

リン酸溶液がエナメル質の衝突滑走摩耗 に及ぼす影響

日本大学歯学部歯科保存学第 I 講座

専修医 市野 翔

(指導：宮崎 真至 教授, 安藤 進 准教授)

概 要

細菌が関与することなく歯の損耗を生じる tooth wear が、臨床において着目されている。

Tooth wear は、咬耗、摩耗、アブフラクション、そして酸蝕に分類されている。本疾患の発症には、多くの要因が相互に作用することによって、病的な状況に達するものと考えられている。なかでも酸蝕は、胃内容物の逆流、酸性飲食物の摂取あるいは環境中の酸によって生じるものの 3 種類に分類される。このうち酸性飲食物の摂取は、食生活習慣の変化に伴って tooth wear の原因として最も重要視されている。

リン酸は、食品添加物として清涼飲料などに広く用いられている。したがって、日常生活においてもリン酸を摂取する機会は多いものと考えられるが、リン酸が tooth wear に及ぼす影響については検討が少ないのが現状である。そこで著者は、tooth wear に関する研究の一環として、酸蝕を生じさせる因子としてのリン酸水溶液がエナメル質表面の衝突滑走摩耗性に及ぼす影響について検討した。

ウシ下顎前歯の歯根部を切断し、その歯冠部唇側が上面となるように円筒形アクリル型に、常温重合型レジンをを用いて包埋した。この面を、自動研磨装置 (Ecomet 4000, Buehler) を用いて耐水性 SiC ペーパーの #400 ~ #2,000 まで逐次研磨し、直径約 6 mm のエナメル質平坦面とした。次いで、注入する溶液が溢出しないように、同型のアクリル型を接着材で固定し、これを衝突滑走摩耗試験用試片とした。試片を浸漬する溶液は、リン酸水溶液にリン酸二水素ナトリウムを加えることによって、pH を 3、5 および 7 の 3 条件に設定した。

衝突滑走摩耗試験には、衝突滑走摩耗試験機 (K655-06, 東京技研) を用い、アンタゴニ

ストは、曲率半径が 2.5 mm のステンレス鋼製ロッドとした。試片を 37°C のリン酸水溶液中に浸漬し、アンタゴニストをストレート落下距離 5 mm、シリンダー接続部での水平スライド距離 2 mm、荷重 25 N とし、ストレート落下 1 回と水平スライド 2 回を 1 サイクルとした衝突滑走摩耗を 5,000 サイクルまで負荷した。測定は、三次元レーザー走査顕微鏡 (LSM, VK-9700, キーエンス) を用いてレーザーカラー画像およびラインプロファイルによって衝突摩耗 (ISW) 量を求めるとともに摩耗面形態の観察を行った。

ヌープ硬さ (KHN) の測定は、エナメル質表面について、微小硬さ測定器 (Model DMH-2, 松沢) を用い、荷重 2.5 N、荷重保持時間 30 秒の条件で行った。さらに、各条件における試片を、走査電子顕微鏡 (SEM, ERA-8800FE, エリオニクス) を用いて、加速電圧 10 kV の条件で観察した。

衝突滑走摩耗試験後の ISW 量は、溶液の pH および滑走回数に影響を受けるとともに、pH と滑走回数の間には交互作用が認められた。いずれの衝突滑走サイクルにおいても、pH7 条件に比較して pH が低い条件で ISW 量が大きくなる傾向を示した。ラインプロファイルで深さ方向の損耗程度を比較すると、pH7 条件に比較して pH3 条件において、衝突滑走サイクルの増加に伴う損耗程度が大きくなる傾向を示した。衝突滑走 100 サイクル負荷後の LSM 像からは、pH7 条件ではクラックが多数形成され、エナメル質が一部剥落した像が観察された。一方、pH3 条件における未滑走部ではエナメル小柱が明瞭に観察され、衝突滑走部においては亀裂と摩擦摩耗が混在した像として観察された。

各条件における KHN は、いずれの pH 条件においても衝突滑走サイクルの増加に伴って低下する傾向を示したものの、pH7 条件ではサイクル数間における差は認められなかった。

一方、pH3 条件では、KHN の著しい低下が認められた。各溶液に 750 サイクル浸漬後のエナメル質未滑走部における SEM 像からは、浸漬溶液の pH 条件の違いによって脱灰状況に違いが認められ、pH3 条件ではエナメル小柱が明瞭となったのに対し、pH7 条件ではほとんど変化は認められなかった。

本研究に使用したリン酸は、酸解離定数が 2.12 と低いことから脱灰能力が強い。したがって、pH3 条件に用いたリン酸溶液ではエナメル質の脱灰が生じやすく、KHN においても有意に低い値を示す要因となった。また、pH3 および 5 条件では KHN が経時的に低下しており、この表面硬さの低下傾向の違いが、各条件における ISW 量の違いとなったものと考えられた。LSM 観察の結果からは、pH7 条件においてはエナメル質表面にマイクロクラックが多数形成されたが、これは疲労摩耗の特徴のひとつである。一方、pH3 条件では、エナメル小柱の明瞭化とともにマイクロクラックの発生が認められた。これは、摩擦化学的摩耗 (tribochemical wear) によって tooth wear が進行していることを示すものと考えられた。このように、異なる酸性環境においては、酸による脱灰程度の違いによって、tooth wear を生じる機序が異なることが示され、これが ISW 量の違いとなったことが明らかとなった。

以上のように、本実験の結果から、エナメル質の衝突滑走摩耗性は、環境 pH の影響を大きく受けることが判明するとともに、tooth wear を生じる機序は pH によって異なることが示唆された。今後、低 pH 環境で生じる可能性がある tribochemical wear の抑制法についての検討が必要であり、これによって tooth wear の進行を抑制するための臨床的手法が確立されることが期待される。

緒 言

近年、細菌が関与することなく歯の損耗を生じる tooth wear が、臨床において着目されている¹⁾。Tooth wear は、咬合時の歯の接触によって生じる咬耗、歯の接触以外の外力によって生じる摩耗、咬合力による歪が歯頸部付近の歯質の欠損に関与するとされるアブフラクション、そして化学物質によって細菌が関与することなく生じる酸蝕とに分類されている²⁾。このように、tooth wear の進行には、多くの要因が相互に作用することによって、病的な状況に至るものと考えられている³⁻⁵⁾。

酸蝕は、胃内容物の逆流、酸性飲食物の摂取あるいは職業的な環境による酸によって生じるものの3種類に分類される^{6,7)}。酸性飲食物の摂取は、tooth wear を生じさせる原因のうちでも最も重要視されている⁸⁾。Tooth wear の発症因子としての酸性飲食物については、飲食物中の酸種、酸濃度、酸のpHあるいはキレート作用などについて検討されてきた⁹⁻¹²⁾。さらに、エナメル質表面への飲食物の滞留性、周囲環境のカルシウム、リン酸、およびフッ素などのイオン濃度あるいは唾液の影響なども重要な因子とされている¹³⁻¹⁵⁾。

リン酸は、食品添加物としても清涼飲料では酸味料のひとつとして、醸造用としてはpH調整のために広く用いられている¹⁶⁾。したがって、日常生活においてもリン酸を摂取する機会が多いものと考えられるが、リン酸がtooth wear に及ぼす影響については検討が少ないのが現状である⁹⁾。そこで著者は、tooth wear に関する研究の一環として、酸蝕を生じさせる因子としてのリン酸水溶液がエナメル質表面の衝突滑走摩耗性に及ぼす影響について検討した。

材料および方法

1. エナメル質試片の調製

実験には、2～3 歳齢のウシ下顎前歯の歯冠部を使用し、その唇側が上面となるように内径 22 mm、高さ 10 mm の円筒形アクリル型に、常温重合型レジン（トレーレジン、松風）を用いて包埋した（Fig. 1）。次いで、自動研磨装置（Ecomet 4000, Buehler, USA）を用いて耐水性 SiC ペーパーの#400～#2,000 まで逐次研磨し、直径約 6 mm のエナメル質平坦面とした。次いで、注入する溶液が溢出しないように同型のアクリル型を接着材で固定し、これを衝突滑走摩耗試験用試片とした。

2. 浸漬溶液

試片を浸漬する溶液は、0.1 M リン酸水溶液（DLJ5412, 和光純薬工業）にリン酸二水素ナトリウム（EPP5966, 和光純薬工業）を加えることによって、pH を 3, 5 および 7 の 3 条件に設定した。なお、溶液の pH に関しては pH メーター（B-212, 堀場製作所）を用いて確認した。

3. 衝突滑走摩耗試験

衝突滑走摩耗試験には、アンタゴニストを曲率半径が 2.5 mm のステンレス鋼製ロッド（SUS440C, 東京技研）とした衝突滑走摩耗試験機（K655-06, 東京技研）を用いた。試片を 37°C のリン酸水溶液中に浸漬し、アンタゴニストをストレート落下距離 5 mm、シリンダー接続部での水平スライド距離 2 mm、荷重 25 N とし、ストレート落下 1 回と水平スライド 2 回を 1 サイクルとした衝突滑走摩耗を 5,000 サイクルまで負荷した。なお、試片の数は各条件についてそれぞれ 5 個とした。

4. レーザー走査顕微鏡観察

試片表面を観察するために、三次元レーザー走査顕微鏡 (LSM, VK-8700, キーエンス) を用いてレーザーカラー画像およびラインプロファイルから損耗した体積である衝突摩耗 (ISW) 量を求めるとともに摩耗面形態の観察を行った。

5. ヌープ硬さ測定

エナメル質表面の硬さについて、微小硬さ測定器 (Model DMH-2, 松沢) を用い、荷重 2.5 N, 荷重保持時間 30 秒の条件でヌープ硬さ (KHN) の測定を行った。測定部位は、試片の中央部付近 5 点とし、その平均を各試片における KHN とし、試片の数は各条件についてそれぞれ 5 個とした。

6. 走査電子顕微鏡観察

異なる pH 条件における 750 サイクル相当時間経過した未滑走部を観察するために、*tert*-ブタノール濃度上昇系列に浸漬した後、臨界点乾燥 (凍結乾燥機, Model ID-3, エリオニクス) を行った。次いで、イオンコーター (Quick Coater Type SC-201, サンヨー電子) で金蒸着を施した後、走査電子顕微鏡 (SEM, ERA-8800FE, エリオニクス) を用いて、加速電圧 10 kV の条件で観察した。

7. 統計分析

各条件において得られた測定値については、リン酸溶液の pH と衝突滑走回数とを要因とした二元配置分散分析を行った後、多重比較として Tukey HSD test を用いて有意水準 5% の条件で統計学的検定を行った。

成 績

衝突滑走摩耗試験後の ISW 量を Fig. 2 に示した。ISW 量は、溶液の pH および滑走回数に影響を受け、さらに pH と滑走回数の間には交互作用が認められた ($P < 0.001$)。各溶液における ISW 量は、pH3 条件で $18.1 \sim 207.6 \times 10^{-4} \text{ mm}^3$ 、pH5 条件では $12.1 \sim 78.6 \times 10^{-4} \text{ mm}^3$ 、および pH7 条件では $7.8 \sim 37.0 \times 10^{-4} \text{ mm}^3$ であった。

衝突滑走摩耗試験後の LSM 像およびラインプロファイル像の代表例を Figs. 3, 4 に示す。いずれの衝突滑走サイクルにおいても、pH7 条件に比較して pH が低くなる条件で損耗部が大きくなる傾向を示し、とくに 5,000 サイクルにおける pH3 条件では、pH7 条件と比較するとその直径は約 1.5 倍となった。ラインプロファイルで深さ方向の損耗程度を比較すると、pH7 条件に比較して pH3 条件において、衝突滑走サイクルの増加に伴う損耗程度が大きくなる傾向を示した。

衝突滑走 100 サイクル負荷後の LSM 像を Figs. 5, 6 に示す。pH7 条件ではクラックが多数形成され、エナメル質が一部剥落した像が観察された。一方、pH3 条件における未滑走部ではエナメル小柱が明瞭に観察され、衝突滑走部においては亀裂とともに摩擦摩耗が混在した像として観察された。

各条件における試片表面における KHN を Table 1 に示す。いずれの pH 条件においても、衝突滑走サイクルの増加に伴って KHN が低下する傾向を示したものの、pH7 条件では各サイクル数間における差は認められなかった。一方、pH3 条件では、KHN の著しい低下が認められ、750 サイクルでは試験開始時の約 1/4 の KHN となった。

各溶液に 750 サイクル浸漬後のエナメル質未滑走部における SEM 像を Fig. 7 に示す。浸

漬溶液の pH 条件の違いによって脱灰状況に違いが認められ、pH3 条件ではエナメル小柱が明瞭となったのに対し、pH5 条件ではわずかに小柱間の明瞭化が認められ、pH7 条件ではほとんど変化は認められなかった。

考 察

日常生活において、酸性飲食物を消費する量は増加する傾向にあり⁹⁾、これに咬合などの諸因子が長期間にわたり負荷されることによって tooth wear を生じる¹⁷⁾。Tooth wear の予防においては、とくに初期段階における対応が有効と考えられるが、発症機序を含めて本疾患に関する情報が少ないのが現状である^{18,19)}。そこで、tooth wear の発症における酸性環境と咬合因子との影響について検討するために、酸性飲料水に酸味料として添加されるリン酸¹⁴⁾を用い口腔内における咬合接触をシミュレートした衝突滑走摩耗試験を行った。

本試験に用いたアンタゴニストには、ヒトエナメル質と表面硬さが類似しているステンレス鋼を用い、衝突摩耗力には生理的咬合力の範囲内の 25 N²⁰⁾を負荷荷重として、5,000 回まで衝突滑走を負荷した。シリンダー接続部における水平的移動距離が 2mm となるように調整されており、したがってアンタゴニスト先端では 2mm 以内の移動距離となっている。衝突滑走摩耗に関しては、口腔内環境をシミュレートした試験法がいくつか提案されてきた²¹⁾。その試験法のひとつである Leinfelder 法²²⁾は、アンタゴニストを円錐形のステンレス鋼としてこれにスラリーを使用することで、コンポジットレジンの咬合接触による摩耗を予測する三体摩耗試験法である。その試験の結果は、口腔内における wear 特性に近似しているとされており²³⁾、本研究においてもこの方法を参考として、酸性環境がエナ

メル質の衝突滑走摩耗に及ぼす影響について検討した。

その結果、pH3 溶液条件での ISW 量は、pH5 および pH7 条件と比較して有意に大きな値を示した。本研究に使用したリン酸は、酸解離定数が 2.12 と低いことから脱灰能が高い。したがって、pH3 条件に用いたリン酸溶液ではエナメル質の脱灰が生じやすく、KHN においても有意に低い値を示す要因となった。また、pH3 および 5 条件では KHN が経時的に低下しており、この表面硬さの低下傾向の違いが、各条件における ISW 量の違いとなったものと考えられた。このように、酸性溶液との接触による脱灰は、持続的に tooth wear を助長するリスク因子であり^{24,25)}、この観点から tooth wear を予防するためには口腔内の酸性状態を改善することが重要であることが示唆された。

Wear という現象は、その機序から摩擦し合う固体同士の微小突起部の凝着部が剪断されて生じる凝着摩耗、硬い固体が滑走摩耗するときに軟らかい固体表面が削られて生じるアブレシブ摩耗、摩擦表面凸部の繰り返し接触によって表面にマイクロクラックが生じて、これが内部に伝播し摩耗粒子が形成される疲労摩耗、そして摩擦表面が気体や液体などと化学反応を起こして生じる化学摩耗とに分類される²⁶⁾。LSM 観察の結果から、pH7 条件においてはエナメル質表面にマイクロクラックが多数形成されていた (Fig. 5)。これは、繰り返し負荷される衝突と滑走摩耗力によってエナメル小柱間に劈開を生じたことを示すものであり、疲労摩耗の特徴のひとつと考えられる。一方、pH3 条件におけるエナメル質表層では、脱灰によるエナメル小柱パターンの明瞭化とともに、衝撃摩耗によるマイクロクラックの発生が認められた (Fig. 6)。すなわち、化学摩耗に加えて疲労摩耗が混在する摩擦化学的摩耗 (tribochemical wear)^{27,28)}によって tooth wear が進行していることを示すもの

と考えられる。このように、異なる酸性環境においては、酸による表面硬さの違いによるものとともに、tooth wear を生じる機序も異なることが示され、これが ISW 量の違いとなったことが明らかとなった。

以上のように、本実験の結果から、エナメル質の衝突滑走摩耗性は、環境 pH の影響を大きく受けることが判明するとともに、tooth wear を生じる機序は pH によって異なることが示唆された。今後、低 pH 環境で生じる可能性がある tribochemical wear の抑制法についての検討が必要であり、これによって tooth wear の進行を抑制するための臨床的手法が確立されることが期待される。

結 論

リン酸溶液中におけるウシエナメル質の衝突滑走摩耗について、衝突摩耗量および表面性状について検討し、以下の結論を得た。

1. エナメル質の衝突摩耗量は pH の影響を受け、これが低いもので摩耗量も大きくなった。
2. エナメル質の表面硬さは pH の影響を受けるものの、pH7 条件下では有意な差は認められなかった。
3. エナメル質の表面性状は pH の影響を受け、これが低いものでエナメル質の脱灰状態が強くなった。
4. エナメル質の表面性状の観察から、tooth wear の進行様式は pH によって異なるものであった。

文 献

- 1) Kreulen CM, Van't Spijker A, Rodriguez JM, Bronkhorst EM, Creugers NHJ, Bartlett DW. Systematic review of the prevalence of tooth wear in children and adolescents. *Caries Res* 2010; 44: 151-159.
- 2) Addy M, Shellis RP. Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear. *Monogr Oral Sci* 2006; 20: 17-31.
- 3) Eisenburger M, Addy M. Erosion and attrition of human enamel in vitro Part I: Interaction effects. *J Dent* 2002; 30: 341-347.
- 4) Eisenburger M, Addy M. Erosion and attrition of human enamel in vitro Part II: Influence of time and loading. *J Dent* 2002; 30: 349-352.
- 5) Las Casas EB, Bastos FS, Godoy GCD, Buono VTL. Enamel wear and surface roughness characterization using 3D profilometry. *Tribology Int* 2008; 41: 1232-1236.
- 6) Schroeder PL, Filler SJ, Ramirez B, Lazarchik DA, Vaezi MF, Richter JE. Dental erosion and acid reflux disease. *Ann Int Med* 1995; 122: 809-815.
- 7) 深代眞吾, 野中浩一, 篠崎敏明, 本橋正史, 矢野栄二. 製錬所における硫酸曝露による歯牙酸蝕症の有所見者割合. *産衛誌* 1999; 41: 88-94.
- 8) Zero DT. Etiology of dental erosion-extrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996; 104: 162-177.
- 9) West NX, Hughes JA, Addy M. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: The effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil* 2000; 27: 875-880.

- 10) Hughes JA, West NX, Parker DM, Van den Braak MH, Addy M. Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro. *J Dent* 2000; 28: 147-152.
- 11) Cairns AM, Watson M, Creanor SL, Foye RH. The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion. *J Dent* 2002; 30: 313-317.
- 12) Sajewicz E. Tribological behavior of human enamel in red wine and apple juice environments. *Wear* 2007; 262: 308-315.
- 13) Attin T, Deifuss H, Hellwig E. Influence of acidified fluoride gel on abrasion resistance of eroded enamel. *Caries Res* 1999; 33: 135-139.
- 14) Hooper S, West NX, Pickles MJ, Joiner A, Newcombe RG, Addy M. Investigation of erosion and abrasion on enamel and dentine: A model in situ using toothpastes of different abrasivity. *J Clin Periodontol* 2003; 30: 802-808.
- 15) Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T. Erosive effects of different acids on bovine enamel: Release of calcium a phosphate in vitro. *Arch Oral Biol* 2005; 50: 541-552.
- 16) 石橋正博, 山田 傑, 北村尚男, 真島裕子, 一色賢司, 伊藤誉志男. 縮合リン酸塩の一日摂取量とそれに影響する食品. *日食化誌* 1995; 2: 93-96.
- 17) Wang X, Lussi A. Assessment and management of dental erosion. *Dent Clin North Am* 2010; 54: 565-578.
- 18) Barbour ME, Rees GD. The role of erosion, abrasion and attrition in tooth wear. *J Clin Dent* 2006; 17: 88-93.
- 19) Poggio C, Lombardini M, Colombo M, Bianchi S. Impact of two toothpastes on repairing

- enamel erosion produced by a soft drink: An AFM in vitro study. *J Dent* 2010; 38: 868-874.
- 20) Anderson DJ. Measurement of stress in mastication. I. *J Dent Res* 1956; 35: 664-670.
- 21) Heintze SD. How to qualify and validate wear simulation devices and methods. *Dent Mater* 2006; 22: 712-734.
- 22) Leinfelder KF, Beaudreau RW, Mazer RB. An in vitro device for predicting clinical wear. *Quintessence Int* 1989; 20: 755-761.
- 23) Barkmeier WW, Latta MA, Erickson RL, Wilwerding TM. Wear simulation of resin composite and the relationship to clinical wear. *Oper Dent* 2008; 33: 177-182.
- 24) Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. Human enamel dissolution in citric acid as a function of pH in the range $2.30 \leq \text{pH} \leq 6.30$ - A nanoindentation study. *Eur J Oral Sci* 2003; 111: 258-262.
- 25) 安藤 進, 市野 翔, 大城麻紀, 渡邊珠代, 飯野正義, 古宅眞由美, 白土康司, 藤井 雄介, 宮崎真至, 宮 直利. 咬合と酸蝕がエナメル質の tooth wear に及ぼす影響. *日歯保存誌* 2011; 54: 306-313.
- 26) Mair LH, Stolarski TA, Vowles RW, Lloyd CH. Wear: Mechanisms, manifestations and measurement. Report of a workshop. *J Dent* 1996; 24: 141-148.
- 27) Zheng J, Zhou ZR. Friction and wear behavior of human teeth under various wear conditions. *Tribology Int* 2007; 40: 278-284.
- 28) Hodge C, Stack MM. Tribo-corrosion mechanisms of stainless steel in soft drinks. *Wear* 2010; 270: 104-114.

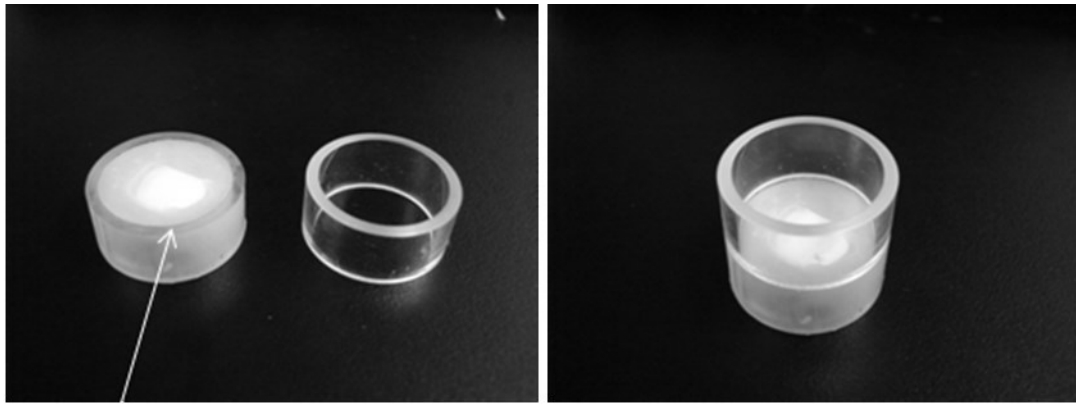
表および図

Table 1 KHN of bovine enamel in experimental solutions

pH	Number of wear cycles			
	0	250	500	750
pH 3	199.8 (33.4) ^{AA}	104.9 (26.6) ^{AB}	71.5 (13.6) ^{AC}	54.0 (14.3) ^{AC}
pH 5	199.7 (14.4) ^{AA}	175.2 (11.8) ^{AB}	150.5 (14.5) ^{ABC}	144.1 (17.9) ^{BC}
pH 7	204.4 (11.9) ^{AA}	208.0 (19.0) ^{AA}	207.8 (16.5) ^{AA}	196.9 (13.7) ^{AA}

Within the sample group pH, values with the same upper-case superscript letter are not significantly different ($P > 0.05$).

Between groups at the same wear cycles, the same lower-case superscript letters indicate no significant difference ($P > 0.05$).



Bovine enamel

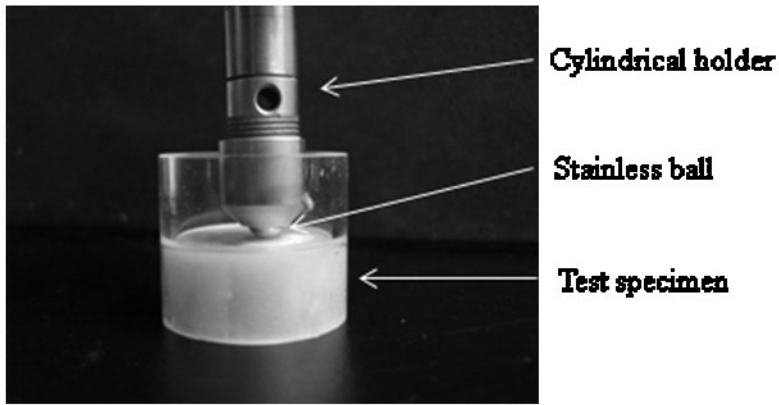


Fig. 1 Specimen setup for impact sliding test

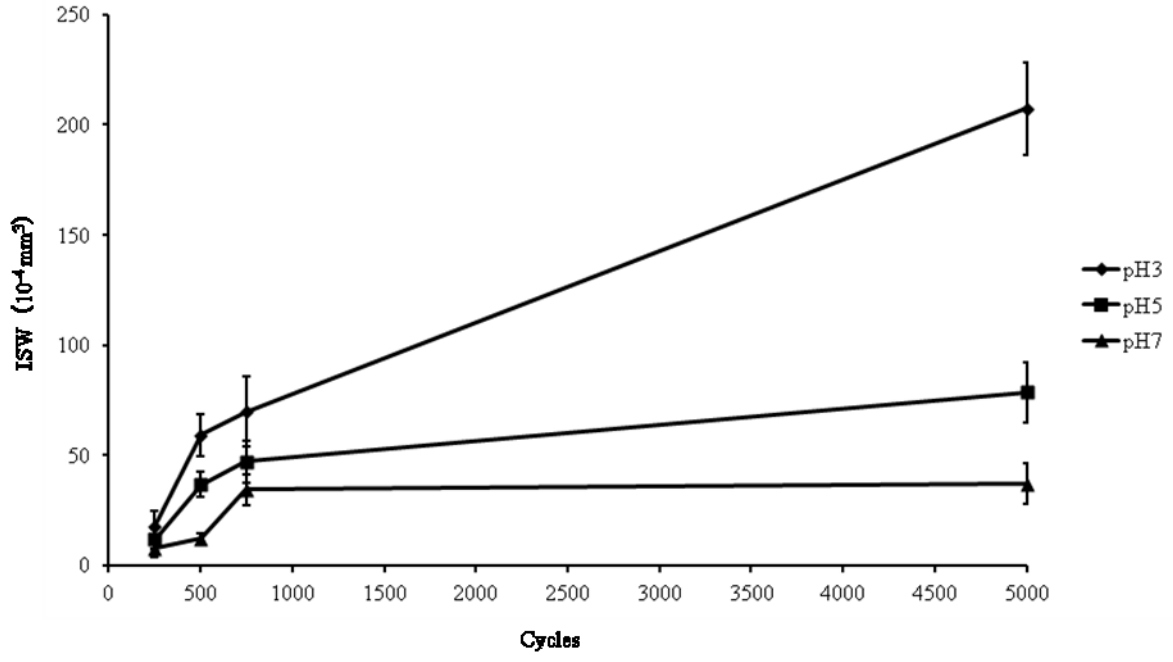


Fig. 2 ISW after impacting-sliding wear test in different pH solutions

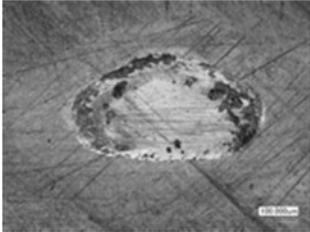
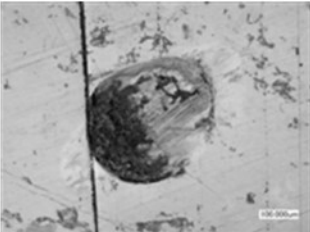
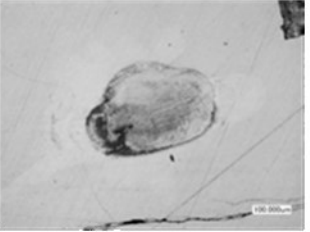
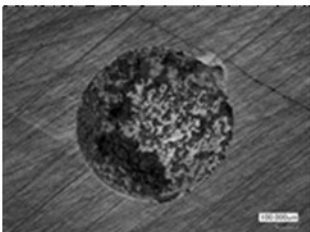

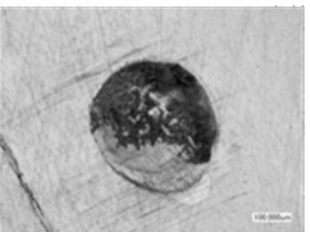
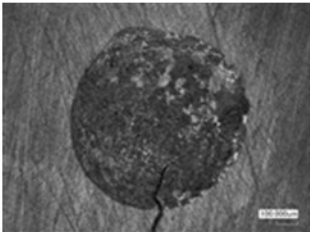
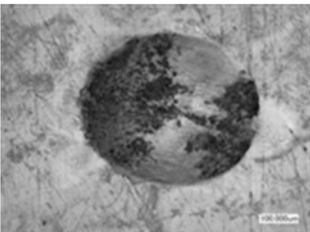
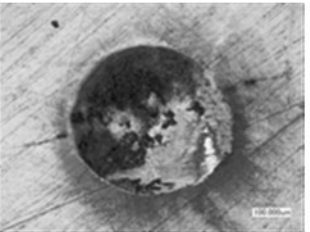
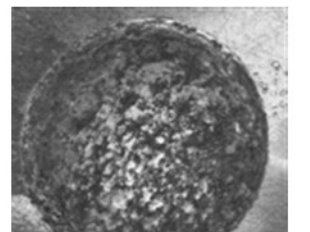
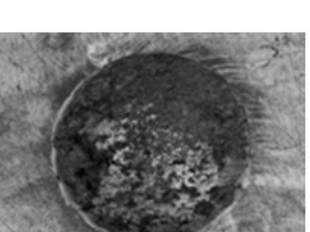
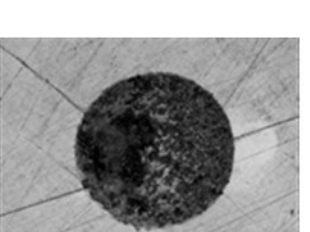
	pH 3	pH 5	pH 7
250 cycles			
500 cycles			
750 cycles			
5000 cycles			

Fig. 3 Laser scanning microscopic images of worn enamel surfaces after impact sliding test

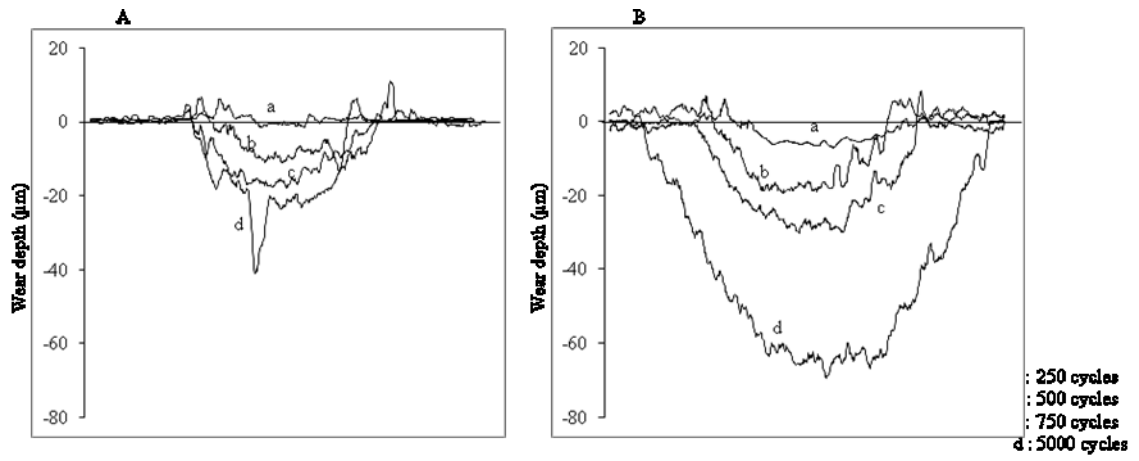


Fig. 4 Line profile images of worn enamel surfaces (A: pH 7, B: pH 3)

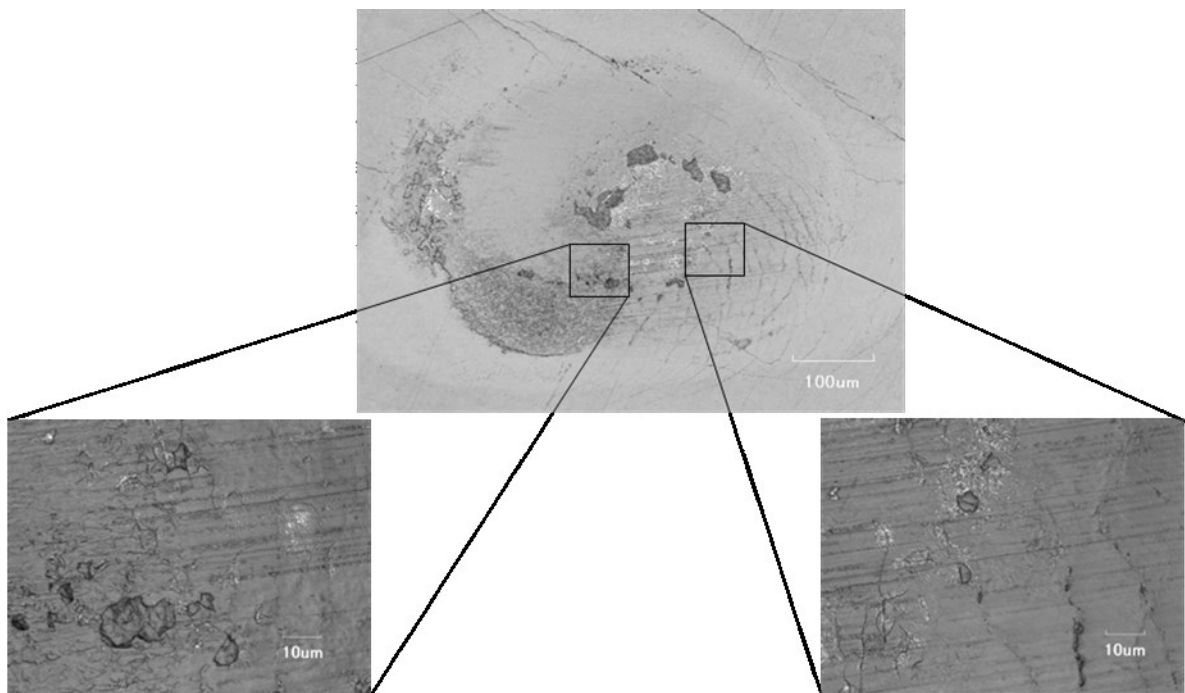


Fig. 5 Laser scanning microscopic images of the worn enamel surfaces in the pH 7 solution (100 cycles)

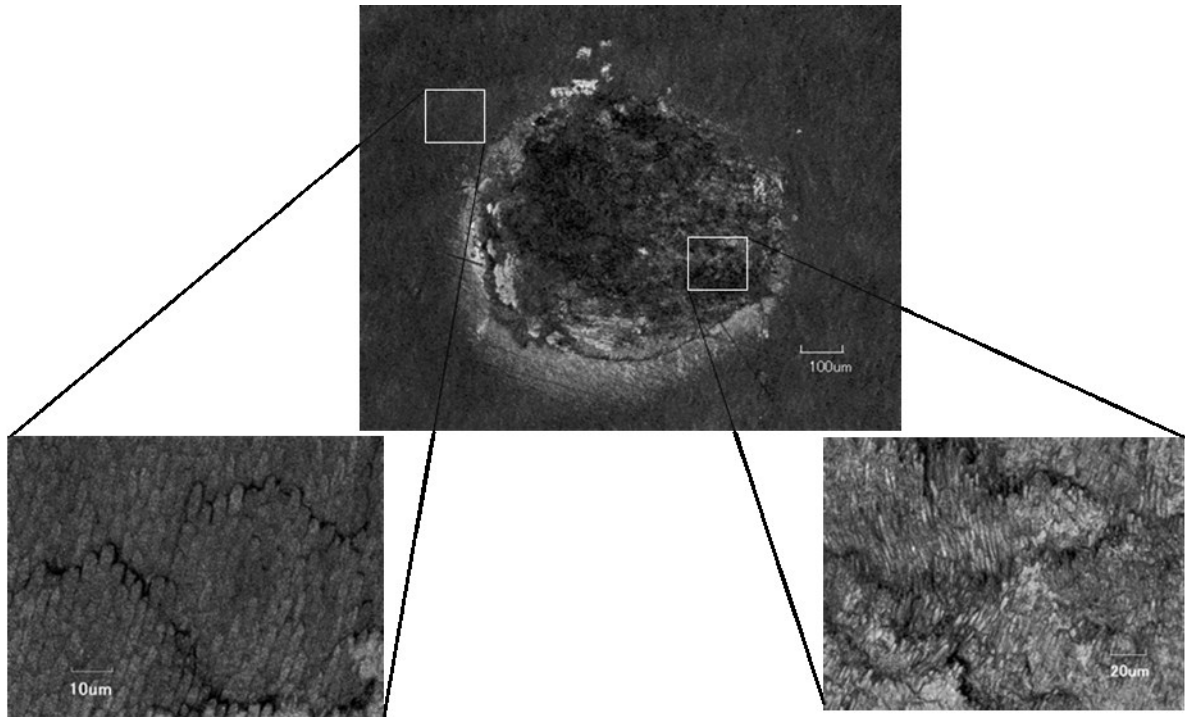


Fig. 6 Laser scanning microscopic images of the worn enamel surfaces in the pH 3 solution (100 cycles)

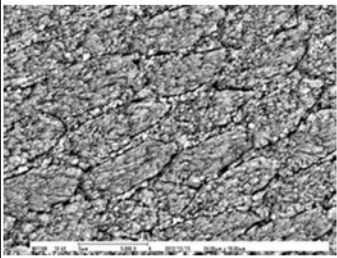
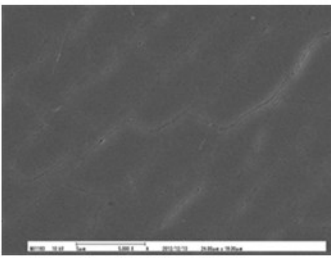
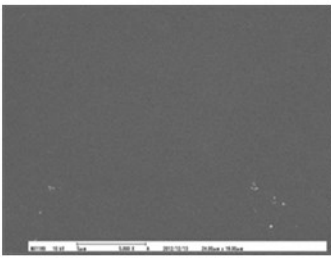
	pH 3	pH 5	pH 7
750 cycles			

Fig. 7 Scanning electron microscopic images of worn enamel in phosphoric acid solutions (original magnification, x 5,000)