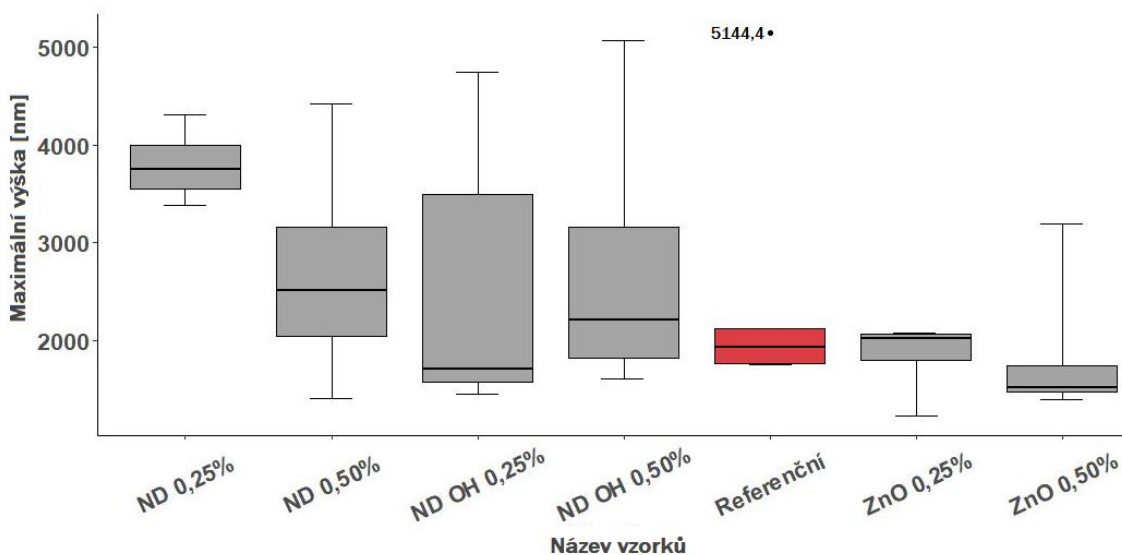
Všechny hodnoty jsme zapsali do tabulek v Excelu a poté vypočetli medián, první a třetí kvartil, viz tabulka č. 9. Pro oba parametry jsme si vytvořili grafy č. 13 a 14 pomocí RStudio. Protože se při měření vyskytlo mnoho odlehlých hodnot (některé i 10x větší), byly některé hodnoty zanedbány. Pokud bychom takto neučinili, grafy by byly zkreslené a nepřehledné.

Tab. 9: Průměrná aritmetická výška Sa a maximální výška Sz

	Průměrná aritmetická výška Sa [nm]			Maximální výška Sz [nm]		
	Medián	1. kvartil	3. kvartil	Medián	1. kvartil	3. kvartil
Referenční	220,2	215,5	242,2	1931,7	1769,4	2125,8
ZnO 0,25%	271,3	262,9	312,8	2063,1	1983,6	2065,6
ZnO 0,50%	189,4	167,7	201,7	1515,1	1473,66	1744,4
ND 0,25%	306,5	275,5	379,2	3892,2	3606	4297,3
ND 0,50%	173,2	154,3	283,1	2507,5	2047,3	3165,2
ND OH 0,25%	193,5	182,5	201,1	1709,2	1572	3491
ND OH 0,50%	269,1	235	313,2	2216,1	1745,2	3165,1
One-way ANOVA	F=2,352, p=0,0557 (Sig.diff. .p<1)			F=0,784, p=0,59 (Sig.diff. ' 'p<1)		



Graf 13: Průměrná aritmetická výška Sa



Graf 14: Maximální výška Sz

Z tabulky č. 9 a grafů č. 13 a 14 vidíme, že pro oba parametry se hodnoty všech vzorků pohybovaly přibližně na stejné úrovni, jako hodnoty referenčních vzorků (220,2 nm pro Sa a 1931,7 nm pro Sz). Výjimkou jsou pouze vzorky s obsahem nanočástic ND v nižší koncentraci (306,5 nm pro Sa a 3892,2 nm pro Sz). Rovněž vidíme, že i přes úpravu dat před jejich zpracováním (korekce odlehlých hodnot), stále se mnoho odlehlých hodnot vyskytuje (v grafu označeno jako ○). Výskyt většího množství odlehlých hodnot může naznačovat vyšší nehomogenitu materiálu.

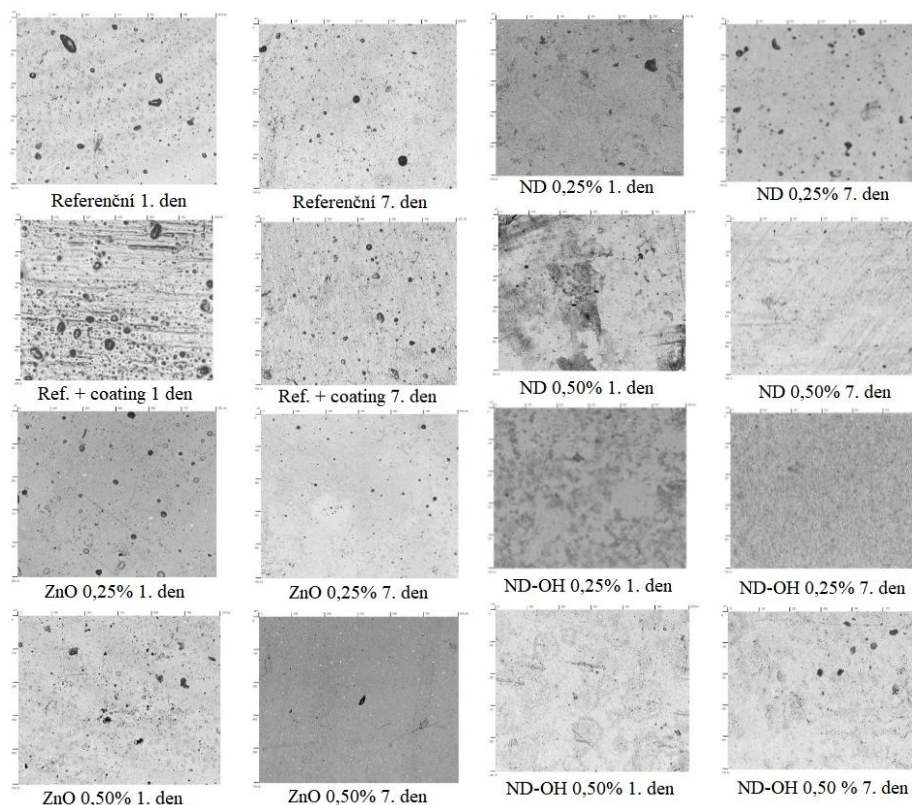
Drsnost má vliv i na adhezi materiálu, proto jak zmiňujeme v kapitole 3.4.3, jsme porovnali výsledky adheze s drsností. Nejnížší adhezi měly vzorky s obsahem

nanočástic diamantů v nižší koncentraci. Tentýž typ vzorků se i nejvíce lišil drsností oproti referenčnímu vzorku. Přesto, že statistická analýza pro žádný vzorek neprokázala významný rozdíl dat (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$), byla pro vzorky s ND při koncentraci 0,25 hm. % spočtena nejmenší p-hodnota.

3.4.6.2 Poréznost

Kromě drsnosti povrchu jsme na snímcích z konfokálního mikroskopu hodnotili povrchovou poréznost. Snímky byly pořízené při zvětšení 20x jejich zpracování probíhalo pomocí programu Gwyddion.

Pro detekci pórů jsme použili tzv. prahování (thresholding). Jedná se o jednu z nejjednodušších metod segmentace obrazu, která pomocí nalezení “prahu” v histogramu rozdělí obraz na oblast zájmu a na pozadí. Pro zjednodušení: všechny pixely, které mají menší hodnotu jasu než práh nabudou nejnižší hodnoty jasu (černá barva); hodnoty které překročí práh, tak nabudou maximální hodnoty jasu (bílá barva). Pro doplnění jsme v programu vyhodnotili rozdíly v profilech snímků, na kterých jsou také velmi dobře detekovatelné póry. Snímky z programu Gwyddion se nacházejí v příloze C.

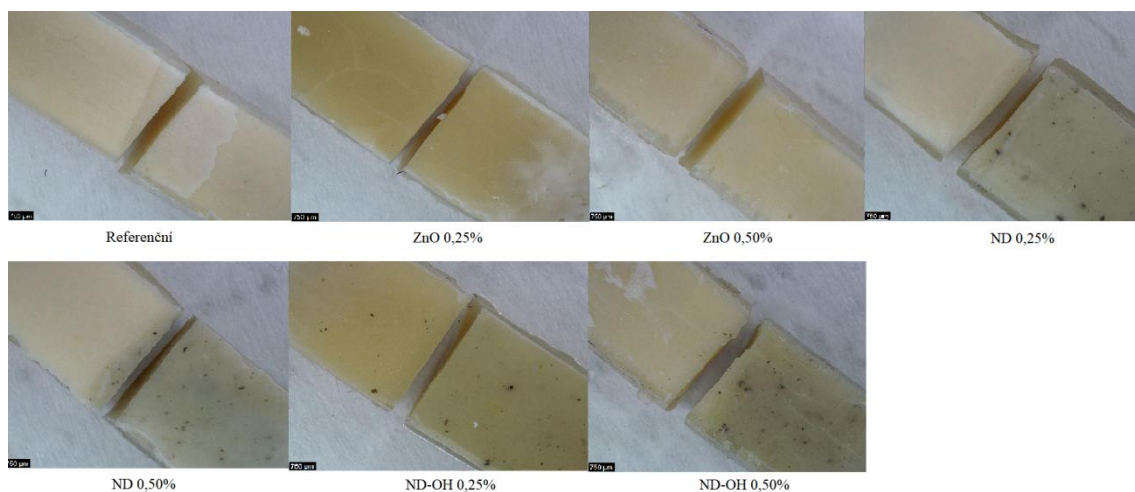


Obr. 22 Povrchová poréznost (tmavé oblasti v obrazech jsou znázorněním pórů)

Na obrázku č. 22 vidíme, že u většiny vzorků došlo po sedmi dnech ke zmenšení počtu i velikosti pórů. Nejméně póru je u vzorků s obsahem NP-ZnO v obou koncentracích po sedmi dnech, s obsahem ND v koncentraci 0,50 hm. % po sedmi dnech, s ND-OH v nižší koncentraci po sedmi dnech a u vzorků s ND-OH ve vyšší koncentraci po jednom dni. Dále vidíme, že na snímku referenčního vzorku s coatingem po jednom dni je velmi dobře viditelný ochranný lak. Po sedmi dnech nelze již lak pozorovat, ale při 150x zvětšení byl lak stále zřejmý (snímek není uveden). To znamená, že jsme potvrdili, že lak postupem času mizí a splňuje funkci ochrannou po dobu několika prvních dní.

3.4.6.3 Digitální mikroskopie

Pro digitální mikroskopii jsme použili vzorky z testování adheze, snímkování probíhalo při zvětšení 80x. Učinili jsme takto ze dvou důvodů: pro srovnání barevných rozdílů (GIC vs. modifikovaný GIC) a pro zhodnocení místa zlomu. Mikroskopie byla provedena za stejných světelných podmínek, ve stejném čase. U místa zlomu jsme zkoumali, jestli na okraji nezůstaly odlomky materiálu z protitělesa (čistý GIC) nebo jestli nevznikly na okraji další praskliny.



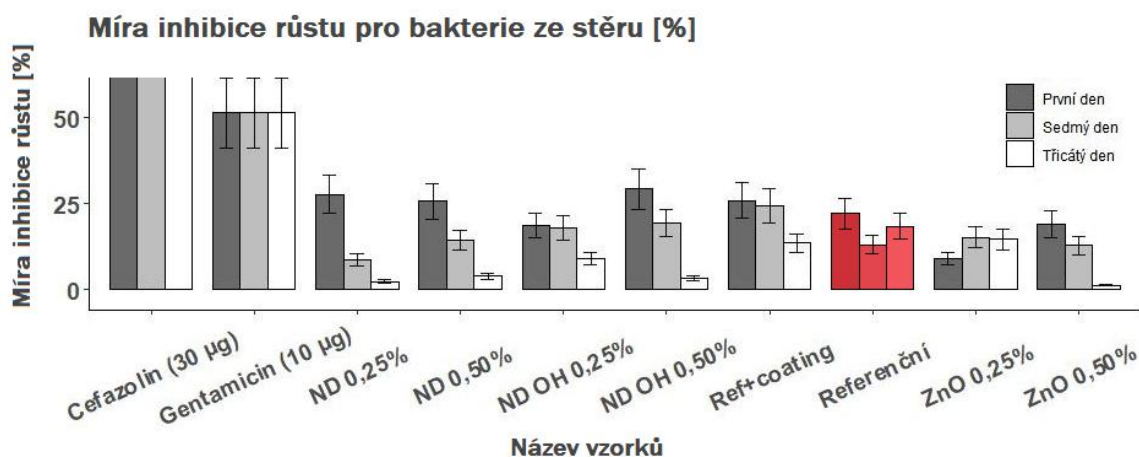
Obr. 23 Snímky vzorků z digitálního mikroskopu

Na obrázku 23 vidíme, že nanočástice ZnO neovlivnily původní barvu materiálu (skloionomerního cementu). Nanočástice ND a ND-OH již měly vliv na barvu materiálu, obzvláště nanočástice diamantů ve vyšší koncentraci. Rovněž jsou viditelné samotné aglomeráty nanočástic ND a ND-OH. Dále vidíme, že v místě zlomu nejsou téměř žádné úlomky. Předpokládáme, že při poškození skloionomerního cementu

(modifikovaného/nemodifikovaného) by se zub nepoškodil - nedojde k odlomení skloviny v místě spojení. Světlejší místa na vzorcích vznikly vysycháním materiálu, proto vzorky musely být přechovávány ve vlhkém prostředí (během snímkování byly vzorky umístěny na mikroskopickém sklíčku; mezi vzorkem a sklíčkem a v okolí vzorku byla ponechána volná hladina destilované vody, aby se omezilo vysychání vzorku).

3.4.7 Antibakteriální účinnost

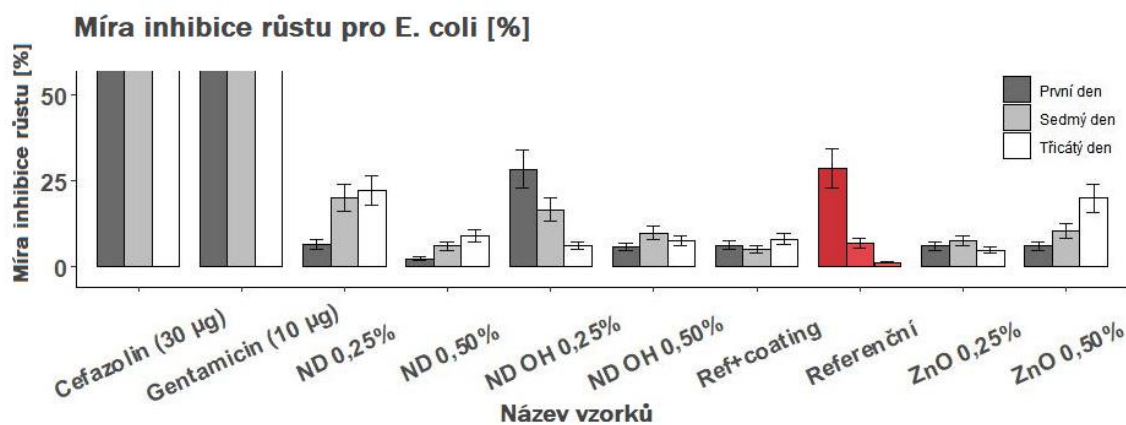
Po ukončení kultivace (48 hodin od inokulace) jsme Petriho misky se vzorky vyfotili a pomocí programu ImageJ jsme snímky zpracovali. Pro hodnocení velikosti (resp. průměru) inhibiční zóny v místě aplikace antibakteriálního činidla jsme použili postupy analýzy obrazu. Fotografie jsme upravili pomocí předzpracování obrazu tak, že agar bez bakterií je černý, bakteriální kultura (kolonie) je v obrazech zobrazena barvou bílá/žlutá/béžová. U každé fotografie jsme hodnotili plochu inhibiční zóny (tj. plocha bez bakteriálních kolonií), a to v důsledku nepravidelné inhibiční zóny (ne vždy tvořila kruh). Průměr inhibiční zóny je přepočten vzorcem z této detekované plochy (průměr vzorku/disku byl odečten). Nakonec jsme pro oba typy bakterií vypracovali grafy v RStudio. Snímky Petriho misek se vzorky nalezneme v příloze D.



Graf 15: Míra inhibice růstu – Stěry (výška sloupců pro vzorek Cefazolin odpovídá 100%; z důvodu lepší čitelnosti grafu je rozsah osy-y omezen jen do 50%).

Z grafu 15, kde jsou hodnoceny bakterie ze stěrů vidíme, že antibakteriální účinnost (resp. míra inhibice testovaného vzorku ve vztahu ke vzorku Cefazolin 30 µg, který odpovídá 100%) s postupem času u vzorků klesala. Pouze u vzorků s obsahem nanočástic ZnO v nižší koncentraci antibakteriální účinnost s časem mírně stoupala.

Po 1 dni zrání vzorků nabyly vyšších hodnot (než referenční vzorky) vzorky GIC s coatingem, s obsahem ND v obou koncentracích a s obsahem ND-OH ve vyšší koncentraci. Po 30ti dnech již žádný vzorek nedosáhl vyšší účinnosti než vzorky referenční.



Graf 16: Míra inhibice růstu – *E. Coli* (výška sloupců pro vzorek Cefazolin odpovídá 100%; z důvodu lepší čitelnosti grafu je rozsah osy-y omezen jen do 50%).

Z grafu 16, kde jsou hodnoceny bakterie *E. coli* vidíme, že u vzorků s NP-ZnO ve vyšší koncentraci a s ND v obou koncentracích antibakteriální účinnost s postupem času stoupala. Po 1 dni pouze vzorky s obsahem ND-OH v nižší koncentraci dosáhly stejné antibakteriální účinnosti jako referenční. Ostatní vzorky měly nižší účinnost. Po 30ti dnech byla u všech vzorků naměřena vyšší míra inhibice (antibakteriální účinnost) než u referenčních vzorků.

3.4.8 Cytotoxicita

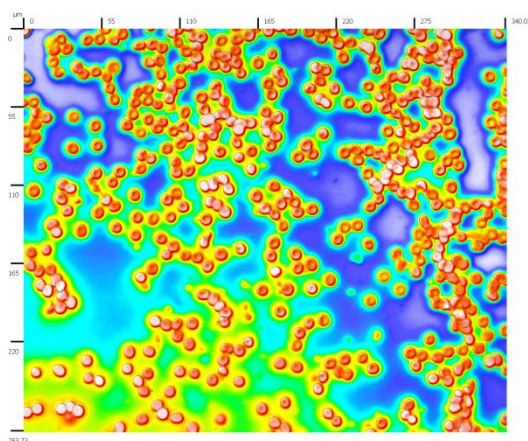
Pro určení cytotoxicity materiálů jsme vyhodnocovali buněčnou aktivitu pomocí MTS testu, počet buněk a buněčná proliferace pomocí fluorescence CyQUANT barvy. Pro vyhodnocení MTS testu a fluorescence barvy CyQUANT jsme použili spektrofotometr *Tecan*. Výsledky jsme uložili do tabulek v Excelu a vyhodnotili. Pro vyhodnocení počtu buněk jsme pořídili snímky vzorků na fluorescenčním mikroskopu. Ty jsme následně zpracovali pomocí programu ImageJ. Pro detekci buněk jsme opět použili metodu prahování.

Protože výsledky jednotlivých testů se výrazně lišily, nejsme schopni vyvodit adekvátní závěr. Pro MTS testy po 2 hodinách byla kromě referenčních vzorků s coatingem naměřena u všech vzorků buněčná aktivita. Po 48 hodinách u všech vzorků

byla již naměřená minimální až nulová aktivita buněk a to i u referenčního materiálu, který je běžně používán. Počty buněk na námi připravených vzorcích byly oproti kontrolním vzorkům několika násobně menší. Po 48h klesl počet buněk na vzorcích, přestože na kontrolních vzorcích došlo k zdvojnásobení počtu buněk. Pouze na referenčních vzorcích zůstal i po 48h přibližně stejný počet buněk. Naopak tomu bylo u fluorescenčního testu, když byla u většiny vzorků naměřená přibližně stejná či dokonce vyšší fluorescence. Výjimkou byly opět referenční vzorky s coatingem. Pokud ovšem budeme výsledky testů vztahovat k referenčním vzorkům, zjistíme, že nejbližší s výsledky se přiblížily vzorky s nanočásticemi ZnO ve vyšší koncentraci. U všech vzorků došlo po 48h k poklesu počtu buněk, pouze u vzorků referenčních a s NP-ZnO při 0,50 hm. % koncentraci zůstal počet buněk přibližně stejný. Rovněž výsledky vzorků s obsahem NP-ZnO při koncentraci 0,50 hm. % z fluorescence téměř koreluje s výsledky referenčních vzorků.

3.4.9 Hemokompatibilita

Vzorky pro hodnocení hemokompatibility jsme pozorovali pomocí konfokálního mikroskopu při 50x zvětšení. Analýzu obrazu jsme provedli v programu Gwyddion. Na snímcích jsme měřili rozměry erytrocytů, konkrétně výšku (tloušťka na obvodu), průměr erytrocytu a tloušťka ve středu erytrocytu (resp. hloubka jamky). Parametry jsme si zapsali do tabulky v Excelu a spočetli medián, 1. a 3. kvartil. Kromě změření parametrů jsme si pro erytrocyty vygenerovali grafy, které znázorňují tvar erytrocytů. Tabulu, grafy a snímky nalezneme v příloze E.



Obr. 24 Zobrazení erytrocytů na kontrolním sklíčku

U žádného ze vzorků nedošlo k poškození erytrocytů, tzn. že jsme nevypozorovali, že by krvinky praskly. Můžeme si ale všimnout, že některé krvinky mají nepravidelný tvar (nemají kruhový obvod). Rovněž z grafů je možné vyčíst, že některé krvinky jsou lehce vypuklé nebo je prohloubenina přesunuta více k okraji krvinky - absence bikonkávního tvaru. Rozměry erytrocytů na vzorcích odpovídají kontrolním rozměrům erytrocytům na sklíčku, pouze hloubka poklesla, což nasvědčuje vypuklému tvaru křivek v grafech. Po konzultaci s doktorkou, jsme došli k závěru, že změna tvaru červených krvinek mohla být ovlivněná hypotonickým prostředím (roztok s nízkým osmotickým tlakem). Vzorky musely být uchovávány ve zkumavkách Eppendorf s destilovanou vodou. Po rozetření krve na vzorek, erytrocyty vsákly pozůstatky destilované vody, která je hypotonickým roztokem. Proto krvinky postrádají bikonkávní tvar, ale nedošlo k jejich prasknutí.

4 Diskuze

V této diplomové práci jsme zkoumali vliv přidaných nanočástic do komerčně používaného skloionomerního cementu (dentální výplň). Jednalo se o nanočástice oxidu zinečnatého, nanodiamanty a funkcionalizované detonační nanodiamanty (konkrétně hydroxylované nanodiamanty) ve dvou koncentracích (0,25 a 0,50 hm. %). Nanočástice jsme zvolili podle jejich specifických vlastností. Na následujících řádcích porovnáme naše výsledky s jinými experimenty a výzkumy. Předem je potřeba upozornit, že výsledky z článků nemůžeme brát zcela závazně k našim výsledkům. Postupy měření se v každém článku mohly lišit, ať už s časem zrání materiálů, přechováváním vzorků či samotným průběhem měření (např. typ indentoru při měření tvrdosti).

Mechanické vlastnosti

Tlak - pro srovnání, ve studiích (64, 65), komerčně používané dentální kompozity dosahují maximální pevnosti v tlaku přibližně $210 \pm 1,84$ MPa a amalgám $199,46 \pm 1,77$ MPa. Je nutné ale podotknout, že v této studii naměřené hodnoty pevnosti v tlaku pro komerčně používané GIC byly $104,98 \pm 1,18$ MPa (64). Velmi podobné hodnoty pro amalgám a GIC byly naměřené i ve studii: *Study of the Mechanical Properties of the Novel Zirconia-reinforced Glass Ionomer Cement* (65).

U referenčních vzorků po sedmi dnech jsme naměřili podobnou hodnotu, jako u výše zmíněných studií (100,06 MPa). Nanočástice oxidu zinečnatého měly pozitivní vliv na pevnost v tlaku vzorků, když po sedmi dnech jsme u těchto vzorků naměřili hodnoty vyšší než pro vzorky referenční (126,01 MPa a 122,77 MPa)

Hodnota svírací síly zdravého lidského chrupu se může u každého jedince lišit. Jedna studie uvádí, že maximální naměřená svírací síla byla u mužů 847 N a u žen 597 N (66). V jiné studii se hodnoty síly pohybovaly v rozmezí od 244 do 1243 N (67). Tudíž, by první den po aplikaci výplně, bez úprav i s nanočásticemi, musel být člověk opatrný při konzumaci jídla, zejména těch tvrdých, jako například ořechy či mrkev. Po sedmi dnech by maximální svírací sílu nevydržely výplně s obsahem ND v koncentraci 0,50 hm. %, ND-OH v koncentraci 0,25 hm. % a referenční s coatingem. V článku *Temporomandibulární kloub a jeho 2D a 3D modely* jsme se ale dočetli, že v extrémních případech jsou žvýkací svaly schopné vyvodit tlakovou sílu až 4000 N (70). V tomto případě by žádné vzorky nevydržely. Výsledky jsme konzultovali s doc. Ing. Karlem Daďourkem, CSc. (Katedra materiálu, FS, TUL), který nás upozornil,

že se jedná pouze o extrémní případy. Navíc žvýkácí síla většinou nepůsobí pouze zub na zub, ale je rozložená na větší plochu. Rovněž poznamenal, že do budoucna by bylo vhodné zvýšit rychlost zatěžování, aby se vhodněji simulovalo prostředí v ústech.

Ohyb - studie zmíněné v předchozím odstavci, kde byla hodnocená pevnost v tlaku i v tahu ohybem pro jiné dentální výplně: dentální kompozit dosáhl maximální pevnosti v tahu ohybem hodnot $119,57 \pm 2,27$ MPa, amalgám pouhých $17,65 \pm 1,14$ MPa a komerčně používaný GIC kolem $31,49 \pm 0,59$ MPa (66). Ačkoli jsme nedosáhli hodnot, jako jsou například pro dentální kompozity, můžeme téměř s jistotou říci, že přidáním nanočástic ZnO v obou koncentracích (45,52 MPa a 46,18 MPa) a ND-OH (42,26 MPa) ve vyšší koncentraci jsme dosáhli zvýšení pevnosti v tahu ohybem pro skloionomerní cement.

Adheze - vzorky s obsahem ND-OH v obou koncentracích s ND ve vyšší koncentraci a ZnO-NP v nižší koncentraci dosáhly v testu adheze nejvyšších hodnot. Nejnižších hodnot dosáhly vzorky s obsahem nanočástic diamantů v nižší koncentraci. Jak již bylo v předchozí kapitole zmíněno (3.3.4), jednalo se pouze o alternativní metodu. Je potřeba vzít v úvahu, že před aplikací dentální výplně je nejprve zub upraven (odstranění zubního kazu). Tudíž se mění drsnost povrchu zubu, což může ovlivnit i adhezi dentální výplně k zubní tkáni.

Mikrotrdost - rovněž námi naměřené hodnoty mikrotrdosti vzorků jsme porovnali s výsledky studie, která se zabývala mikrotrdostí dentálních výplní a zubních komponentů (dentin a enamel). Například mikrotrdost dentinu se pohybovala od 46 do 53 VHN, kompozitu od 72,6 do 76,2 VHN a skloionomerního cementu od 58,6 do 59,8 VHN. Dalším zajímavým poznatkem je to, že v této studii kromě konvenčních kompozitů a GIC byly použité i modifikované kompozity a GIC. Rovněž i zde došlo k poklesu mikrotrdosti mezi konvenční (referenční) dentální výplní a modifikovanou dentální výplní (68). Tudíž můžeme usoudit, že modifikace dentálních výplní pravděpodobně nezvyšují jejich mikrotrdost.

Fyzikálně-chemické vlastnosti

Drsnost - průměrná aritmetická výška všech vzorků se pohybovala v rozmezí 0,2-0,3 μm . V jedné studii byla naměřena průměrná aritmetická výška dentálních kompozitů přibližně 0,14 μm (71). V jiné naměřili pouze 0,03 μm , ale po povrchové úpravě (různé metody leštění), jinak vystoupala také na 0,2-0,3 μm (72). To poukazuje

na fakt, že dentální výplně budou denně přicházet do kontaktu se zubním kartáčkem, jídlem atd., což bude mít vliv na jejich drsnost. Můžeme předpokládat, že i drsnost skloionomerních cementů se bude v průběhu času zvyšovat a tím i vystává riziko sekundárního kazu (vyšší adheze zubního plaku k výplni).

Poréznost - v této diplomové práci byla povrchová poréznost pouze doplňujícím měřením z měření mikroskopie. Pro důkladnější analýzu materiálu by bylo vhodné provést další měření například na SEM (skenovací elektronový mikroskop), který je vhodnější pro zobrazení vnitřních pórů.

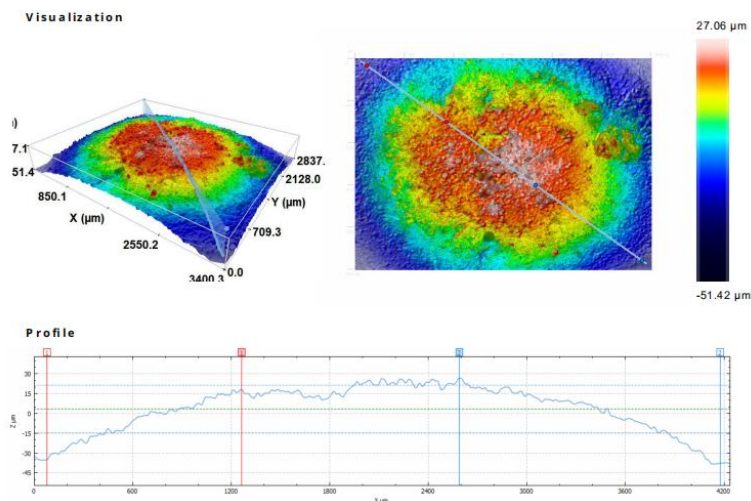
Tribologie - v této práci jsme se zabývali opotřebením kompozitního materiálu. První parametr, který jsme u tribologických testů zkoumali byl koeficient tření. Ten byl u všech vzorků takřka totožný - v rozmezí 0,37-0,51. Koeficient tření našich vzorků jsme porovnali s výsledky měření z článku *Improvement of the mechanical, tribological and antibacterial properties of glass ionomer cements by fluorinated graphene*, kde koeficient tření byl naměřen obdobně (73). Proto jsme se zaměřili na hloubku opotřebení. Zde nejnižších hodnot dosáhly vzorky s obsahem ND v obou koncentracích a s obsahem NP-ZnO ve vyšší koncentraci po sedmi dnech, kde došlo k poklesu hloubky opotřebení vůči referenčním vzorkům.

Biologické vlastnosti

Antibakteriální účinnost - pro náš výzkum jsme zvolili bakterie ze stěru úst lidského dobrovolníka a bakterie *E. coli*. Pro bakterie ze stěru byl nejvyšší antibakteriální účinek prokázán po 1 dni, což prokázaly téměř všechny vzorky. Po 30ti dnech jsme zaznamenali u všech vzorků pokles antibakteriální účinnosti téměř na minimum. Pouze referenční vzorky a vzorky s obsahem ZnO-NP měly přibližně stejnou účinnost jako po 1 dni. Pro bakterie *E. coli* byla nejvyšší antibakteriální aktivita vyhodnocena po 1 dni u vzorků referenčních a s nanočásticemi ND-OH při nižší koncentraci. Tato účinnost ovšem po 30ti dnech razantně poklesla. U vzorků s ND v obou koncentracích a ZnO v koncentraci 0,50 hm. % jsme vypořizovali opačný jev - antibakteriální aktivita stoupla. Odlišnost výsledků poukazuje na fakt, že na antibakteriální účinnost má vliv výběr bakteriálního kmene.

Cytotoxicita - jak bylo zmíněno v kapitole 3.4.8, z výsledků nejsme schopni vyvodit celkový závěr. Rozdílnost všech těchto testů mohla být ovlivněná několika aspekty. Je možné, že fluorescenční barvivo z MTS testu bylo materiály pohlceno, a to mohlo zapříčinit zkreslení výsledků. Další pozorování, které jsme zaznamenali je,

že většina buněk se nacházela na okraji vzorků. Po prozkoumání vzorků na konfokálním mikroskopu, jsme zjistili, že vzorky nejsou rovné (v průběhu „zrání“ dochází ke změně jak rozměrů tak i tvaru), což mohlo zapříčinit nerovnoměrně rozložení buněk, viz obr. 25.



Obr. 25 Tvar vzorků určených pro stanovení cytotoxicity (hodnoceno konfokální mikroskopií, 30 dnů od přípravy vzorku)

Ačkoliv výsledky testů pro referenční vzorky s coatingem na první pohled nedopadly dobře (prokázaly mírnou cytotoxicitu), bylo po konzultaci se specialisty usouzeno, že měření proběhlo správně. Coating je ochranný lak, který první týdny chrání GIC, aby mohl dostatečně „uzrát“. Proto je dobře, že coating brání buňkám, aby přilnuly k povrchu GIC a tím ho narušily či zpomalily čas zrání.

Hemokompatibilita - testy interakce vzorků s krví jsme zvolili, protože jsme nenalezli žádnou studii, která by se tímto zabývala. Ačkoliv skloionomerní cement nepřichází do přímého kontaktu s krví, kdykoliv může dojít k poranění zubu. U žádného vzorku jsme nezaznamenali snížení počtu červených krvinek. Rovněž u žádných vzorků nedošlo k poškození erytrocytů. Předpokládáme, že při kontaktu vzorků s krví by nedošlo ke komplikacím.

Poznátky z práce s modifikovanými GIC - při přípravě vzorků z modifikovaného GIC nebyly zaznamenány žádné odlišnosti oproti nemodifikovanému GIC. Při přípravě GIC s nanodiamanty a ND-OH došlo ke změně barvy vzorků na světle šedou. V průběhu měření některých experimentů (co neprobíhaly ve vlhkém prostředí, tlaková zkuška, 3-bodový ohyb) jsme zaznamenali, že vzorky s obsahem ND a ND-OH se rychleji vysoušely.

5 Návrh doporučení pro praxi

Nanočástice se v poslední době využívají v mnoha oblastech, jako například v medicíně, elektronice, energetice nebo kosmetice. Jejich využití je spojeno s řadou výhod, jako jsou zlepšená vodivost, magnetické vlastnosti nebo biologická aktivita. V této diplomové práci jsme zkoumali, jestli by bylo možné využít vlastností vybraných nanočástic ke zlepšení vlastností skloionomerních cementů

Vzorky s obsahem nanočástic oxidu zinečnatého a ND-OH ve vyšší koncentraci zvyšovali hodnoty během testování mechanických vlastností. V tribologických testech byly vzorky s obsahem ND v obou koncentracích více odolné. Co se týče biologických vlastností, není možné z výsledků vyvodit adekvátní závěr.

Podle mého názoru by bylo vhodné dále zkoumat vlastnosti nanočástic oxidu zinečnatého a ND-OH, popřípadě vyzkoušet jiné modifikace ND. Z výsledků vidíme, že přidané nanočástice měly na některé vlastnosti příznivý vliv. Rovněž bych se v dalších pracích více zaměřila na biologické testy. Pokud by se například spolu se zvýšením koncentrace nanočástic ještě více zlepšily jejich mechanické vlastnosti, současně by nevykazovaly žádné cytotoxické účinky, měly by tyto modifikace skloionomerního cementu potenciál ve stomatologii.

6 Závěr

V této diplomové práci jsme si stanovili tři cíle. První cíl byl: prozkoumat vliv přidaných nanočástic na mechanické vlastnosti skloionomerního cementu. Po prozkoumání základního materiálu (GIC) a po odborných konzultacích, jsme se rozhodli pro nanočástice oxidu zinečnatého, nanodiamanty a modifikované nanodiamanty. Všechny nanočástice byly přidány ve dvou koncentracích (0,25 a 0,50 hm. %).

Druhým cílem bylo zhodnotit fyzikálně-mechanické vlastnosti (např.: tvrdost, ohyb, otěruvzdornost) a biologické vlastnosti (např.: antibakteriální účinnost, hemokompatibilitu) skloionomerního cementu obsahující nanočástice, porovnat tyto vlastnosti s běžně používaným typem skloionomerního cementu. Tímto cílem jsme se zabývali v analýze výsledných dat a následně v diskuzi. Všechny vlastnosti byly hodnoceny na základě provedených experimentů v laboratořích a dále pomocí statistické analýzy. Ačkoliv ze všech experimentů nejsme schopni vyvodit kompletní závěr, je patrné, že přidané nanočástice mají vliv na fyzikálně-mechanické a biologické vlastnosti skloionomerních cementů. V mechanicko-fyzikálních vlastnostech jsme vypožorovali dosažení vyšších hodnot u vzorků s obsahem NP-ZnO a u vzorků s obsahem ND-OH. Naopak pro otěruvzdornost byly vypožorovány vyšší hodnoty u vzorků s obsahem ND. V rámci hodnocení antibakteriální účinnosti po 30ti dnech pro bakterie ze stěru dosáhly požadované účinnosti pouze vzorky s obsahem nanočástic ZnO v nižší koncentraci.

Posledním cílem bylo zhodnotit adhezi skloionomerního cementu bez/s nanočásticemi k dalším materiálům. Vzhledem k náročnosti testu jsme zvolili alternativní metodu za využití adhese modifikovaného vzorku k nemoifikovanému GIC. V testu vyšší adheze dosáhly vzorky s obsahem nanočástic ND-OH v obou koncentracích, ND ve vyšší koncentraci a ZnO-NP v nižší koncentraci.

Závěrem můžeme říci, že všechny tři cíle byly splněny a podařilo se nám prokázat vliv nanočástic na vlastnosti skloionomerních cementů. Je ale potřeba zmínit, že výsledky nemůžeme považovat za plnohodnotné, protože experimenty in-vitro nemohou dosáhnout stoprocentně stejných podmínek, které panují v ústech (vlhké prostředí, jiná zatěžovací síla = žvýkácká síla, rychlost měření = rychlost kousání).

Seznam použité literatury:

- [1] MAZÁNEK, Jiří et al. *Zubní lékařství: propedeutika*. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-3534-4.
- [2] MERKUNOVÁ, Alena a Miroslav OREL. *Anatomie a fyziologie člověka pro humanitní obory*. Praha: Grada, 2008. ISBN 978-80-247-1521-6.
- [3] KITTNAR, Otomar et al. *Lékařská fyziologie*. 2. vyd. Praha: Grada, 2020. ISBN 978-80-247-1963-4.
- [4] KHERE, Chhaya Harin et al. 2019. Evaluation of antibacterial activity of three different glass ionomer cements on streptococcus mutans: an in-vitro antimicrobial study. *Medicine and Pharmacy Reports*. **92**(3), 288-293. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6709969/>
- [5] HAFSHEJANI, Tahereh Mohammadi et al. Antibacterial glass-ionomer cement restorative materials: A critical review on the current status of extended release formulations. *Journal of Controlled Release*. 2017, **262**, 317–328. DOI 10.1016/j.jconrel.2017.07.041. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365917307630>
- [6] WEBER, Thomas. *Memorix zubního lékařství*. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1017-x.
- [7] MAZÁNEK, Jiří et al. *Stomatologie pro dentální hygienistky a zubní instrumentářky*. Praha: Grada, 2015. ISBN 978-80-247-4865-8.
- [8] RATHORE, M., A. SINGH a V. A. PANT. The dental amalgam toxicity fear: A myth or actuality. *Toxicology International*. 2012, **19**(2), 81. DOI 10.4103/0971-6580.9719. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3388771/>
- [9] SUN, Li et al. Improvement of the mechanical, tribological and antibacterial properties of glass ionomer cements by fluorinated graphene. *Dental Materials*. 2018, **34**(6), 115–127. DOI 10.1016/j.dental.2018.02.006. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564117309715>
- [10] FAREED, Muhammad A. a Artemis STAMBOULIS. Nanoclay-reinforced glass-ionomer cements: In vitro wear evaluation and comparison by two wear-test methods.

Dentistry Journal. 2017, **5**(4), 28. DOI 10.3390/dj5040028. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2304-6767/5/4/28/htm>

[11] KHAN, I., K. SAEED a I. KHAN. 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*. **12**(7), 908–931. DOI 10.1016/j.arabjc.2017.05.011.

[12] KHAN, Saeed Ahmad. Metal nanoparticles toxicity: role of physicochemical aspects. In: SHAH, M. R., M. IMRAN and S. ULLAH, eds. *Metal Nanoparticles for Drug Delivery and Diagnostic Applications*. Radarweg: Elsevier, 2020, s. 1-11. DOI 10.1016/B978-0-12-816960-5.00001-X.

[13] THOTA, Sreekanth a Debbie C. CRANS, eds. *Metal Nanoparticles: Synthesis and Applications in Pharmaceutical Sciences*. Weinheim: Wiley-VCH, 2018. ISBN 978-3-527-33979-2.

[14] Tvrdost. *Tvrdoměry Rockwell, Brinell, Vickers, SHORE, přenosné, stolní* [online]. Ostrava: Proinex Instruments, 2017 [cit. 2022-09-25]. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20220305143509/http://www.merenitvrdosti.cz/tvrdost.htm>

[15] ODDĚLENÍ POVRCHOVÉHO INŽENÝRSTVÍ. *Zkoušky tvrdosti* [online]. Dostupné z: https://www.opi.zcu.cz/Zkousky_tvrdosti.pdf

[16] ILIE, Nicoleta et al. 2017. Academy of Dental Materials guidance - Resin composites: Part I - Mechanical properties. *Dental Materials*. **33**(8), 880–894. DOI 10.1016/j.dental.2017.04.013. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564117303901>

[17] MATMATCH. Vickers Hardness Test: What it is and how it's measured - Matmatch. *Matmatch - homepage* [online]. Munich: Matmatch, 2022 [cit. 2022-09-25]. Dostupné z: <https://web.archive.org/web/20220710071140/https://matmatch.com/learn/property/vickers-hardness-test>

[18] THE EDITORS OF ENCYCLOPAEDIA BRITANNICA. Knoop hardness | mineralogy | Britannica. *Encyclopedia Britannica* [online]. Encyclopedia Britannica, 2010 [cit. 2022-09-25]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/Knoop-hardness>

- [19] AMETEK. Brinell Hardness Testing. *NEWAGE Hardness Testers - Rockwell Testers, Brinell Testers, Microhardness Testers, Optical Systems and Hardness Testing Software* [online]. Alleroed: AMETEK, 2023 [cit. 2022-09-25]. Dostupné z: <https://www.hardnesstesters.com/test-types/brinell-hardness-testing>
- [20] 9. kapitola, *Statické zkoušky krátkodobé*. Dostupné také z: https://ufmi.ft.utb.cz/texty/kzm/KZM_09.pdf
- [21] ZWICKROELL. Compression Testing: Machine & Test | Strength & Tension | ZwickRoell. *ZwickRoell Materials Testing | ZwickRoell* [online]. Brno: ZwickRoell, 2023 [cit. 2022-09-25]. Dostupné z: <https://www.zwickroell.com/industries/materials-testing/compression-test/>
- [22] KHAN, Yusuf. Characterizing the properties of tissue constructs for regenerative engineering. In: NARAYAN, Roger, ed. *Encyclopedia of Biomedical Engineering*. 2019, 537–545. DOI 10.1016/b978-0-12-801238-3.99897-0. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128012383998970?via%3Dihub>
- [23] ADAMS, Daniel. Can flexure testing provide estimates of composite strength properties? | CompositesWorld. *Delivering the Global Composites Market | CompositesWorld* [online]. Gardner Business Media, 2017 [cit. 2022-09-25]. Dostupné z: <https://www.compositesworld.com/articles/can-flexure-testing-provide-estimates-of-composite-strength-properties>
- [24] KLETEČKA, Jaroslav a Petr FOŘT. *Technické kreslení*. 2. vyd. Brno: Computer Press, 2007. ISBN 978-80-251-1887-0.
- [25] JANKOVÝCH, Róbert a Bohumil BUMBÁLEK. Výškové parametry textury povrchu | MM Průmyslové spektrum. *MM Průmyslové spektrum - nejčtenější strojírenský časopis a jeho digitální obsah* [online]. Praha: MM Průmyslové spektrum, 2014 [cit. 2023-04-13]. ISSN 1212-2572. Dostupné z: <https://www.mmspektrum.com/clanek/vyskove-parametry-textury-povrchu>
- [26] MARSHALL, Sally J. et al. A Review of Adhesion Science. *Dental Materials*. 2010, **26**(2), 11–16. DOI 10.1016/j.dental.2009.11.157. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S010956410900503X>

- [27] INDIAN DENTAL ACADEMY. *Adhesion in Dentistry*. 2014. Dostupné také z: www.slideshare.net/indiandentalacademy/adhesion-in-dentistry.
- [28] KOZMOS, Mirjam et al.. Bacterial Adhesion of Streptococcus Mutans to Dental Material Surfaces. *Molecules*. 2021, **26**(4), 1152. DOI 10.3390/molecules26041152. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/1420-3049/26/4/1152>
- [29] SARNA-BOŚ, Katarzyna et al. Contemporary Approach to the Porosity of Dental Materials and Methods of Its Measurement. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22**(16), 8903. DOI 10.3390/ijms22168903. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/16/8903>
- [30] HERNANDEZ, Jamie L. a Kim A. WOODROW. Medical Applications of Porous Biomaterials: Features of Porosity and Tissue-Specific Implications for Biocompatibility. *Advanced Healthcare Materials*. 2022, **11**(9), 2102087. DOI 10.1002/adhm.202102087. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/adhm.202102087>
- [31] MAZERSKI, Jan. *Część IV: Techniki Mikroskopowe. Materiały pomocnicze do wykładów z podstaw biofizyki IIIr. Biotechnologii*. Dostupné také z: <https://chem.pg.edu.pl/documents/175361/28234243/cz4.pdf>
- [32] BENEŠ, Jiří, Daniel JIRÁK a František VÍTEK. *Základy lékařské fyziky*. 4. vyd. V Praze: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2015. ISBN 978-80-246-2645-1.
- [33] NAVRÁTIL, Leoš et al. *Medicínská biofyzika*. 2. vyd. Praha: Grada, 2019. ISBN 978-80-271-0209-9.
- [34] IBIDI. Confocal Microscopy | Principle & Applications | ibidi. *Ibidi – cells in focus* [online]. Gräfelfing: ibidi, 2022 [cit. 2022-09-30]. Dostupné z: <https://ibidi.com/content/216-confocal-microscopy>
- [35] ERSAHAN, S. et al. Evaluation of the cytotoxicity of contemporary glass-ionomer cements on mouse fibroblasts and human dental pulp cells. *European Archives of Paediatric Dentistry*. 2019, **21**(3), 321–328. DOI 10.1007/s40368-019-00481-1. Dostupné také z: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40368-019-00481-1>
- [36] Biocompatibility and tissue reaction to biomaterials. In: SAKAGUCHI, Ronald L. a John M. POWERS, eds. *Craig's Restorative Dental Materials*. Elsevier, 2012, s. 109–133. DOI 10.1016/b978-0-323-08108-5.10006-4. Dostupné také z:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323081085100064?via%3Dihub>

[37] BALOUIRI, M., M. SADIKI a S. K. IBNSOUDA. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016, **6**(2), 71–79. DOI 10.1016/j.jpha.2015.11.005. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095177915300150?via%3Dihub>

[38] SCIENCE FACTS. Friction (Frictional Force): Definition, Formula, & Examples. *Science Facts - Learn it All* [online]. Science Facts, 2022 [cit. 2022-09-30]. Dostupné z: <https://www.sciencefacts.net/friction.html>

[39] DHEERAJHINANIYA. Types of Friction - GeeksforGeeks. *GeeksforGeeks | A computer science portal for geeks* [online]. Uttar Pradesh: GeeksforGeeks, 2021 [cit. 2022-10-02]. Dostupné z: <https://www.geeksforgeeks.org/types-of-friction/>

[40] MARKHOFF, Jana a Niels GRABOW. Wear and corrosion in medical applications. *Current Directions in Biomedical Engineering*. 2020, **6**(3), 434–437. DOI 10.1515/cdbme-2020-3112. Dostupné také z: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/cdbme-2020-3112/html>

[41] NUCLEAR POWER. Wear Types - Classification and Differences | nuclear-power.com. *Nuclear Power for Everybody - What is Nuclear Power* [online]. Nuclear Power, 2022 [cit. 2022-10-02]. Dostupné z: <https://www.nuclear-power.com/nuclear-engineering/metals-what-are-metals/failure-modes-of-materials/wear/wear-types-classification-and-differences/>

[42] ADMIN E-KONSTRUKTÉR. Jaký je rozdíl mezi druhy opotřebení? - Portál pro strojní konstruktéry. *Portál pro strojní konstruktéry* [online]. Brno: Nová média, 2016 [cit. 2022-10-02]. Dostupné z: <https://e-konstrukter.cz/novinka/jaky-je-rozdil-mezi-druhy-opotrebeni>

[43] VAMBERA, Martin a Eva GOJIŠOVÁ. Atrice, abraze, koroze a abfrakce: Nový pohled na povrchové léze zubů. *Česká stomatologie*. 2007, **107**(6), 165-168. Dostupné také z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-stomatologie/2007-6/atrice-abraze-koroze-a-abfrakce-novy-pohled-na-povrchove-leze-zubu-3810>

[44] SOCIETY OF TRIBOLOGISTS AND LUBRICATION ENGINEERS - STLE. Tribology - What is Tribology | STLE. *Home – Tribology and Lubrication Engineering*

Society | *STLE* [online]. Park Ridge: Society of Tribologists and Lubrication Engineers - STLE, 2022 [cit. 2022-10-04]. Dostupné z: https://www.stle.org/files/About_STLE/Tribology/files/What_is_tribology/Tribology.aspx

[45] PAŠEČKO, Mihajlo et al. *Tribologia*. Lublin: Politechnika Lubelska, 2017. ISBN 978-83-7947-293-2.

[46] YAO, Yifeng a Yajun ZHOU. Effects of deep cryogenic treatment on wear resistance and structure of GB 35CrMoV Steel. *Metals*. 2018, **8**(7), 502. DOI 10.3390/met8070502. Dostupné také z: <https://www.mdpi.com/2075-4701/8/7/502>

[47] HAREA, E., R. STOČEK a M. MACHOVSKÝ. Study of friction and wear of Thermoplastic Vulcanizates: The correlation with abraded surfaces topology. *Journal of Physics: Conference Series*. 2017, **843**, 012070. DOI 10.1088/1742-6596/843/1/012070. Dostupné také z: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/843/1/012070>

[48] ISLAM, Fahadul et al. Exploring the journey of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) toward biomedical applications. *Materials*. 2022, **15**(6), 2160. DOI 10.3390/ma15062160. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8951444/>

[49] TURCHENIUK, Kostiantyn a Vadym N. MOCHALIN. Biomedical applications of Nanodiamond (review). *Nanotechnology*. 2017, **28**(25), 252001. DOI 10.1088/1361-6528/aa6ae4. Dostupné také z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28368852/>

[50] *Principy FT-IR měření*. Zveřejnila Masarykova univerzita. Dostupné také z: <https://www.sci.muni.cz/chemsekcce/tgir/princip.pdf>

[51] PETROCHENKO, Peter E. et al. Cytotoxic evaluation of nanostructured zinc oxide (ZnO) thin films and leachates. *Toxicology in Vitro*. 2014, **28**(6), 1144-1152. DOI 10.1016/j.tiv.2014.05.004. Dostupné také z: https://docksci.com/cytotoxic-evaluation-of-nanostructured-zinc-oxide-zno-thin-films-and-leachates_5ad8b0aed64ab2ab8fbd7e8b.html

[52] TÜZÜNER, T., A. DIMKOV a J. W. NICHOLSON. The effect of antimicrobial additives on the properties of dental glass-ionomer cements: A Review. *Acta Biomaterialia Odontologica Scandinavica*. 2019, **5**(1), 9–21. DOI

- 10.1080/23337931.2018.1539623. Dostupné také z:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23337931.2018.1539623>
- [53] HALEEM, Yasir A. et al. Surface functionalization and structure characterizations of Nanodiamond and its epoxy based nanocomposites. *Composites Part B: Engineering*. 2015, **78**, 480–487. DOI 10.1016/j.compositesb.2015.04.012. Dostupné také z:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359836815002504>
- [54] MANGAL, Utkarsh et al. Changes in tribological and antibacterial properties of poly(methyl methacrylate)-based 3D-printed intra-oral appliances by incorporating nanodiamonds. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2020, **110**, 103992. DOI 10.1016/j.jmbbm.2020.103992. Dostupné také z:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616120305440>
- [55] SHENDEROVA, Olga a Nicholas NUNN. Production and purification of nanodiamonds. In: ARNAULT, Jean-Charles, ed. *Nanodiamonds*. Radarweg: Elsevier, 2017, s. 25-56. DOI 10.1016/b978-0-32-343029-6.00002-7. Dostupné také z:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323430296000027#s0035>
- [56] KRUEGER, Anke a Daniel LANG. Functionality is key: Recent progress in the surface modification of Nanodiamond. *Advanced Functional Materials*. 2012, **22**(5), 890–906. DOI 10.1002/adfm.201102670. Dostupné také z:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/adfm.201102670>
- [57] WALLIN, Richard F. A Practical Guide to ISO 10993-4: Hemocompatibility. *Mddionline.com* [online]. Santa Monica: Informa Markets Engineering, 1998 [cit. 2023-04-13]. Dostupné z: <https://www.mddionline.com/news/practical-guide-iso-10993-4-hemocompatibility>
- [58] ZÁHORA, Jiří. *Učebnice statistiky*. Praha: Univerzita Karlova v Praze. ISBN 978-80-881276-8. Dostupné z: <https://publi.cz/books/201/Cover.html>
- [59] MATH AND STATS SUPPORT CENTER. *I Úvod do testování hypotéz*. Brno: Masarykova univerzita. Dostupné z:
<https://mathstat.econ.muni.cz/media/19033/testy.pdf>
- [60] FROST, Jim. Nonparametric Tests vs. Parametric Tests - Statistics By Jim. Statistics by Jim - Statistics By Jim [online]. Jim Frost, 2022 [cit. 2023-02-18].

Dostupné z: <https://statisticsbyjim.com/hypothesis-testing/nonparametric-parametric-tests/>

[61] *Zkoušení ztvrdlého betonu. Část 5: Pevnost v tahu ohybem zkušebních těles.* Ostrava: VŠB – Technická univerzita v Ostravě. Dostupné z: <http://fast10.vsb.cz/206/Laborator/Downloads/Stav/Cviceni/Cvi8/pevnostvtahuohybem.pdf>

[62] KHAN, M., A. H. NAQVI a M. AHMAD. Comparative study of the cytotoxic and genotoxic potentials of zinc oxide and titanium dioxide nanoparticles. *Toxicology Reports*. 2015, 765–774. DOI 10.1016/j.toxrep.2015.02.004. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214750015000232?via%3Dihub>

[63] MULDER, Riaan a Charney ANDERSON-SMALL.. Ion release of chitosan and Nanodiamond modified glass ionomer restorative cements. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*. 2019, 313–320. DOI 10.2147/ccide.s220089. Dostupné také z: <https://www.dovepress.com/ion-release-of-chitosan-and-nanodiamond-modified-glass-ionomer-restora-peer-reviewed-fulltext-article-CCIDE>

[64] MISHRA, Abhishek et al. Comparative evaluation of mechanical properties of cention N with conventionally used restorative materials—an in vitro study. *International Journal of Prosthodontics and Restorative Dentistry*. 2018, **8**(4), 120–124. DOI 10.5005/jp-journals-10019-1219. Dostupné také z: <https://www.ijopr.com/doi/IJOPRD/pdf/10.5005/jp-journals-10019-1219>

[65] CHALISSERY, Vemina P. et al. Study of the mechanical properties of the novel zirconia-reinforced glass ionomer cement. *The Journal of Contemporary Dental Practice*. 2016, **17**(5), 394–398. DOI 10.5005/jp-journals-10024-1861. Dostupné také z: <https://www.thejcdp.com/doi/pdf/10.5005/jp-journals-10024-1861>

[66] WALTIMO, Antti a Mauno KÖNÖNEN.. A novel bite force recorder and maximal isometric bite force values for Healthy Young Adults. *European Journal of Oral Sciences*. 1993, **101**(3), 171–175. DOI 10.1111/j.1600-0722.1993.tb01658.x. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1600-0722.1993.tb01658.x>

[67] GIBBS, Charles H. et al.. Maximum clenching force of patients with moderate loss of posterior tooth support: A pilot study. *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 2002, **88**(5), 498–502. DOI 10.1067/mpr.2002.129062. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022391302002585?via%3Dihub>

- [68] WONGKHANTEE, Suchart et al. Effect of acidic food and drinks on surface hardness of enamel, dentine, and tooth-coloured filling materials. *Journal of Dentistry*. 2006, **34**(3), 214–220. DOI 10.1016/j.jdent.2005.06.003. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300571205001223?via%3Dihub>
- [69] MAGDY, Nashaat M. et al. Evaluation of Surface Roughness of Different Direct Resin-based Composites. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*. 2017, **7**(3), 104-109. DOI 10.4103/jispcd.JISPCD_72_17. Dostupné také z: https://journals.lww.com/jpcd/Fulltext/2017/07030/Evaluation_of_Surface_Roughness_of_Different.6.aspx
- [70] HLIŇÁKOVÁ, Petra. et al. Temporomandibulární kloub a jeho 2D a 3D modely. *Praktické zubní Lékařství*. 2008, **56**(1), 3 - 7. Dostupné také z: <https://cspzl.dent.cz/pdfs/sto/2008/01/07.pdf>
- [71] ELBISHARI, H., N. SILIKAS, a J. D. SATTERTHWAITTE. Is deterioration of surface properties of resin composites affected by filler size? *International Journal of Dentistry*. 2020, 1–6. DOI 10.1155/2020/2875262. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7199582/>
- [72] JANISZEWSKA-OLSZOWSKA, Joanna et al. Effect of air-polishing on surface roughness of composite dental restorative material – comparison of three different air-polishing powders. *BMC Oral Health* 2020, **20**(30). DOI 10.1186/s12903-020-1007-y. Dostupné také z: <https://link.springer.com/article/10.1186/s12903-020-1007-y>
- [73] SUN, Li et al. (2018). Improvement of the mechanical, tribological and antibacterial properties of glass ionomer cements by fluorinated graphene. *Dental Materials*. 2018, **34**(6). DOI 10.1016/j.dental.2018.02.006. Dostupné také z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0109564117309715>
- [74] FARHADIFARD, Homa et al. (2020). Effect of different surface treatments on shear bond strength of ceramic brackets to old composite. *Biomaterials Research*. 2020, **24**(1). DOI 10.1186/s40824-020-00199-y. Dostupné také z: <https://biomaterialsres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40824-020-00199-y>
- [75] EL MOURAD, Aminah M. Assessment of bonding effectiveness of adhesive materials to tooth structure using bond strength test methods: A review of literature. *The Open Dentistry Journal*. 2018, **12**(1), 664–678. DOI 10.2174/1745017901814010664. Dostupné také z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6182887/>

Seznam obrázků

Obr. 1 Stavba zubu (2)	14
Obr. 2 Klasifikace zubního kazů podle G. V. Blacka (6)	15
Obr. 3 Klasifikace zubního kazů podle Mount a Hume (6)	15
Obr. 4 Vytváření karboxylovaných a hydroxylovaných ND (56)	19
Obr. 5 Otisky indentoru pro jednotlivé zkoušky tvrdosti (16)	22
Obr. 6 Průběh zkoušky tlakem (21)	22
Obr. 7 Zobrazení 3-bodového a 4-bodového ohybu (23)	23
Obr. 8 Tribologický test metodou	28
Obr. 9 Tribologický test metodou Ball-on-flat (47)	28
Obr. 10 Schéma zobrazení obrazu pomocí mikroskopu (32)	29
Obr. 11 Schéma konfokálního mikroskopu (34)	30
Obr. 12 Výsledné spektrum pro tekutou složku GIC	35
Obr. 13 Výsledné spektrum pro práškovou složku GIC	35
Obr. 14 Tvary a rozměry vzorků	38
Obr. 15 Příprava vzorků	41
Obr. 16 Umístění vzorku mezi dva pravidelné šestiboké hranoly	42
Obr. 17 Umístění vzorku mezi 3 válečky	43
Obr. 18 Otáčecí věž s indentory a objektivy	45
Obr. 19 Koeficient tření v průběhu tribologické zkoušky	60
Obr. 20 Fotodokumentace stopy na vzorku po opotřebení	60
Obr. 21 Povrchové vlastnosti materiálu	65
Obr. 22 Povrchová poréznost (tmavé oblasti v obrazech jsou znázorněním pórů)	67
Obr. 23 Snímky vzorků z digitálního mikroskopu	68
Obr. 24 Zobrazení erytrocytů na kontrolním sklíčku	71
Obr. 25 Tvar vzorků určených pro stanovení cytotoxicity (hodnoceno konfokální mikroskopií, 30 dnů od přípravy vzorku)	76

Seznam tabulek

Tab. 1: Experimentální set-up	39
Tab. 2 Maximální pevnost v tlaku po 1 dni a po 7 dnech	50
Tab. 3 Maximální zatížení po 1 dni a po 7 dnech	52
Tab. 4: Pevnost v tahu ohybem po 1 dni a po 7 dnech	54
Tab. 5: Adheze	56
Tab. 6: Mikrotvrdost po 1 dni a po 7 dnech	58
Tab. 7: Šířka a hloubka stopy po opotřebení	61
Tab. 8: Koeficient tření	63
Tab. 9: Průměrná aritmetická výška Sa a maximální výška Sz	65

Seznam grafů

Graf 1: Maximální pevnost v tlaku po 1 dni	50
Graf 2: Maximální pevnost v tlaku po 7 dnech	51
Graf 3: Maximální zatížení po 1 dni	52
Graf 4: Maximální zatížení po 7 dnech	53
Graf 5: Pevnost v tahu ohybem po 1 dni	55
Graf 6: Pevnost v tahu ohybem po 7 dnech	55
Graf 7: Adheze	57
Graf 8: Mikrotvrdost po 1 dni	58
Graf 9: Mikrotvrdost po 7 dnech	59
Graf 10: Šířka opotřebení	62
Graf 11: Hloubka opotřebení	62
Graf 12: Koeficient tření	64
Graf 13: Průměrná aritmetická výška Sa	66
Graf 14: Maximální výška Sz	66
Graf 15: Míra inhibice růstu – Stěry (výška sloupců pro vzorek Cefazolin odpovídá 100%; z důvodu lepší čitelnosti grafu je rozsah osy-y omezen jen do 50%).	69
Graf 16: Míra inhibice růstu – <i>E. Coli</i> (výška sloupců pro vzorek Cefazolin odpovídá 100%; z důvodu lepší čitelnosti grafu je rozsah osy-y omezen jen do 50%).	70

Seznam příloh

Příloha A: Výsledky statistické analýzy	91
Příloha B: Trhliny vzniklé indentorem v okolí místa vtisku při hodnocení mikrotvrdosti	93
Příloha C: Analýza povrchové poréznosti	94
Příloha D: Snímky Petriho misek	96
Příloha E: Výsledky testů interakce krve se vzorky	99

Příloha A: Výsledky statistické analýzy

	Tlak 1. den		Tlak 7. den		Ohyb 1. den		Ohyb 7. den	
	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon
Referenční-ND 0,25%	0,969	0,75	1	1	0,211	0,125	0,19	0,25
Referenční-ND 0,50%	0,964	0,375	0,848	0,625	0,731	0,625	0,013	0,125
Referenční-ND OH 0,25%	0,809	0,5	0,951	0,625	0,022	0,125	0,309	0,25
Referenční-ND OH 0,50%	0,673	0,25	1	1	0,045	0,125	0,876	0,375
Referenční-Ref. + coating	0,471	0,125	0,792	0,125	0,225	0,25	0,493	0,125
ZnO 0,25%-Referenčn	0,174	0,25	0,855	0,25	0,842	0,625	1	1
ZnO 0,50%-Referenční	1	0,875	0,965	0,25	0,736	0,25	0,984	0,875

	Tvrlost 1. den		Tvrlost 7. den		Hloubka 1. den		Hloubka 7. den	
	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon
Referenční-ND 0,25%	1	0,6953	0	0,0039	1	0,5	0,972	0,5
Referenční-ND 0,50%	0,928	0,3125	0,414	0,3125	0,872	0,5	0,989	0,5
Referenční-ND OH 0,25%	0,656	0,08398	0	0,002	1	1	0,091	0,5
Referenční-ND OH 0,50%	0,02	0,002	0	0,002	0,999	0,5	0,998	0,5
Referenční-Ref. + coating	0,412	0,1563	1	1	0,695	0,5	1	0,5
ZnO 0,25%-Referenčn	0,994	1	0	0,0039	0,906	0,5	1	1
ZnO 0,50%-Referenční	0,939	0,3594	0,005	0,0039	1	1	0,998	0,5

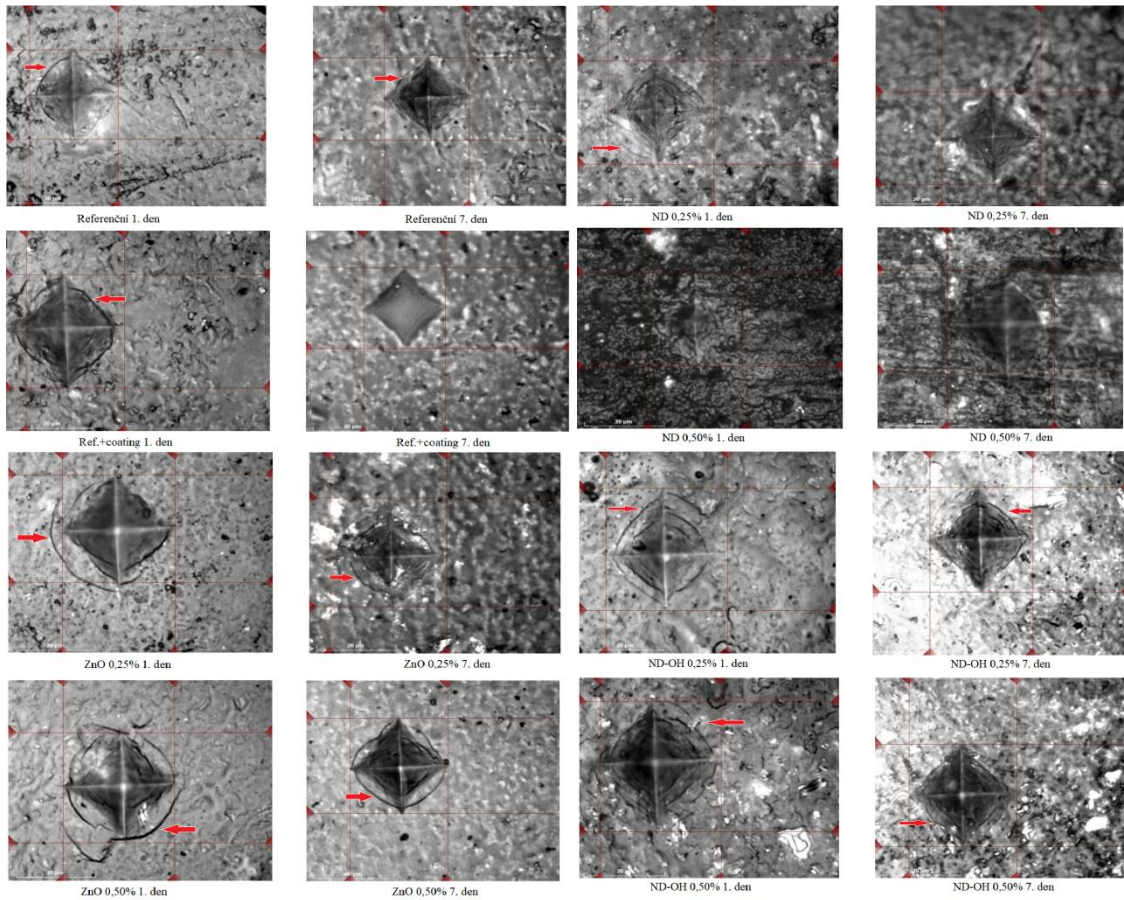
	Šířka 1. den		Šířka 7. den		Koeficient 1. den		Koeficient 7. den	
	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon
Referenční-ND 0,25%	1	0,5	0,931	0,5	0,997	1	0,96	1
Referenční-ND 0,50%	1	1	0,937	1	1	1	0,876	0,5
Referenční-ND OH 0,25%	0,954	1	0,914	0,5	1	1	1	1
Referenční-ND OH 0,50%	1	1	0,967	0,5	1	1	0,982	1
Referenční-Ref. + coating	0,997	1	0,877	0,5	1	1	0,557	0,5
ZnO 0,25%-Referenčn	1	1	0,997	1	1	1	1	1
ZnO 0,50%-Referenční	1	1	0,933	0,5	1	1	1	1

	Tlak		Ohyb		Tvrlost	
	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon
ND 0,25% 7-ND 0,25%	0,768	0,5	1	0,25	1	0,6523
ND 0,50% 7-ND 0,50%	1	0,875	0,998	0,25	0,999	0,5469
ND OH 0,25% 7-ND OH 0,25%	1	0,5	0,666	0,125	0,66	0,03711
ND OH 0,50% 7-ND OH 0,50%	0,291	0,125	0,141	0,125	0,135	0,002
Ref. + coating7-Ref. + coating	1	0,625	0,921	0,125	0	0,03125
Referenční 7-Referenční	0,979	0,125	0,73	0,375	0,001	0,01367
ZnO 0,25% 7-ZnO 0,25%	0,985	0,125	1	0,875	1	0,7422
ZnO 0,50% 7-ZnO 0,50%	0,211	0,125	1	1	0,508	0,0078

	Hloubka		Šířka		Koeficient	
	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon
ND 0,25% 7-ND 0,25%	1	1	1	1	0,994	0,5
ND 0,50% 7-ND 0,50%	0,994	0,5	0,778	0,5	1	0,5
ND OH 0,25% 7-ND OH 0,25%	0,051	0,5	0,951	0,5	1	0,5
ND OH 0,50% 7-ND OH 0,50%	1	0,5	1	1	1	1
Ref. + coating7-Ref. + coating	0,999	1	0,988	0,5	1	0,5
Referenční 7-Referenční	1	0,5	1	1	1	1
ZnO 0,25% 7-ZnO 0,25%	1	1	0,994	0,5	1	0,5
ZnO 0,50% 7-ZnO 0,50%	1	1	0,948	0,5	1	0,5

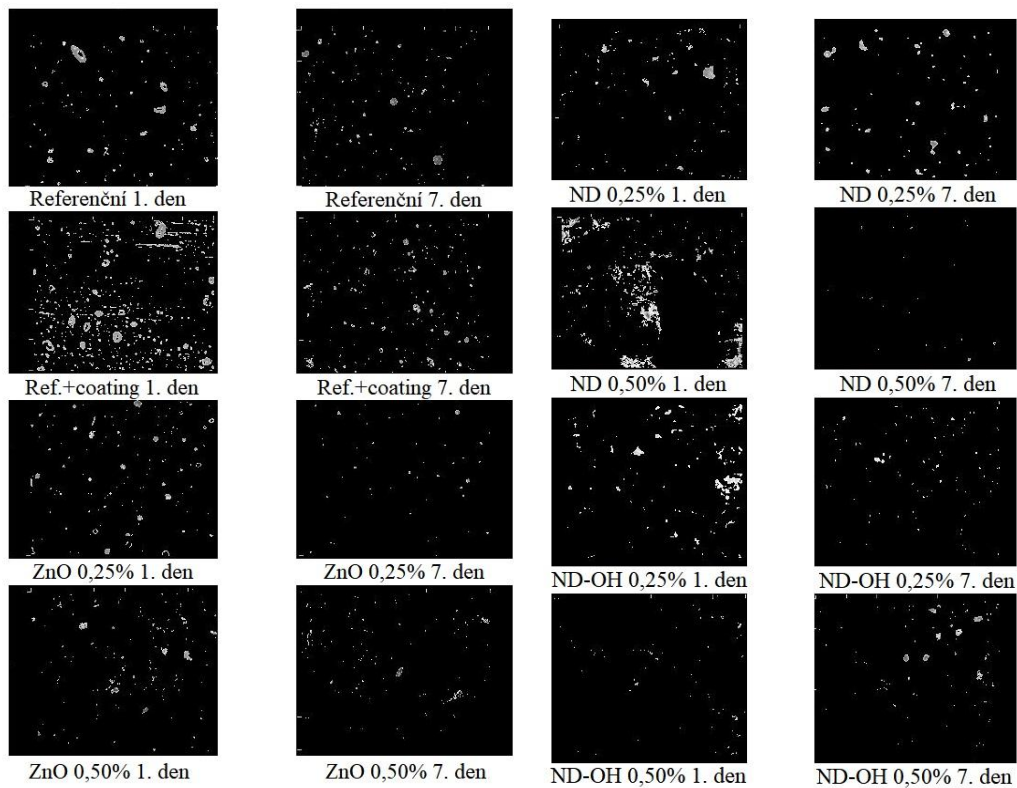
	Adheze		Sa		Sz	
	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon	Tukey	Wilcoxon
Referenční-ND 0,25%	0,839	0,5	0,185	0,0625	0,708	0,125
Referenční-ND 0,50%	0,978	0,5	0,998	1	1	0,625
Referenční-ND OH 0,25%	0,812	0,5	0,999	0,1875	1	0,625
Referenční-ND OH 0,50%	0,8	0,5	0,962	0,4375	0,993	0,1875
Referenční-Ref. + coating						
ZnO 0,25%-Referenční	0,995	1	0,966	0,3125	0,952	0,625
ZnO 0,50%-Referenční	0,976	1	0,993	0,3125	1	0,0625

Příloha B: Trhliny vzniklé indentorem v okolí místa vtisku při hodnocení mikrotvrlosti

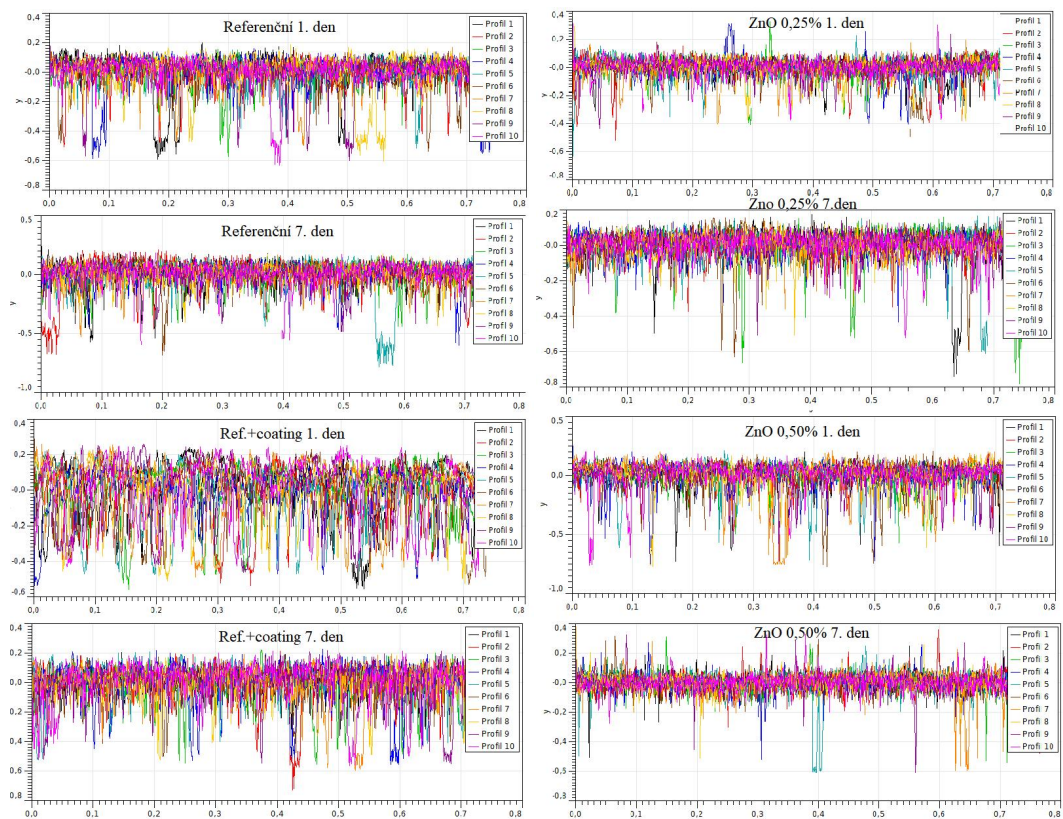


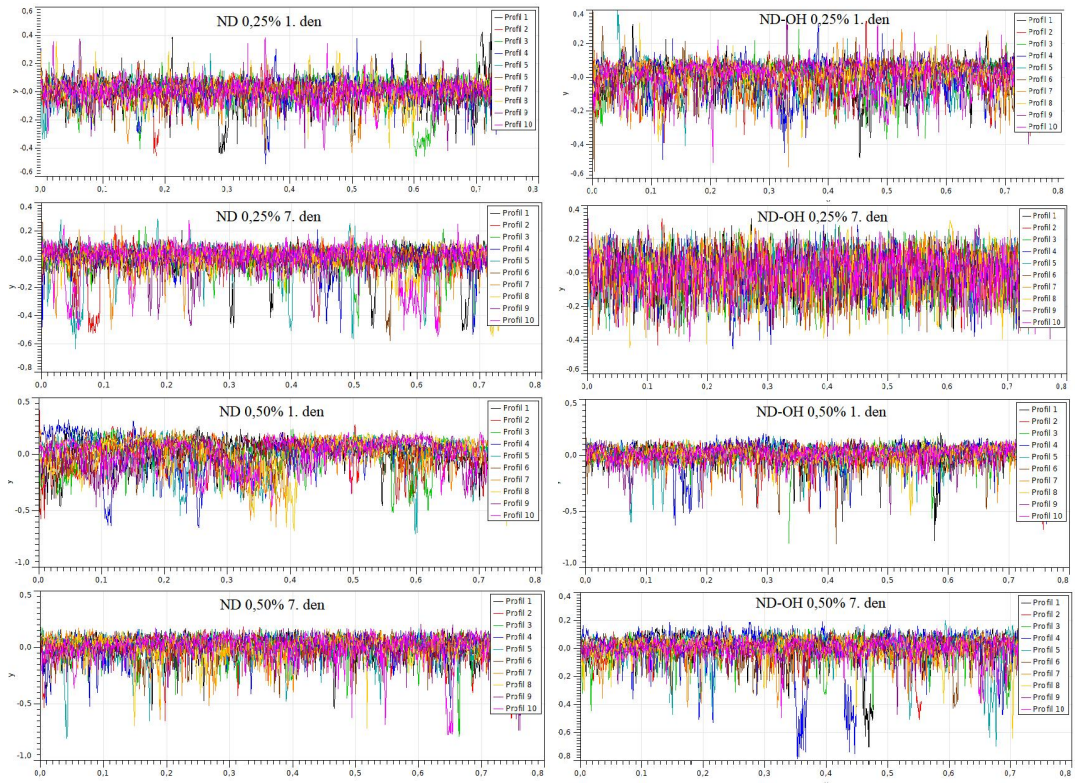
Příloha C: Analýza povrchové porézności

a) snímky po provedení prahování



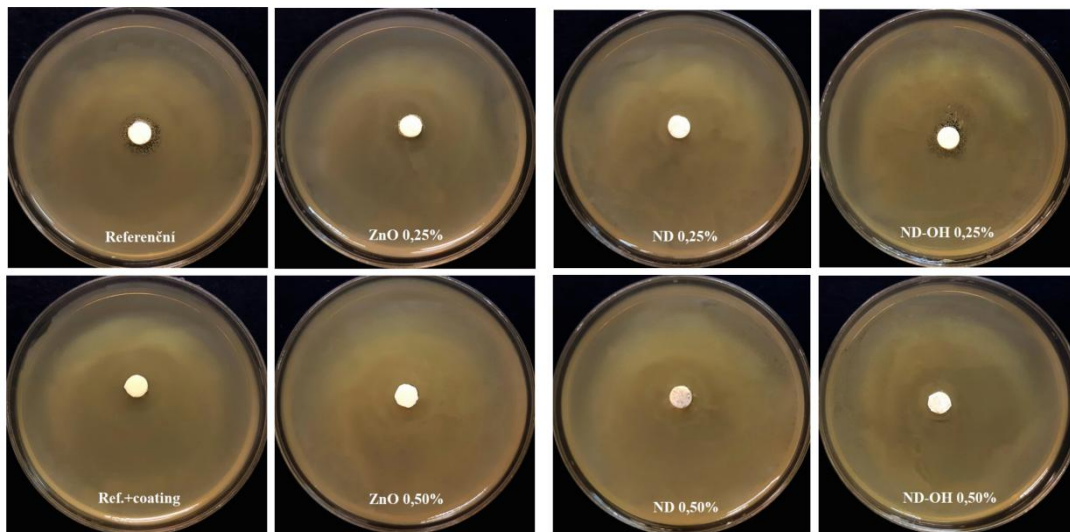
b) znázornění profilu snímků pro hodnocení povrchové pórznosti



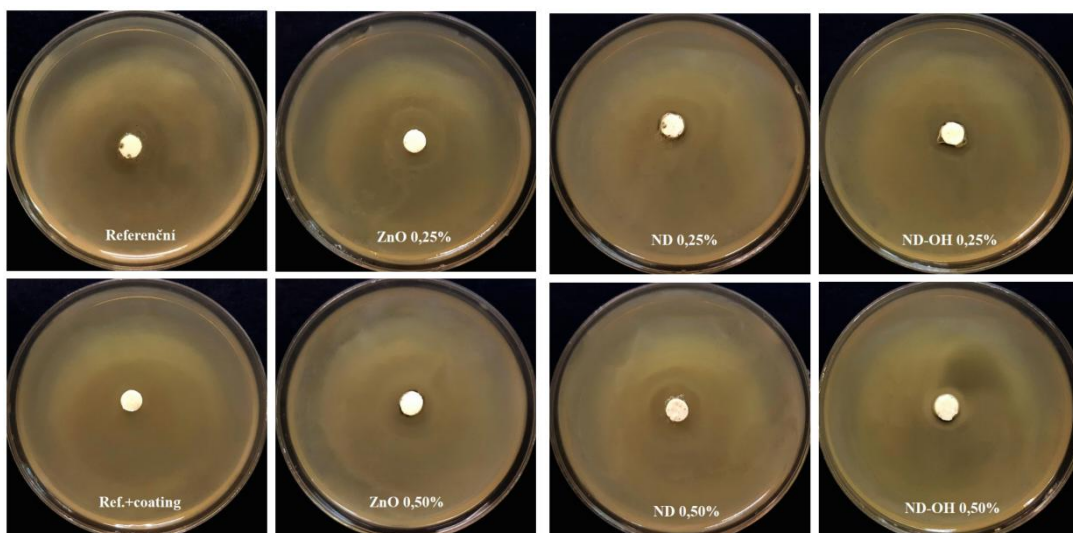


Příloha D: Snímky Petriho misek

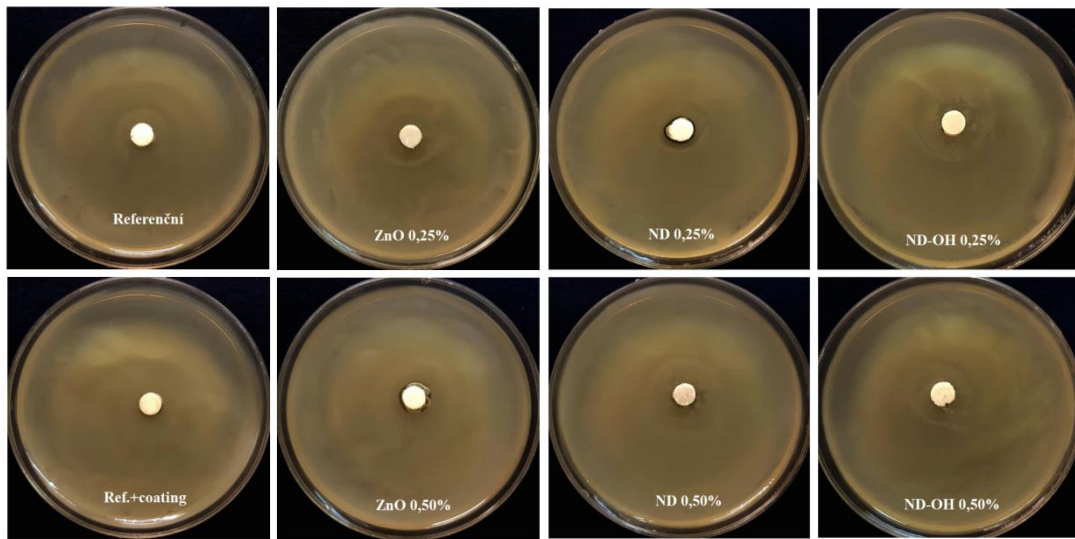
E. Coli 1. den



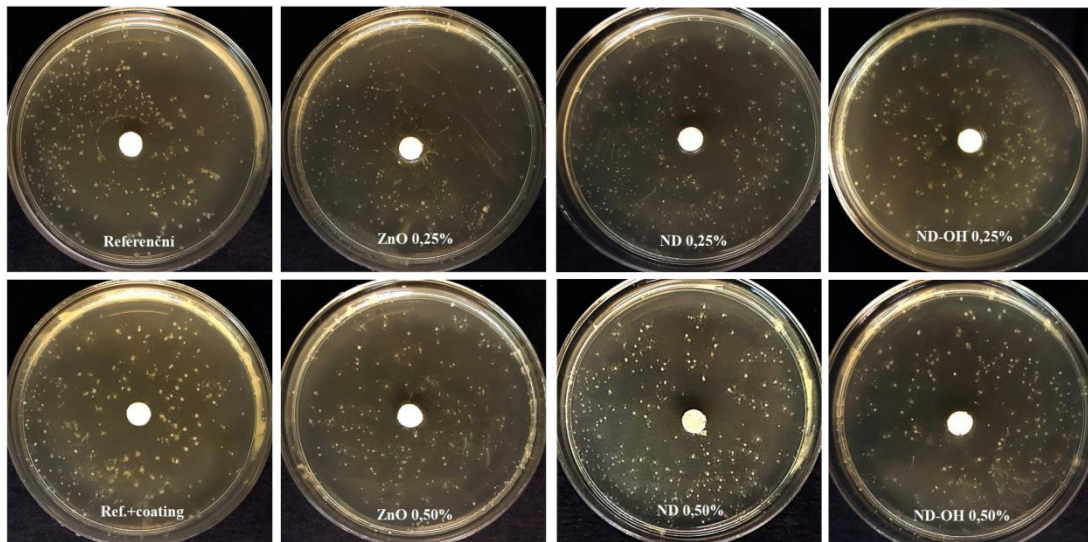
E. Coli 7. den



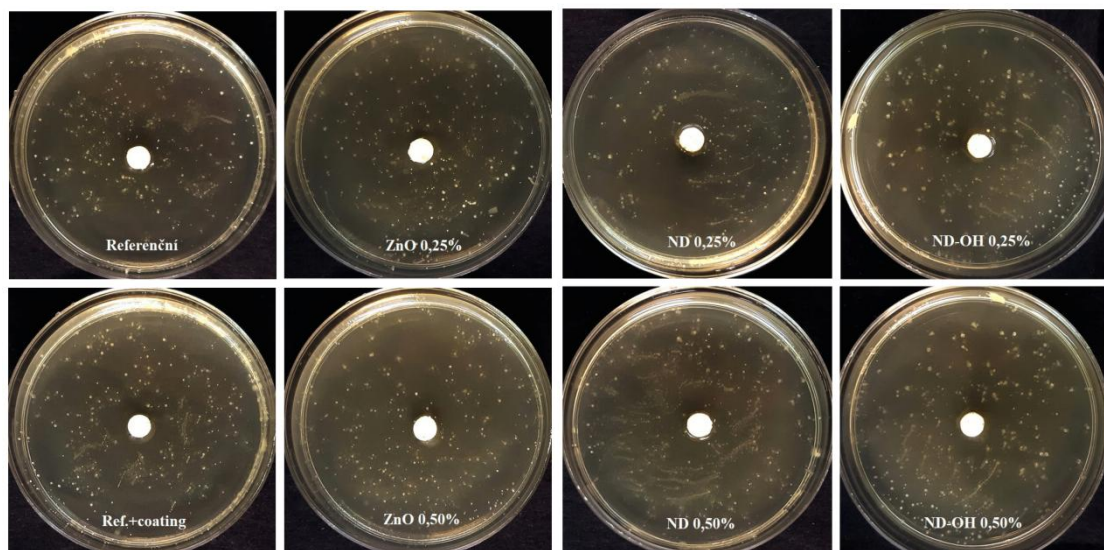
E. Coli 30. den



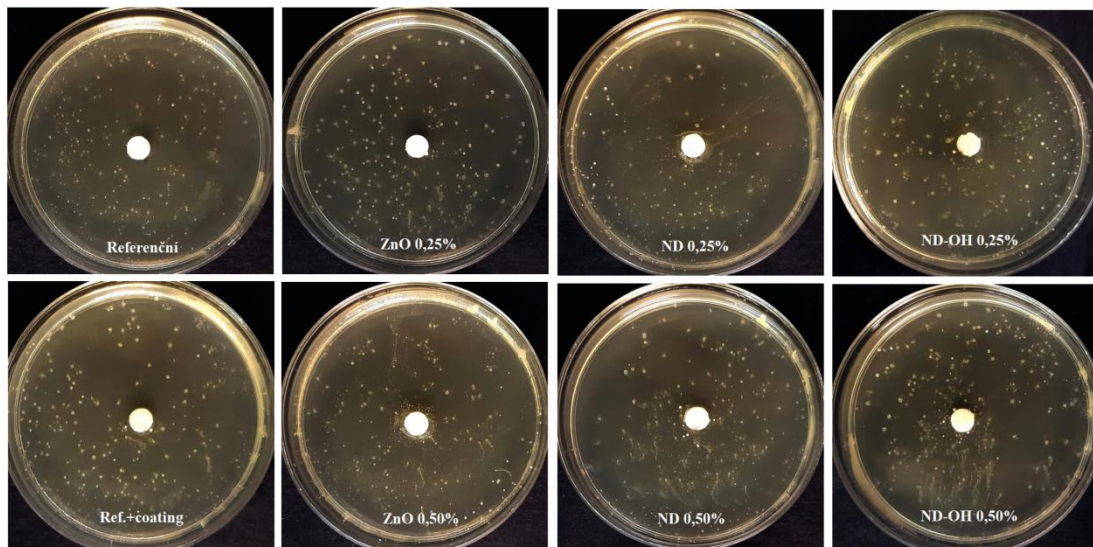
Stěry 1. den



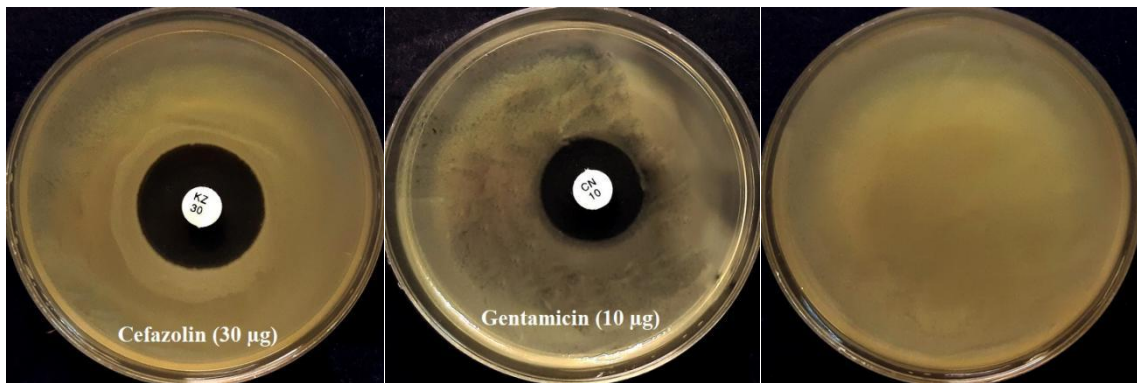
Stěry 7. den



Stěry 30. den



Negativní a pozitivní kontroly E. Coli



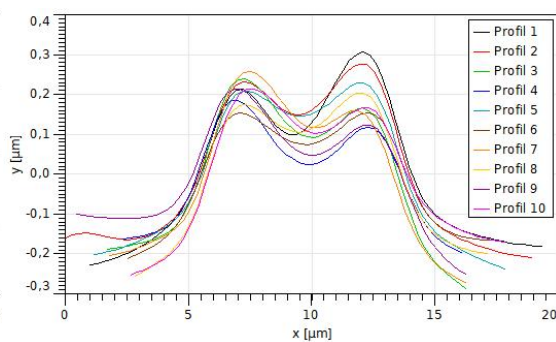
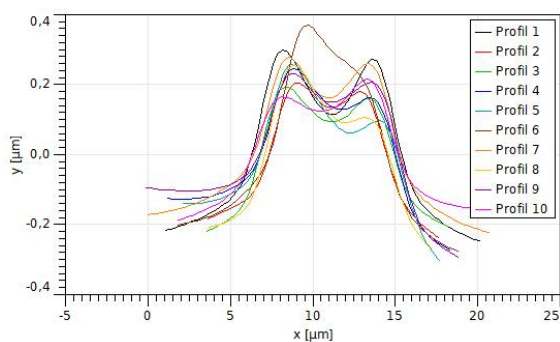
Negativní a pozitivní kontroly stěry



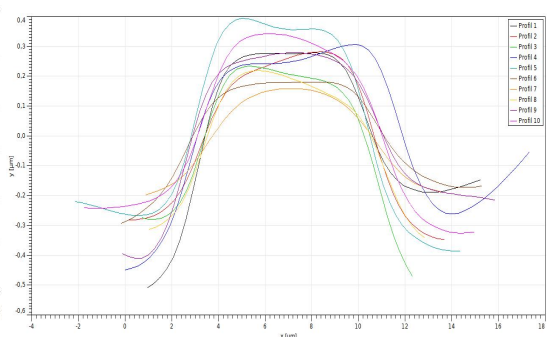
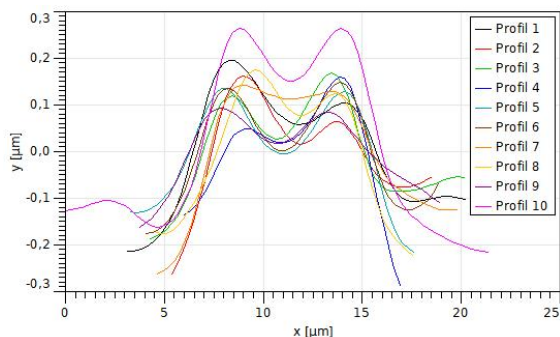
Příloha E: Výsledky testů interakce krve se vzorky

	výška [nm]			šířka [μm]			hloubka [nm]		
	medián	1. kvartil	3. kvartil	medián	1. kvartil	3. kvartil	medián	1. kvartil	3. kvartil
SiO ₂	326,8	307,6	352,3	4,92	4,71	5,17	114,20	92,68	134,30
Referenční	349,2	290,3	450,3	4,43	3,82	5,04	53,15	13,63	123,78
ZnO 0,25%	372,2	302,4	426,8	3,61	3,48	3,92	18,30	17,25	38,13
ZnO 0,50%	435,0	279,0	467,3	4,32	3,77	4,85	70,50	13,00	103,00
ND 0,25%	385,0	297,0	479,8	4,55	4,31	5,13	34,50	15,25	43,00
ND 0,50%	342,0	283,8	383,3	4,64	4,33	5,02	43,00	23,75	86,25
ND-OH 0,25%	259,0	201,6	279,8	5,25	4,89	5,67	104,10	60,05	132,05
ND-OH 0,50%	288,5	195,7	332,0	4,76	4,22	5,07	46,10	18,73	97,00

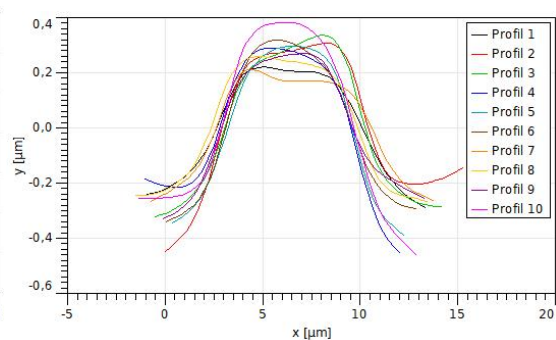
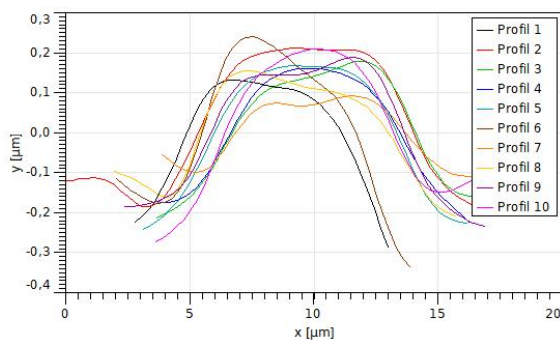
SiO₂



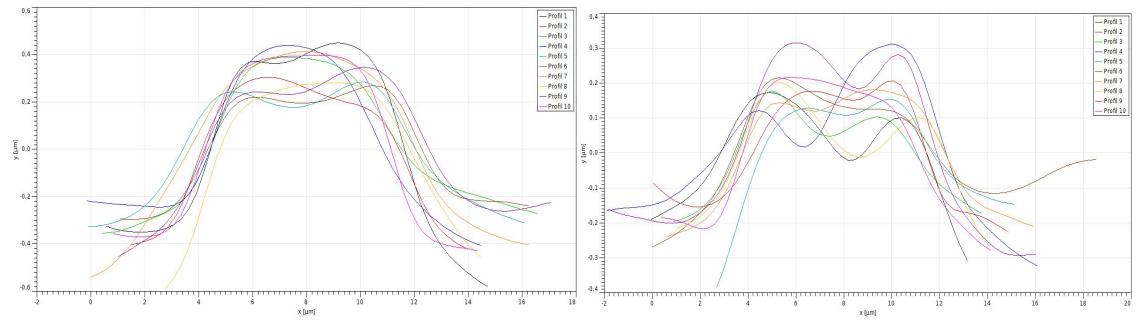
Referenční (čistý GIC)



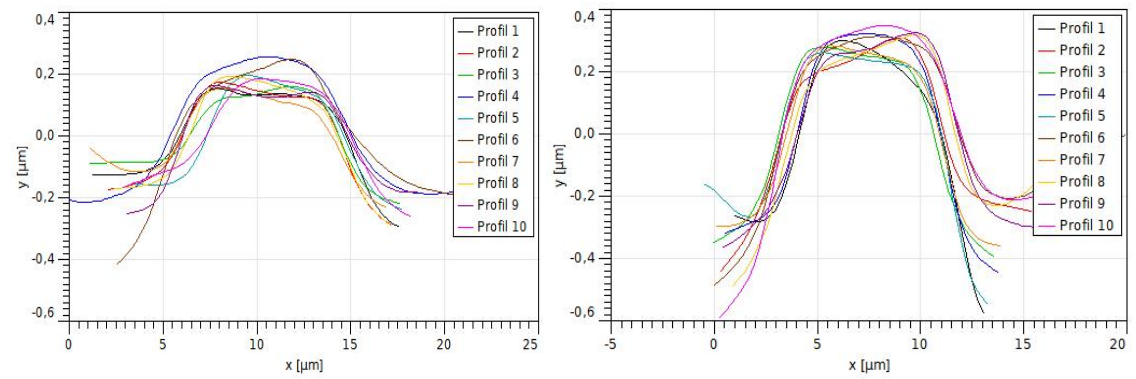
ZnO 0,25%



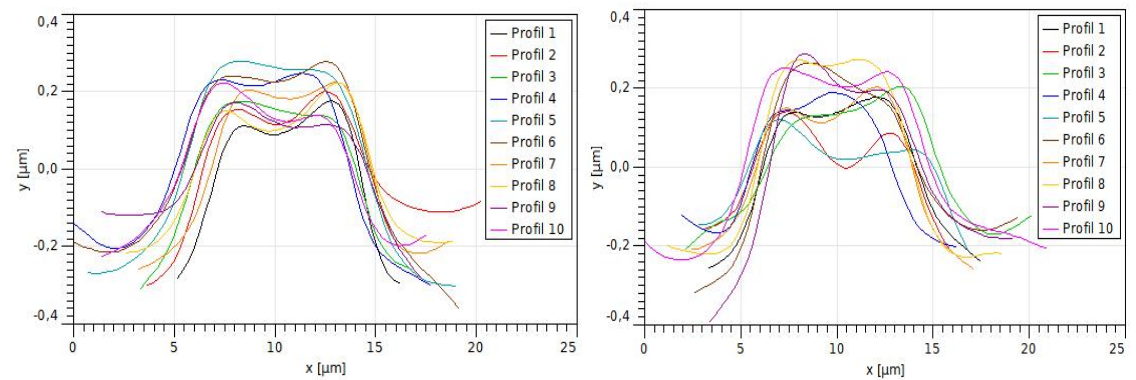
ZnO 0,50%



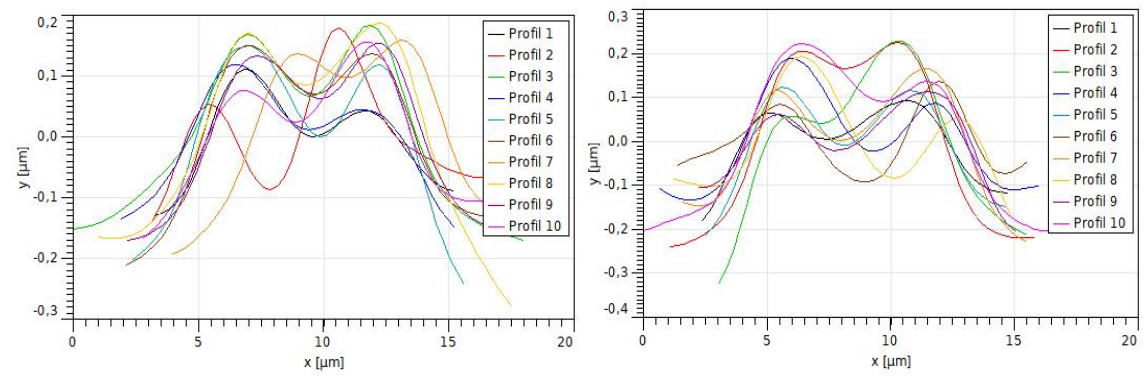
ND 0,25%



ND 0,50%



ND-OH 0,25%



ND-OH 0,50%

