

PIOTR WYCHOWAŃSKI<sup>1</sup>, EMIL KALINOWSKI<sup>1</sup>, KORNEL KOSIERADZKI<sup>1</sup>, JOANNA KOLMAS<sup>2</sup>,  
WACŁAW KOŁODZIEJSKI<sup>2</sup>, ANDRZEJ WOJTOWICZ<sup>1</sup>

## Analiza porównawcza szkliwa, zębiny i cementu metodą mikrospektroskopii w średniej podczerwieni

### Comparison Analysis of Enamel, Dentine and Cement by Means of the Middle Infrared Radiation Microspectroscopy Method

<sup>1</sup> Zakład Chirurgii Stomatologicznej IS AM w Warszawie

<sup>2</sup> Katedra i Zakład Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Farmacji AM w Warszawie

#### Streszczenie

**Wprowadzenie.** Przydatną metodą oceny składu chemicznego poszczególnych twardych tkanek zęba może być mikrospektroskopia w średniej podczerwieni, która wyróżnia się wieloma cechami spośród innych technik analizy składu chemicznego materiałów biologicznych.

**Cel pracy.** Wykorzystując metodę mikrospektroskopii w średniej podczerwieni badano twarde tkanki zęba (zębinę, szkliwo i cement). Celem pracy było określenie i analiza składu chemicznego badanych tkanek twardych zęba.

**Materiał i metody.** Usunięto 7 zębów przedtrzonowych i 12 zębów trzonowych ze wskazań ortodontycznych. Następnie z otrzymanego materiału wykonano szlify, które badano metodą spektroskopii w średniej podczerwieni.

**Wyniki.** Podczas pracy oceniano możliwości i przydatność wyżej wymienionej metody do prac nad składem chemicznym tkanek twardych zębów. Uzyskane pasma widma przypisano odpowiednim grupom chemicznym i analizowano jakościowo otrzymane widma. Następnie przeprowadzono analizę porównawczą widm trzech twardych tkanek zęba. Podczas pracy oceniano możliwości zastosowania tej metody do analizy porównawczej tkanek twardych zęba.

**Wnioski.** Różnice widm twardych tkanek zęba w średniej podczerwieni odzwierciedlają różnice w chemicznym składzie jakościowym i ilościowym badanych struktur (**Dent. Med. Probl. 2004, 41, 3, 413–416**).

**Słowa kluczowe:** mikrospektroskopia, tkanki twarde zęba.

#### Abstract

**Background.** The useful method of evaluation of chemical constitution of particular hard tissues of the tooth might be the middle infrared radiation microspectroscopy method which is characteristic for many outstanding features making it distinctive among techniques of analysis of chemical constitution of biological materials.

**Objectives.** Using the middle infrared radiation microspectroscopy method, hard tissues of the tooth (dentine, enamel and cement) were studied. The aim of the study was evaluation and analysis of chemical constitution of the examined hard tissues.

**Material and Methods.** 7 premolars and 12 molars were extracted from orthodontic indications. The slices, made from obtained specimens were analyzed by means of the middle infrared radiation microspectroscopy method.

**Results.** Obtained strands were imputed to adequate units and received spectra were analyzed qualitatively. Then, comparable analysis of spectra of hard tissues of the tooth was executed. During the research, possibilities of its adoption as a useful method to compare hard tissues of the tooth were evaluated.

**Conclusion.** The differences in spectrums of hard tissues of the tooth on middle infrared radiation microspectroscopy show divergence in chemical constitution and quantitative studied structures (**Dent. Med. Probl. 2004, 41, 3, 413–416**).

**Key words:** microspectroscopy, hard tissues of the tooth.

Przydatną metodą oceny składu chemicznego poszczególnych twardych tkanek zęba może być mikrospektroskopia w średniej podczerwieni, która wyróżnia się wieloma cechami spośród innych technik analizy składu chemicznego materiałów biologicznych [1]. Spektroskopia jest działem fizyki atomowej i jądrowej oraz chemii atomowej badającym struktury energetyczne cząsteczek przez obserwację i analizę rozkładu energii widm promieniowania elektromagnetycznego emitowanego, pochłanianego lub rozpraszanego przez dany obiekt fizyczny. Spektroskopia w podczerwieni z użyciem skupionej wiązki uwidacznia obiekty z jednoczesnym określeniem ich składu chemicznego [1–5]. Jest wykorzystywana zarówno do identyfikacji substancji (głównie związków organicznych), jak i do oznaczania ich zawartości [6–9, 12]. Najbardziej rozpowszechniona jest technika transmisyjna, która pozwala na pomiary widm związków we wszystkich stanach skupienia [1–3], wymaga jednak odpowiedniego przygotowania materiału. Wiązka promieniowania pada na próbkę transparentną dla podczerwieni, przechodzi przez nią i trafia do detektora. Wykorzystuje się ponadto techniki tłumionego wewnętrznego odbicia, odbicia rozproszonego oraz odbicia zwierciadlanego [1, 2, 5]. Promieniowanie jest kierowane na badany materiał, który je absorbuje przy określonych częstotliwościach fali. Analizowane jest promieniowanie odbite od powierzchni materiału, które trafia do detektora. Badanie materiału odbywa się na odbijających powierzchniach (np. na złotej płytce).

Powyższe metody umożliwiają badanie materiałów nieprzezroczystych dla promieniowania podczerwonego w naturalnej postaci lub formie sproszkowanej [1]. W dostępnym piśmiennictwie nie ma opisu zastosowania tej metody do analizy porównawczej tkanek twardych zęba.

Celem pracy jest ocena składu chemicznego twardych tkanek zęba (szkliwa, zębiny, cementu) za pomocą mikrospektroskopii w średniej podczerwieni.

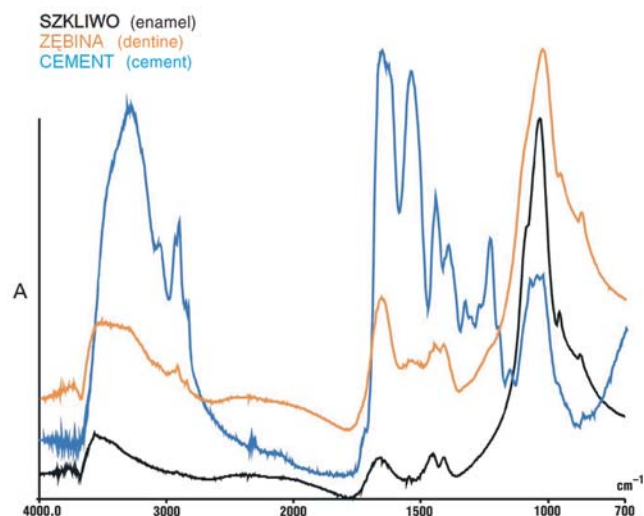
## Materiał i metody

Badanie przeprowadzono w Zakładzie Chirurgii Stomatologicznej AM w Warszawie. Usunięto 7 zębów przedtrzonowych i 12 zębów trzonowych ze wskazań ortodontycznych. Z otrzymanego materiału wykonano szlify i każdą z tkanek twardych zęba (zębinę, szkliwo i cement) za pomocą wiertel i separatorów diamentowych oddzielnie sproszkowano. Uzyskany materiał badano w Katedrze i Zakładzie Chemii Nieorganicznej i Analitycznej metodą spektroskopii w średniej podczerwieni.

Uzyskany materiał badano mikroskopem AutoImage Microscope i spektrometru AutoImage System firmy Perkin Elmer. W badaniach wykorzystano zarówno technikę odbicia (dla szlifów), jak i transmisyjną (dla proszków – tabletki z KBr). Widma zbierano w zakresie  $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ , stosując szczelinę szerokości  $100/100\text{ }\mu\text{m}^2$ . Uzyskano szereg widm, które analizowano po odpowiedniej obróbce w programie komputerowym Spectrum 1000.

## Wyniki

Wyniki przeprowadzonej analizy zostały przedstawione na rycinie 1, na której uwidoczniono zarejestrowane widma szkliwa, zębiny oraz cementu badanych zębów w średniej podczerwieni.



**Ryc. 1.** Widma twardych tkanek zęba (szkliwa, zębiny oraz cementu) w średniej podczerwieni; oś X – liczba falowa ( $\text{cm}^{-1}$ ), oś Y – intensywność (absorbancja – A)

**Fig. 1.** Spectra of hard tissues of the tooth (enamel, dentine and cement) of the middle infrared radiation microspectroscopy method; the X axis – the wave number ( $\text{cm}^{-1}$ ), the Y axis – the intensity (the absorbance – A)

Wstępna analiza uzyskanych widm pokazuje zmiany położenia i względnej intensywności niektórych pasm badanych szlifów i proszków, co może świadczyć o różnicy w składzie chemicznym tkanek twardych zębów.

W przypadku widma szkliwa pasmo o częstotliwości około  $1034\text{ cm}^{-1}$  (tab. 1), wskazujące na obecność grup fosforanowych, wykazuje największą intensywność względną w porównaniu z inten-

**Tabela 1.** Liczby falowe i odpowiadające im grupy oraz związki chemiczne**Table 1.** The wave numbers and answering them groups as well as chemical compounds

Liczba falowa (The wave number) (cm <sup>-1</sup> )	Grupy i związki chemiczne (Groups and chemical compounds)
3600–3100	$\nu_{OH}$ woda krystalizacyjna
3075–3030	$\nu_{CH}$ grupy aromatyczne
2935–2915	$\nu_{CH_2}$ grupy $CH_2$ (alkany)
1710–1660	$\nu_{C=O}$ swobodne pasmo amidowe I (amidów drugorzędowych)
1570–1510	$\delta_{NH}$ pasmo amidowe II (amidów drugorzędowych)
1475–1450	$\delta_{CH_2}, \delta_{CH_3as}$ grupy $CH_2$ i $CH_3$ (alkany)
1440–1395	$\nu_{C=O}$ grupy karboksylowe (sprężone z $\delta_{OH}$ )
1350–1330	$\delta_{CH}$ grupy CH (trzeciorzędowe)
1300–1200	$\nu_{CN}$ pasmo amidowe III (amidów drugorzędowych)
1175–1165	$\nu_{CC}$ grupa izopropylowa
1090–1000	$\nu_{POC_{as}}$ fosforany alifatyczne
970–940	$\nu_{P-O-P_{as}}$ pirofosforany
950–810	węglany

sywnością pasm w widmach zębiny i cementu przy tej samej wartości liczby falowej. Wynika to z faktu, iż szkliwo jest najsilniej zmineralizowaną tkanką, zbudowaną głównie z fosforanu wapnia. Kolejną różnicą jest pojawienie się w widmie szkliwa przy częstotliwości około 3600 cm<sup>-1</sup> sygnału pochodzącego od grup hydroksylowych, którego nie ma w widmie cementu. Pasma amidowe I i II występują przy tych samych częstotliwościach dla trzech tkanek (ok. 1500 cm<sup>-1</sup>). Rozpatrując jednak ich intensywności względne można stwierdzić, że pasma te w widmie cementu odznaczają się największą intensywnością, co jest spowodowane dużą zawartością frakcji organicznej w tej tkance. Widmo zębiny wskazuje natomiast, że ilość związków organicznych w tej tkance jest mniejsza niż w cemencie i większa niż w szkliwie.

## Omówienie

Metoda mikrospektroskopii w średniej podczerwieni ma wiele zalet [1–3, 5, 11, 12], które zostały wykorzystane podczas przedstawionych badań. Analiza tkanek może odbywać się w bardzo krótkim czasie i bez naruszania ich struktury. Ist-

nieje również możliwość badania konkretnego miejsca na powierzchni tkanki [1]. Zakres średniej podczerwieni zawiera charakterystyczne i swoiste dla danych substancji pasma grup funkcyjnych (tzw. obszary daktyloskopowe), a więc często umożliwia jednoznaczną identyfikację jakościową związku [1–3, 5, 11, 12].

Pewne wady metody zaobserwowano w technice odbicia [2]. Konieczność stosowania transformacji umożliwiających uzyskanie widma absorpcyjnego i wybór odpowiednich powierzchni materiału utrudnia badanie.

Planowane są dalsze prace wykorzystujące przedstawioną metodykę. Analizie składu chemicznego zostaną poddane tkanki twarde zębów prawidłowych i patologicznych.

Podsumowując można stwierdzić, że: 1) widma w średniej podczerwieni tkanek twardych zęba znacznie się różnią między sobą, 2) różnice widm twardych tkanek zęba w średniej podczerwieni odzwierciedlają różnice w chemicznym składzie jakościowym i ilościowym tych struktur, 3) metoda spektroskopii w podczerwieni może być stosowana w analizie jakościowej składu chemicznego twardych tkanek zęba.

## Piśmiennictwo

- [1] PALUSZKIEWICZ C.: Spektroskopia optyczna w zakresie podczerwieni i spektroskopia Ramana. Fizyczne metody badań w biologii i medycynie. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1999, 160–187.
- [2] CYGAŃSKI A.: Metody spektroskopowe w chemii analitycznej. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1997, 201–277.
- [3] GRZESIAK-JANAS G.: Możliwości zastosowania laserów w spektroskopii, medycynie i stomatologii. Magazyn Stomat. 2002, 12, 2, 28–30.
- [4] HAUSSE K. H., KALBITZER H. R.: NMR w biologii i medycynie. Wydawnictwo Naukowe UAM 1993, 57–97, 207–241.
- [5] SZCZEPANIAK W.: Metody instrumentalne w analizie chemicznej. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1997, 92–97.

- [6] BESHAK K., REY C., GLIMCHER M. J., SCHIMIZU M., GRIFFIN R. G.: Solid state carbon-13 and proton NMR studies of carbonate containing calcium phosphates and enamel. *J. Solid. Chem.* 1990, 84, 71–81.
- [7] BLICHARSKA B.: Magnetyczny rezonans jądrowy, Fizyczne metody badań w biologii i medycynie. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1999, 115–135.
- [8] KOCJAN R.: Chemia analityczna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2000, tom II, 83–96.
- [9] MIŃCZEWSKI J., MARCZENKO Z.: Chemia analityczna. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1985, tom III, 202–231.
- [10] WELZ B., SPERLING M.: Atomic Absorption Spectrometry 3<sup>rd</sup> Completely Revised Edition, Wiley-VCH, Weinheim, November 1998, 428–650.
- [11] KACZMAREK S., MIERCZYK Z., KUZAŁA B.: Podstawy fizyczne medycznych zastosowań laserów. *Wiad. Lek.* 1994, 47, 444–450.
- [12] MAGNE D., PILET P., WEISS P., DACULSI G.: Fourier transform infrared microspectroscopic investigation of the maturation of nonstoichiometric apatites in mineralized tissues: a horse dentine study. *Bone* 2001, 29, 6, 547–552.

### **Adres do korespondencji:**

Emil Kalinowski  
Zakład Chirurgii Stomatologicznej IS AM  
ul. Nowogrodzka 59, paw. XI  
02-006 Warszawa  
tel.: +48 22 502 12 42  
e-mail: e-mil@post.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 12.12.2003 r.  
Po recenzji: 12.01.2004 r.  
Zaakceptowano do druku: 14.04.2004 r.

Received: 12.12.2003  
Revised: 12.01.2004  
Accepted: 14.04.2004