



Raziskovalna naloga

**KEMIJA NASMEHA – PRIMERJAVA
PROTIBAKTERIJSKEGA UČINKA ZOBNIH PAST
S FLUORIDI IN BREZ FLUORIDOV**

Raziskovalno področje: INTERDISCIPLINARNO (BIOLOGIJA IN KEMIJA)

Avtorici: Zoja Kos, Živa Sukič

Mentorica: Tadeja Zver, prof. kem. in bio.

Murska Sobota, marec 2024

ZAHVALA

Za raziskovalno nalogo gre posebna zahvala mentorici gospe Tadeji Zver, prof. kem in bio., ki nama je pri delu zelo pomagala in brez nje zagotovo ne bi uspeli narediti tako obsežne in zanimive naloge. Ob tem sva prejeli še veliko dodatnega znanja. Še enkrat se ji lepo zahvaljujema za podporo in pomoč pri delu.

Zahvala gre tudi gospe Nataši Titan, prof. teh. in bio., za pomoč s področja biologije in napotkih ob izvedbi metode difuzijskega antibiograma. Posebej se zahvaljujema tudi ravnatelju gospodu Alešu Benku, ki nam je omogočil nabavo vseh potrebnih materialov za izvedbo praktičnih del in poskusov. Zelo hvaležni sva tudi gospe Marini Radić, dr. dent. med., ki je s svojim znanjem dala dodatno vrednost raziskovalni nalogi. V določenih pogledih nama je bila v veliko pomoč.

Iskreno se zahvaljujema tudi gospe Aniti Šinko, za opravljeno lekturo, usmeritve in komentarje.

POVZETEK

Lep in zdrav nasmeh lahko dosežemo z uporabo kvalitetne zobne paste. Na tržišču je veliko zobnih past različnih cenovnih razredov in z različno vsebnostjo fluoridov. Pogosto se pojavi vprašanje, katero izbrati?

Z našo raziskovalno nalogo smo želeli ugotoviti, katera zobna pasta je najbolj učinkovita pri zmanjševanju bakterij v ustni votlini in kakšne so njene sestavine. Za določanje antibakterijske učinkovitosti smo uporabili metodo difuzije na trdem gojišču z difuzijskimi antibiogrami in zbrane podatke analizirali. Zobne paste s fluoridi so se izkazale za učinkovitejše kot zeliščne zobne paste, ki so brez fluoridov.

Ugotovili smo, da cene zobnih past ne vplivajo na njihovo protibakterijsko učinkovitost. Glede na ugotovljeno, bi priporočali uporabo zobnih past, ki vsebujejo kombinacijo fluoridov in drugih protibakterijskih sredstev.

Ključne besede: zobna pasta, difuzijski antibiogram, fluoridi, protibakterijska sredstva

ABSTRACT

A beautiful and healthy smile can be achieved by using quality toothpaste. There are many toothpastes on the market in different price ranges and different fluoride content. The question often arises, which one to choose?

With our research paper, we wanted to find out which toothpaste is the most effective in reducing bacteria in the oral cavity and what its ingredients are. To determine the antibacterial efficiency, we used the diffusion method on a hard culture medium with diffusion antibiograms and analyzed the collected data. Toothpastes with fluoride have been shown to be more effective than herbal toothpastes that do not contain fluoride.

We have found that the prices of toothpastes do not affect their antibacterial effectiveness. Based on the findings, we would recommend using toothpastes that contain a combination of fluorides and other antibacterial agents.

Keywords: toothpaste, diffusion antibiogram, fluorides, antibacterial agents

KAZALO VSEBINE

POVZETEK.....	3
ABSTRACT	4
1 UVOD	8
1.1 Namen naloge.....	8
1.2 Raziskovalna vprašanja.....	8
1.3 Hipoteze	8
2 TEORETIČNI DEL	9
2.1 Bakterije v ustni votlini.....	9
2.1.1 Zobna gniloba ali karies.....	9
2.1.2 Bakterije, ki sodelujejo pri zobni gnilobi	11
2.1.3 Preprečevanje zobne gnilobe	14
2.2 Zobne paste	14
2.2.1 Fluoridi	16
2.2.2 Protibakterijska sredstva.....	17
3 EMPIRIČNI DEL	20
3.1 Materiali	20
3.1.1 Vzorci zobnih past.....	20
3.1.2 Kemikalije.....	21
3.1.3 Laboratorijski pribor.....	21
3.1.4 Aparature	21
3.2 Metode dela	22
3.2.1 Aseptična priprava delovne površine in materiala ter pravila aseptičnega dela	22
3.2.2 Priprava gojišča	22
3.2.3 Izolacija bakterij s površine zob.....	24
3.2.4 Difuzijski antibiogram.....	24
3.2.5 Metoda odčitavanja difuzijskega antibiograma	26
3.2.6 Intervju kot metoda zbiranja podatkov.....	26
4 REZULTATI IN UGOTOVITVE	27
4.1 Kontrola sterilnosti gojišč	27
4.2 Primerjava antibakterijske učinkovitosti zobnih past s fluoridi in zeliščnih zobnih past, brez fluoridov	27
4.3 Primerjava antibakterijske učinkovitosti zobnih past in njihovih cen	30
5 ZAKLJUČEK	32

6 VIRI IN LITERATURA.....	33
7 PRILOGE	35

KAZALO SLIK

Slika 1: Zobni ovoj – demineralizacija	10
Slika 2: Prikaz nastanka zobne gnilobe	10
Slika 3: Nastajanje zobnega kamna ali kariesa	11
Slika 4: Zobna votlina- prikaz posledic zobne gnilobe	12
Slika 5: Mikroskopski videz streptokokov, obarvanih po Gramu	13
Slika 6: Kemijska formula natrijevega lavril sulfat (SLS)	17
Slika 7: Kemijska formula steviol glikozida	17
Slika 8: Kemijska formula glukoze oksidaze	18
Slika 9: Kemijska formula ksilitola	18
Slika 10: Prelivanje agarja na pripravljene petrijevke	23
Slika 11: Strjevanje agarja na sterilni površini ob plinskem gorilniku	22
Slika 12: Nanašanje bakterij na hranilni agar	24
Slika 13: Difuzijski antibiogram zobnih past s fluoridi pred inkubacijo.	25
Slika 14: Difuzijski antibiogram zeliščnih zobnih past pred inkubacijo	25
Slika 15: Intervju z zobozdravnico	26
Slika 16: Inhibicijske cone zobnih past s fluoridi (1. ponovitev, 2. ponovitev, 3. ponovitev)	28
Slika 17: Inhibicijske cone zeliščnih zobni past (1. ponovitev, 2. ponovitev, 3. ponovitev)	28

KAZALO TABEL

Tabela 1: Seznam najpogostejših sestavin v zobnih pastah	15
Tabela 2: Protibakterijske sestavine v izbranih zobnih pastah	20
Tabela 3: Povprečni premer inhibicijskih con za posamezno vrsto zobnih past	27
Tabela 4: Izmerjene vrednosti premera inhibicijskih con izbranih zobnih past	35

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Povprečni premer inhibicijskih con zobnih past s fluoridi in brez fluoridov	29
Graf 2: Primerjava inhibicijskih con izbranih zobnih past in njihovih cen	30

1 UVOD

Recept za čudovit nasmeh in zdrave zobe je sestavljen iz naslednjih sestavin: zobna pasta, zobna ščetka in pravilna ustna higiena, od katerih je najbolj pomembna zobna pasta.

Na trgu je veliko različnih zobnih past, zato je tudi izbiranje najučinkovitejše lahko velik zalogaj. Večina jih uporablja dvakrat na dan, nekateri celo trikrat, se pa najdejo tudi tisti, ki na žalost na svojo ustno higieno pomislijo samo enkrat na dan. Konstantno vzdrževanje ustne higiene je izjemno pomembno in tudi izbira dobre zobne paste ima velik vpliv na celotno oralno zdravje. Zobne paste namreč vsebujejo številne protibakterijske sestavine, ki uničujejo bakterije in nam zagotavljajo zdrave zobe in lep nasmeh. Verjamemo, da se velika večina uporabnikov zobne paste ne obremenjuje z njihovimi sestavinami in jih kupujejo naključno po občutku. Zato smo se letos odločile, da to področje natančneje raziščemo in posledično tudi drugim pomagamo pri izbiranju najboljše zobne paste.

1.1 Namen naloge

Namen naše raziskovalne naloge je bil ugotoviti in primerjati protibakterijsko delovanje različnih zobnih past in njihovih sestavin. Primerjali smo običajne zobne paste (s fluoridi) in zeliščne zobne paste (brez fluoridov) različnih cenovnih razredov.

1.2 Raziskovalna vprašanja

Z raziskavo smo želeli odgovoriti na naslednja vprašanja:

1. Ali imajo zobne paste s fluoridi večji protibakterijski učinek kot zeliščne zobne paste?
2. Ali je cena zobne paste pokazatelj njene učinkovitosti?

1.3 Hipoteze

1. Zobne paste s fluoridi imajo večji protibakterijski učinek kot zobne paste brez fluoridov.
2. Dražje zobne paste bolj učinkovito delujejo proti bakterijam.

2 TEORETIČNI DEL

2.1 Bakterije v ustni votlini

Ustna votlina ima za črevesjem drugo največjo in najbolj raznoliko mikrobioto, v kateri živi več kot 700 vrst bakterij. V njem se razvijajo številni mikroorganizmi, kot so bakterije, glive, virusi in praživali. Ustna votlina z različnimi nišami je izjemno zapleten življenjski prostor, kjer mikrobi kolonizirajo trde površine zob in mehka tkiva ustne sluznice. Poleg tega, da je ustni mikrobiom začetna točka prebave, je ključnega pomena za ohranjanje zdravja ustne votline in sistema. (Deo, P. N., & Deshmukh, R., 2019)

Na ustno floro vpliva tudi sprememba hrane, sanacija zob, slaba ustna higiena, pa tudi pravilno čiščenje zob. (Dragaš, 1996)

2.1.1 Zobna gniloba ali karies

Zobno gnilobo (imenovano tudi karies) povzročajo bakterije v zobnih oblogah, sladka hrana in pijača ter pomanjkljiva ustna higiena, kar lahko vodi v poškodbo zob in povzroči veliko bolečine, lahko pa celo izgubo zoba.

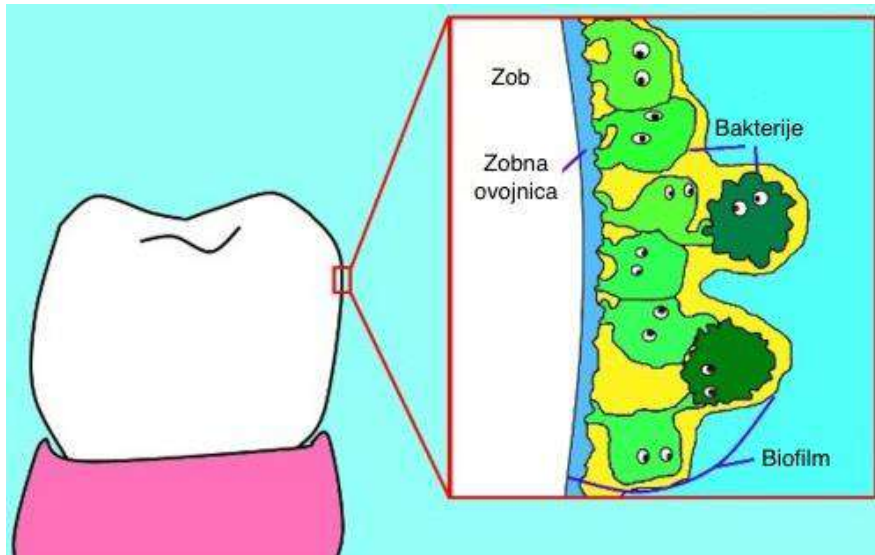
Zobna gniloba je danes veliko manj pogosta kot pred nekaj desetletji. To je predvsem posledica boljše ustne higiene in uporabe zobnih past s vsebnostjo fluoridov.

(Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG), 2006)

Karies nastane, če se ob zadostnem substratu mikroorganizmi dalj časa zadržujejo na zobu. Pri bakterijski presnovi substrata (hrana, sladkor) nastajajo kisline, ki topijo trda zobna tkiva, ta proces pa imenujemo demineralizacija. (Dragaš, 1996)

Zobna gniloba je pogosto posledica kombinacije treh stvari: zobne obloge, slabe ustne higiene in prekomernega uživanja sladkorja. Zobna obloga prekriva zobe kot film, ki je sestavljen iz bakterij, sline in delcev hrane. Kadar bakterije razgradijo delce hrane in sladkor v njih, se na površini zob tvori kislina. Če zob ne čistimo ali zdravimo, se lahko zgodi, da kislina napade sklenino, ki prekriva zobe, in jih tako počasi uničuje. Bakterije, ki povzročajo zobno gnilobo, se namreč lahko širijo tudi s slino.

(Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG), 2006)

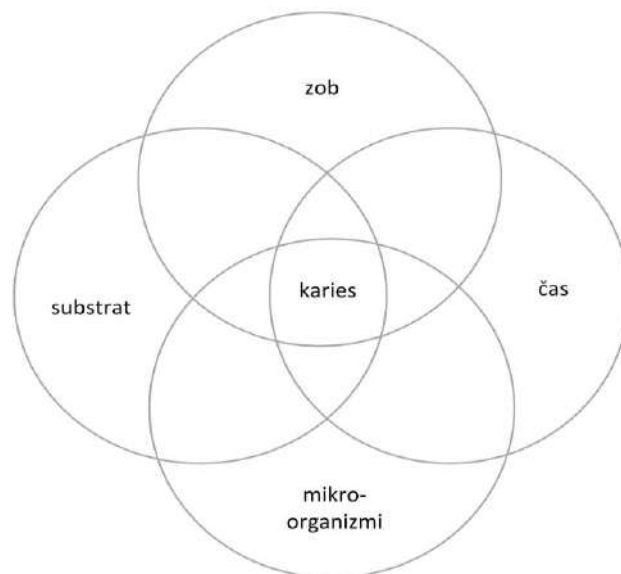


Slika 1: Zobni ovoj – demineralizacija

(<https://quizlet.com/782780196/flashcards?funnelUUID=a20465af-98c2-47bf-a846-23b87da65a45>)

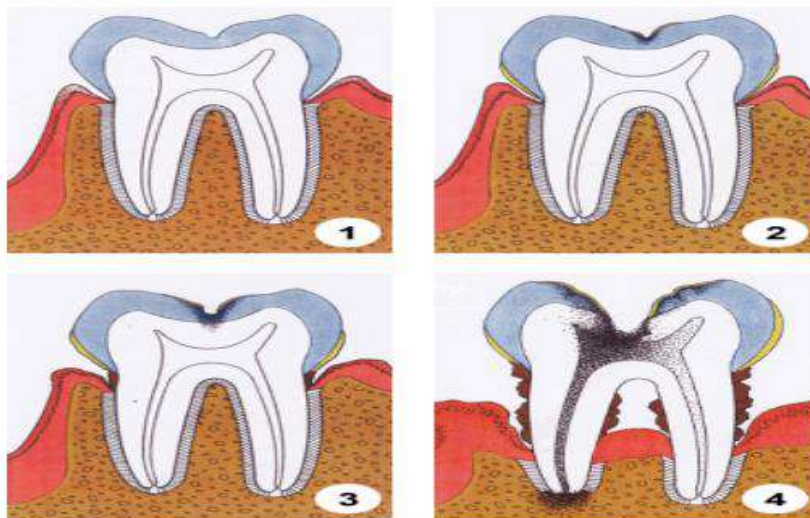
Na nastanek zobne gnilobe vplivajo štirje vzročni dejavniki:

1. zob,
2. mikroorganizmi (bakterije),
3. substrat (hrana – sladkor),
4. čas.



Slika 2: Prikaz nastanka zobne gnilobe (Weber, 2011)

Zobna gniloba ne nastane, če manjka eden od naštetih dejavnikov. (Weber, 2011)



Slika 3: Nastajanje zobnega kamna ali kariesa
(https://www.gelam.lv/en/teeth_diseases/karies/index.html)

Faza 1: Začetna demineralizacija

Zunanjo plast zoba tvori sklenina, najtrše tkivo v človeškem telesu, sestavljeno predvsem iz mineralov. Izpostavljenost kislinam, ki jih proizvajajo bakterijske obloge na zobeh, povzroča postopno izgubo mineralov v sklenini. Posledično se lahko na površini zoba pojavi bela lisa, ki predstavlja začetno stopnjo zobne razgradnje, imenovane kariozni proces. (Larson J., 2020)

Faza 2: Razpad sklenine

Če se proces zobne karioze nadaljuje, se sklenina še dodatno degradira. Opazi se lahko, da bela lisa na površini zoba postopoma prehaja v rjavkasto barvo. Oslabljena sklenina lahko vodi v nastanek drobnih votlin v zobeh, znanih kot kariozne lezije ali zobni karies. Ti defekti se običajno zdravijo s plombiranjem pri zobozdravniku.



Slika 4: Zobna votlina- prikaz posledic zobne gnilobe
(<https://www.singhsmilecare.com/how-long-can-a-tooth-cavity-go-untreated/>)

Faza 3: Razpad zobovine

Dentin (zobovina) je tkivo, ki se nahaja pod sklenino, je manj trden in zato tudi bolj občutljiv na poškodbe. Zaradi te lastnosti se zobna karioza hitreje razvija, ko doseže dentin.

Faza 4: Poškodba pulpe

Zobna pulpa, najbolj notranja plast zoba, je območje, kjer se nahajajo živci in krvne žile, ki skrbijo za vitalnost zoba. Živčna vlakna v pulpi so odgovorna tudi za to, da zobu dajejo občutek. Ko pride do poškodbe pulpe, lahko postane razdražena in začne nabrekati. Zaradi omejenega prostora znotraj zoba za razširitev otekline, se lahko pojavi pritisk na živčna vlakna, kar posledično povzroči bolečino.

Faza 5: Absces

Ko zobna karioza napreduje v zobno pulpo, lahko bakterije prodrejo v tkivo in povzročijo infekcijo. Povečano vnetje v notranjosti zoba lahko privede do nastanka gnojnega žepa na dnu zoba, kar imenujemo absces. Zobni abscesi lahko povzročijo intenzivne bolečine, ki se lahko širijo v čeljust. Dodatni simptomi vključujejo otekanje dlesni, obraza ali čeljusti, povišano telesno temperaturo ter otekle bezgavke v vratu. Zobni absces zahteva nujno zdravljenje, saj se lahko okužba širi na kosti čeljusti ter druge dele glave in vratu. V nekaterih primerih je potrebna odstranitev prizadetega zoba kot del terapevtskega postopka.

2.1.2 Bakterije, ki sodelujejo pri zobni gnilobi

Najpogostejše bakterije, ki sodelujejo pri zobni gnilobi, so streptokoki (slika 5).



povečava: 400x

Slika 5: Mikroskopski videz streptokokov, obarvanih po Gramu (Dragaš, 1996)

Mlada zobna obloga je sestavljena iz streptokokov, nekaj grampozitivnih (aktinomicet) bacilov ter redkih gramnegativnih kokov in nitastih bakterij.

V mladi zobni oblogi še prevladujejo streptokoki, kasneje je več nitastih oblik, ki se v stari oblogi namnožijo. Ker imajo streptokoki in aktinomicete sposobnost medsebojnega zlepljenja, nastanejo povezave oblike koruznega storža.

Streptokoki in aktinomicete izkoriščajo kisik in zmanjšujejo potencial redoks, kar v kronični fazi bolezni omogoča razmnoževanje gramnegativnih anaerobnih kokov in tudi bacilov.

Na zobeh so tudi težje dostopna mesta, kjer pelikula ostaja pogosto nedotaknjena – zastojna mesta. Na teh mestih se namnoži nekaj bakterijskih vrst, ki se vlepajo najprej v pelikulo in počasi zrastejo v mikrokolonije.

Obloga se sčasoma močno pritrdi na trdo površino zoba s snovjo, ki ji pravimo glikokaliks. To je polisaharidna prevleka, ki jo izločajo mikrobi, zlasti streptokoki. Tako nastane na trdo zobno površino močno pripeta bakterijska obloga, ki jo imenujemo zobni plak. Zobna obloga se dograjuje in debeli, saj se vanjo vlepljajo različni mikrobi.

Če je v ustnih pogosto sladka hrana, se v pritrjeni zobni oblogi pospešeno množijo kariogene bakterije – povzročitelji kariesa oz. zobne gnilobe. (Dragaš, 1996)

2.1.3 Preprečevanje zobne gnilobe

Način življenja, odnos do ustne čistoče, razvade in prehrana vplivajo na razmere, ki omogočajo nastanek zobne gnilobe in vnetij obzobnih tkiv.

Preprečevanje zobne obloge:

- pouk o zobni gnilobi,
- zmanjševanje zobnega plaka s pripravki proti zobni gnilobi
- zaviranje nastanka kislin z uživanjem hrane, ki ne vsebuje ogljikovih hidratov, ki povzročajo nastajanje kislin,
- uporaba fluoridov, ki krepijo odpornost sklenine proti kislinam.

(Dragaš, 1996)

2.2 Zobne paste

Paste za zobe so poleg zobne ščetke osnovno in najpomembnejše sredstvo za izvajanje postopkov ustne higijene. Omogočajo čiščenje dostopnih zobnih površin, hkrati pa služijo kot eno najpomembnejših sredstev za vnos fluorida. Proizvajalci pastam za zobe dodajajo tudi druge učinkovine, ki delujejo preventivno in terapevtsko. Samo čiščenje zobnih oblog skupaj z različnimi dodatki v zobnih pastah prispeva tudi k svežemu dahu. Čeprav je natančna sestava zobne paste lastna posamezni blagovni znamki, so si zobne paste po sestavi v grobem podobne.

Sestavine zobnih past lahko v grobem razdelimo na aktivne in pomožne sestavine. Aktivne sestavine so fluoridi, protibakterijska sredstva, sestavine proti nastajanju zobnega kamna, abrazivi in belila. Pomožne sestavine so voda, vlažilci, površinsko aktivne snovi, zgoščevalci, arome, sladila, barvila in konzervansi. Pregled najpogostejših sestavin in njihovih vlog je prikazan v tabeli 1.

Zobne paste so sestavljene iz abrazivov, suspendiranih v vodi in vlažilcih. V to suspenzijo so vgrajene aktivne sestavine, površinsko aktivne snovi, arome, sladila, barvila, konzervansi in druge pomožne snovi. (Grubar, D., Čok, M., 2019)

Tabela 1: Seznam najpogostejših sestavin v zobnih pastah
(Grubar, D., Čok, M., 2019)

SESTAVINE	PREDSTAVNIKI
Proti kariesu	fluorid, ksilitol, kalcijev fosfat, natrijev bikarbonat
Protibakterijska sredstva	natrijev lavril sulfat, triklosan, kovinski ioni, amiloglukozidaza, glukoza oksidaza, eterična olja, klorheksidin, propolis, aloe vera, ksilitol, stevia
Proti nastajanju zobnega kamna	kalijeve in natrijeve difosfatne soli, cinkove soli
Abrazivi in belila	natrijev hidrogenkarbonat, kalcijev karbonat, kalcijev difosfat, dikalcijev fosfat, hidratirani silicijev dioksid, dimetikon, papain
Voda in vlažilci	glicerin, sorbitol, voda, propilen glikol, aloe vera
Površinsko aktivne snovi	natrijev lavril sulfat, poloksamer 407, polietilen glikol, natrijev trifosfat, polisorbitat 20
Zgoščevalci	karagenan, ksantan gumi, hidroksi etil celuloza, natrijev polifosfat, sorbitol
Arome	mentol, eterična olja
Sladila	natrijev saharin, sukraloza, ksilitol
Barvila	titanov dioksid, umetna barvila
Konzervansi	natrijev benzoat, etil- in metilparaben

2.2.1 Fluoridi

V majhnih količinah so fluoridi prisotni v rastlinah, živalih in nekaterih naravnih vodnih virih. So aktivne sestavine, ki pomagajo krepiti zobno sklenino in preprečujejo nastanek kariesa. Da zagotovimo njihovo delovanje, moramo najprej odstraniti zobne obloge, šele nato lahko fluorid učinkuje na zobno sklenino. Pri vsem tem je pomembno, da dovolj dolgo ščetkamo zobe, za podaljšano delovanje pa se priporoča tudi, da se po končanem ščetkanju ust ne splakne z vodo.

Natrijev fluorid (NaF) je najpogostejši vir fluorida, uporabljajo se tudi kositrni fluoridi (SnF_2), olaflur (organska sol fluorida) in natrijev monofluorofosfat ($\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$). Na trgu EU je skupno dovoljenih 20 različnih fluoridnih učinkovin. Dokazano je, da je kositrov fluorid učinkovitejši od natrijevega fluorida pri zmanjševanju pojavnosti zobnega kariesa in nadziranju gingivitisa, vendar povzroča nekoliko več površinskih madežev. Vsebnost fluoridov v zobnih pastah na EU trgu močno varira in se giblje med 250 in 1500 ppm. Klinične raziskave podpirajo uporabo zobnih sredstev z visoko vsebnostjo fluorida, saj je bilo ugotovljeno, da zmanjšujejo količino nabranih plakov in število bakterij ter krepijo zobno sklenino. Koncentracije pod 1000 ppm naj ne bi delovale preventivno. Vendar se pri formiranju zobne paste ne sme pozabiti na neželene stranske učinke, ki jih lahko povzroči previsoka vsebnost fluoridov.

Največja nevarnost pri fluoriranih zobnih pastah se lahko pojavi pri zaužitju. 15 mg na kilogram telesne teže naj bi bila letna količina za odraslo osebo, pri otrocih pa je toksičnih že 5 mg/kg telesne teže. To pomeni približno 33 g zobne paste s 1500 ppm fluorida pri 10 kg težkem otroku. Priporočeno je, da naj najvišja dnevna količina zaužitega fluorida pri otrocih ne presega 0,07 mg fluorda na kg telesne teže, kar je približno 0,3 g zobne paste s 1500 ppm fluorida. Za odrasle je najvišja priporočena dnevna količina zaužitega fluorida 10 mg (6,6 g zobne paste s 1500 ppm fluorida). Za izogibanje previsokih vrednosti fluorida pri otrocih, se priporoča uporaba zobnih past z manj kot 1000 ppm fluorida, lahko pa se v primerno manjših količinah uporabljajo tudi zobne paste s 1500 ppm.

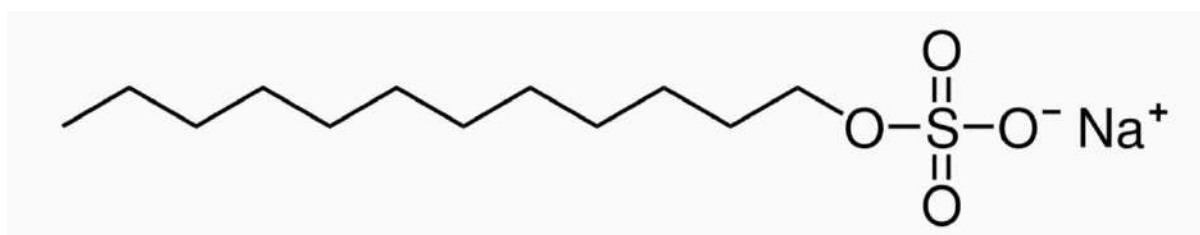
Bakterije se po kontaktu s fluoridi slabše prilepijo na gladko zobno površino. Prav tako nekatere študije pravijo, da so fluoridi strupeni za bakterije in zmanjšujejo njihovo število bolj kot v resnici spreminjajo topnost kristalne strukture. (Grubar, D., Čok, M., 2019)

2.2.2 Protibakterijska sredstva

Natrijev lavril sulfat (SLS)

Natrijev lavril (SLS), je organska spojina, sintetizirana s kemijsko formulo $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SO}_4\text{Na}$. Je anionska površinsko aktivna snov (kar pomeni površinsko aktivna snov), ki se uporablja v številnih izdelkih za pranje perila in ustno higieno. Vsebuje 12-ogljikovo zaporedje, vezano na sulfatno skupino. Je tudi emulgator in penilno sredstvo, ki se običajno uporablja v kozmetiki in industrijskih čistilih. SLS najdemo v številnih zobnih pastah.

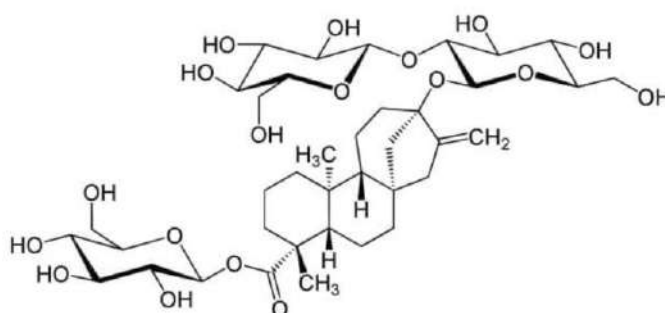
(Sodium lauryl sulfate information's, b. d.)



Slika 6: Kemijska formula natrijevega lavril sulfata (SLS)
(<https://labsaco.com/sodium-lauryl-sulphate-informations/>)

Steviol glikozid (Steviol glycoside)

Stevia naravno sladilo na rastlinski osnovi. To je izvleček, pridobljen iz listov rastline *Stevia rebaudiana*, in je lahko 100 do 300-krat slajši od sladkorja. Glikozidi v rastlini stevie so se izkazali za učinkovito antibakterijsko sredstvo, ki se bori proti škodljivim bakterijam v ustni votlini. (Prescott Dentistry, 2023)

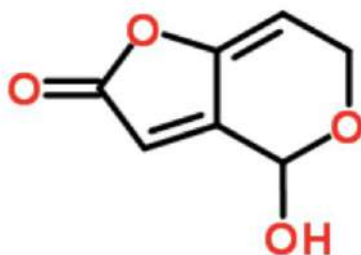


Slika 7: Kemijska formula steviol glikozida
(<https://naturalpoland.com/en/products/products-for-the-food-industry/raw-materials-for-production/stevia/>)

Glukoza oksidaza (Glucose oxidase)

Encim, ki se pogosto uporablja v formulacijah zobnih past in podpira naravni encimski proces, ki obravnava škodljive bakterije in spodbuja proizvodnjo sline, usklajuje ustno floro in izboljšuje slab zadah.

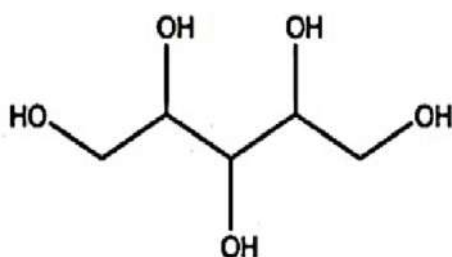
(Glucose Oxidase, b. d.)



Slika 8: Kemijska formula glukoze oksidaze
(https://www.chemsrc.com/en/cas/9001-37-0_1197678.html)

Ksilitol (Xylitol)

Ksilitol pomaga sladkati zobno pasto in jo narediti bolj okusno. Vendar pa za razliko od tradicionalnega sladkorja ne prispeva k zobni gnilobi. Pravzaprav lahko pomaga preprečevati zobni karies in izboljšati zdravje zob. (Sherrell, 2024)



Slika 9: Kemijska formula ksilitola
(https://www.researchgate.net/figure/Chemical-formula-flat-structure-of-xylitol_fig1_345415941)

Eterična olja

Aktivne naravne sestavine in eterična olja so posebej izbrana za občutljiva in suha usta ter ljudi s ponavljajočimi težavami v ustih. Imajo izreden preventivni učinek in pomagajo pri ohranjanju normalne ustne sluznice. (Medicinalis+ Oraflongo® zobna pasta, b. d.)

Eterična olja v zobni pasti niso dobrodošla le zaradi osvežilne note, temveč skupaj s ščetkanjem in zobno nitko pomagajo proti zobnim oblogam in vnetju dlesni. (Alma P., 2016)

Eterična olja so aromatične hlapljive spojine, ki jih najdemo v različnih delih rastlin. Listi, cvetje, lubje, semena, smola, popki, korenine je le nekaj rastlinskih delov, iz katerih se z različnimi postopki pridobi eterično olje. Vendar pa vsaka rastlina ne proizvaja eteričnega olja, manj kot 5% vseh rastlinskih vrst ima to zmožnost. (Eterična olja, b. d.)

3 EMPIRIČNI DEL

3.1 Materiali

3.1.1 Vzorci zobnih past

Vzorke smo pridobili v različnih trgovinah in imajo različne proizvajalce. Izbrali smo štiri zobne paste s fluoridi in štiri zeliščne zobne paste, ki so brez fluoridov. Sestavine, ki delujejo protibakterijsko, so prikazane v tabeli 2.

Tabela 2: Protibakterijske sestavine v izbranih zobnih pastah

Vrsta zobne paste	Cena (EUR)	Prisotnost fluoridov (ppm)	Protibakterijska sredstva
Parodontax	9,32	1400	steviol glikozid
Sensodyne	9,05	1450	/
Aquafresh	3,19	1450	natrijev lavril sulfat, eterična olja mete, materine dušice, majarona, rožmarina, poprove mete
Colgate	3,59	1450	natrijev lavril sulfat
Natura Siberica	4,49	0	izvlečki sibirskih zelišč
Weleda	7,05	0	eterična olja poprove in zelene mete, izvleček kamilice in mire
L'angelica	4,39	0	ksilitol, eterično olje kamilice, izvleček matche
Organic shop	3,99	0	eterično olje poprove mete, izvleček listov stvie

3.1.2 Kemikalije

- agar (Biolife),
- pepton (Biolife),
- destilirana voda,
- fiziološka raztopina,
- razpršilo za dezinfekcijo rok,
- 70 % alkohol.

3.1.3 Laboratorijski pribor

- čaša, 500 ml,
- steklena palčka,
- petrijevke,
- plutovrt,
- vatirane palčke.

3.1.4 Aparature

- tehtnica,
- plinski gorilnik.

3.2 Metode dela

3.2.1 Aseptična priprava delovne površine in materiala ter pravila aseptičnega dela

Vse mikrobiološke preiskave moramo opraviti aseptično. To pomeni, da s kužnino ali kulturami mikroorganizmov delamo tako, da:

- pazimo, da mikroorganizmov ne razširjamo, ker s tem ogrožamo sebe in druge,
- onemogočimo dostop mikroorganizmom iz okolja, ki bi kontaminirali naše kulture in tako povzročili napačne rezultate poskusov.

Pravila aseptičnega dela:

- steklovina, predmeti, pripomočki za delo in gojišča za gojenje mikroorganizmov morajo biti sterilni,
 - okna in vrata so med delom zaprta,
 - delamo ob plamenu plinskega gorilnika,
 - gojišč ne puščamo odprtih,
 - delovno površino redno čistimo z razkužili,
 - med delom nosimo zaščitno obleko ter skrbimo za redno umivanje in razkuževanje rok.
- (Božič, Predin in Trehtar, 2006)

3.2.2 Priprava gojišča

Raztopili smo 8 g agarja v prahu v 350 ml destilirane vode. Dodali žličko peptona in nastalo zmes segrevali do 100 °C. Na ta način smo zagotovili sterilnost naših gojišč. Agar smo aseptično natočili v petrijevke (40 ml na petrijevko) in ga pustili, da se ohladi.



Slika 10: Prelevanje agarja na pripravljene petrijevke
(Murska Sobota. 28. Februar 2024. Foto: Živa Sukič)



Slika 11: Strjevanje agarja na sterilni površini ob plinskem gorilniku
(Murska Sobota. 28. Februar 2024. Foto: Živa Sukič)

3.2.3 Izolacija bakterij s površine zob

Na spodnji strani petrijevke smo označili mesta, kamor smo v enakomernih razdaljah nanegli različne zobne paste. Nato smo vatirano palčko pomočili v fiziološko raztopino. S tako pripravljeno vatirano palčko smo naredili bris zob in s tem brisom narahlo vijugali po hranilnem agarju. Ves postopek smo ponovili še enkrat, tako da smo drugi bris nanegli pravokotno na prvega.



Slika 12: Nanašanje bakterij na hranilni agar
(Murska Sobota, 28. Februar 2024. Foto: Zoja Kos)

3.2.4 Difuzijski antibiogram

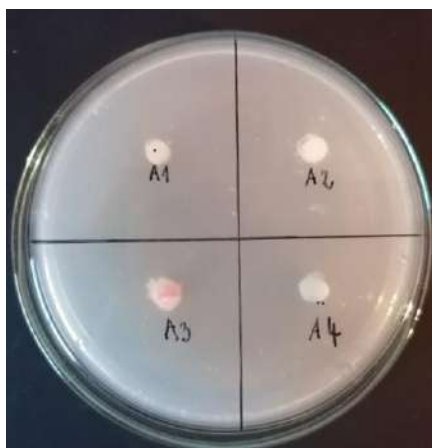
Difuzijski antibiogram je način ugotavljanja odpornosti bakterij proti antibiotikom ali kakšnim drugim sredstvom, ki jih preučujemo. Antibiotična sredstva naneseemo na agarno ploščo, kjer smo pred tem namestili bakterije. Okoli mesta nanosa se pojavi območje, ki ga imenujemo inhibicijska cona. Tam bakterije niso zrasle. Premer inhibicijske cone izmerimo z ravnilom. Sredstvo, ki ima največjo inhibicijsko cono, je najbolj učinkovito pri uničevanju določene vrste bakterij. (Kemija v medicini: Mikroorganizmi v/na vsakodnevnih predmetih in difuzijski antibiogram, 2020)

Priprava difuzijskih antibiogramov

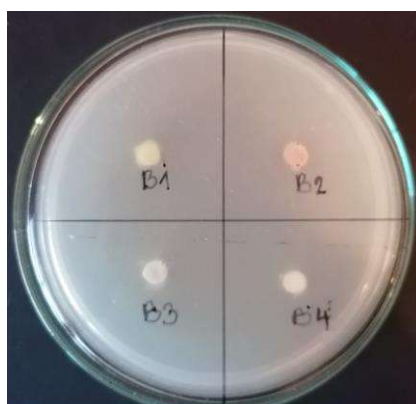
V okužena gojišča smo s sterilnim plutovrtom iz nerjavečega jekla naredili štiri vdolbinice premera 5 mm in vanje z vatirano palčko nanesli določene vrste zobnih past. V prvo gojišče smo nanesli štiri vrste zobnih past s fluoridi, označili smo jih od A1 do A4, kot je razvidno iz slike 13. V drugo gojišče smo nanesli štiri vrste zeliščnih zobnih past, brez fluoridov, označenih od B1 do B4 kot prikazuje slika 14. Za vsak antibiogram smo naredili tri ponovitve.

Da smo se prepričali o sterilnosti uporabljenega materiala (gojišč, fiziološke raztopine, steklovine, plutovrta), smo izvedli kontrolni test. V hranilni agar smo naredili vdolbinico in enakomerno razlili fiziološko raztopino po površini.

Tako pripravljena gojišča smo inkubirali 48 ur pri sobni temperaturi.



Slika 13: Difuzijski antibiogram zobnih past s fluoridi pred inkubacijo
Legenda: (A1) Parodontax, (A2) Sensodyne, (A3) Aquafresh, (A4) Colgate
(Murska Sobota. 29. Februar 2024. Foto: Živa Sukič)



Slika 14: Difuzijski antibiogram zeliščnih zobnih past pred inkubacijo
Legenda: (B1) Natura Siberica, (B2) Weleda, (B3) L'angelica, (B4) Organic shop
(Murska Sobota. 29. Februar 2024. Foto: Živa Sukič)

3.2.5 Metoda odčitavanja difuzijskega antibiograma

Po inkubaciji okoli zobne paste nastane inhibicijska cona, v kateri se bakterije ne razvijejo. Premer inhibicijske cone izmerimo z ravnilom. Posamezni zobni pasti smo premer izmerili trikrat. Nato smo iz vseh meritev za eno zobno pasto izračunali povprečni premer inhibicijske cone za posamezno vrsto zobne paste. Zobna pasta, ki ima največji premer inhibicijske cone, je najbolj učinkovita pri uničevanju bakterij.

3.2.6 Intervju kot metoda zbiranja podatkov

Med izdelovanjem naše raziskovalne naloge, smo se večkrat vprašali, kako na oralno zdravje gledajo zobozdravniki, ki so na tem področju specializirani. Opravili smo intervju z zobozdravnico. Intervju je priložen v prilogi.



Slika 15: Intervju z zobozdravnico (levo: Živa Sukič, na sredini: Marina Radič, dr. dent. med., desno: Zoja Kos, osebna komunikacija. Murska Sobota. 1. marec 2024)

4 REZULTATI IN UGOTOVITVE

4.1 Kontrola sterilnosti gojišč

Po inkubaciji se na kontrolnem gojišču niso razvile bakterije, kar pomeni, da je bil uporabljen material ustrezno steril.

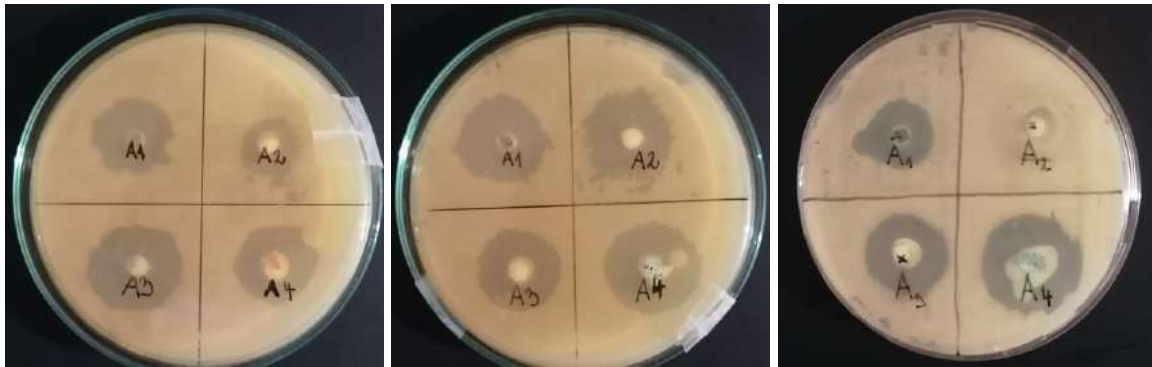
4.2 Primerjava antibakterijske učinkovitosti zobnih past s fluoridi in zeliščnih zobnih past, brez fluoridov

Po končani inkubaciji smo z ravnilom izmerili premere inhibicijskih con, ki so nastale okoli zobnih past. Podatki za vsako izmerjeno inhibicijsko cono so priloženi v prilogi pod tabelo 4. Nato smo za vsako zobno pasto izračunali povprečni premer inhibicijske cone, kot je razvidno iz tabele 3.

Tabela 3: Povprečni premer inhibicijskih con za posamezno vrsto zobnih past

Vrste zobnih past	Premeri inhibicijskih con (mm)			
	1. ponovitev (mm)	2. ponovitev (mm)	3. ponovitev (mm)	Povprečje (mm)
Parodontax (F)	13,6	17	13,6	14,8
Sensodyne (F)	13	17	8,7	12,9
Aquafresh (F)	17,6	15,6	15,6	16,3
Colgate (F)	15,7	17,7	18,7	17,4
Natura Siberica (BF)	0	0	0	0
Weleda (BF)	0	0	0	0
L'angelica (BF)	13,3	12,6	12	12,6
Organic shop (BF)	11,7	12,3	10,7	11,6

Legenda: F (vsebuje fluoride), BF (brez fluoridov)

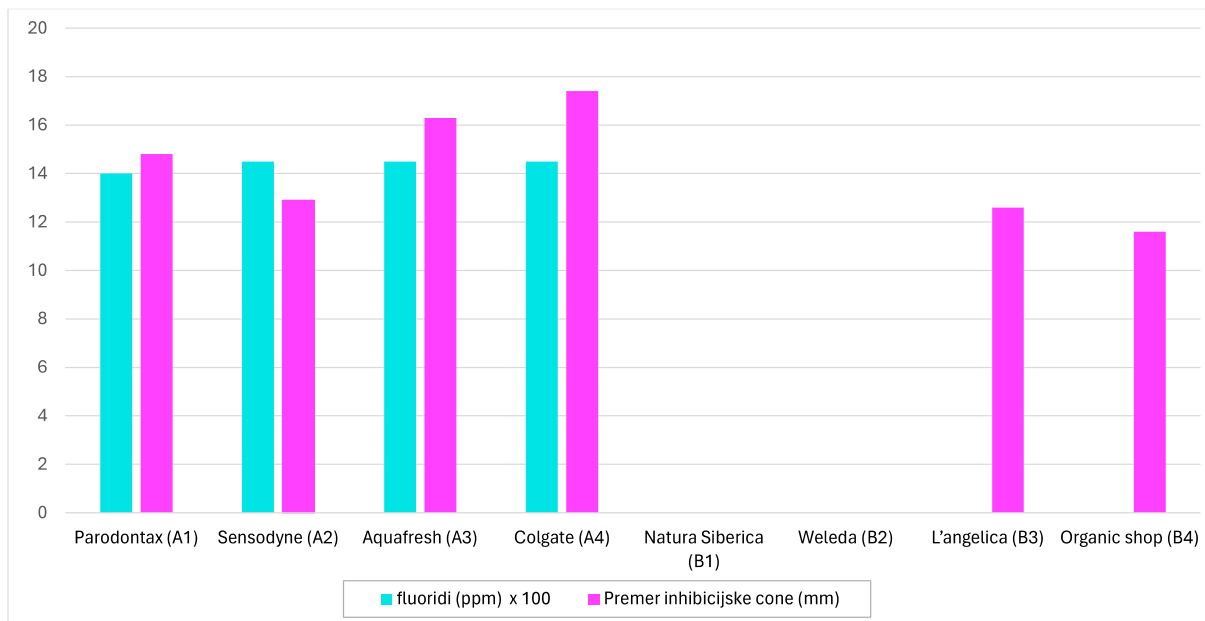


Slika 16: Inhibicijske cone zobnih past s fluoridi (1. ponovitev, 2. ponovitev, 3. ponovitev)
 Legenda: A1(Parodontax), A2 (Sensodyne), A3 (Aquafresh), A4 (Colgate)
 (Murska Sobota. 29. Februar 2024. Foto: Živa Sukič)



Slika 17: Inhibicijske cone zeliščnih zobni past (1. ponovitev, 2. ponovitev, 3. ponovitev)
 Legenda: B1(Natura Siberica), B2 (Weleda), B3 (L'angelica), B4 (Organic shop)
 (Murska Sobota. 29. Februar 2024. Foto: Živa Sukič)

Graf 1: Povprečni premer inhibicijskih con zobnih past s fluoridi in brez fluoridov



Iz grafa 1 je razvidno, da imata zobni pasti Colgate (A4) in Aquafresh (A3) največji premer inhibicijske cone, kar pomeni, da imata najboljši protibakterijski učinek. Ti dve zobni pasti vsebujeta kombinacijo fluorida in natrijevega lavril sulfata (SLS). Natrijev lavril sulfat je sredstvo za penjenje, ki ima tudi nekaj protimikrobnih učinkov. Fluoridi v visoki koncentraciji učinkujejo bakteriocidno in bakteriostatično.

Sledi jima zobna pasta Parodontax (A1), kar pomeni da je manj učinkovita kot zobni pasti Colgate (A4) in Aquafresh (A3). Zobna pasta Parodontax (A1) vsebuje poleg fluorida protibakterijsko sredstvo imenovano steviol glikozid. Steviol glikozid je naravno sladilo, pridobljeno iz listov južnoameriške rastline *Stevia rebaudiana*, ki dokazano zavira rast in razmnoževanje bakterij, ki povzročajo boleznin dlesni in zobno gnilobo.

Precej manjši premer inhibicijske cone ima zobna pasta Sensodyne (A2), kar pomeni da je najmanj učinkovita med zobnimi pastami, ki vsebujejo fluoride. Zobna pasta Sensodyne (A2) vsebuje fluorid, medtem ko protibakterijska sredstva niso prisotna.

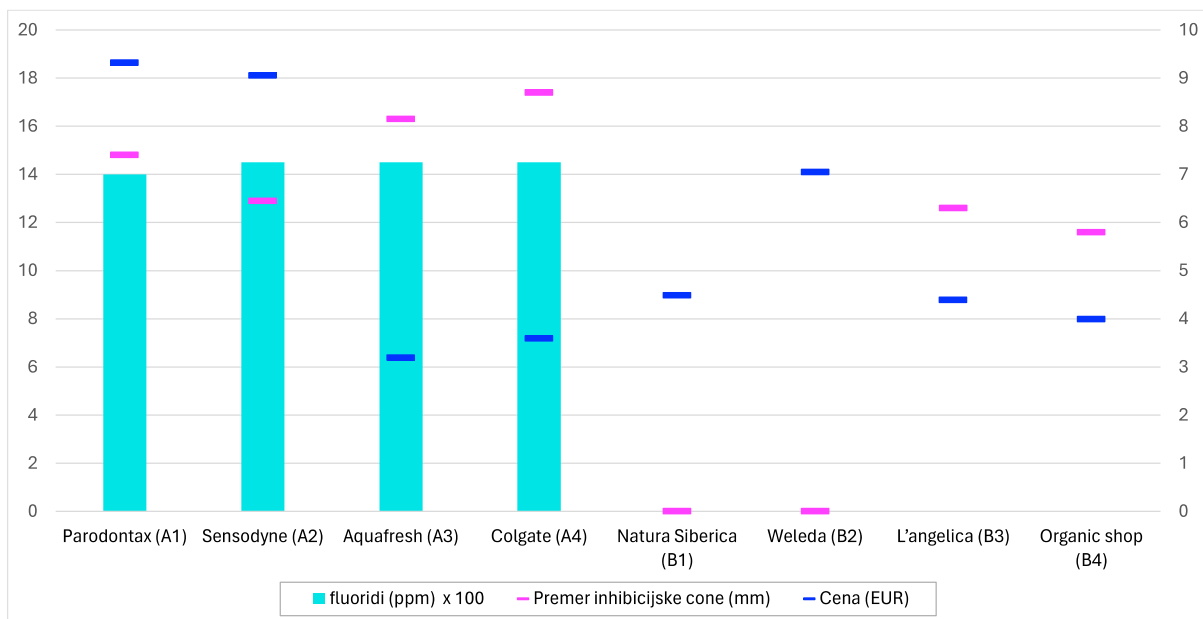
Najmanjši premer imata zeliščni zobni pasti L'angelica (B3) in Organic shop (B4), kar pomeni, da sta bistveno manj učinkoviti kot zobne paste s fluoridi. Zobna pasta L'angelica (B3) vsebuje mešanico eteričnih olj in ksilitola. Ksilitol je sladkorni alkohol, ki ima dobre protibakterijske lastnosti. Zobna pasta Organic shop (B4) pa je sestavljena iz kombinacije eteričnih olj in steviol glikozida.

Zobni pasti Natura Siberica (B1) in Weleda (B2) nista razvili inhibicijskih con, kar pomeni da nista učinkoviti proti bakterijam v ustni votlini, ti dve vsebujeta le eterična olja, brez drugih protibakterijskih sredstev.

Rezultati kažejo, da je protibakterijska učinkovitost povezana s prisotnostjo fluoridov v kombinaciji z drugimi protibakterijskimi sredstvi. Kot najbolj učinkovita se je izkazala mešanica fluorida in natrijevega lavril sulfata. Sledi ji kombinacija fluorida in steviol glikozida. Manj učinkovita je mešanica eterični olj in drugih protibakterijskih sredstev, kot sta steviol glikozid in ksilitol. Protibakterijsko neučinkovite so zobne paste, ki vsebujejo le eterična olja.

4.3 Primerjava antibakterijske učinkovitosti zobnih past in njihovih cen

Graf 2: Primerjava inhibicijskih con izbranih zobnih past in njihovih cen



Iz grafa 2 je razvidno, da se najslabše razmerje med ceno in učinkovitostjo pojavi pri zobnih pastah Weleda (B2) in Natura Siberica (B1)

Rezultati potrjujejo, da je razmerje med ceno in učinkovitostjo slabo tudi pri zobnih pastah Parodontax (A1) in Sensodyne (A2).

Ugodno razmerje med ceno in učinkovitostjo sta pokazali zeliščni zobni L'angelica (B3) in Organic shop (B4).

Zobni pasti Aquafresh (A3) in Colgate (A4) sta cenovno ugodni in hkrati imata velik premer inhibicijske cone. Iz tega zaključujemo, da sta zelo učinkoviti pri zmanjševanju bakterij iz ustne votline. Razmerje med njuno ceno in učinkovitostjo je najboljše.

Skozi naše raziskovanje smo ugotovili, da ni jasne korelacije med ceno zobne paste in njeno protibakterijsko učinkovitostjo. V našem okolju je prodajni asortiment premajhen, da bi lahko z gotovostjo ugotovili, da obstaja povezava med ceno in kvaliteto zobne paste.

5 ZAKLJUČEK

Cilj raziskovalne naloge je bil ugotoviti in primerjati protibakterijsko učinkovitost različnih zobnih past in njihovih sestavin glede na njihovo ceno na slovenskem trgu. Primerjali smo zobne paste s fluoridi ter zeliščne zobne paste, brez fluoridov.

Z uporabo raziskovalne metode difuzije na trdem gojišču smo prišli do različnih ugotovitev, s katerimi lahko potrdimo ali ovržemo naše hipoteze. Na podlagi rezultatov, ki so pokazali večji povprečni premer inhibicijske cone – območje, kjer se bakterije ne morejo razmnoževati, smo prvo hipotezo potrdili. Kar pomeni, da so zobne paste s fluoridi bolj učinkovite proti bakterijam v ustni votlini kot zeliščne zobne paste, brez fluoridov.

Naša druga hipoteza je bila, da so dražje zobne paste bolj učinkovite v boju z bakterijami. Ugotovili smo, da cena nima vpliva na protibakterijsko učinkovitost zobne paste in smo zato na podlagi raziskanega hipotezo ovrgli.

Iz rezultatov lahko sklepamo, da je najbolj protibakterijsko učinkovita in hkrati cenovno ugodna zobna pasta sestavljena iz kombinacije fluorida in protibakterijskega sredstva imenovanega natrijev lavril sulfat (SLS). Na slovenskem trgu je to zobna pasta Colgate (A4).

Ker nas je zanimalo tudi mnenje stroke, smo opravili intervju z zobozdravnico. Iz njenih odgovorov smo povzeli, da so bile naše hipoteze pravilno postavljene.

Za nadaljnje raziskave bi bilo smiselno primerjati protibakterijske učinke zobnih past, ki vsebujejo različne koncentracije fluoridov ter različne vrste fluoridov.

6 VIRI IN LITERATURA

Alma P. (2016). *Naredite naravno zobno pasto kar sami!* Pridobljeno 25. marec 2024 s <https://www.aamori.com/si/blog/naredite-naravno-zobno-pasto-kar-sami/>

Božič, M., Predin, R., & Trehtar, M. (2024). *Mikrobiologija: delovni zvezek za mikrobiološke vaje*. DZS.

Deo, P. N., & Deshmukh, R. (2019). Oral microbiome: Unveiling the fundamentals. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 23(1), 122–128. Pridobljeno 7. april s https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_304_18

Dragaš, A. Z. (1996). *Oralna bakteriologija*. (1. izd.) DZS.

Eterična olja. (b. d.). Na majinasfera.si. Pridobljeno 2. april 2024 s <https://majinasfera.si/etericna-olja/>

Fluoridi ter njihov vpliv na naše zobe in zdravje. (2016) Na ustna-medicina.com. Pridobljeno 27. februar 2024 s <https://ustna-medicina.com/dentopedia/ustna-higiena/fluoridi-ter-njihov-vpliv-na-nase-zobe-in-zdravje/>

Glucose Oxidase. (b. d.). Na [dermastore.co.za](https://www.dermastore.co.za). Pridobljeno 5. april s <https://www.dermastore.co.za/shop/key-ingredients/glucose-oxidase/>

Grubar, D., Čok, M. (2019). ZDRAVA usta za zdravo telo : zbornik predavanj : 27. strokovni seminar, 5. 4.-6. 4. 2019 Grand hotel Primus, Terme Ptuj / Ljubljana : Sekcija medicinskih sester in zdravstvenih tehnikov v zobozdravstvu, 2019

Institute for Quality and Efficiency in Health Care (IQWiG). (2006). *Tooth decay: Overview*. Na [InformedHealth.org](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279514/). Posodobljeno: 27. Februar 2020. Pridobljeno 30. marec 2024 s <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279514/>

Jenko, N. (2012). *Oralno zdravje devetošolcev - študija primera = Oral health of nine-graders - a case study* [[N. Jenko]]. <https://repositorij.upr.si/IzpisGradiva.php?id=10952>

Kemija v medicini: Mikroorganizmi v/na vsakodnevnih predmetih in difuzijski antibiogram. (2020). Pridobljeno 6. aprila s spletne strani Institut Jožef Stefan: http://tehnologije.ijs.si/wp-content/uploads/2020/06/STEM4YouthKemijavMedicini_SI_final_dijaki.pdf

Larson J. (2020) *The Stages of Tooth Decay: What They Look Like*. Pridobljeno 1. april 2024 s <https://www.healthline.com/health/dental-and-oral-health/tooth-decay-stages>

Medicinalis+ Orafligo® zobna pasta. (b. d.). Na *panakea.net*. Pridobljeno 25. marec 2024 s <https://panakea.net/izdelek/medicinalisoraflogo-zobna-pasta/>

Pravilna izbira zobne paste. (b. d.). Na *prvalekarna.com*. Pridobljeno 27. februar s <https://www.prvalekarna.com/blog-posts/clanki-seznam/pravilna-izbira-zobne-paste>

Prescott Dentistry. (2023). *Is Stevia as Good for Your Teeth as Xylitol?* Pridobljeno 5. april 2024 s <https://prescottdentistry.com/is-stevia-good-for-teeth/#:~:text=Stevia%20is%20sugar%2Dfree%20and%3A&text=Non%2Dacidogenic%2E2%80%94it%20doesn',not%20contribute%20to%20gum%20disease>

Sherrell, Z. (2024). *Xylitol Toothpaste – Benefits, Effects & Best Products*. Pridobljeno 3. april 2024 s <https://www.newmouth.com/blog/xylitol-toothpaste/>

Sodium lauryl sulfate information's (b. d.). Na *labsaco.com*. Pridobljeno 2. april 2024 s <https://labsaco.com/sodium-lauryl-sulphate-informations/>

Svoljšak Mežnaršič, I. (2017). *Kozmetični izdelki: učbenik za modul Kozmetični izdelki v izobraževalnem programu Kozmetični tehnik* (2. natis). Grafenauer.

Weber, M. (2011). *Zobna profilaksa v tretjem tisočletju: smernice za zobno zdravje: osnovno znanje o preprečevanju kariesa in ustni higieni* (1. izd.). Mohorjeva.

Zobni karies. (2023). Na *estetika-milosevic.si*. Pridobljeno 27. februar 2024 s <https://www.estetika-milosevic.si/karies/>

7 PRILOGE

Tabela 4: Izmerjene vrednosti premera inhibicijskih con izbranih zobnih past

Vrste zobnih past	Premeri inhibicijskih con (mm)			
	1. ponovitev	2. ponovitev	3. ponovitev	Povprečen premer
Parodontax	14	16	13	14,8
	14	17	14	
	13	18	14	
Sensodyne	14	18	9	12,9
	13	16	9	
	12	17	8	
Aquafresh	18	16	15	16,3
	18	15	16	
	17	16	16	
Colgate	16	17	19	17,4
	16	18	18	
	15	18	19	
Natura Siberica	0	0	0	0
Weleda	0	0	0	0
L'angelica	14	13	12	12,6
	13	12	11	
	13	13	13	
Organic shop	11	12	11	11,6
	12	12	10	
	12	13	11	

INTERVJU

Za potrebe raziskovalne naloge KEMIJA NASMEHA – PRIMERJAVA PROTIBAKTERIJSKEGA UČINKA ZOBNIH PAST S FLUORIDI IN BREZ FLUORIDOV, prosim odgovorite na sledeča vprašanja.

Ime in priimek, poklic: **MARINA RADIČ, dr. dent. med.**

1. Katere so najpomembnejše sestavine učinkovite zobne paste?

Najpomembnejša sestavina zobne paste je fluorid, ki pripomore k temu, da zobe zaščiti pred zobno gnilobo oz. kariesom. Priporočamo, da zobna pasta tudi ne vsebuje alkohola.

2. Ali je samo zobna pasta dovolj za zdrave zobe in nasmeh?

Poleg zobne paste je zelo pomembno tudi mehansko čiščenje zob, saj z njim odstranimo večino oblog, ki se nabirajo na zobni sklenini. Po ščetkanju zobno pasto izpljunemo, vendar si po tem ustne votline z vodo ne spiramo.

3. Kaj vam predstavlja pojem oralna higiena?

Smisel oralne higiene je, da se ne ustvarijo kariogene bakterije. K temu, poleg zobne paste, pripomore tudi ščetkanje zob. Z uporabo zobne ščetke in paste iz ustne votline odstranimo ostanke hrane, na katerih bi se lahko hranile patogene bakterije.

4. Če govorimo o vrednosti fluoridov v zobnih pastah, katero vrednost bi priporočali vi?

Priporočena je najvišja koncentracija (1300–1400 ppm). Torej zobna pasta, ki vsebuje visoko vrednost fluoridov.

5. So fluoridi bolj aktivni čez dan ali ponoči?

Jutranja in večerna ustna higiena imata velik vpliv na naše ustno zdravje. Jutranje ščetkanje s pastami, ki vsebujejo fluoride, pripomorejo k temu, da se čez dan na zobeh nabere manj plaka oz. se plak težje prime na zobe, vendar je večerno umivanje zob prav tako pomembno, saj se znebimo ostankov hrane, ki so se nam nabrali v ustih čez dan.