



MIKRO- IN NANOPLASTIKA V NAŠIH USTIH?

Raziskovalna naloga

Področje: **kemija**

Avtorji: **Primož DORNIK, 2. A, Andela MALINIĆ, Sofija POVŠE, 2. B**

Mentorica: **mag. Darja Silan, prof. bio., Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana**

Somentorja: **dr. Andrej Kržan, Kemijski inštitut**

Lara Vertačnik, prof. kem., Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana

2024

Ljubljana, april 2024

Naslov naloge:

Mikro- in nanoplastika v naših ustih?

Vrsta naloge:

Raziskovalna naloga

Področje:

Kemija

Avtor naloge:

Sofija Povše, Andela Malinić, Primož Dornik

Razred:

2. B in 2. A

Mentorica:

mag. Darja Silan, prof. bio., Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana

Somentorja:

dr. Andrej Kržan (Kemijski inštitut)

Lara Vertačnik, prof. kem., Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana

Šola:

Gimnazija Jožeta Plečnika Ljubljana

Kraj in leto izdelave:

Ljubljana, 2024

KAZALO VSEBINE:

| | |
|--|----|
| POVZETEK | 5 |
| 1. UVOD | 7 |
| 1.1. MIKRO- IN NANOPLASTIKA..... | 7 |
| 1.2. ZGODOVINA ZOBNE ŠČETKE..... | 9 |
| 2. MATERIALI IN METODE | 10 |
| 2.1. ANKETA O ZOBNI HIGIENI | 10 |
| 2.2. IZBIRA ZOBNE ŠČETKE | 10 |
| 2.2.1. PBT IN DRUGI MATERIALI ZA ZOBNE ŠČETKE..... | 11 |
| 2.2.2. INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA | 13 |
| 2.3. IZDELAVA ROBOTA | 14 |
| 2.3.1. POTEK SIMULIRANEGA ŠČETKANJA | 14 |
| 2.4. MIKROSKOPIRANJE..... | 15 |
| 2.4.1. VRSTIČNO ELEKTRONSKO MIKROSKOPIRANJE..... | 16 |
| 3. REZULTATI Z DISKUSIJO | 17 |
| 3.1. REZULTATI ANKETE..... | 17 |
| 3.2. ANALIZA MATERIALOV ŠČETIN ZOBNIH ŠČETK | 19 |
| 3.3. ROBOT | 21 |
| 3.4. MIKROSKOPIRANJE..... | 21 |
| 3.4.1. SIMULACIJSKI POSKUSI..... | 21 |
| 3.4.2. ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA | 24 |
| 4. ZAKLJUČEK..... | 28 |
| 5. VIRI IN LITERATURA..... | 29 |
| 6. ZAHVALE | 32 |

KAZALO SLIK:

| | |
|---|----|
| Slika 1: Zgodovinski razvoj zobne krtačke | 9 |
| Slika 2: Kemijkska struktura polibutilen tereftalata..... | 11 |
| Slika 3:FTIR-spektrometer Perkin Elmer Spectrum 2 | 13 |
| Slika 4: Robot za izvedbo simuliranega ščetkanja..... | 14 |
| Slika 5: Tortni prikaz menjanja krtačke | 17 |
| Slika 6: Tortni prikaz količine umivanja zob | 17 |
| Slika 7: Primerjava ščetk, za katere smo analizirali material, uporabljen za ščetine | 19 |
| Slika 8: FTI- spektri ščetin zobnih krtačk s slike 7 | 19 |
| Slika 9: Posnet FTIR-spekter ščetine v poskusu uporabljene krtačke (črna barva) in referenčni spekter za PBT iz podatkovne baze (rdeča barva)..... | 20 |
| Slika 10: Optična mikrografija ščetin nove (neuporabljene) ščetke | 22 |
| Slika 11: Optična mikrografija ščetin po poskusu z drgnjenjem na keramični ploščici | 22 |
| Slika 12: Optična mikrografija ščetin kartuške iz domače uporabe..... | 23 |
| Slika 13: Konica ščetine nove krtačke pod elektronskim mikroskopom | 24 |
| Slika 14: Konica uporabljene zobne krtače pod elektronskim mikroskopom..... | 24 |
| Slika 15: Prikaz delca v dimenziiji pod 1 mikrometer | 26 |
| Slika 16: Elementna analiza delca..... | 26 |

POVZETEK

Ščetkanje zob ima bistveno vlogo pri odstranjevanju zobnih oblog in v celotni oralni higieni. Vendar se zobne ščetke začnejo obrabljati in sčasoma postanejo manj učinkovite. Zanimalo nas je, kateri delci se sproščajo ob obrabi zobnih ščetk. V ta namen smo pripravili poskus z mini robotom, s katerim smo simulirali krožno ščetkanje zob. Ugotovili smo, da so se ščetine zobnih ščetk obrabile, kar pomeni, da so se ob tem sprostili mikro- in nanoplastični delci. Izločene delce smo določili s specialno mikroskopijo.

Rezultati raziskave jasno nakazujejo, da je človek vsakodnevno izpostavljen nanoplastičnim delcem, ki zlahka vstopajo v telo, kar je v skladu s poročili o najdbi plastičnih delcev v človeški krvi, človeškem mleku in (sedaj že kar) v številnih organih. Raziskava torej jasno kaže eno od poti, kako nanoplastika pride v naše telo, in da prisotnost nanoplastike v naših telesih ne bi smela biti presenečenje.

ABSTRACT

Brushing your teeth plays an important role in plaque removal and oral hygiene. However, toothbrushes begin to wear out and become less effective over time. We were interested in what kind of particles are released when toothbrushes are processed. For this purpose, we prepared an experiment with a mini-robot that simulated circular tooth brushing. We found that the bristles of the toothbrushes are processed, which means that they released the micro and nano part of the plastic. The secreted particles were determined by special microscopy.

Research results clearly show that humans are exposed to nanoplastic parts on a daily basis, which successfully interact in the body, which is in line with reports of finding signs of plastic in human blood, human milk and (now quite a few) many organs. The research therefore clearly shows one of the ways in which nanoplastics get into our bodies and shows that the presence of nanoplastics in our bodies should not be a surprise.

NAMEN

Novejše raziskave o prisotnosti mikroplastike v našem vsakdanjem življenju so pokazale, da se tovrstni delci sproščajo ne le iz plastenki in različnih vrst embalaže, temveč tudi pri uporabi različnih pripomočkov za vsakdanjo higieno. Zanimalo nas je, ali se ti delci sproščajo tudi pri obrabljanju zobnih ščetk. Način umivanja zob in sestava ščetin vplivata na obrabo ščetke in posledično na količino odpadnih nanodelcev iz njenih ščetin. Optimalna raba zobne ščetke znaša od dva do tri mesece.

Raziskave, v katerih preiskujemo obrabo ščetk, so izredno pomembne, saj z njimi bolje razumemo potencialne učinke škodljivih dejavnikov na naše zdravje. Ravno zato smo želeli raziskati prisotnost mikroplastičnih in nanoplastičnih delcev, ki jih lahko ob vsakdanji uporabi zobne ščetke nenamerno vnesemo v naše telo.

HIPOTEZA

Hipoteza 1: Ali lahko sestavimo robota, ki simulira gibe človeške roke pri ščetkanju zob?

Hipoteza 2: Ali bo obraba ščetin zobne ščetke vidna s svetlobnim oz. elektronskim mikroskopom?

Hipoteza 3: Ali lahko določimo sproščene mikro- in nanodelce?

KLJUČNE BESEDE

mikroplastika, nanoplastika, zobne ščetke, mikroskopiranje, polibutilen tereftalat

1.UVOD

Ste se kdaj vprašali, kako je lahko vsakdanje dejanje, ki je za naše zdravje in osebno higieno obvezno, tudi škodljivo? Umivanje zob je eno najpomembnejših dejavnikov za ohranjanje ustnega zdravja. Vsekakor ne bi pričakovali, da se v tako pogosto uporabljenih izdelkih, kot je zobna ščetka, skrivajo potencialni vsiljivci. Z obrabo zobne ščetke se v ustno votlino sproščajo njihovi sestavni deli. Ti skoraj nevidni dejavniki prispevajo k širjenju mikro- in nanoplastike v našem telesu in okolju.

1.1. MIKRO- IN NANOPLASTIKA

Mikro- in nanoplastika v okolju sta v zadnjih nekaj letih postali zaskrbljujoča dejavnika predvsem zaradi potencialnih škodljivih učinkov na zdravje ljudi.

Plastični delci so povsod prisotna onesnaževala v življenjskem okolju in prehranjevalni verigi. Raziskovalci so s posebnim vzorčenjem in analitično metodo z dvojno pirolizo - plinsko kromatografijo/masno spektrometrijo dokazali prisotnost mikroplastičnih delcev v krvi. V vzorcih so našli polietilen tereftalat, polietilen in polimere stirena. Povprečje vsote merljive koncentracije plastičnih delcev v krvi je znašala $1,6 \mu\text{g}/\text{ml}$. Zaskrbljujoče meritve postavljajo vprašanja, ali taka izpostavljenost mikroplastičnim delcem pomeni tudi tveganje za zdravje (Heather A. Leslie in drugi. 2022).

Mikroplastični delci se sproščajo v okolje na dva načina, z abrazijo (primarni nastanek) in z razpadanjem večjih plastičnih delov na manjše enote zaradi raznih okoljskih dejavnikov (sekundarni nastanek).

Nanoplastika je verjetno veliko nevarnejša za žive organizme kot mikroplastika, saj je bolj razširjena in reaktivna. Potencialno lahko njeni delci dosežejo bolj oddaljene lokacije in prodrejo v žive celice, vendar dejanskih vplivov še ne poznamo.

Onesnaževanje s plastiko v sladkih vodah in na kopnem se še naprej povečuje ter ogroža zdravje ljudi in ekosistemov. Iz velikih plastičnih delcev se v dolgotrajnem procesu razgradnje formirajo vedno manjši delci.

Ti majhni plastični drobci se glede na premer razvrščajo kot:

- makroplastika nad $5000 \mu\text{m}$,
- mikroplastiko od 1 do $5000 \mu\text{m}$
- nanoplastiko pod 1 μm .

Različni ekološki dejavniki, kot so sončno sevanje, vremenski procesi in naravni encimi, pripomorejo, da plastiko v razsutem stanju spreminjajo v mikroplastiko in nato v nanoplastiko (Virender K. Sharma. 2022)

Znanstveniki so nanoplastiko umestili v kontekst globalnega onesnaževanja s plastiko. Intenzivno se poleg njenih virov raziskujejo tudi tveganja in skupne značilnosti, ki jih ima nanoplastika morda z drugimi nanomateriali v okoljskih sistemih. (Denise M. Mitrano in drugi. 2021)

Odpadna plastika v naravnem okolju je postala svetovni problem. Ogromni otoki plastičnih odpadkov v oceanih se povečujejo. Tudi na plažah v Jadranskem morju je vse več večjih in manjših plastičnih odpadkov, ki se postopno razgrajujejo v vse manjše. Izraz mikroplastika se je pojavil in uveljavil leta 2004 prav v povezavi z odpadno plastiko v morskem okolju. Poleg plavajoče platike se je veliko plastike v različnih velikostih nahaja tudi v morskih sedimentih. Stalen problem pa ostaja identifikacija teh delcev (Lavender Law.K. Thompson. R.C. 2014).

Svetovna zdravstvena organizacija (WHO) je v poročilu iz leta 2022 zbrala informacije iz različnih znanstvenih raziskav mikroplastičnih delcev po vsem svetu. Ugotavljajo, da se je število poročil o prisotnosti mikroplastičnih delcev (MP) v okolju v zadnjih nekaj letih znatno povečalo. Raziskovalci so jih našli v zraku, vodi, zemlji, hrani in pijači, kar kaže na to, da je izpostavljenost ljudi tem delcem prisotna povsod.

Vnos MP-delcev v dihala je zelo dinamičen in odvisen od njihove velikosti, oblike, gostote in kemijske sestave površine ter vplivajo na njihovo odlaganje v alveolarnih predelih pljuč. Poročali so o zaužitju MP v različnih živilih, vključno z ribami in morskimi sadeži, soljo, sladkorjem, medom, rižem, mlekom in pitno vodo.

Absorbcijo MP-delcev v tkiva človeškega telesa je zelo težko natančno ovrednotiti. Tudi ocena tveganja škodljivih učinkov teh delcev za zdravje ljudi je težavna. Raziskovalci iščejo standardizirane metode, ki bi poenotile ugotavljanje prisotnosti in detekcijo teh delcev (World Health Organization. 2022).

Vir mikroplastike ni enoten in lahko izvira iz predmetov našega vsakdanjega življenja, na primer iz zobnih ščetk. Ko se zobne ščetke uporabljajo za čiščenje zob, se lahko majhni plastični ostanki in drobci neposredno ali posredno sprostijo v usta ali okolje. Ena od raziskav je tovrstne delce določala s posebno metodo ramanskega slikanja. Metoda zahteva veliko natančnost priprave in analize vzorcev. Količina sproščene mikroplastike iz zobne ščetke je ocenjena na tisoče kosov dnevno s pričakovanim nihanjem (Fang, C. in drugi. 2023).

Ozaveščenost glede prisotnosti mikroplastičnih delcev v izdelkih za osebno nego je v naši družbi zelo majhna.

1.2. ZGODOVINA ZOBNE ŠČETKE

V poklicih, kot sta medicina in zobozdravstvo, se uporablja materiali, v katerih so prisotne izredno velike količine teh delcev. Zobna ščetka je le ena od mnogih sintetičnih produktov, njeni uporabo in skrb za ustno higieno pa beležimo že iz preteklih časov. Prve zobne ščetke naj bi se pojavile v Egiptu od leta 3500 do leta 3000 pred našim štetjem. Egipčani in Babilonci so ščetine ščetke izdelovali iz vejic rastlinskega izvora, ko pa je ta iznajdba prišla do Evrope, so začeli uporabljati konjske dlake, nekateri so celo dodajali perje za mehkejši občutek. V zadnjih petindvajsetih letih pa se je kot ključni material uporabljal predvsem plastika. Po tem lahko vidimo, kako dolga pot je vodila do izdelave ščetk, ki so danes del vsakdana posameznika (The history of the toothbrush, sonicbrush. 2024).



Slika 1: Zgodovinski razvoj zobne krtačke

(https://www.researchgate.net/figure/Evolution-of-Toothbrush_fig1_339102415)

2. MATERIALI IN METODE

2.1. ANKETA O ZOBNI HIGIENI

Anketiranci: dijaki 2. B-razreda, povprečna starost 16 let

- Na koliko časa menjate zobno krtačko?
- Kolikokrat na dan si umivate zobe?
- Koliko potegov opravite pri enem pranju zob?
- Katero ščetko uporabljate?

Pri umivanju zob se posamezniki med seboj razlikujejo. Poskušali smo ugotoviti, kolikokrat si s ščetko, s krožnimi gibi potegnemo od dlesni do vrha zobne krone. Pripravili smo kratko anketo za dijake drugega letnika (starost 16 let).

Odgovori na postavljena vprašanja so nam omogočili kasnejše raziskave.

Ker si zobe povprečno umivamo 2 x na dan, smo 500 krožnih potegov z zobno ščetko pomnožili z 2 in tako dobili 1000 potegov na dan na posameznika. Za mesečni podatek smo uporabili aritmetično sredino in dva meseca združili v 60 dni. Vse skupaj nas je privedlo do 60.000 potegov. To število je bila naša prva iztočnica za nadaljnje raziskovanje.

2.2. IZBIRA ZOBNE ŠČETKE

Strokovnjaki za ustno higieno opozarjajo, da ljudje najpogosteje uporabljajo zobne ščetke s pretrdimi ščetinami, kar lahko v kombinaciji s premočnim pritiskom med ščetkanjem zob povzroči nastanek mikroranic v ustih, skozi katere nato vstopajo bakterije. Da bi se temu izognili, je priporočeno uporabiti mehko zobno ščetko s finimi, gostimi ščetinami in kratko glavo. Ščetko je treba po vsaki uporabi tudi dobro osušiti. Zobno ščetko je treba menjati na tri mesece (Najpogostejše napake pri umivanju zob. ABC-zdravja. 2024).

Na podlagi teh priporočil in ankete med dijaki smo se odločili, da bomo testirali zobne ščetke Curaprox s 3960 super soft ščetinami. Proizvajalec je to vrsto vlaken poimenoval CUREN®. Ta vlakna vpijajo vodo šestkrat počasneje kot poliamidne ščetine, zato ohranijo svojo prvotno strukturo, tudi ko so mokra. To omogoča uporabo veliko finejših vlaken (0,10 mm), ki

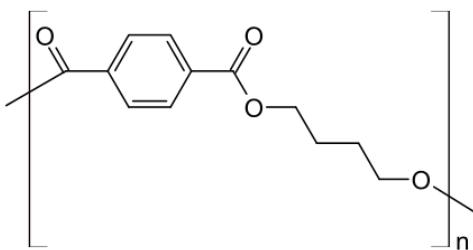
zagotavljajo nežnejše in učinkovitejše čiščenje. Druga značilnost ščetin CUREN® je, da se prilagajajo anatomiji zob, ne da bi jih poškodovale tudi pri najmočnejšem pritisku (The perfect filaments. *Vital* 3, 42. 2006). (Opis zobne krtačke Curaprox 3960 super soft, Curaprox.)

Vlakna teh zobnih krtačk so narejena iz termoplastičnega poliestra polibutilen tereftalat (ime po IUPAC nomenklaturi poli (oksi-1,4-butandiiloksikarbonil-1,4-fenilenkarbonyl), ki se ga označuje s kratico PBT).

Na uporabljenih zobnih krtačkah so bile vse ščetine enake vrste in enake dolžine, kar je omogočalo enakomeren stik z ravno podlago, s katero smo v poskusu simulirali površino zob.

2.2.1. PBT IN DRUGI MATERIALI ZA ZOBNE ŠČETKE

Polibutilen tereftalat (PBT) je semikristaliničen termoplastični poliester sintetiziran iz 1,4-butanola in tereftalne kisline.



Slika 2: Kemijska struktura polibutilen tereftalata

Je izjemno odporen na topila in ima odlične mehanske lastnosti ter je primeren za uporabo do 150 °C (tališče ima pri 233 °C). Po zgradbi je podoben materialu polietilen tereftalat, ki ga uporabljamo za proizvodnjo plastenk, a ima malenkost manjšo trdnost, je bolj prožen in ima boljšo udarno trdnost, zato je primernejši za proizvodnjo ščetin za zobne krtačke. Tako ščetine dlje časa ohranijo svojo obliko. Zaradi navedenih lastnosti so lahko ščetine iz PBT tanjše in s tem nežnejše za uporabo.

PBT je odporen na kemikalije, kar je pomembno, saj se zobne ščetke pogosto uporabljajo s fluoridnimi pastami in ustnimi vodami. PBT-ščetine so mehkejše od drugih materialov, kar zagotavlja nežno čiščenje zob in dlesni. Zaradi svoje gladkosti lahko PBT-ščetine učinkoviteje odstranijo obloge brez poškodb zobne sklenine. Ščetke iz PBT so pogosto bolj elastične, kar omogoča boljši stik s površino zuba in medzobnimi prostori. Ta material je okolju prijaznejši, saj se lažje reciklira kot nekateri drugi plastični materiali. Proizvodnja PBT-ščetin je manj energijsko zahtevna v primerjavi z nekaterimi drugimi plastičnimi materiali. Ščetine so zelo

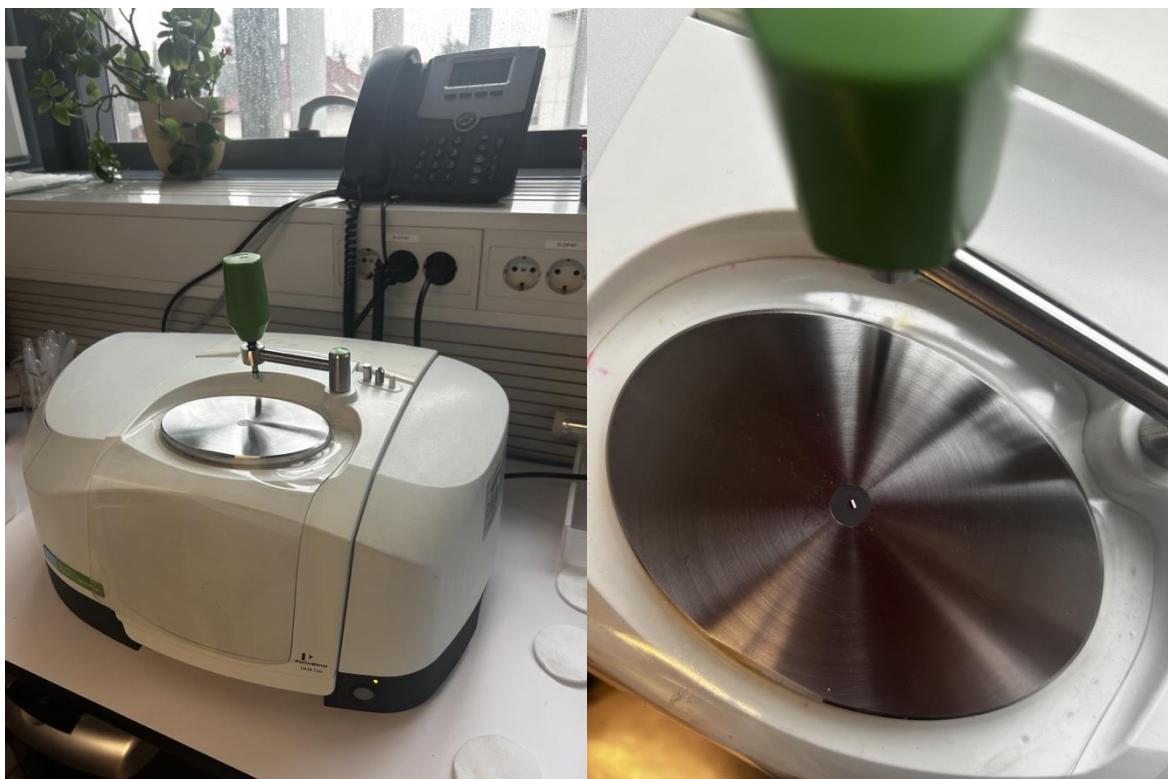
goste in s tem omogočajo temeljito čiščenje med zobmi. ([Polybutylene Terephthalate \(PBT\) Material Guide & Properties Info \(specialchem.com\).2024](#)) (Polibutilen tereftalat (PBT). Wikipedia. 2024)

Poleg PBT se za proizvodnjo ščetin za zobne krtačke uporablja različne vrste poliamidov – ti materiali so izjemno odporni, vendar se navzamejo več vode in se pri uporabi zmehčajo. Cenejše zobne krtačke uporabljajo tudi ščetine iz polipropilena, ki je mehansko manj odporen material.

Sestavo ščetin zobnih ščetk Curaprox in drugih zobnih krtačk različnih proizvajalcev smo analizirali z infrardečo spektroskopijo.

2.2.2. INFRARDEČA SPEKTROSKOPIJA

Za poskus je pomembno, iz kakšnega materiala so narejene ščetine zobne ščetke, zato smo to analizirali z infrardečo spektroskopijo z uporabo metode ATR na spektrometu Perkin Elmer Spectrum 2. V metodi poteče analiza absorbkcije infrardeče svetlobe v materialu. Vsak material absorbira specifične valovne dolžine, kar je razvidno iz spektra. Na osnovi spektra lahko ugotovimo prisotnost funkcionalnih skupin v materialu, na osnovi katere ugotovimo vrsto materiala. V praksi to poteka s primerjavo posnetega spektra neznanega materiala s spektri znanih materialov v podatkovni bazi.

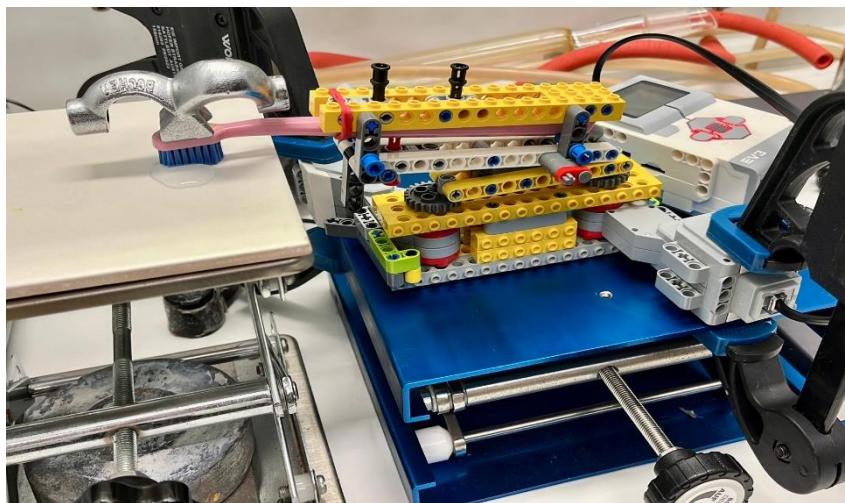


Slika 3:FTIR-spektrometer Perkin Elmer Spectrum 2

Na desni je v sredini viden kristal, skozi katerega poteka meritev. Poleg uporabljene krtačke smo preverili tudi materiale v nekaj drugih ščetkah.

2.3. IZDELAVA ROBOTA

Za približek človeške roke smo uporabili mini robota, ki simulira krožne gibe, tako da drgne ščetko ob podlago. Robota poganjata dva Lego Mindstorms EV3-motorja. Motorja vodi pametna EV3-kocka s programom, v katerem je točno določeno število obratov. Število obratov se sproti beleži tudi na zaslonu kocke. Zaradi majhne osnovne kapacitete baterije te kocke, ki vse skupaj poganja, smo jo priklopili na omrežje s pomočjo napajalnika (da smo znižali napetost, ta mora biti namreč približno 7.4 V). Roka je sestavljena iz Lego Technic kock, prikazana je na spodnjem 3D-modelu, ki je dostopen tudi na povezavi (<https://skfb.ly/oRy6s>).



Slika 4: Robot za izvedbo simuliranega ščetkanja

Vidne so vertikalno nastavljive mizice, keramična ploščica, postavitev ščetke, utež na ščetki in majhna količina destilirane vode, kjer poteka drgnjenje. Med poskusom je bila ploščica pokrita z aluminijsko folijo.

Ročko robota smo obtežili z namenom simulacije sile človeške roke na zobno ščetko. Za podlago, na katero pritiska zobna ščetka, smo uporabili anorganske podlage, ki so podobne površini zob in ne motijo kasnejše analize. Uporabili smo dve keramični ploščici in dno laboratorijske terilnice.

2.3.1. POTEK SIMULIRANEGA ŠČETKANJA

V robota je bila vstavljen ščetka, ki je bila vpeta s tremi premičnimi elementi in dodatno z elastiko. Na glavo ščetke smo z dvostranskim lepilnim trakom pritrيلي kovinsko utež (125 gramov). Površina in robot sta se nahajala na višinsko prilagodljivih mizicah. Pred začetkom poskusa smo anorganski substrat za drgnjenje približali ščetki, da je bila v stiku, ki še ni

deformiral ščetin. Pazili smo, da je bila celotna površina ščetke v stiku s podlago oz. da sta bili površini substrata in ščetin vzporedni. Pred pričetkom poizkusa smo dodali destilirano vodo, njen namen je realistično simulirati uporabo ščetke ter da delci, ki nastanejo med ščetkanjem, ostanejo v vodni suspenziji. Dodajali smo minimalno količino vode, ki je znašala do 5 mililitrov (ml). Med poskusi je voda postopoma izparevala in čez noč se je ščetka popolnoma posušila. Med potekom poskusa je bilo področje ščetkanja vedno prekrito z aluminijasto folijo, da smo preprečilo kontaminacijo s prašnimi delci iz okolja. Celotna postavitev poskusa je bila v digestoriju, ki je bil stalno zaprt in v katerem smo ugasnili pretok zraka, da bi preprečili kontaminacijo s prahom iz zraka.

2.4. MIKROSKOPIRANJE

Vzorce smo pred poskusi in po njih pregledali pod mikroskopom. Za manjše povečave smo uporabili optični mikroskop. Optična mikroskopija ni omogočala natančnega opazovanja delcev, manjših od deset mikronov. Za večje povečave in določitev večjih delcev smo uporabili vrstični elektronski mikroskop.

Optično mikroskopiranje smo izvedli na digitalni stereolupi Leica DMS 1000 s kodiranim objektivom. Mikrografije so bile obdelane v programu LAS. Na optičnem mikroskopu je povečava do 300-kratna.

Za detekcijo in determinacijo morebitnih mikro- in nanodelcev, sproščenih iz zobnih krtač, smo uporabili mikroskop.

2.4.1. VRSTIČNO ELEKTRONSKO MIKROSKOPIRANJE

Elektronsko mikroskopiranje je bilo opravljeno na elektronskem mikroskopu Apreo 2S proizvajalca Thermo Fischer, ki je opremljen s serijo detektorjev za različna opazovanja in ima največjo resolucijo pod 1 nanometer (nm). Povečava na njem je lahko 20 000-kratna. Poleg funkcije mikroskopiranja omogoča tudi EDX-elementno analizo področja ali izbrane točke. Z elementno analizo lahko preverimo sestavo materiala na opazovani točki, s čimer lahko potrdimo, kakšen material opazujemo. V našem primeru je bilo to pomembno za potrditev, ali so opazovani delci iz plastike oz. ali izvirajo iz keramične podlage.

Vzorce za elektronsko mikroskopiranje smo pripravili na sledeči način: Na dvostranski lepilni trak iz ogljika smo nanesli posamične ščetine, ki smo jih izrezali iz ščetke. Pri tem se nismo dotikali konic ščetin. Delce smo prenesli na lepilni trak, tako da smo se z lepilnim trakom dotaknili suhe keramične površine, po kateri smo drgnili ščetko.

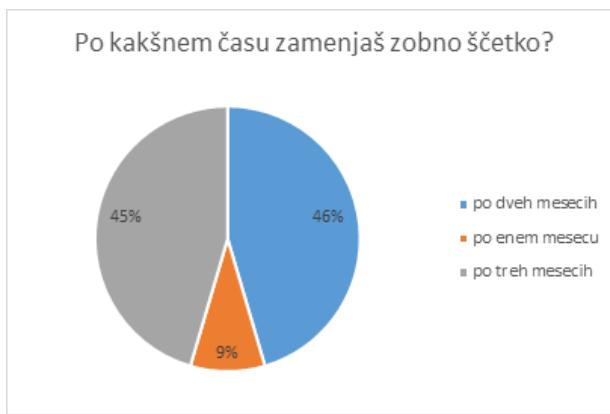
Vzorci so bili potem vakumsko oplaščeni s parami platine. Za elektronsko mikroskopiranje je izjemno pomembno, da so vzorci električno prevodni, zato se uporablja prevoden nosilec (ogljik) in tanko kovinsko oplaščenje.

3. REZULTATI Z DISKUSIJO

3.1. REZULTATI ANKETE

1. Na koliko časa menjate zobno krtačko?

Največ glasov je potrdilo, da menjavo ščetk opravijo po dveh mesecih, zato smo našo raziskavo prilagodili dvomesečni dobi, kar prikazuje slika 5.



Slika 5: Tortni prikaz menjanja krtačke

2. Kolikokrat na dan si umivate zobe?

Večina je odgovorila, da zobe umivajo dvakrat na dan, kot prikazano na sliki 6.



Slika 6: Tortni prikaz količine umivanja zob

3. Koliko potegov opravite pri enem pranju zob?

Pri tem vprašanju smo opravili analizo odgovorov in izračunali povprečno število potegov posameznika. To nam je omogočilo pridobiti konkreten podatek o tem, koliko potegov posameznik v povprečju izvede, in sicer naši izračuni so prikazali 500 povprečnih potegov.

4. Katero ščetko uporabljate?

Zaradi najpogostejšega odgovora uporabe Curaprox ščetk, smo se tudi mi odločili za raziskavo uporabiti prav te.

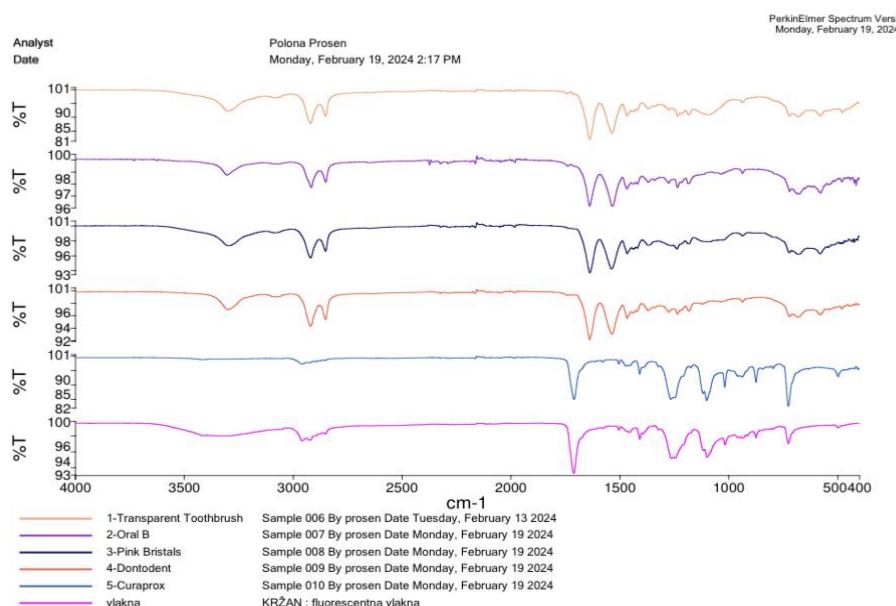
Ob pregledu odgovorov v hitri anketi smo ugotovili, da si zobe povprečno umivamo 2 x na dan. Pri tem z zobno ščetko napravimo povprečno 500 krožnih potegov. Če si zobe umijemo vsaj 2 x dnevno, to pomeni približno 1000 potegov z zobno ščetko na dan. Za mesečni podatek smo uporabili aritmetično sredino in dva meseca združili v 60 dni. Vse skupaj to pomeni približno do 60.000 potegov – gibov oz. obratov robova v naših poskusih. To število je bilo naša prva iztočnica za nadaljnje raziskovanje.

3.2. ANALIZA MATERIALOV ŠČETIN ZOBNIH ŠČETK

Materiali za izdelavo ščetk so poslovna skrivnost in niso vedno navedeni na deklaraciji izdelka. S poskusom smo želeli raziskati vrsto materiala, iz katerega so narejene ščetine v ščetkah, ki smo jih uporabili v poskusih. Dodatno nas je zanimalo, ali so vse zobne ščetke iz enakih materialov ali so si med seboj različni. Naključno smo izbrali šest različnih zobnih ščetk (prikazane na sliki 7) in jih analizirali z infrardečo spektroskopijo z uporabo metode ATR na spektrometru Perkin Elmer Spectrum 2 (FTIR).



Slika 7: Primerjava ščetk, za katere smo analizirali material, uporabljen za ščetine

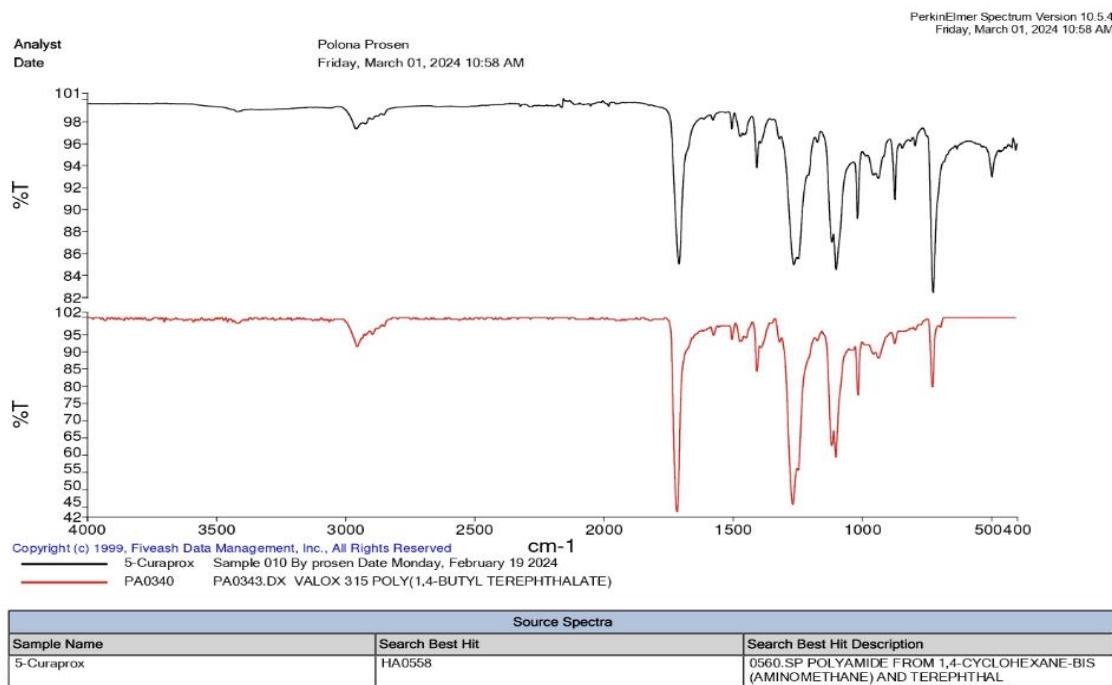


Slika 8: FTI-spektri ščetin zobnih krtačk s slike 7

Posneti spektri (slika 8) so pokazali, da so imele ščetke od 1 do 4 ščetine iz poliamida 6/12 (je vrsta sintetičnega polimera), ostali dve (5 in 6) pa PBT. Ščetki 5 in 6 sta različna modela

proizvajalca Curaprox. Enega od teh modelov (tip Ultrasoft 3960) smo uporabljali v naslednjih poskusih.

Analiza potrjuje informacijo o materialu za ščetine (PBT), ki nam jo je posredoval proizvajalec.



Page 1

Slika 9: Posnet FTIR-spekter ščetine v poskušu uporabljene krtačke (črna barva) in referenčni spekter za PBT iz podatkovne baze (rdeča barva)

Slika 9 prikazuje ujemanje med posnetim spektrom in referenčnim spektrom za PBT iz podatkovne baze. Sestavo ščetin smo dodatno preverili s primerjavo dobljenega spektra PBT z referenčnim PBT. To potrjuje, da gre za material PBT. V spektru je jasno viden močan absorpcijski trak pri približno 1700 cm^{-1} , značilen za estrsko vez (PBT je poliester.).

3.3. ROBOT

Za približek človeški roki smo uporabili mini robota, ki simulira krožne gibe, tako da drgne ščetko ob podlago. Robota poganjata dva Lego Mindstorms EV3-motorja. Motorja vodi pametna EV3-kocka s programom, v katerem lahko točno določimo število obratov. Število obratov se sproti beleži tudi na zaslonu kocke. Zaradi majhne osnovne kapacitete baterije te kocke, ki vse skupaj poganja, smo jo priklopili na omrežje s pomočjo napajalnika (da smo znižali napetost, ta mora biti namreč približno 7.4 V). Roka je sestavljena iz Lego Technic kock.

Zaradi preproste sestave robota in velike obremenitve (do 5000 obratov na uro) je prišlo občasno do nekoliko neenakomernega gibanja ščetke, kar pa nam je uspelo približati vsakdanjemu ščetkanju zob.

3.4. MIKROSKOPIRANJE

3.4.1. SIMULACIJSKI POSKUSI

TESTIRANJE POVRŠIN ZA DRGNJENJE

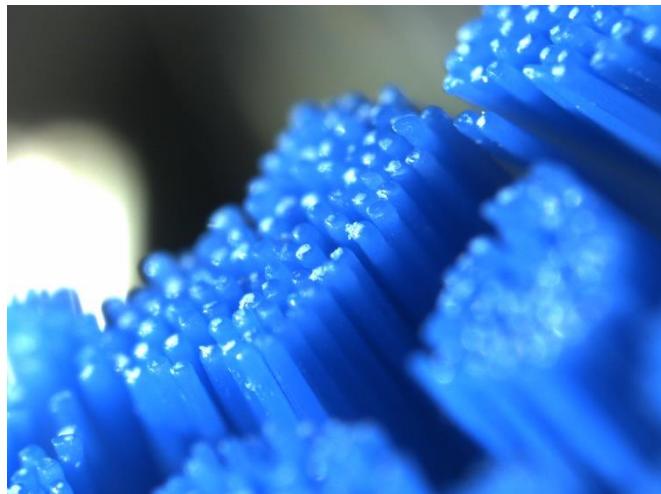
Simulacijo ščetkanja zob z robotom smo izvedli s tremi zobnimi ščetkami. Pri prvih dveh ščetkah je robot gibe simuliral na keramični ploščici z relativno gladko površino, tretjo ščetko pa smo preskusili na zunanji strani laboratorijske keramične terilnice z nekoliko bolj grobo površino.

Poskus na obeh keramičnih ploščicah kljub velikemu številu gibov (nad 60.000) pri pregledu z optičnim mikroskopom ni vodil do nastanka delcev. Namenoma smo uporabili ščetke s temnomodrimi ščetinami, da bi lažje detektirali nastanek delcev. Optično mikroskopiranje omogoča opazovanje delcev do velikosti nekaj mikrometrov.

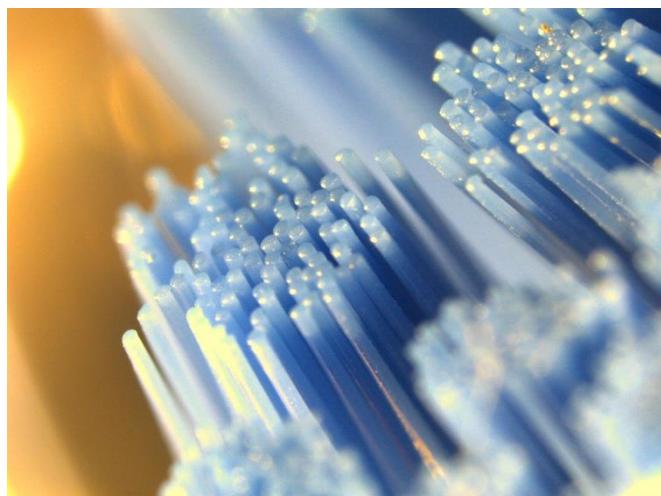
Tretji poskus smo opravili na malenkost bolj grobi površini keramične laboratorijske terilnice. Po več kot 60.000 gibih z zobno krtačko z rdečimi ščetinami smo na področju drgnjenja jasno opazili madež rdeče barve. Pregled madeža z optičnim mikroskopom je nakazoval delce, vendar so bili premajhni, da bi jih lahko s to metodo jasno karakterizirali. Menimo, da je zaradi bolj grobe površine, ki jo je nudila terilnica, povečana abrazija ščetin do te mere, da so bili obarvani delci vidni tudi s prostim očesom.

ANALIZA OBLIKE KONIC ŠČETIN ZOBNE ŠČETKE

Z optično mikroskopijo smo si ogledali konice ščetin nove krtačke in krtačke, ki smo jo drgnili po keramičnih ploščicah.



Slika 10: Optična mikrografija ščetin nove (neuporabljene) ščetke

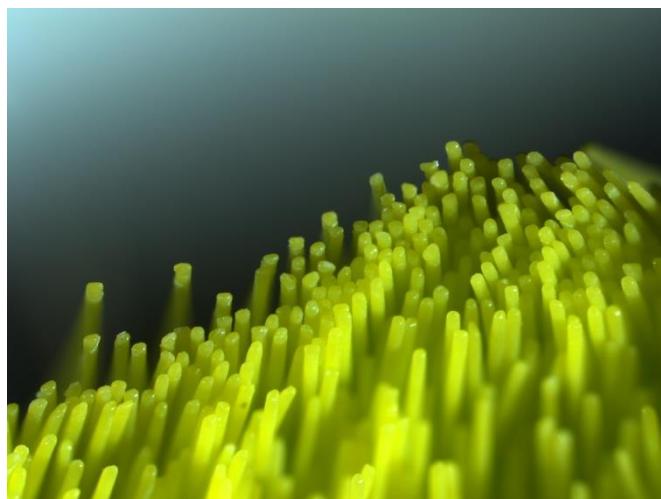


Slika 11: Optična mikrografija ščetin po poskusu z drgnjenjem na keramični ploščici

Slika 10 prikazuje konice ščetin nove krtačke. Jasno so razvidne nepravilnosti in raztrganine, ki so verjetno posledica rezanja oz. obdelave ščetin pri proizvodnji. Slika 11 pa prikazuje ščetine po več kot 60.000 gibih po keramični ploščici. Primerjava ščetin nove in uporabljeni krtačke pri povečavi optične mikroskopije jasno kaže opazne razlike. Ščetine nove neuporabljene krtačke imajo grobe in razcepljene konice z jasno razvidnimi nepravilnostmi. Konice ščetin na uporabljeni ščetki pa so gladke in lepo zaokrožene, kar prikazuje njenouporabo.

To opažanje se sklada z opažanji, ki so bila poročana ([NordicTrack Commercial S10i Studio Cycle \(youtube.com\)](#)). Drgnjenje zobne krtačke z zobno pasto je povzročilo, da so se konci ščetin, ki so bili originalno neravni in delno raztrgani, obrusili in zaobljili. Kljub temu da na ploščicah niso bili opazni delci ali obarvanost od ščetin, je bila pod optičnim mikroskopom opazna razlika v obliki ščetin, ki jasno kaže, da je med poskusom prišlo do abrazije.

Za primerjavo smo z optičnim mikroskopom pregledali tudi zobno ščetko istega proizvajalca po dvomesecni domači uporabi.

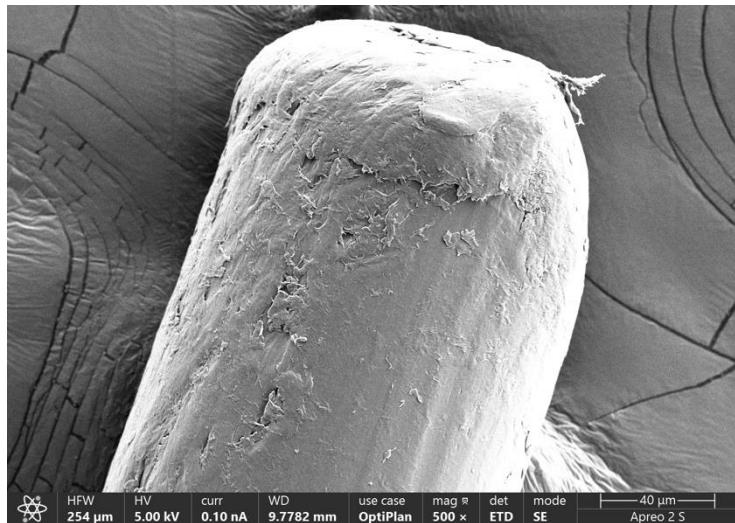


Slika 12: Optična mikrografija ščetin kartačke iz domače uporabe

Ob primerjavi smo opazili razliko v obrabi ščetin domače uporabe. Ščetine uporabljene krtače so bile bolj deformirane (»razcvetena ščetka«), konice ščetin pa so bile tudi v tem primeru gladke in zaobljene. Stanje uporabljene ščetke nakazuje, da je resnično drgnjenje med umivanjem zob mehansko bolj agresivno kot drgnjenje z robotsko roko. V našem poskusu tudi pri 90.000 obratih (ekvivalent za trimesečno uporabo) ščetine niso bile deformirane. Deformacija ščetin pri uporabi je verjetno tudi posledica drgnjenja po neravnih zobe, kjer lahko prihaja do zelo neenakomirnih pritiskov na različnih mestih, medtem ko smo v našem primeru uporabili ravno ploščico in poskrbeli, da je bil stik med ploščico in ščetko enakomeren po celotni ščetki. Podobna obraba konic ščetin pa nakazuje, da je bila izbira keramičnih ploščic dobra izbira za drgnjenje brez uporabe zobne paste.

3.4.2. ELEKTRONSKA MIKROSKOPIJA

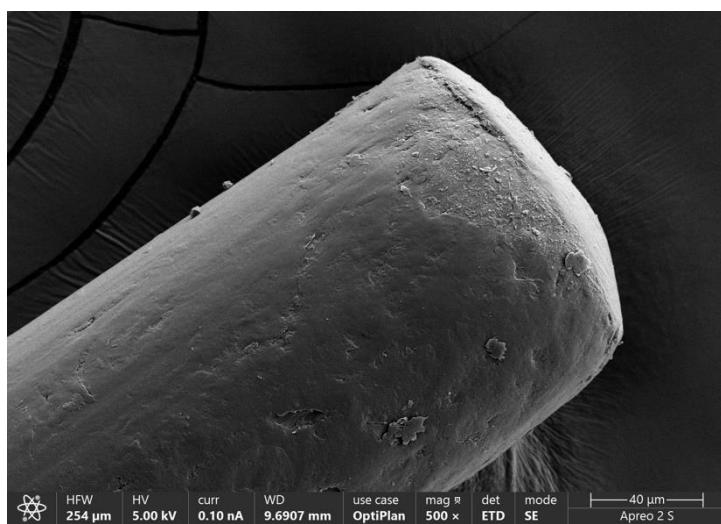
Elektronsko mikroskopiranje smo osredotočili na zadnji poskus drgnjenja, kjer je prišlo do opazne abrazije (opazno po obarvanem madežu na keramični površini).



Slika 13: Konica ščetine nove krtačke pod elektronskim mikroskopom

Kot referenčno izhodišče smo najprej pogledali konico ščetine nove krtačke, ki jo prikazuje slika 13.

Na sliki je jasno razvidna raztrganina na konici (desno zgoraj) in neravnine na površini vlakna.



Slika 14: Konica uporabljene zobne krtače pod elektronskim mikroskopom

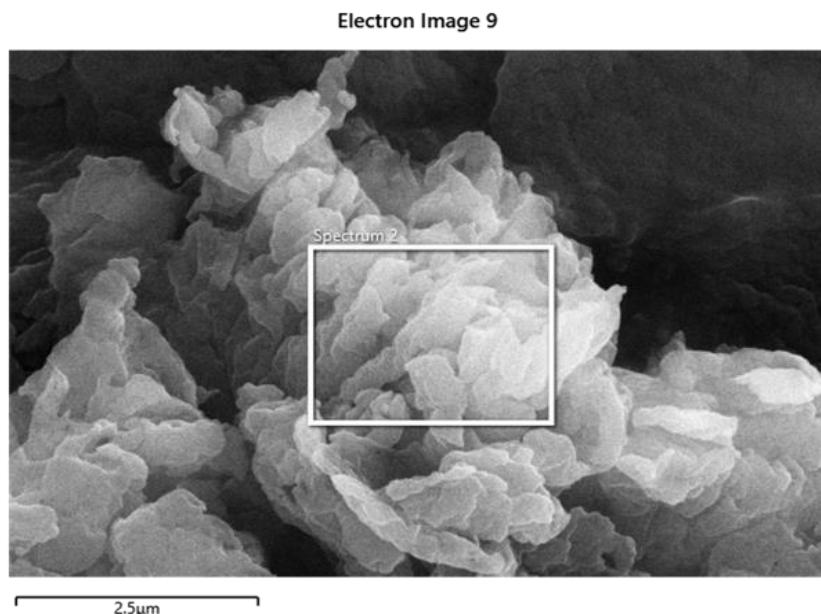
Slika 14 prikazuje ščetino po končanem poskusu drgnjenja (več kot 60.000 krožnih gibov). Iz mikrografije je jasno razvidno, da je konica vlakna enakomerno zaobljena (zbrušena) ter da na njej ni vidnih neravnin ali raztrganin. To nakazuje, da je prišlo do abrazije, ki je bila izjemno fina zaradi majhne grobosti keramične površine in majhnih sil, ki smo jih uporabili med poskusom. Za primerjavo smo pogledali tudi primer ščetin, ki so bile drgnjene po brusnem papirju. V tem primeru so na površini ščetin jasne vzdolžne raztrganine, konica pa je bila zašiljena.

Posnetki ščetin, dobljeni z elektronsko mikroskopijo, potrjujejo opažanja z optično mikroskopijo, da se pri drgnjenju konice ščetin zbrusijo, kar odstrani vse neravnine in nepravilnosti. Sprememba jasno nakazuje abrazijo. Na zbrušenih ščetinah nismo opazili delcev, ki bi lahko nastali med brušenjem. Rezultati in primerjava s ščetinami zobne krtačke v realni uporabi ter ščetin, ki smo jih drgnili po brusnem papirju, jasno nakazujejo, da so bili izbrani pogoji drgnjenja (grobost keramičnih površin, obtežitev (sila) krtačke med drgnjenjem) dobro izbrani in je prišlo do abrazije, ki je primerljiva z drgnjenjem po zobeh.

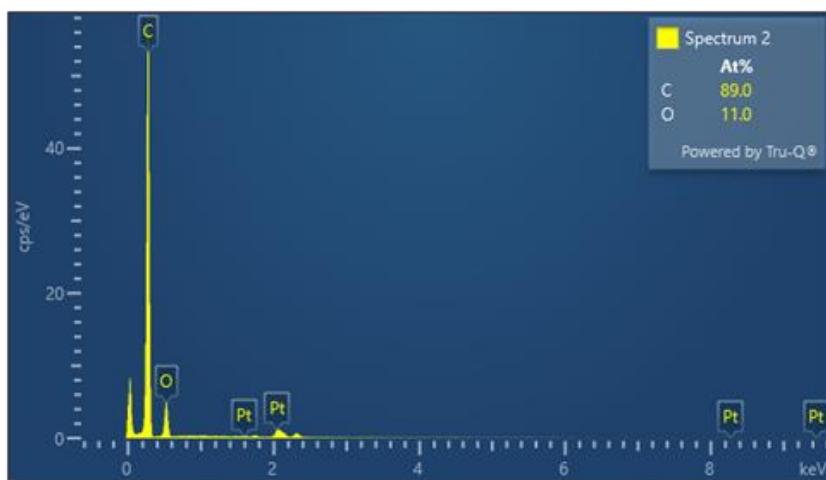
Naslednji korak je bil, da smo z elektronskim mikroskopom pogledali, ali smo z rdečega madeža na keramični površini dobili delce plastike. Izkazalo se je, da je bila površina ogljikovega traku gosto prekrita z majhnimi delci. Večina delcev je imela dimenzije pod nekaj mikrometri.

Najprej smo na izbranem področju skenirali sestavo. Izkazalo se je, da gre po celotni površini za material, ki vsebuje ogljik in kisik, samo nekaj delcev pa je bilo anorganske sestave.

Slika 15 prikazuje tipičen aglomerat delcev z dimenzijami pod 1 mikrometer. Za takšen delec smo naredili tudi točkovno elementno analizo.



Slika 15: Prikaz delca v dimenziji pod 1 mikrometer



Slika 16: Elementna analiza delca

Elementna analiza kaže vsebnost 89 % ogljika in 11 % kisika. Osnovna enota PBT ima formulo C₁₂H₁₂O₄, iz česar sledi C, H, O sestava 65 %, 6 %, in 29 %. Ujemanje sicer ni popolno, vendar prisotnost ogljika in kisika potrjuje, da gre za organski material. Glede na to, da je bil PBT med poskusom edina prisotna organska snov in je bila kontaminacija preprečena, ta rezultat smatramo kot potrditev, da gre za delce s ščetin zobne krtačke. Prisotnost delcev in prikazani rezultati so tudi v skladu z opaženim obarvanjem na (beli) keramični površini. Obarvanje je bilo rdeče, kot so bile tudi ščetine na zobni ščetki. Na obarvanem področju z optičnim

mikroskopom, ki ima relativno majhno povečavo (do 40 x) nismo mogli videti delcev, kar je v skladu z opažanjem delcev velikosti okoli enega mikrometra ali celo manj.

Z elektronskim mikroskopom smo videli aglomerate majhnih delcev v velikosti okoli 1 mikrometer ali manj (kar je področje nanodelcev). Za nanodelce, ki imajo izjemno veliko specifično površino, je aglomeracija ob odsotnosti površinsko aktivnih snovi zelo običajen pojav. Aglomeracija je značilna ravno za suspenzije v destilirani vodi, ker z združevanjem delci zmanjšajo površinsko energijo. Aglomeracijo preprečimo z uporabo površinsko aktivnih snovi, ki nanodelce oplaščijo z molekularno plastjo in tako zmanjšajo površinsko energijo. Delci tako dobijo naboj, ki povzroči odbojne sile (med delci), ki preprečijo aglomeracijo. Zobne paste vsebujejo površinsko aktivne snovi, zato lahko pričakujemo, da med realnim vsakodnevnim ščetkanjem zob nastanejo nanodelci, ki so dispergirani in so zato razpršeni ter mobilni. Takšni delci bi se zlahka zaustavili v ustni votlini in s slino zašli v prebavila.

4. ZAKLJUČEK

Čeprav je bila opravljena raziskava prvo tovrstno delo in smo morali v eksperimentalnem delu rešiti mnogo praktičnih izzivov, smo uspeli kot *prvi* dokazati, da pri ščetkanju zob nastajajo plastični nanodelci.

Raziskavo bo v prihodnje potrebno dopolniti s ponovitvami, v katerih bomo podrobnejše kontrolirali simulirano ščetkanje, geometrijo, sile in vpliv števila gibov. Raziskati bo potrebno tudi vpliv različnih vrst zobnih ščetk (različne trdote, različni materiali) in vpliv zobne paste, ki je bila iz te raziskave zaradi povečanja zahtevnosti analiz povsem izključena.

Ključno bo kvantificiranje nastanka nanoplastičnih delcev in kolikšne količine ostanejo v našem telesu ter kako se po telesu premikajo. Končno vprašanje je seveda, kakšni so lahko vplivi nanoplastike v našem telesu.

Rezultati raziskave jasno nakazujejo, da je človek vsakodnevno izpostavljen nanoplastičnim delcem, ki zlahka vstopajo v telo, kar je v skladu s poročili o najdbi znakov plastike v človeški krvi, človeškem mleku in (sedaj že kar) v številnih organih. Raziskava torej jasno kaže eno od poti, kako nanoplastika pride v naše telo in da prisotnost nanoplastike v naših telesih ne bi smela biti presenečenje.

5. VIRI IN LITERATURA

1. Najpogostejše napake pri umivanju zob, ABC-zdravja.
<https://www.abczdravja.si/nos-usta-usesa/najpogostejse-napake-pri-umivanju-zob/>
(dostopano marec 2024)
2. The perfect *filaments*. *Vital* 3, 42 (2006). <https://doi.org/10.1038/vital390> (dostopano marec 2024)
3. Matt Simon 2022, A Poison Like No Other (How microplastics corrupted our planet and our bodies)
4. The histori of the toothbrush, Sonicbrush. https://sonic-brush.net/blogs/blog-sonic-brush/evolution-of-the-toothbrush-through-history-until-sonic-brush?gad_source=1&gclid=CjwKCAiA3JCvBhA8EiwA4kujZqXZkYdCeJsKtzIbMhUEurWyh4wM9lnx4pY4IDZPaz0jQ8C-Vll7mxoCE3QQAvD_BwE (dostopano marec 2024)
5. Opis zobne krtačke Curaprox 3960 super soft, Curaprox.
<https://curaprox.si/shop/zobne-scetke/rocne-zobne-scetke/cs-3960#/143-farbe cs 3960-turkizna zobna scetka rumene scetine> (dostopano marec 2024)
6. Polibutilen tereftalat (PBT), wikipedia.
https://en.m.wikipedia.org/wiki/Polybutylene_terephthalate (dostopano marec 2024)
7. Infrardeča spektroskopija, wikipedia.
https://sl.m.wikipedia.org/wiki/Infrardeča_spektroskopija (dostopano marec 2024)
8. Vrstično elektronsko mikroskopiranje. https://fizika.fnm.um.si/wp-content/uploads/2020/03/Krevzel_Silva.pdf (dostopano marec 2024)
9. Elektronski mikroskop, wikipedia.
https://hr.m.wikipedia.org/wiki/Elektronski_mikroskop (dostopano marec 2024)

10. Polibutilen tereftalat (PBT). [Polybutylene Terephthalate \(PBT\) Material Guide & Properties Info \(specialchem.com\)](https://www.specialchem.com/Polybutylene-Terephthalate-(PBT)-Material-Guide-&Properties-Info) (dostopano marec 2024)
11. 3D model robota. <https://skfb.ly/oRy6s>
12. Virender K. Sharma. 2022 ,
https://scholar.google.si/scholar_url?url=https://www.researchgate.net/profile/Mohd-Qasim-2/post/How-much-maximum-range-for-silver-nanoparticles-can-be-synthesized-by-bio-reduction/attachment/59d6330bc49f478072ea1ee0/AS%253A273639109267487%25401442252057526/download/Silver%2BnanoparticlesGreen%2Bsynthesis%2Band%2Btheir%2Bantimicrobial%2Bactivities.pdf&hl=hr&sa=X&ei=SPHkZbeSKZWty9YP9Me4iAs&scisig=AFWwaebRsV4zm43SMPoFuCCiu3hi&oi=scholarr (dostopano marec 2024)
13. Heather A. Leslie in drugi. 2022,
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412022001258> (dostopano marec 2024)
14. Denise M. Mitrano in drugi. 2021, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33927363/> (dostopano marec 2024)
15. Lavender Law K., Thompson, R. C. 2014, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25013051/> (dostopano marec 2024)
16. World health organization, 2022
https://scholar.google.si/scholar_url?url=https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/1065/362049/9789240054608-eng.pdf&hl=hr&sa=X&ei=WPPkZfm6CNvWy9YP6f6YsAI&scisig=AFWwaeYQB6CeGn1CJtTiUdUAjqYM&oi=scholarr (dostopano marec 2024)

17. Fang C. In drugi. 2023,

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993623002455>

(dostopano marec 2024)

18. Ramkumar Muthuvairavasamy, 2022: Microplastics: Footprints On The Earth and Their Environmental Management

19. Slika 1: Zgodovinski razvoj zobne ščetke

(https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.researchgate.net%2Ffigure%2FEvolution-of-Toothbrush_fig1_339102415&psig=AOvVaw3fRKroUs7Rc5LTe5cKZzJc&ust=1709633592722000&source=images&cd=vfe&opi=89978449&ved=0CBAQjRxqFwoTCIDF5smv2oQDFQAAAAAdAAAAABAD) (ResearchGate, 2024)

6. ZAHVALE

Najlepše zahvale gredo našemu somentorju dr. Andreju Kržanu, ki nam je omogočil neverjetno izkušnjo dela na Kemijskem inštitutu. Izredno smo veseli, da smo imeli priložnost delati pod njegovim vodstvom in se od njega učiti. Prav tako smo hvaležni, da je z nami delil ogromno znanja, nasvetov in izkušenj, ki jih bomo zagotovo uporabljali v prihodnjem šolanju.

Zahvaljujemo se dr. Vaibhavu Budhiraju, sodelavcu dr. Kržana, za strokovno pomoč in nasvete.

Zahvale gredo tudi mentorici profesorici mag. Darja Silan, ki nas je za nalogo navdušila in vodila skozi njen proces nastanka. Brez njene spodbude in podpore ne bi zmogli.

Zahvaljujemo se tudi razredničarki 2. B, profesorici Lari Vertačnik za podporo in razumevanje.

Iz srca se zahvaljujemo tudi Curaden Slovenija d. o. o. za velikodušno donacijo Curaprox 3960 zobnih ščetk. Vaša pomoč je imela ključno vlogo za začetek naše raziskovalne naloge.