

Mgr inż. Karolina Beer – Lech

Prof. dr hab. Barbara Surowska

Katedra Inżynierii Materiałowej
Wydział Mechaniczny
Politechnika Lubelska
Nadbystrzycka 36, 20-816 Lublin, Polska
E-mail: k.beer@pollub.pl, b.surowska@pollub.pl

Badanie odporności na zużycie korozyjne stomatologicznego stopu CoCrMo zawierającego złom poprodukcyjny

Streszczenie: Eksploatacji stomatologicznych protez na podbudowie metalowej towarzyszy nie tylko zużycie wskutek obciążeń biomechanicznych, występujących podczas procesu żucia, ale również zużycie korozyjne mające miejsce w agresywnym środowisku jamy ustnej. Zużycie korozyjne metalowych elementów protezy skutkować może wyłączeniem jej z dalszego użytkowania wskutek wystąpienia u pacjenta reakcji alergicznych lub nawet kancerogennych, będących rezultatem uwalniania do organizmu toksycznych jonów metali.

Częstą praktyką w laboratoriach protetycznych stosowaną w celu obniżania kosztów produkcji protez jest stosowanie tzw. złomu poprodukcyjnego do kolejnych odlewów. Złom ten stanowią elementy kanałów odlewniczych, wadliwie wykonane szkielety protez bądź metalowe pozostałości po obróbce protetycznej. Zastosowanie złomu poprodukcyjnego do wytwarzania elementów mających spełniać tak wysokie kryteria eksploatacyjne (występowanie złożonego stanu obciążeń biomechanicznych), a zwłaszcza biorąc pod uwagę ocenę biokompatybilności otrzymanych wyrobów, jest tematem dyskusyjnym nie tylko w środowisku naukowców, ale również i samych producentów stopów stomatologicznych.

Celem pracy było zbadanie odporności na zużycie korozyjne stomatologicznego stopu kobaltu zawierającego złom poprodukcyjny.

Do badań zastosowano komercyjny stop stomatologiczny Wironit extra – hard na osnowie kobaltu. Badanie polegało na przeprowadzeniu polaryzacji metodą potencjodynamiczną w środowisku roztworu sztucznej śliny. Próbkę stopu poddane badaniu, zawierające różny udział procentowy złomu poprodukcyjnego, odlane zostały dwiema metodami odlewniczymi - odśrodkową i próżniowo-ciśnieniową.

Wyznaczono średnie wartości parametrów określających odporność stopu Wironit extra – hard na zużycie korozyjne: potencjał korozji – E_{kor} , prąd korozji I_{kor} , opór polaryzacyjny R_{pol} i potencjał przebicia – E_{pit} . W celu oceny powierzchni stopu po korozji dokonano obserwacji mikroskopowych.

Wyniki badań potwierdzają dużą odporność stopu na zużycie korozyjne w środowisku sztucznej śliny. Odlewy wykonane za pomocą metody odśrodkowej cechują się niższą gęstością prądu w stanie pasywnym niż te wykonane metodą próżniowo – ciśnieniową, co sugeruje większą trwałość warstwy pasywnej potwierdzoną analizą mikrostruktury próbek po korozji. Wyznaczenie zależności pomiędzy zawartością złomu poprodukcyjnego a odpornością na korozję jest niejednoznaczne.

Słowa kluczowe: zużycie korozyjne, stopy kobaltu, złom poprodukcyjny

1. Wstęp

Stopy CoCrMo są jednymi z najpopularniejszych stosowanych na implanty medyczne [8] i szkieletowe protezy dentystryczne ze względu na kombinację dobrych właściwości

mechanicznych, odporności na korozję i biokompatybilności oraz korzystną cenę i łatwość obróbki [3,19].

Właściwości szkieletowych protez stomatologicznych na podbudowie metalowej oraz ich konstrukcja mają istotny wpływ na ich trwałość podczas eksploatacji w jamie ustnej [2]. Eksploatacji metalowych szkieletów protez stomatologicznych towarzyszy nie tylko zużycie elementów mocujących protezy z powodu obciążeń biomechanicznych występujących podczas procesu żucia, ale również zużycie korozyjne mające miejsce w agresywnym środowisku jamy ustnej. Zużycie korozyjne protezy skutkować może wyłączeniem jej z dalszego użytkowania wskutek wystąpienia u pacjenta reakcji alergicznych lub nawet nowotworów będących rezultatem uwalniania do organizmu toksycznych jonów metali.

Częstą praktyką w laboratoriach protetycznych, pozwalającą na znaczne obniżenie kosztów produkcji protez stomatologicznych, jest stosowanie metali lub ich stopów, które już raz były użyte w procesie odlewania [20,21]. W procesie produkcji metalowych szkieletów protez powstaje znaczna ilość złomu poprodukcyjnego stanowiącego często wadliwie wykonane odlewy, kanały odlewnicze bądź też będącego pozostałością po obróbce protetycznej. Zastosowanie złomu poprodukcyjnego do wytwarzania elementów mających spełniać wysokie kryteria wytrzymałości mechanicznej (występowanie złożonego stanu obciążeń biomechanicznych), a zwłaszcza biorąc pod uwagę ocenę biokompatybilności otrzymanych wyrobów jest tematem dyskusyjnym nie tylko w środowisku naukowców, ale również i samych producentów stopów stomatologicznych. Dane literaturowe wskazują, że właściwości eksploatacyjne stopów z dodatkiem złomu poprodukcyjnego mogą się różnić od stopów fabrycznie nowych [1,4,6,7,11,18]. Autorzy prac badawczych niekiedy obserwują zmianę w składzie chemicznym stopu [4,6] po zastosowaniu wtórnych przetopień. Zmiany te mogą determinować wytrzymałość połączenia stopu z porcelaną dentystyczną [11,18], a także rzutować na wzrost cytotoksyczności stopów [1] i wpływać na odporność korozyjną [7].

Wielu producentów stopów dentystycznych dopuszcza stosowanie przetopów wtórnych, ale z nie mniej niż 50% udziałem materiału nowego i z zastrzeżeniem, że cały materiał musi pochodzić z tej samej partii. Istnieje też grupa producentów, która nie dopuszcza materiałów powtórnie przetopionych, bądź nie podaje żadnych informacji na ten temat.

Zużycie korozyjne stopów kobaltu jako biomateriałów było już przedmiotem wielu badań naukowych, ale głównie w kontekście stopów przeznaczonych na implanty stawów kolanowych i biodrowych, np. [5,8,17]. Jest też znaczna grupa prac traktująca o odporności korozyjnej stomatologicznych stopów kobaltu, np. [12,16].

Znikoma liczba badań dotyczy natomiast wpływu dodatku złomu poprodukcyjnego czy wtórnego przetapiania metalu na odporność na zużycie korozyjne [7,9]. Ponadto opinie autorów prac badawczych na temat występowania potencjalnych zmian w odporności na korozję, po zastosowaniu w odlewach materiałów z powtórnego przetopu, są przeciwstawne.

Celem pracy było zbadanie odporności na zużycie korozyjne stomatologicznego stopu kobaltu zawierającego złom poprodukcyjny oraz określenie wpływu metody odlewania na ten typ zużycia.

2. Materiał i metody

Do badań zastosowano komercyjny stop stomatologiczny Wironit extra – hard firmy Bego o następującym składzie chemicznym (masowo) - podanym przez producenta: Co 63%, Cr 30,01%, Mo 5,0%, Si 1,1%, Mn, C<1.

Ze stopu odlano próbki w formie walców o średnicy 5 mm. Zastosowano technikę odlewania precyzyjnego metodą wytapianych modeli. Woskowy model silikonowy zalewany tworzywem akrylowym umieszczony był w pierścieniu metalowym i zalewany ceramicznym

materiałem ogniotrwałym (tzw. masą osłaniającą) o nazwie handlowej Wirovest firmy Bego. Po wysuszeniu wosk wytapiano w piecu w temperaturze 523 K, następnie formę nagrzewano do temperatury 1223 K celem spieczenia formy, wypalenia resztek wosku i usunięcia gazów. Stopione indukcyjnie wsady odlewane były dwoma metodami: próżniowo – ciśnieniową w urządzeniu Nautilus firmy Bego (próbki oznaczone symbolem PC) i odśrodkową w odlewarce Rotocast firmy Roco Dental Equipment (próbki oznaczone symbolem W). Stosowano tygle ceramiczne. Temperatura odlewania była zgodna z zaleceniami producenta stopu. Dla obu metod wynosiła ona 1693 K. Wykonane odlewy zawierały odpowiednio 0, 50 i 100% stopu fabrycznie nowego, uzupełnionego odpowiednią ilością złomu poprodukcyjnego. Oznaczenie próbek podano w Tabeli 1.

Tabela 1 Oznaczenie próbek do badania

Lp.	Metoda odlewania –próżniowo -ciśnieniowa	Metoda odlewania - odśrodkowa	Oznaczenie próbki / zawartość stopu fabrycznego
1.	0_PC	0_W	Próbka zawierająca 100% złomu poprodukcyjnego
2.	50_PC	50_W	Próbka zawierająca 50% stopu fabrycznego i 50% złomu poprodukcyjnego
3.	100_PC	100_W	Próbka zawierająca 100% stopu fabrycznego

Powierzchnia próbek przed badaniem została poddana obróbce polegającej na szlifowaniu papierami ściernymi o gradacji 220-1200 na szlifierkach rotacyjnych oraz następnie polerowaniu mechanicznym na tarczach diamentowych firmy Buehler z użyciem dedykowanych zawieszin diamentowych kolejno MetaDi (9 μ m i 3 μ m) oraz krzemionki koloidalnej ~0.05- μ m MasterMet), oczyszczeniu w myjce ultradźwiękowej w alkoholu etylowym oraz suszeniu sprężonym powietrzem.

Ocenę odporności na zużycie korozyjne dokonano metodą elektrochemiczną wspartą obserwacjami jakościowymi powierzchni. Do pomiarów korozyjnych zastosowano zestaw do badań elektrochemicznych ATLAS 0531, w którego skład wchodził potencjostat – galwanostat sterowany komputerem oraz trójelektrodowe naczynie elektrochemiczne umieszczone w puszcze klatce Faradaya. Trójelektrodowe naczynie elektrochemiczne składało się z badanej elektrody, którą stanowiły kolejne próbki stopu Wironit extra – hard, platynowej elektrody pomocniczej oraz nasyconej kalomelowej elektrody odniesienia z mostkiem elektrolitycznym zakończonym kapilarą Luggina. Ponadto zestaw ten wyposażony był w grzałkę z termostatem i mieszadłem elektromagnetycznym pozwalającą utrzymać temperaturę środowiska pomiarowego na stałym poziomie 310K (37 °C) z dokładnością pomiarową $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Pomiar odbywał się w środowisku roztworu sztucznej śliny [14], której skład zamieszczony został w Tabeli 2.

Tabela 2. Skład roztworu sztucznej śliny w przeliczeniu na 1 dm³ roztworu

Skład roztworu sztucznej śliny:	Ilość w roztworze [g]:
NaCl	0,4
KCl	0,4
NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O	1,35
NaH ₂ P	0,78
Na ₂ S x 9 H ₂ O	0,005

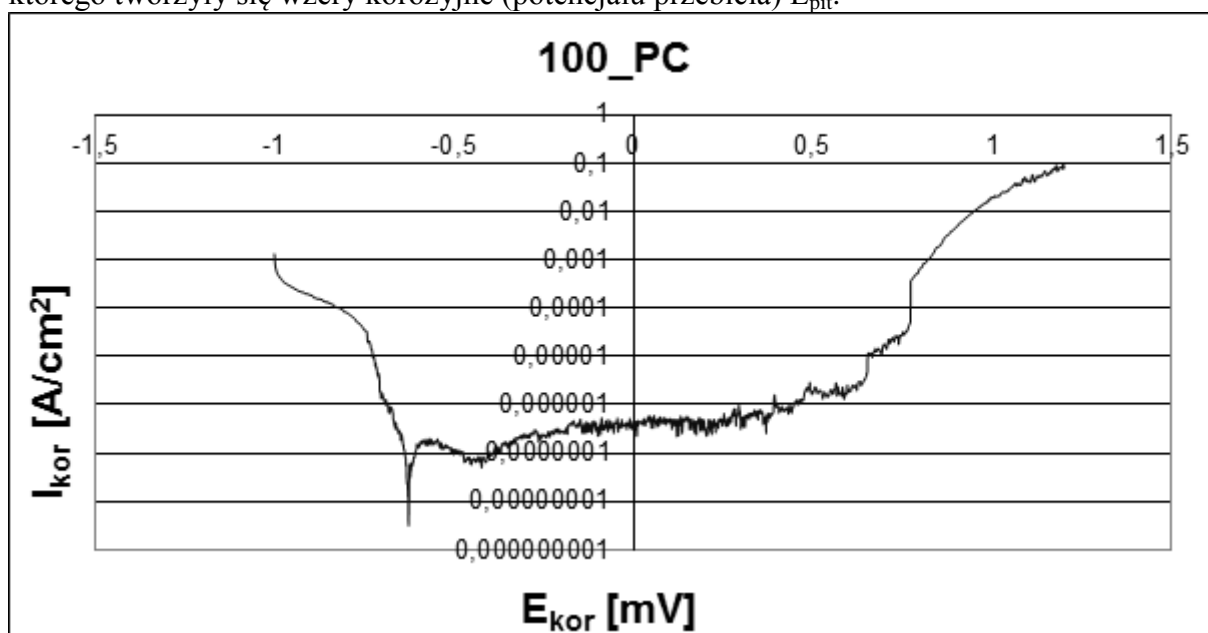
Podczas badań rejestrowano charakterystyki prądowo – napięciowe. Polaryzację przeprowadzono przy szybkości zmiany potencjału 1 mV/s w zakresie wartości potencjału - 1000 ÷ +1200mV. Do wyznaczenia charakterystycznych wartości E_{kor} , I_{kor} , R_{pol} oraz E_{pit} zastosowano oprogramowanie Atlas Lab. Umożliwia ono obliczenie oporu polaryzacyjnego z wycinka krzywej w otoczeniu potencjału korozji, stałych Tafela b_a i b_c , potencjału korozji E_{kor} i prądu korozji I_{kor} oraz wykreślenie krzywych Tafela. Ponadto z krzywych polaryzacyjnych wykorzystując opcję „ekstrapolacja” wyznaczono potencjał przebicia E_{pit} . Średnie wartości dla serii pomiarów obliczono wykorzystując moduł do analizy matematycznej.

Ponadto w celu porównania stanu powierzchni próbek przed i po zużyciu korozyjnym wykonano obserwację mikroskopową za pomocą metalograficznego mikroskopu świetlnego Nikon MA100.

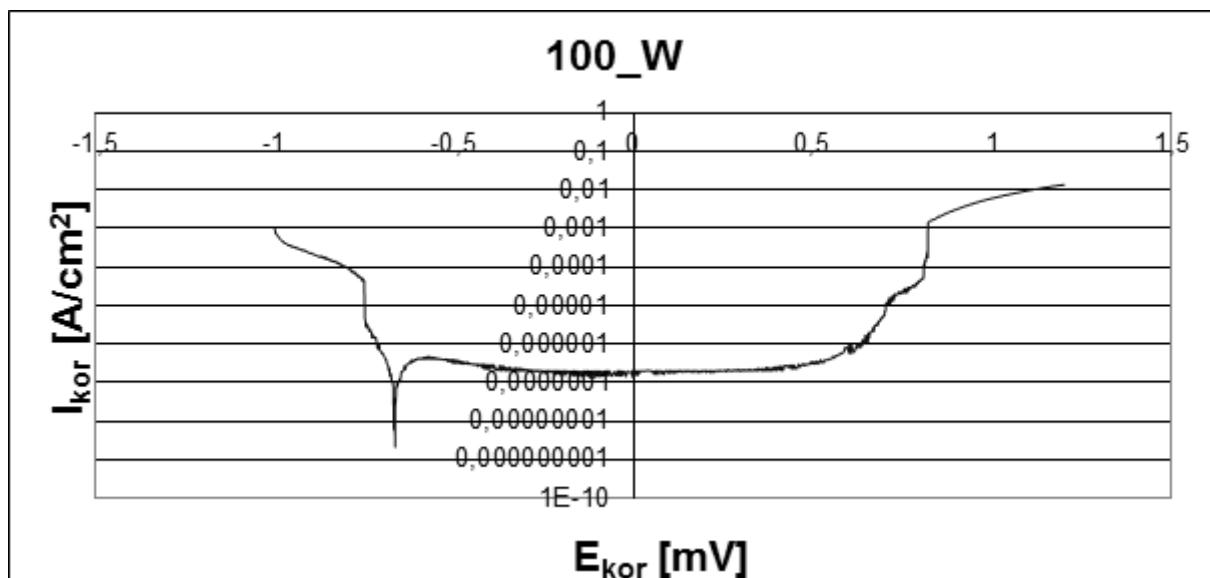
3. Wyniki badań i dyskusja

Wyniki badań (Tabela 3, Rysunek 1,2) pokazują że stop Wironit extra-hard cechuje się bardzo dobrą zdolnością do pasywacji wyrażoną szerokim obszarem pasywnym i niską gęstością prądu pasywacji. Na Rysunkach 1 i 2 przedstawione zostały reprezentatywne krzywe polaryzacyjne stopu Wironit extra - hard próbek wykonanych ze bez dodatku złomu poprodukcyjnego. Podobny kształt krzywych zarejestrowano również dla próbek zawierających złom poprodukcyjny.

W Tabeli 3 przedstawiono wyniki badań zawierające średnie wartości potencjału korozyjnego E_{kor} , prądu korozyjnego I_{kor} , oporu polaryzacyjnego R_{pol} i potencjału, powyżej którego tworzyły się wżery korozyjne (potencjału przebicia) E_{pit} .



Rys. 1 Przykładowa krzywa polaryzacji dla próbki 100_PC



Rys. 2 Przykładowa krzywa polaryzacji dla próbki 100_W

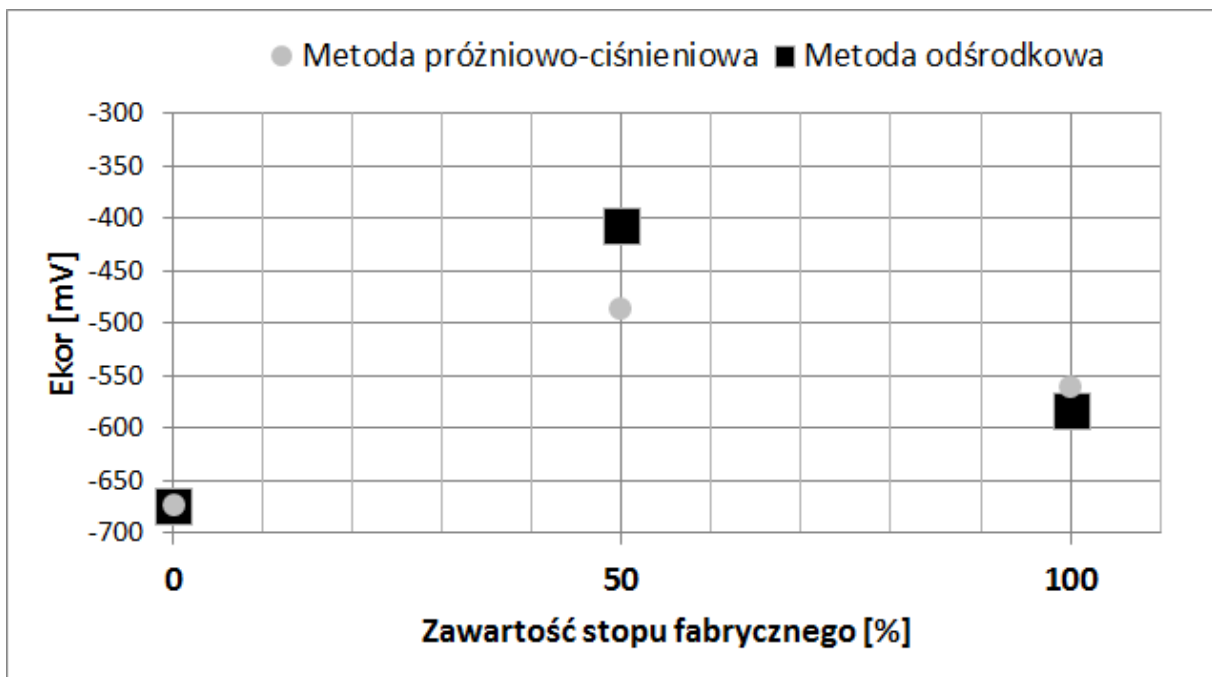
Tabela 3. Wyniki badań korozji elektrochemicznej stopu Wironit extra – hard

Zawartość stopu fabrycznego [%]	\bar{E}_{kor} [mV]	\bar{I}_{kor} [A/cm ²]	\bar{R}_{pol} [Ω*cm ²]	\bar{E}_{pit} [mV]
0_PC	-673	6,29*10 ⁻⁷	57 667	442
50_PC	-486	13,8*10 ⁻⁷	152 850	593
100_PC	-561	8,38*10 ⁻⁷	90 125	603
0_W	-674	14,4*10 ⁻⁷	56 000	623
50_W	-406	6,19*10 ⁻⁷	196 000	620
100_W	-583	5,92*10 ⁻⁷	141 000	600

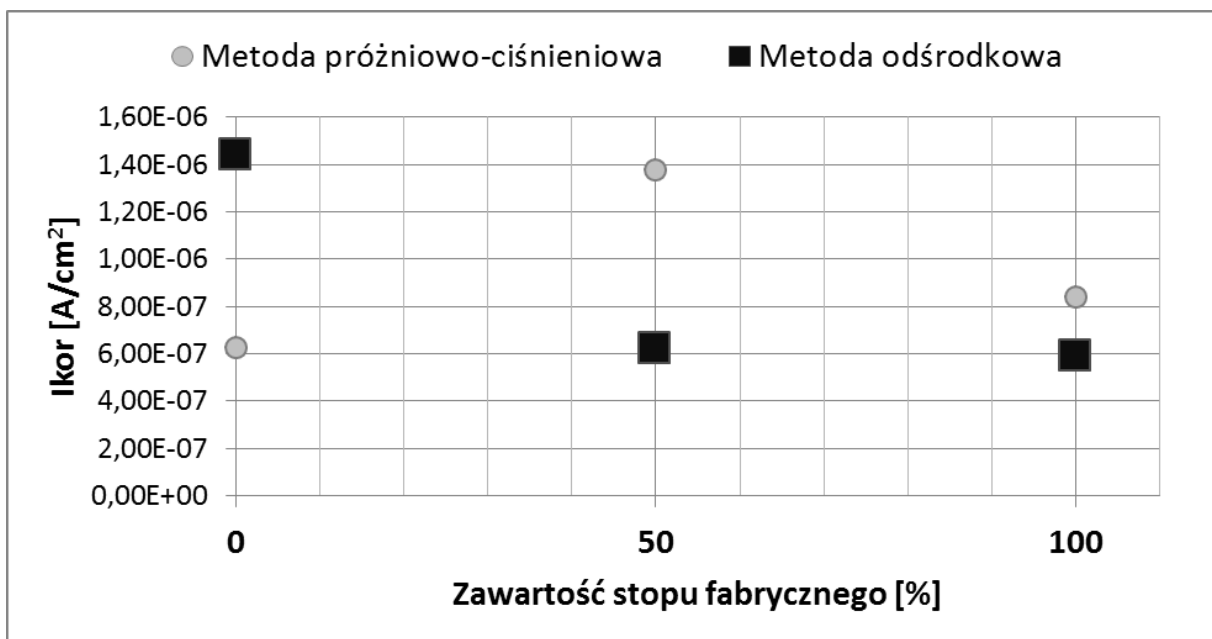
Dane w Tabeli 3 i na Rysunkach 3 i 4 wskazują na istnienie różnic w odporności korozyjnej próbek stopu Wironit extra - hard odlanych dwiema metodami: próżniowo-ciśnieniową i odśrodkową, zawierających różną ilość złomu poprodukcyjnego. Odlewy wykonane metodą odśrodkową cechują się wyższą trwałością warstwy pasywnej wyrażoną przez niższą gęstość prądu w stanie pasywnym. Wyniki te nie potwierdzają obserwacji [13,15], iż na odporność korozyjną stopów dentystycznych marginalny wpływ ma wybór metody odlewania, a jedynie skład chemiczny tych stopów decyduje o ich odporności na zużycie korozyjne. Kompleksowe badania makro i mikrostruktury odlewów opisane przez autora we wcześniejszych publikacjach [20] wskazują jednak na obserwowaną zależność podatności na korozję od makro i mikrostruktury stopów.

Natomiast określenie najlepszej odporności stopu Wironit extra - hard na zużycie korozyjne ze względu na zawartość stopu fabrycznego i złomu poprodukcyjnego nie jest jednoznaczne.

Ze względu na potencjał korozji najkorzystniejsze parametry (najwyższa wartość E_{kor}) wykazują odlewy zawierające 50% stopu fabrycznego z potencjałem korozji E_{kor} równym -486 mV dla 50_PC i -406 mV dla 50_W. Następne w kolejności są odlewy wykonane ze stopu fabrycznego, najmniejsze wartości potencjałów korozji odnotowano dla próbek z obu metod wykonanych w całości ze złomu poprodukcyjnego. Jednak biorąc pod uwagę wartość prądu korozji I_{kor} najkorzystniejsze właściwości wykazują kolejno odlewy 100_W, gdzie I_{kor} wynosi $5,92 \cdot 10^{-7} \text{ A/cm}^2$, 50_W ($I_{kor} = 6,19 \cdot 10^{-7} \text{ A/cm}^2$) i 0_PC ($6,29 \cdot 10^{-7} \text{ A/cm}^2$). Opór polaryzacyjny metody próżniowo-ciśnieniowej i odśrodkowej wykazywał największą wartość dla próbek zawierających 50% stopu fabrycznego, natomiast średni największy potencjał przebicia E_{pit} dla metody próżniowo-ciśnieniowej odnotowano dla próbek 100_PC – 603 mV, a dla metody odśrodkowej dla próbek 0_W - 623mV.



Rys. 3 Wartość średniego potencjału korozji dla próbek z różną zawartością stopu fabrycznego wykonanych metodą próżniowo – ciśnieniową i odśrodkową



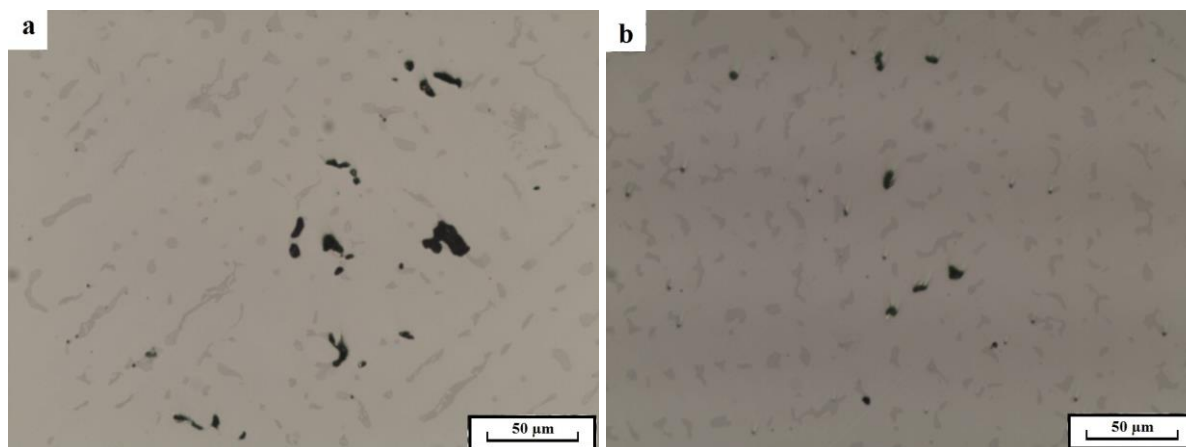
Rys. 4 Wartość średniego prądu korozji dla próbek z różną zawartością stopu fabrycznego wykonanych metodą próżniowo – ciśnieniową i odśrodkową

Na Rysunku 5 przedstawiona została mikrostruktura dendrytyczna próbek bez dodatku złomu poprodukcyjnego odlanych metodą próżniowo – ciśnieniową i odśrodkową. W strukturze stwierdzono występowanie wad odlewniczych (5 a i b) w formie porowatości. Mikrostruktury tych samych odlewów po badaniu korozyjnym pokazane zostały na Rysunku 6. Struktura dendrytyczna próbek po badaniu została mocniej uwidoczniła. Obecna warstwa pasywna, szczególnie wyraźnie widoczna na Rysunku 6a, nie jest ciągła.

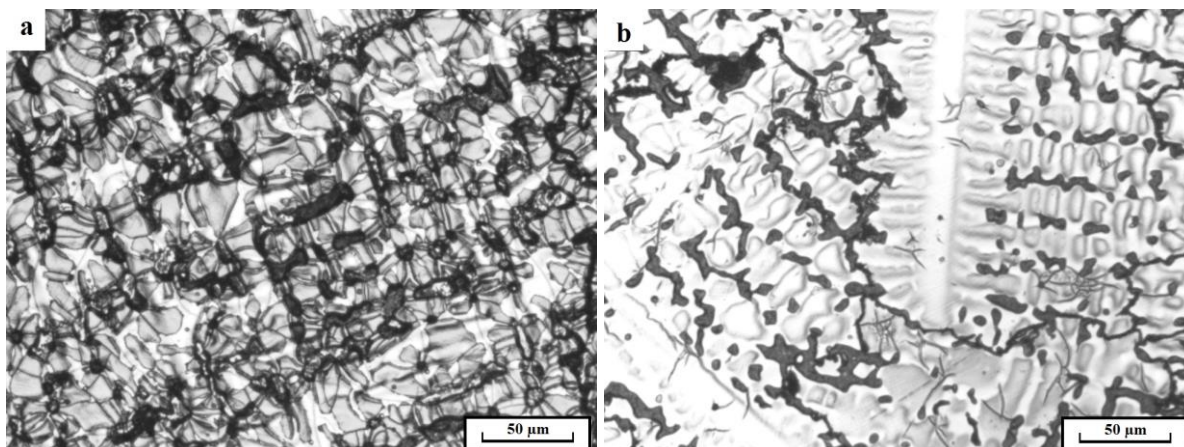
Występujące w strukturze wady odlewnicze przyczyniają się do rozwinięcia powierzchni, wnikania agresywnego środowiska i utrudniają równomierne osadzanie się warstwy pasywnej stanowiąc przyczynę wzmożonej korozji, co znane jest z literatury [10]. Również wydzielania międzydendrytyczne w postaci blokowej opisane szerzej w [20], niepokryte warstwą tlenkową na skutek różnicy potencjałów, mogą inicjować powstawanie wżerów korozyjnych.

Obserwacje próbek wykazują obecność wżerów korozyjnych i uszkodzenia powierzchni o charakterze korozji międzykrystalicznej (najciemniejsze obszary na rysunkach). Wżery te, powstałe po przebiciu warstwy pasywnej, występują na granicach wydzieleni blokowych, (Rysunek 6a i b), w tych wydzieleniach (6b) oraz w obszarach międzydendrytycznych wzdłuż wydzieleni ciągłych (Rysunek 6b). Jest to najprawdopodobniej związane z segregacją strefową chromu w próbkach. Pierwiastek ten, odpowiadający za odporność korozyjną w stopach Co-Cr-Mo, zgodnie z wynikami [12], dominuje w wydzieleniach blokowych, jak wskazują wcześniejsze badania autorów [20], natomiast obszary granic pomiędzy wydzieleniami a osnową są w ten pierwiastek zubożone. Większą liczbę wżerów obserwowano dla metody próżniowo – ciśnieniowej, co jest zgodne z wynikami pomiarów elektrochemicznych.

Przedstawione wyniki potwierdzają, iż problem zmian odporności na zużycie korozyjne stopów dentystycznych CoCrMo po zastosowaniu złomu poprodukcyjnego jest problemem złożonym i wartym dalszych badań w celu przekonującego wyjaśnienia, czy zastosowanie powtórných przetopień rzeczywiście ma istotny wpływ na odporność korozyjną stopów dentystycznych, jak podkreśla [7], czy jednak marginalny [9].



Rys. 5 Mikrostruktura stopu Wironit extra - hard przed badaniem: a) próbka 100_PC; b) próbka 100_W



Rys. 6 Mikrostruktura stopu Wironit extra - hard po badaniu korozji elektrochemicznej: a) próbka 100_PC; b) próbka 100_W

4. Wnioski

Badania odporności na zużycie korozyjne stopu Wironit extra – hard wykazały dużą odporność stopu na korozję elektrochemiczną w roztworze sztucznej śliny. Stop ten cechuje się bardzo dobrą zdolnością do pasywacji, oraz szerokim obszarem pasywnym i niską gęstością prądu w stanie pasywnym. Odlewy wykonane metodą odśrodkową wykazują wyższą trwałość warstwy pasywnej wyrażoną przez niższy prąd pasywacji niż odlewy wykonane metodą próżniowo ciśnieniową. Natomiast określenie zależności odporności stopu Wironit extra - hard na zużycie korozyjne od zawartości stopu fabrycznego i złomu poprodukcyjnego nie jest możliwe bez uwzględnienia innych czynników (zmiany składu chemicznego, mikrostruktury, makrostruktury).

Podziękowania: Praca powstała w ramach realizacji projektu Narodowego Centrum Nauki „Preludium” Nr 2011/01/N/ST8/07774.

Autorzy są wdzięczni dr hab. n. med. Januszowi Borowiczowi za pomoc w przygotowaniu próbek do badań.

Literatura

1. Al.-Hiyasat A.S., Darmani H. The effects of recasting on the cytotoxicity of base metal alloys. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 2005; 93: 158-163
2. Beer K., Pałka K., Surowska B., Walczak M., A Quality assessment of casting dental prosthesis elements. *Eksplloatacja i Niezawodnosc - Maintenance and Reliability* 2013; 3(15): 230-236
3. Büscher R., Täger G., Dudziński W., Gleising B., Wimmer M.A., Fischer A. Subsurface microstructure of metal-on-metal hip joints and its relationship to wear particle generation. *Journal of Biomedical Materials Research* 2004; 72B(1): 206-214
4. Harcourt H.J. The remelting of cobalt-chromium alloys. *British Dental Journal*. 1962; 6: 198-204
5. Hodgson A.W.E., Kurz S., Virtanen S., Fervel V., Olsson C.O.A., Mischler S. Passive and transpassive behavior of CoCrMo in simulated biological solutions. *Electrochimica Acta* 2004; 49: 2167-2178

6. Hong J., Razoog, M.E., Lang, B.R. The effect of recasting on the oxidation layer of palladium-silver porcelain alloy. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 1986; 55: 420-425
7. Horosawa N., Marek M. The effect of recasting on corrosion of a silver–palladium alloy. *Dental Materials*, 2004; 4(20): 352–357
8. Julian L.C., Munoz A.I. Influence of microstructure of HC CoCrMo biomedical alloys on the corrosion and wear behaviour in simulated body fluids. *Tribology International* 2011; 44: 318-329
9. Khamis E., Seddik M. Corrosion evaluation of recasting non-precious dental alloys. *International Dental Journal* 1995; 45: 209-217
10. Kim S.J., Ko Y.-M. Choe H.-C. Pitting corrosion of TiN coated dental cast alloy with casting methods. *Advanced Materials Research*. 2007 17(15): 164-168
11. Lopes M.B., Consani S., Sinhoreti M.A.C., Correr – Sobrinho L. Influence of recasting palladium-silver alloy on the fit of crowns with different marginal configurations. *The Journal of Prosthetic Dentistry* 2005; 5(94): 430–434
12. Mareci D., Nemtoi Gh., Aelenei N., Bocanu C. The electrochemical behavior of various non-precious Ni and Co based alloys in artificial saliva, *European Cells and Materials* 2005; 10: 1-7
13. Mülders C. Darwisch M. and Holze R. The influence of alloy composition and casting procedure upon the corrosion behavior of dental alloys: An in vitro study. *Journal of Oral Rehabilitation* 1996; 23: 825-831,
14. PN-EN ISO 10271:2012. *Stomatologia – Metody badania korozji materiałów metalowych*
15. Saji V. S., Choe H-Ch.: Electrochemical behavior of Co-Cr and Ni-Cr dental alloys. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China* 2009; 19: 785-790
16. Schmalz G., Garhammer P.: Biological interactions of dental cast alloys with oral tissues [J], *Dental Materials* 2002; 18: 396-406,
17. Sinnott – Jones P.E., Wharton J.A., Wood R.J.K. Micro- abrasion-corrosion of a CoCrMo alloy in simulated artificial hip joint environments. *Wear* 2005; 259: 898-909
18. Ucar Y., Aksahin Z., Kurtoglu C. Metal Ceramic Bond After Multiple Castings of Base Metal Alloy. *Journal of Prosthetic Dentistry* 2009; 3(102): 165-171
19. Vidal V.C., Munoz I.A. Electrochemical characterization of biomedical alloys for surgical implants in simulated body fluids. *Corrosion Science* 2008; 50:1954-1961
20. Walczak M., Beer K., Surowska B., Borowicz J. The issue of using remelted CoCrMo alloys in dental prosthetics. *Archives of Civil and Mechanical Engineering* 2012; 12: 171-177
21. Walczak M., Pieniak D., Niewczas A.M. Effect of recasting on the useful properties CoCrMoW alloy. *Eksploracja i Niezawodność – Maintenance and Reliability* 2014; 2(16): 330-336,