

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

ЛАБОРАТОРНАЯ ОЦЕНКА ЦВЕТНОСТИ ДЕНТИНА
АВТОРЕФЕРАТ ВЫПУСКНОЙ КВАЛИФИКАЦИОННОЙ РАБОТЫ
БАКАЛАВРА

студента 4 курса 434 группы
направления 03.03.02 «Физика»
физического факультета
Водолагина Матвея Юрьевича

Научный руководитель
доцент КО и БФ к.х.н.

Зав. кафедрой

д.ф.-м.н., профессор

 22.06.2017

А. Б. Правдин



В. В. Тучин

Саратов 2017

Введение

В современной эстетической стоматологии одной из основных задач является отбеливание зубов. Цвет зубов зависит от их внешнего и внутреннего окрашивания. Внешнее окрашивание, связанное с окрашиванием поверхности зуба, устраняется профессиональной чисткой полости рта. Основной проблемой является внутреннее окрашивание, вызванное изменением нормальной окраски тканей зуба, для его отбеливания используют агенты или гели с активацией при помощи лазеров, различных ламп или ультразвука. На кафедре оптики и биофотоники был разработан метод, без нанесения активных агентов на поверхность зуба - молекулярное фотоотбеливание. Этот метод использует излучение в фиолетовой области, которое попадает в полосу поглощения естественных хромофоров, содержащихся в коллагеновых волокнах, входящих в состав дентина. Одним из подходов к оценке эффективности отбеливания, является правильное и точное определение цвета зубов. Так как основной цвет живого зуба определяется цветом дентина, то хроматическая составляющая зуба будет иметь желто-коричневый цвет. Во время отбеливания уменьшается желтизна зуба, что происходит при фоторазрушении хромофора и может быть объективно характеризовано изменением цветовых компонент.

В данной работе исследуемыми объектами являются два продольных шлифа коренного человеческого зуба разной степени окраски. Зуб был предварительно очищен от налета и прочих загрязнений, оказывающих влияние на его форму и оптические свойства, после чего распиливался вдоль корундовой дисковой пилой. Поверхности образцов были отшлифованы и перед проведением измерений очищены от пыли в ультразвуковой ванне. Корневая часть получившихся половинок была удалена для более удобной фиксации во время измерений. Приготовленные образцы помещались на хранение в дистиллированную воду.

Выпускная квалификационная работа содержит введение, теоретическую часть, состоящую из четырех подразделов. В первом описаны состав и структура твердых тканей зуба, в частности эмали и дентина. Во втором подразделе приводятся оптические характеристики, свойственные живому зубу. В третьем подразделе говорится о методах люминесцентной диагностики, используемых в современной стоматологии. Четвертый подраздел посвящен методам определения цвета зубов: визуальным, основанным на использовании цветовых шкал, и аппаратным, сущность которых заключается в применении спектральных приборов и цифровых технологий. В работе приведена экспериментальная часть, которая состоит из двух пунктов. В первом пункте описываются материалы и методы исследования, а именно: подготовка исследуемых образцов, изготовление дополнительных приспособлений для проведения измерений, ход эксперимента и расчеты. Второй пункт является обсуждением полученных результатов. Также имеется заключение, список использованных источников и приложение.

Целью данной работы является оценка степени окраски дентина человеческого зуба в лабораторных условиях методами флуоресцентной и отражательной спектроскопии, анализа цифровой фотографии, а также сравнение полученных результатов.

Задачи выполняемой работы: регистрация спектров флуоресценции и отражения образцов дентина на люминесцентном спектрометре “Perkin Elmer LS 55” и на спектральном анализаторе LESA-7-med, а также компьютерная обработка экспериментально полученных данных, цифровая фотосъемка исследуемых образцов, определение цветовых координат в системах XYZ и $L^*a^*b^*$ из спектров флуоресценции и отражения, полученных на вышеуказанных приборах, и из фотографий образцов.

Основное содержание работы

Первая серия измерений проводилась на люминесцентном спектрометре “Perkin Elmer LS 55”. При регистрации флуоресценции выставлялись скрещенные поляроиды, затем выбирался тип развертки “Emission”. Область регистрации флуоресценции 360 – 600 нм при длине волны возбуждения 340 нм. Применялась процедура усреднения по четырем зарегистрированным спектрам и сглаживание, затем спектры были интерполированы на $\Delta\lambda = 5$ нм. В диапазоне 600 – 780 нм проведена линейная экстраполяция до значения 0.

Снятие спектров отражения на этом же приборе осуществлялось в режиме “Synchronous $\delta\lambda$ ” с постоянной разностью длин волн между монохроматорами возбуждения и эмиссии $\Delta\lambda = 0$ нм на промежутке 335 – 600 нм. Помимо спектров дентина, были сняты спектры отражения эталона белого, в качестве которого был выбран сульфат бария BaSO_4 . Спектры, после усреднения и Фурье-сглаживания, были разделены на отдельно зарегистрированный спектр эталона белого, затем интерполированы на $\Delta\lambda = 5$ нм, после чего была проведена линейная экстраполяция в диапазоне 700 – 780 нм.

Дальнейшее исследование флуоресценции образцов дентина проходило на спектральном анализаторе LESA-7-med с волоконно-оптическим вводом. Источником возбуждающего излучения служил лазер ЛГИ-505 на молекулярном азоте ($\lambda = 337$ нм, 60 мВт/см^2). На этом приборе регистрировалось по шесть спектров, которые впоследствии усреднялись. Зарегистрированные в интервале длин волн 400 – 700 нм спектры были исправлены на спектральную чувствительность. Получившиеся результаты, после предварительного сглаживания подвергались интерполяции на $\Delta\lambda = 5$ нм. В областях 380 – 400 нм и 700 – 780 нм проведена линейная экстраполяция.

Процедура регистрации спектров отражения исследуемых образцов проведена аналогично снятию спектров флуоресценции. В качестве источника

излучения использовалась галогеновая лампа. Устанавливалось время накопления $\tau=8$ мс. Спектры были получены в результате усреднения спектров, зарегистрированных на анализаторе LESA-7-med, а затем деления на отдельно зарегистрированный спектр эталона белого. Получившиеся результаты были сглажены и интерполированы на шаг $\Delta\lambda = 5$ нм в диапазоне длин волн 380 – 780 нм.

Наряду с регистрацией спектров проводилась цифровая фотосъемка каждого образца дентина и эталона белого фотокамерой «Nikon D80». Образец крепился на держателе, который фиксировался на специальной подставке для того, чтобы не допустить смещения положения при съемке. Так как съемка образцов велась при свете ламп накаливания, требовалась поправка на стандартный источник по классификации МКО. Поэтому в этих же условиях была получена фотография эталона белого (BaSO_4). Изображения сохранялись в формате Raw и переводились в цветовое пространство $L^*a^*b^*$ при помощи свободно распространяемого программного обеспечения “ImageJ”. Для каждого образца определялись значения параметров L^* , a^* , b^* , а также Hue, и Chroma.

В цветовой системе XYZ, широко применяемой в современной колориметрии, цвет света диффузно отраженного от дентина, имеющего спектр отражения $R_d(\lambda)$, рассчитывался согласно формулам

$$\begin{aligned} X &= \sum_{380nm}^{780nm} R_d(\lambda_i) \bar{x}(\lambda_i) I_C(\lambda_i) \Delta\lambda \\ Y &= \sum_{380nm}^{780nm} R_d(\lambda_i) \bar{y}(\lambda_i) I_C(\lambda_i) \Delta\lambda \\ Z &= \sum_{380nm}^{780nm} R_d(\lambda_i) \bar{z}(\lambda_i) I_C(\lambda_i) \Delta\lambda \end{aligned} ,$$

в которых $\bar{x}(\lambda_i)$, $\bar{y}(\lambda_i)$, $\bar{z}(\lambda_i)$ – удельные цветовые координаты на длине волны λ_i , являющейся средней в интервале длин волн $\Delta\lambda = 5$ [1]. Данные значения удельных цветовых координат являются табличными (см. таблица 3 из приложения в работе [2]), а $I_C(\lambda_i)$ – интенсивность источника белого цвета С

при длине волны λ_i . Спектральные зависимости произведений $\bar{x}(\lambda_i)I_c(\lambda_i)$, $\bar{y}(\lambda_i)I_c(\lambda_i)$ и $\bar{z}(\lambda_i)I_c(\lambda_i)$ также являются табличными значениями (приложение 5.1 в работе [1]). По данной методике (называемой далее как методика 1) рассчитаны координаты X, Y, Z из спектров, полученных на приборе LESA-7-med.

В связи с малыми значениями коэффициентов отражения в спектрах, зарегистрированных на спектрофотометре Perkin Elmer LS55, была также использована методика расчета координат X, Y, Z, изложенная в работе [3] (методика 2), которая подразумевает одинаковую яркость исследуемых источников света (в нашем случае – диффузное отражение дентином)

$$\begin{aligned} X &= k_c \sum_{380nm}^{780nm} I_{RC}(\lambda) \bar{x}(\lambda) \Delta\lambda \\ Y &= k_c \sum_{380nm}^{780nm} I_{RC}(\lambda) \bar{y}(\lambda) \Delta\lambda \\ Z &= k_c \sum_{380nm}^{780nm} I_{RC}(\lambda) \bar{z}(\lambda) \Delta\lambda, \end{aligned}$$

где интенсивность диффузно отраженного от дентина света имеет вид

$$I_{RC} = I_c * R_d(\lambda),$$

а для множителя k_c справедливо соотношение

$$k_c = \frac{100}{\sum_{380nm}^{780nm} I_{RC}(\lambda) \bar{y}(\lambda) \Delta\lambda}.$$

Эта же методика была применена при анализе цвета для расчета цветовых координат X, Y, Z для флуоресценции дентина при возбуждении 337 (340) нм.

$$X = k_C \sum_{380nm}^{780nm} I_{fl}(\lambda) \bar{x}(\lambda) \Delta\lambda$$

$$Y = k_C \sum_{380nm}^{780nm} I_{fl}(\lambda) \bar{y}(\lambda) \Delta\lambda$$

$$Z = k_C \sum_{380nm}^{780nm} I_{fl}(\lambda) \bar{z}(\lambda) \Delta\lambda$$

$I_{fl}(\lambda)$ – интенсивность автофлуоресценции дентина, следовательно

$$k_C = \frac{100}{\sum_{380nm}^{780nm} I_{fl}(\lambda) \bar{y}(\lambda) \Delta\lambda}.$$

Соотношения для координат цветности в системе XYZ имеют вид:

$$x = \frac{X}{X+Y+Z} \qquad y = \frac{Y}{X+Y+Z}$$

Пересчет цветовых координат X, Y и Z, рассчитанных по спектрам отражения и автофлуоресценции дентина в координаты системы L*a*b* осуществлялся по формулам:

$$L^* = 116 \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - 16;$$

$$a^* = 500 \left[\left(\frac{X}{X_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} \right];$$

$$b^* = 200 \left[\left(\frac{Y}{Y_0} \right)^{\frac{1}{3}} - \left(\frac{Z}{Z_0} \right)^{\frac{1}{3}} \right],$$

где $X_0 = 490,342$; $Y_0 = 500$; $Z_0 = 591,098$ – цветовые координаты стандартного источника C(0,310; 0,316) [1]. Для расчета по методике 2: $X_0 = 98$; $Y_0 = 100$; $Z_0 = 118,22$. Для расчета основного цвета (Hue) и насыщенности (Chroma) в системе L*a*b* справедливо:

$$\text{Hue} = \tan^{-1} \left[\frac{b^*}{a^*} \right],$$

$$\text{Chroma} = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2}.$$

Цветовое различие в системе $L^*a^*b^*$ является геометрическим расстоянием между двумя сравниваемыми цветами $((L, a, b)_i \text{ и } (L, a, b)_j)$ [1] и принимает вид

$$\Delta E_{ij}^* = \sqrt{(L_i^* - L_j^*)^2 + (a_i^* - a_j^*)^2 + (b_i^* - b_j^*)^2}.$$

Результаты расчетов приведены в таблице-1.

Таблица-1. Значения цветовых характеристик исследуемых образцов дентина в цветовых пространствах XYZ и L*a*b*, полученные по методике 1 и 2 из спектров флуоресценции и отражения, зарегистрированных на анализаторе LESA-7-med, и спектрометре “Perkin Elmer LS55”, а также при анализе цифровой фотографии (Photo).

Цветовые координаты и характеристики цвета												
Метод	№ Обр	X	Y	Z	x	y	L*	a*	b*	Hue	Chroma	Цв. разл.
LESA-7-med (R) -1	1	247.55	253.95	295.63	0.32	0.32	76.55	-0.8	0.82	-0.8	1.14	14.37
	2	320	323.75	92.43	0.43	0.44	84.35	1.13	-11.1	65.28	-11.1	
LESA-7-med (R) - 2	1	97.48	100	114.43	0.31	0.32	100	-0.99	2.16	-1.14	2.38	15.32
	2	98.92	100	142.75	0.29	0.29	100	1.46	-12.97	-1.46	13.05	
LS55 (R) - 1	1	24.5	25	30	0.3	0.31	26.73	-0.04	-0.37	1.45	0.37	10.62
	2	35	36.65	59	0.27	0.28	32.68	-2.41	-8.84	1.3	9.17	
LS55 (R) - 2	1	98	100	120	0.3	0.31	100	-0.12	-0.1	1.45	1	20.85
	2	94.72	100	159.67	0.27	0.28	100	-5.75	-21.07	1.3	21.84	
LESA-7-med (FI)	1	148.2	100	705.35	0.16	0.1	100	73.78	-162.23	-1.14	178.22	48.31
	2	183	100	852.55	0.16	0.09	100	115.6	-186.4	-1.02	219.34	
LS55 (FI)	1	103.9	100	331	0.19	0.19	100	9.76	-81.89	-1.45	82.47	33.91
	2	119	100	454.6	0.18	0.16	100	33.32	-106.28	-1.27	111.38	
Photo	1	9.08	9.75	7.7	0.34	0.37	37.28	-1.54	9.47	1.41	9.59	3.81
	2	7.83	8.32	7.11	0.34	0.36	34.63	-0.76	6.83	1.46	6.87	

Полученные результаты позволяют выявить особенности использованных методик определения цветности дентина. Наиболее приближенным к

зрительному восприятию дентина можно считать фотографический метод и в качестве объективных характеристик цвета дентина использовать рассчитанные цветовые характеристики L^* , a^* , b^* .

С точки зрения использования этих характеристик при оценке результатов отбеливания, наиболее значимыми необходимо считать характеристику b^* , уменьшение значения которой свидетельствует на снижение желтизны зуба, то есть уменьшения количества желто-коричневого пигмента.

Методика определения цветовых характеристик из спектров отражения, полученных на спектральном анализаторе LESA-7-med дает значение цветовых характеристик, описывающих цвет зуба, в нашем случае различие цвета двух образцов дентина, адекватную результатам, полученным по фотографиям. При этом величина цветового различия по этой методике значительно выше, чем в фотографической методике, что дает основание считать, что измерения по такой методике будут обладать большей разрешающей способностью. Тем более, что такая методика позволяет провести локальные измерения цвета зуба.

Измерение цвета с использованием зарегистрированных на спектрометре “PerkinElmer” LS 55 спектров отражения приводят к обратной тенденции в цветовой характеристике a^* , то есть пигментированный зуб выглядит менее “зеленым”. Это, по нашему мнению, связано с тем, что в этом случае измерения проводятся на приборе с двумя монохроматорами, и когда не регистрируется флуоресценция образца, возможно имеющая место при широкополосном освещении.

Таким образом, на основании измерений, полученных спектрофотометрическими методами, можно сделать вывод, что методика зондовой регистрации спектров отражения дентина относительно эталона белого позволяет адекватно (в сравнении с фотометрическими методами определения цвета) воспроизводить тенденции цветовых характеристик пигментированного дентина.

Методика регистрации спектров отражения с использованием двух монохроматоров дает искаженные цветовые характеристики. Цветовые характеристики регистрируемой автофлуоресценции дентина при УФ-возбуждении коррелируют со степенью желто-коричневой пигментации дентина. Эта корреляция является следствием проявления в спектрах флуоресценции дентина эффекта реабсорбции и его собственной автофлуоресценции. Проявление этих двух эффектов приводит к высокому значению цветового различия, определенного этой методикой для исследуемых образцов зуба, что позволяет предположить большую чувствительность (разрешающую способность) этой методики.

С точки зрения лабораторного применения, особенно при измерениях *in vivo*, предпочтение отдается зондовой методике, однако, базируясь на результатах исследования флуоресценции пигментированного дентина, для повышения чувствительности следует заменить источник возбуждения на лазер с длиной волны генерации 370 нм.

Заключение

С целью выбора оптимальной методики контроля цветности зуба, в процессе молекулярного фотоотбеливания, проведены измерения цветности двух образцов дентина различными методами с использованием методики оценки цвета по цифровой фотографии в качестве эталона (что широко применяется в эстетической стоматологии при реставрации).

Анализ значений цветовых характеристик, рассчитанных по зарегистрированным спектрам отражения и флуоресценции, позволяет рекомендовать зондовую методику регистрации спектров отражения с использованием широкополосного галогенового источника света для контроля изменения уровня желтой пигментации при молекулярном фотоотбеливании зубов в лабораторных условиях. Такая же зондовая методика, но с

регистрацией спектров автофлуоресценции зуба может быть рекомендована для лабораторных исследований с заменой имеющегося источника возбуждения на 337 нм источником с длиной волны генерации на 370 нм, что возможно позволит повысить чувствительность регистрации уровня пигментации зуба (дентина).

Литература

1. Синичкин Ю.П., Долотов Л.Е., Зимняков Д.А. и др. Специальный практикум по оптической биофизике. С71. In vivo отражательная и флуоресцентная спектроскопия кожи человека: Учеб. пособие для студентов вузов / Ю.П. Синичкин, Л.Е. Долотов, Д.А. Зимняков и др. Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2003. 159 с.: ил. ISBN 5-292-02916-5.
2. Гуревич М.М. Цвет и его измерение. М.: Изд-во Академии наук СССР, 1950. 268 с.
3. Горбунова Е.В., Чертов А.Н. Колориметрия источников излучения. Учебное пособие. – СПб: Университете ИТМО, 2015. – 126 с.

