

**Wirkungsmechanismus von erosionsinhibierenden Sn/F-
Zahnpasten im Schmelz: Effekte von Putzkörpern in
experimentellen Formulierungen mit und ohne Chitosan.
Eine Studie zur Zinnaufnahme und Ultrastruktur.**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Matthias S. Jung
aus Gießen

Gießen 2013

Aus dem Medizinischen Zentrum für Zahn-, Mund-, und Kieferheilkunde
Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Präventive Zahnheilkunde
der Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH
Standort Gießen

Direktor: Prof. Dr. Joachim Klimek

Gutachter: Prof. Dr. Carolina Ganß

Gutachter: Prof. Dr. Ralf Middendorff

Tag der Disputation: 26.05.2014

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Zahnhartsubstanzschäden durch Erosionen	3
2.1.1	Definition von Erosionen	3
2.1.2	Zahnschmelz.....	4
2.1.3	Entwicklung von Erosionen und klinischer Befund.....	4
2.1.4	Beeinflussende Faktoren und Interaktionen	6
2.1.4.1	Extrinsische Säurequellen	10
2.1.4.2	Intrinsische Säurequellen	10
2.1.5	Diagnose und Klassifikation	11
2.1.6	Epidemiologie	12
2.1.7	Prävention und Therapie	14
2.2	Wirkstoffe und Anwendungen bei Erosionen	16
2.2.1	Fluoride und ihre Verbindungen bei Karies und Erosionen.....	16
2.2.2	Zinnfluoride und andere Zinnverbindungen bei Erosionen.....	19
2.3	Zielstellung	24
	Aufbau und Durchführung des Vorgängerversuches	25
	Herstellung der Proben.....	25
	Verwendete Lösungen.....	26
	Verwendete experimentelle Zahnpastenformulierungen	26
	Versuchsdurchführung	28
3	Material und Methoden	29
3.1	Profilometrie / Rauheitsmessung	29
3.2	Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)	31
3.3	Oberflächen-Strukturaufnahmen.....	34
3.3.1	Reproduzierbarkeit der Strukturaufnahmen-Auswertung.....	35
3.4	Referenzflächenmessung	36
3.5	Reproduzierbarkeitsmessungen	37
3.6	Putzkörperaufnahmen	38
3.7	Statistische Auswertung	42
3.8	Materialien und Chemikalien.....	43

4	Ergebnisse	47
4.1	Quantifizierung von Zinn auf der Oberfläche.....	47
4.2	Ergebnisse der Profilometrie.....	49
4.2.1	Mittlere Rautiefe (R_z) der Schmelzoberfläche	49
4.2.1.1	Versuchsgruppen ohne Chitosan.....	49
4.2.1.2	Versuchsgruppen mit Chitosan.....	51
4.2.1.3	Vergleich der Gruppen aus Bürst- und Slurrybehandlung sowie Gegenüberstellung der Gruppen mit und ohne Chitosan	53
4.3	Ergebnisse der energiedispersiven Röntgenspektroskopie.....	54
4.3.1	Zinngehalt der Schmelzoberfläche	54
4.3.1.1	Versuchsgruppen ohne Chitosan.....	55
4.3.1.2	Versuchsgruppen mit Chitosan.....	55
4.3.1.3	Vergleich der Gruppen mit und ohne Chitosan	56
4.3.1.4	Vergleich der Gruppen aus Bürst- und Slurrybehandlung	58
4.3.1.5	Elementanalyse der Referenzflächen	60
4.3.1.6	Zinngehalt der Placebo-Gruppen.....	60
4.3.2	Kohlenstoffgehalt der Schmelzoberfläche	61
4.3.3	Zusammenhang zwischen Zinn- und Kohlenstoffgehalt	65
4.3.4	Zinngehalt auf Putzkörperoberflächen.....	66
4.4	Zinnverfügbarkeit in Zahnpastasuspensionen (Slurries)	67
4.5	Zusammenhang von Zinngehalt der Schmelzoberfläche und erosivem Substanzverlust.....	68
4.6	Qualitative Auswertung der Oberflächen-Strukturaufnahmen	70
5	Diskussion	73
5.1	Material und Methoden	73
5.1.1	Probenmaterial und Versuchsdurchführung	73
5.1.2	Profilometrie.....	73
5.1.3	Rasterelektronenmikroskopie und EDX-Analyse	74
5.2	Ergebnisse	78
5.2.1	Chitosan.....	81
5.2.2	Abrasiva.....	86
5.2.3	Quantitative und qualitative Analyse der Oberflächenstruktur	91
5.3	Schlussfolgerung	94
6	Zusammenfassung	95
7	Summary	97
8	Literaturverzeichnis	99

9	Anhang	116
9.1	REM-Strukturaufnahmen der Probenoberflächen und Ergebnisse..... der energiedispersiven Röntgenspektroskopie	116
9.1.1	Versuchsgruppen ohne Chitosan und mit Bürstbehandlung	117
9.1.2	Versuchsgruppen ohne Chitosan und mit Slurrybehandlung	124
9.1.3	Versuchsgruppen mit Chitosan und mit Bürstbehandlung	131
9.1.4	Versuchsgruppen mit Chitosan und mit Slurrybehandlung	138
9.1.5	Negativ-Kontrolle (nur erodiert)	145
9.2	REM-Strukturaufnahmen von Referenzflächen	146
9.3	REM-Strukturaufnahmen verschiedener Putzkörpertypen	147
9.4	Publikation	149
9.5	Ehrenwörtliche Erklärung	152
9.6	Danksagung	153
9.7	Tabellarischer Lebenslauf	154

1 Einleitung

Die allgemeine Mundhygiene hat heute einen hohen Standard erreicht, mit der Folge, dass die Zähne in der Regel bis ins höhere Alter erhalten bleiben können. Aus diesem Grunde rücken nun die nicht-kariesbedingten Zahnschädigungen und Verschleißerscheinungen in den Mittelpunkt des Interesses. Zu den nicht-kariesbedingten Abnutzungserscheinungen der Zähne gehören Erosionen.

Als Erosionen sind Zahnhartsubstanzverluste definiert, die ausgelöst von chronischen Säureeinwirkungen und ohne die Beteiligung von Bakterien auf plaquefreien Zahnoberflächen entstehen. Der oberflächliche Säurekontakt demineralisiert die angegriffenen Schmelzschichten und führt zu irreversiblen Substanzdefekten. Diese schmerzlosen Schäden schreiten allmählich und Schicht für Schicht fort. Ursächliche Säuren können exogener (Ernährung, Medikamente, Umweltexposition) oder endogener Herkunft (Refluxerkrankung, chronisches Erbrechen) sein. Der persönliche Lebensstil kann zudem begünstigend wirken (obst- und fruchtsäurereiche Ernährung, hoher Limonaden- oder Sportgetränkekonsum).

Ein säurebedingter Zahnhartsubstanzdefekt kann zum Stillstand kommen, wenn die Exposition gegenüber der verursachenden Substanz beendet wird oder symptomatische Maßnahmen ergriffen werden. Die therapeutisch letzte Option ist die restaurative Versorgung. Der Prävention kommt daher bei Erosionen eine große Bedeutung zu und kann am einfachsten beim etablierten Zähneputzen erfolgen.

Zahnpasten mit ihren Wirkstoffen haben in diesem Zusammenhang einen großen Stellenwert. Konventionelle Fluoride (zum Beispiel Natriumfluorid oder Aminfluorid) können einen Grundlagenschutz gegenüber alltäglichen Säureangriffen und Demineralisation bieten, allerdings entwickeln speziell Patienten mit Risikofaktoren trotz dieser Prophylaxe weiterhin neue erosive Zahnhartsubstanzschäden oder bestehende initiale Läsionen schreiten fort. Wünschenswert wäre daher eine Zahnpasta, die einen Erosionsschutz für betroffene Patienten bieten kann.

Für eine solche Anwendung kommen momentan insbesondere Produkte mit Zinn als Wirkstoff in Frage, denn Zinnionen konnten in letzter Zeit erfolgreich in der Bekämpfung der erosiven Demineralisation und des Substanzverlustes eingesetzt

werden. Es wurden verschiedene Zinnverbindungen in unterschiedlichen Anwendungsformen erprobt, wobei eine zinnhaltige Mundspüllösung besonders vielversprechende Ergebnisse lieferte. Der schützende Effekt von Zahnpasten mit zinnhaltigen Wirkstoffen blieb verglichen mit jener Mundspüllösung aber hinter den Erwartungen zurück.

Eine Ursache für die unterschiedliche Wirksamkeit kann der komplizierte Aufbau von Zahnpasten sein. Neben den Wirkstoffen beinhalten diese noch Abrasiva, Wasser sowie Feuchthalte- oder Verdickungsmittel, Tenside, Konservierungsmittel und Aromastoffe. Wechselwirkungen dieser vielen Einzel- und Zusatzstoffe, gerade im Hinblick auf ihre Effekte bezüglich der Gesamtwirkung der Formulierung, sind bisher wenig bekannt. Möglicherweise gibt es Reaktionen von Zinn mit den Inhaltsstoffen (Abrasiva, Chitosan), die Auswirkungen auf die Effektivität solcher Formulierungen haben.

Mit dem Biopolymer Chitosan kommt außerdem ein neuer Wirkstoff in Zahnpasten zum Einsatz. Seine Anwendung alleine oder in Kombination mit Zinn könnte den Produkten das erwünschte Schutzpotential gegenüber Erosionen verleihen.

Die vorliegende Arbeit schließt sich an eine Vorgängerstudie an, in der in vitro der Einfluss von Abrasiva und Chitosan auf die Wirksamkeit von experimentellen und zinnhaltigen Zahnpasten hinsichtlich der Reduktion des erosiven Substanzverlustes untersucht wurde. Im Folgenden wird der Einfluss der Abrasiva und von Chitosan auf die Zinnaufnahme im Zahnschmelz untersucht. Dazu wurden die Proben aus der Vorgängerstudie weiterführend analysiert.

Ziel dieser in vitro Studie war es, zur Aufklärung des Wirkmechanismus zinnhaltiger Zahnpasten bei Schmelzerosionen beizutragen und speziell Informationen über Wechselwirkungen von Zinn mit Abrasiva und Chitosan zu gewinnen.

2 Literaturübersicht

In den Industrieländern hat sich die Häufigkeit der Zahnkaries als primäres orales Krankheitsbild zumindest bei Jugendlichen erfolgreich eindämmen lassen [Marthaler, 2004]. Da die Zähne unter anderem aus diesem Grund heute gewöhnlich bis ins höhere Alter erhalten bleiben können, erlangen nicht-kariesbedingte Zahnerkrankungen sowie Schädigungen mit anderer Ätiologie einen immer größeren Stellenwert für eine nachhaltige Zahngesundheit. In diesem Zusammenhang erfahren gerade Zahnhartsubstanzläsionen durch Erosionen eine gesteigerte Aufmerksamkeit [Ganss und Lussi, 2008; Johansson et al., 2012].

Darüber hinaus hat auch die Erforschung von erosiven Zahnhartsubstanzschäden in den letzten Jahren deutlich an Bedeutung gewonnen [Johansson et al., 2012]. Gab es während der 1970er und 1980er Jahre zwischen 5 und 10 jährliche Veröffentlichungen in diesem Forschungsbereich [Lussi, 2006], waren es zwischen den Jahren 2000 und 2007 durchschnittlich 25 Publikationen, die bei der Suche nach „dental erosion“ in der PubMed-Bibliothek aufzufinden waren. Seit 2008 und bis heute hat sich jene Anzahl veröffentlichter Artikel bei PubMed mit über 50 pro Jahr nochmals verdoppelt. Die verstärkte Forschungstätigkeit auf diesem Gebiet hat zu einem verbesserten Verständnis des Krankheitsbildes und damit zur Entwicklung von Präventions- und Therapiemöglichkeiten beigetragen.

2.1 Zahnhartsubstanzschäden durch Erosionen

2.1.1 Definition von Erosionen

In der Zahnmedizin werden Erosionen als Zahnhartsubstanzdefekte beschrieben, die durch die Einwirkung chemisch aktiver Agentien ohne die Beteiligung von Bakterien entstehen. Verantwortlich für die Entstehung von Erosionen ist der direkte Kontakt von Säuren mit der Zahnoberfläche [Zipkin und McClure, 1949; Pindborg, 1970; Eccles, 1979; ten Cate und Imfeld, 1996].

Bei der Säureeinwirkung demineralisieren die Wasserstoffionen oberflächliche Schmelzschichten in einer Tiefe von wenigen Mikrometern [Voronets und Lussi, 2009; Cheng et al., 2009]. Diese Läsionen schreiten in der Folge Schicht für Schicht fort und es kommt zum manifesten Substanzverlust. Danach bleibt eine demineralisierte Oberfläche mit erhöhter Rauheit und verminderter Mikrohärtigkeit zurück [Lussi et al., 1993; Meurman und ten Cate, 1996; Nekrashevych und

Stösser, 2003; Eisenburger et al., 2004; Featherstone und Lussi, 2006; Lussi et al., 2011].

2.1.2 Zahnschmelz

Der Zahnschmelz ist das am meisten mineralisierte und damit härteste Gewebe des menschlichen Körpers. Während im ausgereiften Zustand bis über 95 Gew% mineralisierte Substanz sind, beträgt der Anteil organischen Materials etwa 1 Gew%, und der von Wasser um 4 Gew% [Nikiforuk, 1985; Dorozhkin und Epple, 2002; Radlanski, 2011b]. Der Schmelz ist strukturell in Schmelzprismen organisiert, die als Apatitkristalle vor allem aus Kalzium und Phosphor bestehen [Dorozhkin und Epple, 2002; Featherstone und Lussi, 2006]. Darüber hinaus findet man in geringeren Konzentrationen Karbonat, Natrium, Magnesium, Chlor, Kalium, Fluor und Spurenelemente [Radlanski, 2011b]. Die chemische Zusammensetzung weicht wegen jenen Substituenten von der stöchiometrischen Hydroxylapatit-Formel ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$) ab und entspricht näherungsweise einem stark substituierten und kalziumarmen Karbonat-Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x[\text{PO}_4]_{6-y}[\text{CO}_3]_z[\text{OH}]_{2-u}\text{F}_u$) [Featherstone und Lussi, 2006]. Dieser Apatit ist leichter säurelöslich als reiner Hydroxylapatit oder Fluorapatit ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6\text{F}_2$), der in Form von unvollständig substituiertem Fluor-Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]\text{F}$) ebenfalls im Schmelz vorkommt [Nikiforuk, 1985; Dorozhkin und Epple, 2002; Featherstone und Lussi, 2006].

Der Zahnschmelz ist ein zellfreies Mineralgewebe und besitzt damit keinen eigenen Stoffwechsel, dennoch können chemische Modifikationen seine Zusammensetzung verändern [Radlanski, 2011b]. Er unterliegt in der Mundhöhle verschiedenen physikochemischen Mineralisierungseinflüssen. Wurde durch Umwelteinflüsse (Säuren) ein umschriebener Schmelzbereich demineralisiert, kann im Rahmen einer begrenzten Gleichgewichtsreaktion die Remineralisierung durch den gegenüber den Zahnhartsubstanzmineralien gesättigten Speichel erfolgen [Dorozhkin und Epple, 2002; Radlanski, 2011b].

2.1.3 Entwicklung von Erosionen und klinischer Befund

Die Pathogenese einer erosiven Schmelzläsion beginnt im Moment der direkten Einwirkung einer Säure auf die Hydroxylapatitkristalle der Oberfläche [Patel et al., 1987; Grenby et al., 1989]. Entscheidender Faktor für die Demineralisation von Zahnhartsubstanz ist die Sättigung der den Zahn umgebenden sauren Lösung

gegenüber seinen Hauptbestandteilen Kalzium und Phosphat sowie zu geringerem Anteil Fluor [Lussi et al., 2011]. Sobald die Zusammensetzung einer sauren Lösung den Sättigungsgrad gegenüber der Zahnhartsubstanz unterschreitet, gehen Mineralien in Lösung. Dieser Punkt kennzeichnet so den spezifischen kritischen pH-Wert der Lösung [Featherstone und Lussi, 2006; Lussi et al., 2011].

Ein genereller kritischer pH-Wert als Schwelle für die Entstehung von Erosionen kann im Gegensatz zur Kariespathogenese nicht angegeben werden, da hier stets die aktuelle Sättigung (Kalzium- und Phosphatkonzentrationen) des sauren Agens mitberücksichtigt werden muss [Featherstone und Lussi, 2006; Lussi et al., 2011].

Besteht die schädigende Einwirkung über einen längeren Zeitraum, kommt es schichtweise zu einem zentripetal fortschreitenden und irreversiblen Gewebe- sowie Substanzdefekt der vormals initialen Läsion [Ganss, 2006; Lussi et al., 2011]. Der zurückbleibende oberflächliche Schmelz ist teilweise demineralisiert, weist eine erhöhte Rauheit auf, und hat eine in Abhängigkeit von der Säureeinwirkungsdauer deutlich verminderte Mikrohärtigkeit [Lussi et al., 1995; Attin et al., 1997; Lussi et al., 1997; Nekrashevych und Stösser, 2003; Lussi et al., 2011]. Er ist damit gegenüber verschiedenen physikalischen Einwirkungen wesentlich weniger widerstandsfähig [Attin et al., 1997; Eisenburger et al., 2004; Voronets et al., 2008].

Auf rasterelektronenmikroskopischen Bildern von Querschnittsproben mit Schmelzerosionen kann man neben dem intakten Schmelz diesen unvollständig demineralisierten und gegenüber mechanischen Einflüssen besonders vulnerablen dünnen Saum erkennen [Schlueter et al., 2009b; Lussi et al., 2011]. Die erodierte Schmelzoberfläche an sich zeigt bei Betrachtung mit dem Rasterelektronenmikroskop ein typisches Ätzmuster [Meurman und Frank, 1991a; Sorvari et al., 1996; Eisenburger et al., 2004].

Im Gegensatz zu kariösen Affekten sind Erosionen im Schmelz hauptsächlich ein Oberflächenphänomen [Meurman und ten Cate, 1996]. In späteren Stadien können erosive Defekte neben dem Schmelz auch das Dentin betreffen. Ihr weiteres Fortschreiten ist dabei ebenfalls grundsätzlich säureabhängig, jedoch unterscheidet sich die Pathogenese im Dentin durch dessen abweichenden Aufbau und zusätzliche organische Gewebestruktur (20 Gew% Gesamtanteil)

deutlich vom Entstehungsmechanismus im Schmelz [Lussi et al., 2011; Radlanski, 2011a].

Erosive Läsionen können grundsätzlich auf allen Zahnoberflächen lokalisiert sein, im Vergleich zu Kariesläsionen treten sie allerdings regelmäßig und definitionsgemäß an Stellen ohne Plaquevorkommen auf [Cheung et al., 2005; Ganss und Lussi, 2006; Young A, 2011]. Klinisch handelt es sich um einen pathologischen, chronischen, lokalisierten und im Schmelz gewöhnlich asymptomatischen Verlust von Zahnhartsubstanz. Bei fortgeschrittenem Defekt mit Dentinbeteiligung können Schmerzen und Hypersensibilitäten auftreten [Dababneh et al., 1999; Addy, 2005; Ganss, 2006].

Das klinische Erscheinungsbild von Erosionen ist initial geprägt durch den Verlust des für den Schmelz typischen Oberflächenglanzes. An den Glattflächen entstehen koronal der Schmelz-Zement-Grenze konkave Substanzverluste. Der zervikale Bereich verbleibt hier in der Regel mit einem intakten Schmelzband. Fortschreitende Schädigung bewirkt okklusal eine Eindellung und Abflachung von Höckerspitzen, sowie eine allgemeine Einebnung des Höcker-Fissuren-Reliefs. An erosive Läsionen angrenzende Zahnfüllungen können über die verbliebene Zahnoberfläche herausragen und überkonturiert wirken [Eccles, 1979; Linkosalo und Markkanen, 1985; Schmidt et al., 2003]. Im Vollbild der Erosionen kann es zur völligen Auflösung der Schmelzschicht und der weiteren Ausbreitung im freiliegenden Dentin kommen, bis hin zum Verlust der Zahnmorphologie und der physiologischen Vertikaldimension [Ganss, 2006; Lussi et al., 2011].

2.1.4 Beeinflussende Faktoren und Interaktionen

Die Erosionen verursachenden Säuren werden nach ihrer Herkunft aus extrinsischen (Getränke und Nahrungsmittel, berufliche Exposition, Medikamente) oder intrinsischen (Magensäure durch Reflux oder Erbrechen) Quellen unterschieden und sind nicht auf die intraorale Bakterienflora zurückzuführen [ten Cate und Imfeld, 1996]. Beeinflusst wird das Ausmaß des Schädigungspotentials einer Säure unter anderem durch ihre Art, den zugehörigen pH- und pK_s-Werten, dem Anteil titrierbarer Säure und der Fähigkeit des Säure-Anions zur Kalziumkomplexbildung [Featherstone und Lussi, 2006]. Verschiedene Säuren haben also einen unterschiedlichen Einfluss auf den Schmelz. So verursachte Zitronensäure in vitro im relevanten pH-Bereich (pH 2-6) beispielsweise einen stärkeren Substanzverlust als Phosphorsäure [Meurman und Frank, 1991a; West

et al., 2001] und demineralisierte die Schmelzoberfläche deutlich stärker als Äpfelsäure [Meurman und Frank, 1991a]. Neben den dissoziierenden Wasserstoffionen der Zitronensäure, die direkt mit dem Schmelz reagieren, kann Ziträt als zugehöriges Säure-Anion zusätzlich Kalzium binden. Dieser doppelt schädigende Reaktionsweg macht Säuren wie die Zitronensäure so gefährlich hinsichtlich ihres Erosionspotentials [Featherstone und Lussi, 2006].

Darüber hinaus sind die Dauer und die Häufigkeit der Exposition, ebenso wie die Konzentration der Säure weitere grundlegende prognostische Faktoren [ten Cate und Imfeld, 1996; Amaechi et al., 1999a; West et al., 2000; Hannig et al., 2005a; Featherstone und Lussi, 2006; Laurance-Young et al., 2011]. Eine besondere Bedeutung hat außerdem die Kalzium- und Phosphatkonzentration und damit die Sättigung gegenüber den verschiedenen Formen der mineralisierten Komponenten der Zahnhartsubstanzen, genauso wie die Pufferkapazität der Säure [ten Cate und Imfeld, 1996; Featherstone und Lussi, 2006; Lussi und Jaeggi, 2006b; Barbour et al., 2011].

Einseitige Rohkost- oder rein vegetarische Ernährung fördert aufgrund des erhöhten Konsums an Zitrusfrüchten die Erosionsentstehung [Linkosalo und Markkanen, 1985; Ganss et al., 1999]. Schon bei zweimaligem Genuss von Zitrusfrüchten am Tag wurde ein 37-fach erhöhtes relatives Risiko beschrieben [Järvinen et al., 1991]. Die Art und Weise, mit der die erosiv wirkenden Lebensmittel aufgenommen werden (lutschen, knabbern, saugen, spülen, mit/ohne Strohalm) beeinflusst ebenfalls die Lokalisation und die Ausprägung der Schädigungen [Johansson et al., 2004; Lussi et al., 2005].

Inwiefern ein Zusammenhang zwischen Erosionsgrad und der Mundhygiene einer Person besteht ist schon häufig untersucht worden, dabei konnte jedoch keine eindeutige Beziehung festgestellt werden. Ein signifikanter Einfluss von gewöhnlichen Hygienepraktiken (Zahnputzdauer und -häufigkeit sowie Zahnbürstenart) auf die Erosionsausprägung wurde nicht nachgewiesen [Rytömaa et al., 1998; van Rijkom et al., 2001; Al-Majed et al., 2002; Wiegand et al., 2006; Mantonanaki et al., 2012].

Ein wichtiger Schutzfaktor ist zudem der Speichel. Er verdünnt und eliminiert die einwirkenden Säuren und neutralisiert durch seine Pufferkapazität den pH-Wert. Studien mit gesunden Probanden belegten, dass der pH-Wert nach Genuss säurehaltiger Getränke nur etwa 2 Minuten vermindert ist und schnell durch den

Speichel abgepuffert wird [Meurman et al., 1987]. Außerdem wird durch die Übersättigung des Speichels an Kalzium- und Phosphationen ein mineralgesättigtes Milieu an der Zahnoberfläche geschaffen [Sreebny, 2000; Dorozhkin und Epple, 2002; Zero und Lussi, 2005; Featherstone und Lussi, 2006]. Besondere funktionelle Bedeutung hat der Aufbau der proteinreichen und enzymhaltigen Pellikelschicht, die die Zahnoberfläche schützt, als Diffusionsbarriere wirkt, die Präzipitation von Mineralsalzen beeinflusst und gegenüber erosiven Einflüssen eine erwähnenswerte Stabilität aufweist [Zahradnik et al., 1976; Zahradnik, 1979; Hannig und Balz, 1999; Lendenmann et al., 2000; Hannig und Balz, 2001; Hannig et al., 2005b; Wiegand et al., 2008a]. Mehrere Studienergebnisse konnten einen schützenden Effekt gegenüber erosiven Schädigungen durch das Pellikel beschreiben, allerdings war der Demineralisationsschutz nicht umfassend und vor allem auf weniger aggressive Säureexposition begrenzt [Hannig und Balz, 1999; Amaechi et al., 1999b; Wetton et al., 2006; Hara et al., 2006; Wiegand et al., 2008a]. In einem in situ-Experiment zeigte sich nach oraler Pellikelformation zwar dessen Beständigkeit nach dem Genuss von säurehaltigen Erfrischungsgetränken, trotzdem jedoch auch eine Reduzierung der Mikrohärtigkeit im Schmelz [Hannig et al., 2009].

Generell gehören Erosionen zu den allgemeinen physikochemischen Abnutzungs- und Verschleißerscheinungen denen die Zahnhartsubstanzen während des Lebens ausgesetzt sind. Bis zu einem bestimmten Ausmaß können sie nicht vermieden werden und sind damit physiologisch. Beispielsweise kommt es auch bei gesunden Menschen beim Husten oder Pressen, nach Mahlzeiten oder während der Nacht im Liegen zu flüchtigen Refluxepisoden, die allerdings schnell durch die Oesophagusperistaltik neutralisiert werden [Bartlett, 2006]. Die Grenze zum pathologischen Befund ist umstritten, gilt allerdings klar als überschritten wenn die Funktionalität des Zahnes beeinträchtigt wird oder der Zahn aufgrund des Abnutzungszustandes und dem zu erwartenden Fortschreiten der Erosion perspektivisch nicht erhalten werden kann [Smith und Knight, 1984; Ganss, 2006; Bartlett und Dugmore, 2008].

Abzugrenzen sind Erosionen von weiteren nicht kariesbedingten Zahnhartsubstanzschädigungen, die bei chronischer Einwirkung des schädigenden Prozesses zu manifesten Defekten führen [Imfeld, 1996a]. Hierbei stehen besonders physikalische Prozesse im Vordergrund.

Bei der Abrasion kommt es durch häufigen Kontakt der Zähne mit Fremdstoffen zu deren Einebnung oder Glättung mit Verlust von Zahnhartsubstanz [Imfeld, 1996a]. Die Demastikation ist die abnutzende mechanische Schädigung der Zahnhartsubstanzen beim Kauvorgang, wobei die Abrasivität der Nahrung entscheidend ist [Imfeld, 1996a]. Eine weitere Verschleißerscheinung ist die Attrition, bei der es infolge des Zahn-Zahn-Kontaktes, zum Beispiel beim Sprechen oder Schlucken, zur ebenfalls mechanischen Schädigung kommt [Imfeld, 1996a]. Pathologische Attritionsschäden finden sich beim Bruxismus in verschiedenen Schweregraden [Addy und Shellis, 2006]. Hingegen sind die keilförmigen Defekte bei der Abfraktion, charakteristischerweise immer an der vestibulären Seite an der Schmelz-Zement-Grenze gelegen, das Produkt von Fehlbelastungen in der Okklusion [Imfeld, 1996a] oder der falschen Putztechnik [Hellwig et al., 2007]. Außerdem kommen an Zähnen auch Resorptionsvorgänge aus verschiedensten Ursachen vor [Imfeld, 1996a].

Die beschriebenen Schädigungsmechanismen treten häufig kombiniert auf und können sich in ihrer Entstehung sowie in ihrem Ausmaß gegenseitig beeinflussen sowie überlagern [Eccles und Jenkins, 1974; ten Cate und Imfeld, 1996; Lussi et al., 2005; Addy und Shellis, 2006]. Auch in der Erosionspathogenese sind derartige Wechselwirkungen relevant. Nach Säureeinwirkung auf die Zahnhartsubstanzen verbleibt eine vulnerable Oberfläche mit reduzierter Mikrohärtigkeit zurück [Lussi et al., 1993; Eisenburger et al., 2004]. Darauf folgende physikalische Einflüsse durch Zähneputzen und Zahnpastainhaltsstoffe können dann über die Abrasion schädigend wirken [Attin et al., 1997; Vieira et al., 2006; Voronets und Lussi, 2009]. Der dabei auftretende abrasive Substanzverlust wird hauptsächlich von den in Zahnpasten enthaltenen Abrasivstoffen verursacht, die für die Putzeigenschaften des Produktes sorgen [Wiegand et al., 2008b; Voronets und Lussi, 2009]. Grundsätzlich ist allerdings beim Zähneputzen mit Zahnpasten in gewöhnlichem Alltagsgebrauch und auf intakten Zahnoberflächen kein Schaden durch solche Abrasionseffekte zu erwarten, der gesundheitliche Nutzen überwiegt bei Weitem. Das viel größere Potential für Schädigungen der Zahnhartgewebe geht von der erosiven Säureeinwirkung aus, die durch diese abrasiven Effekte aber zusätzlich beeinflusst werden kann [Addy und Hunter, 2003; Addy, 2005].

2.1.4.1 Extrinsische Säurequellen

Zu den extrinsischen Säurequellen gehören verschiedenste Arten säurehaltiger Getränke oder Nahrungsmittel [McClure, 1943; McClure und Ruzicka, 1946; Eccles und Jenkins, 1974]. Insbesondere Zitrusfrüchte wie Orangen, Mandarinen, Limetten, Grapefruits, Zitronen sowie andere Früchte und Beeren mit hohem Säureanteil sind stark erosiv [Zero, 1996]. Ebenso zählen dazu isotonische Sport- und Erfrischungsgetränke, Fruchtsäfte, Cola- und Limonaden-Produkte, alkoholische Erzeugnisse wie Wein sowie Essig [Johansson et al., 1997; Al-Dlaigan et al., 2001a; Lussi und Jaeggi, 2006b; Cochrane et al., 2012]. Der Anteil des Konsums der limonadenartigen Getränke nimmt in der Bevölkerung kontinuierlich zu, was einer stetigen Erhöhung des Risikopotentials entspricht [Packer, 2009]. Kohlensäurehaltiges Mineralwasser hingegen gilt als nicht erosiv [Parry et al., 2001], gleichermaßen wie Bier oder Milchprodukte, die aufgrund ihres hohen Kalzium- und Phosphatgehaltes gegenüber den Zahnhartsubstanzen gesättigt sind [Meurman et al., 1987; Lussi und Jaeggi, 2006b]. Eine wiederholte und längere Einwirkungsdauer auf den Zahnschmelz sowie eine höhere Temperatur beim Konsum säurehaltiger Getränke unterstützt die schädigende Wirkung [Amaechi et al., 1999a; West et al., 2000; Barbour et al., 2006; Lussi und Jaeggi, 2006b].

Außerdem zählt zu den extrinsischen Säurequellen das berufliche Umfeld mit persönlicher Exposition gegenüber sauren Lösungen, Aerosolen oder Dämpfen. Bestimmte Beschäftigte in der chemischen Industrie und auch hauptberufliche Weinverkoster haben demnach ein erhöhtes Risiko Erosionen zu entwickeln [ten Bruggen Cate, 1968; Petersen und Gormsen, 1991; Wiktorsson et al., 1997; Lussi und Jaeggi, 2006a; Wiegand und Attin, 2007].

2.1.4.2 Intrinsische Säurequellen

Als intrinsische Ursache trägt ganz entscheidend der salzsäurehaltige Mageninhalt zur Bildung von Erosionen bei. Verglichen mit den schwachen Säuren aus Lebensmitteln hat die Salzsäure einen niedrigeren pH-Wert [Bartlett und Coward, 2001]. Sie dissoziiert in Wasser vollständig und obwohl ihr Säure-Anion keinen zusätzlich beeinflussenden Effekt auf den erosiven Prozess hat, besitzt sie ein erhebliches erosives Potential [Featherstone und Lussi, 2006].

Salzsäure kommt infolge von Erbrechen aus verschiedenen Ursachen sowie bei unterschiedlichen Pathologien oder aber bei Refluxerkrankungen in Kontakt mit der Mundhöhle und den Zähnen [Smith und Robb, 1989; Scheutzel, 1996; Bartlett, 2006].

Am deutlichsten sind Erosionen mit verschiedenen Formen von Eßstörungen wie Anorexia nervosa oder Bulimia nervosa assoziiert, hier zeigen sich die schwerwiegendsten Befunde [Robb et al., 1995; Scheutzel, 1996; Rytömaa et al., 1998; Bartlett, 2006]. Zwischen der gastro-oesophagealen Refluxerkrankung (GERD) und Erosionen besteht eine weniger enge Korrelation. Bei Patienten mit ansonsten asymptomatischem Verlauf einer GERD sind erosive Zahnläsionen jedoch manchmal das erste Symptom für die zugrunde liegende Krankheit [Pace et al., 2008] und sollten daher Anlass zur weiteren interdisziplinären Abklärung geben [Bartlett et al., 1996; Lussi et al., 2011].

2.1.5 Diagnose und Klassifikation

Die Diagnose von erosiven Zahnschäden erfolgt in erster Linie klinisch während der Untersuchung durch die visuelle Beurteilung und nachfolgende Beschreibung des Befundes [Ganss und Lussi, 2006]. Weiterführend werden mit einer möglichst vollständigen und genauen Anamnese hinsichtlich allgemeiner Vor- und Begleiterkrankungen, Ess- und Zahnputzgewohnheiten, Medikamenteneinnahme, Arbeitsplatzexposition oder Veränderungen bei der Speichelsekretion Anhaltspunkte eruiert [Lussi und Hellwig, 2006; Ganss und Lussi, 2006]. Gezielt kann nach assoziierten Erkrankungen wie der Refluxkrankheit (GERD) sowie bei Verdacht vorsichtig-diskret nach häufigem Erbrechen in Zusammenhang mit Eßstörungen gefragt werden (Anorexia nervosa, Bulimia nervosa). Zudem ist ein vom Patienten für einige Tage geführtes Verzehrtagebuch zur Risikoabklärung hilfreich [Lussi und Hellwig, 2006].

Klinische Symptome können insbesondere bei Dentinbeteiligung neu aufgetretene Hypersensibilitäten (thermisch, taktil) der betroffenen Zähne sein. Diese können aber auch trotz ausgedehntem Erosionsbefund fehlen [Ganss, 2006]. Die meisten Patienten stellen sich daher in weiter fortgeschrittenen Erosionsstadien mit ästhetischen (Verfärbungen besonders im Frontbereich), kieferorthopädischen oder funktionellen Beschwerden vor [Johansson et al., 2012].

Für die Einteilung eines Befundes stehen viele verschiedene Klassifikationssysteme mit unterschiedlichen Schwerpunkten der Bewertung zur

Verfügung und finden in Praxis und Forschung ihre Anwendung [Bardsley, 2008]. Mit Einführung der „Basic Erosive Wear Examination“ (BEWE) wurde eine neue Grundlage geschaffen mit dem Ziel, die Entwicklung und Etablierung einer international anerkannten, standardisierten, zuverlässigen und validen Klassifikation erosiver Zahnschäden für Praxis und Forschung zu ermöglichen [Bartlett et al., 2008; Mulic et al., 2010].

Die „Basic Erosive Wear Examination“ (BEWE) erfasst die am stärksten betroffene Zahnoberfläche in jedem Sextant des Gebisses und bewertet den Ausprägungsgrad nach vier unterschiedlichen Schweregraden: Werte „0“ (kein erosiver Substanzverlust), „1“ (initialer Verlust der Oberflächenstruktur), „2“ (deutlicher Defekt, Zahnhartsubstanzverlust <50% der Oberfläche) und „3“ (Zahnhartsubstanzverlust \geq 50% der Oberfläche). Die sechs erhobenen Einzelwerte werden addiert und die Summe mit der Risikostufe abgeglichen („Kein Risiko“, „Gering“, „Mittel“, „Hoch“). Mit der ermittelten Risikostufe ist das weiter empfohlene Vorgehen zur Beratung und Therapie der erosiven Zahnschädigung verknüpft. Die „Basic Erosive Wear Examination“ (BEWE) liefert also zusätzlich zu Diagnose- und Bewertungskriterien auch direkt damit verbundene Behandlungsansätze [Bartlett et al., 2008].

2.1.6 Epidemiologie

Es gibt viele verschiedene Studien zur Prävalenz und Inzidenz von erosiven Zahnschäden. Diese unterscheiden sich allerdings in der Methode zur Datenerhebung (nur einzelne Zähne/Zahnoberflächen oder das gesamte Gebiss) oder bei den verwendeten Diagnosekriterien (Klassifikationen, Schwelle nicht pathologischer Defekte), damit ist ein Vergleich der Ergebnisse nur schwer möglich [Bartlett et al., 2008; Bardsley, 2008; Berg-Beckhoff et al., 2008].

Allgemein kann von einer nach Ländern sehr unterschiedlichen, aber gerade bei Kindern und Jugendlichen hohen Prävalenz ausgegangen werden [Johansson et al., 2012]. Patienten in verschiedensten entwickelten Ländern sind betroffen. Es wird eine tendenzielle Zunahme der erosiven Zahndefekte angenommen [Jaeggi und Lussi, 2006; Johansson et al., 2012].

Zu Personengruppen mit einem verglichen mit dem Bevölkerungsdurchschnitt höheren Risiko für Erosionen gehören solche mit besonders hohem Konsum säurehaltiger Getränke, Vegetarier, Personen mit Rohkost-Ernährung, Alkoholiker und besonders Patienten mit Eßstörungen in Kombination mit rezidivierendem

Erbrechen [Linkosalo und Markkanen, 1985; Robb et al., 1995; Ganss et al., 1999; Zero und Lussi, 2006]. Hier stellen Erosionen ein bedeutendes Problem dar, welches prophylaktischer und therapeutischer Maßnahmen bedarf. Beispielsweise hatten in einer Studie von 130 Teilnehmern mit überwiegender Rohkosternährung 48 Personen (37%) mindestens einen Zahn mit einem gemäßigten erosiven Defekt und 79 Probanden (61%) eine deutliche erosive Läsion. Bei nur 3 (2%) Individuen mit Rohkost-Ernährung wurden keine Erosionsschäden festgestellt [Ganss et al., 1999].

Allgemeine epidemiologische Untersuchungen ergaben bei erwachsenen Personen Häufigkeiten von 30% für die 26-30-Jährigen, und 42% für die 46-50-Jährigen mit okklusalen Erosionen mit Dentinbeteiligung (entsprechend 3,2 oder 3,9 betroffene Zähne pro Person). Insgesamt 16% dieser zufällig ausgewählten Schweizer hatten zumindest einen Zahn mit Zeichen vestibulärer Erosionen [Lussi et al., 1991]. Hingegen wurden bei nur 11% deutscher Probanden im Alter von 35-44 Jahren (davon 4% mit Dentinbeteiligung) und 8% im Alter von 65-74 Jahren (davon 3,8% mit Dentinbeteiligung) Erosionen diagnostiziert [Schiffner et al., 2002]. Querschnittsstudien mit Menschen jugendlichen Alters ergaben über 80% erosive okklusale Defekte bei schweizer Rekruten zwischen 19 und 25 Jahren, davon hatten 30% sogar mindestens einen betroffenen Zahn mit okklusaler erosiver Dentinbeteiligung. Bei 14% fand man bukkale Erosionsläsionen, allerdings ohne Dentinbefall [Jaeggi et al., 1999]. Von englischen Schulkindern zeigten 51% der untersuchten 14-Jährigen mittelschwere Erosionen [Al-Dlaigan et al., 2001b] und 60% der 12-jährigen Kinder (2,7% auch mit freiliegendem Dentin) [Dugmore und Rock, 2004].

Longitudinalstudien ließen im Vergleich der 1980er und 1990er Jahre eine Verdoppelung der Prävalenz von Erosionen bei Kindern und eine signifikant steigende Häufigkeit in der permanenten Dentition in Deutschland erkennen [Ganss et al., 2001a]. Die Inzidenz von erosiven Schädigungen bei britischen Jugendlichen (12-14 Jahre) lag über diesen Zweijahreszeitraum bei 12% [Dugmore und Rock, 2003]. Eine andere Studie mit Patienten vergleichbaren Alters zeigte, dass die Inzidenz über einen Dreijahreszeitraum mit dem steigenden Alter abnahm [El Aidi et al., 2009].

Sowohl im jugendlichen als auch im erwachsenen Alter sind Patienten mit männlichem Geschlecht häufiger von Erosionen betroffen als ihre weiblichen

Altersgenossen [Al-Dlaigan et al., 2001b; Dugmore und Rock, 2003; Dugmore und Rock, 2004; El Aidi et al., 2009; Mangueira et al., 2009]. Ein niedrigerer sozioökonomischer Status begünstigt ebenfalls die Erosionsentwicklung, gerade bei zunehmendem Alter und steigender Unabhängigkeit der Jugendlichen [Al-Dlaigan et al., 2001b; Dugmore und Rock, 2003; El Aidi et al., 2009].

Die am häufigsten von Erosionen betroffenen Zahnoberflächen und Zähne sind die Okklusalfächen der mandibulären und maxillären Molaren und Prämolaren, allerdings wirken besonders hier auch abrasive Abnutzungsmechanismen. Während vestibuläre erosive Läsionen vor allem in der vorderen Region beider Kiefer, den Canini und Praemolaren, am zweithäufigsten vorkommen, sind palatinale Erosionen zumeist lediglich auf die maxillären Incisivi (und Canini) beschränkt und deutlich seltener [Lussi et al., 1991; Ganss et al., 1999; Jaeggi et al., 1999; Lussi und Schaffner, 2000].

2.1.7 Prävention und Therapie

Für eine angemessene Präventionsstrategie und zweckmäßige, stadiengerechte Therapie von Erosionen ist eine möglichst frühe Differenzialdiagnose der verschiedenen Zahnhartsubstanzdefekte und Identifikation des zugrundeliegenden ätiologischen Faktors notwendig [Lussi und Hellwig, 2006]. Daneben ist die Aufklärung des Patienten über die Eigenschaften und Ursachen des nicht-kariösen Zahnschadens für die Ausführung und das Verständnis der präventiven Maßnahmen wichtig [Zero und Lussi, 2005]. Die Prävention von Erosionen kann entweder in kausalem Ansatz durch die Potentialabschwächung des Säureangriffes an sich, oder symptomatisch durch Erhöhung der Widerstandskapazität der Zahnhartsubstanzen erreicht werden [ten Cate und Imfeld, 1996].

Allgemein zielen die Prävention und Therapie zunächst darauf ab, die Säureexpositionen zu identifizieren und soweit wie möglich zu reduzieren. Säurehaltige Nahrungsmittel sollten seltener, in geringerer Menge sowie nur zu den Hauptmahlzeiten und nicht vor dem Schlafengehen konsumiert werden. Außerdem senkt eine geringe Kontaktzeit mit den Zähnen durch schnelles Trinken und Schlucken (nicht schlürfen, spülen oder lange im Mund halten) das Risiko. Milchprodukte (Milch, Joghurt, Käse) können durch ihren hohen Kalzium- und Phosphatgehalt schützend wirken und werden daher in Kombination mit erosiven

Mahlzeiten empfohlen [Lussi et al., 2004; Amaechi und Higham, 2005; Zero und Lussi, 2005; Lussi und Hellwig, 2006].

Betroffenen oder gefährdeten Personen können zur Reduzierung der Säureexposition zudem besonders modifizierte Nahrungsmittel angeraten werden. Diese zeichnen sich durch einen höheren Kalzium- und Phosphatgehalt gegenüber vergleichbaren Produkten aus und besitzen wegen dieser besseren Sättigung ein geringeres erosives Potential [Grenby, 1996; Hughes et al., 2000; Jensdottir et al., 2005; Hooper et al., 2007a; Hara und Zero, 2008; Beyer et al., 2011]. Bei gastrointestinalen, psychischen oder psychosomatischen Ursachen mit endogener Säurequelle ist zur interdisziplinären Betreuung und kausalen Therapie die Überweisung an den entsprechenden Facharzt notwendig [Lussi et al., 2005; Zero und Lussi, 2005].

Symptomatische Maßnahmen in der Prophylaxe und Therapie von Erosionen betreffen die orale Hygiene und den Einsatz von topischen Fluoriden zur Stärkung der Widerstandskapazität gegenüber dem Säureangriff.

Die Mundhygieneempfehlungen für Patienten mit Erosionen entsprechen im Allgemeinen jenen, wie sie auch allen anderen Patienten (Patienten ohne Erosionen oder ohne erhöhtes Risiko) nahegelegt werden, nämlich zweimal täglich die Zähne zu putzen [Tolle und Ganss, 2011].

Risikopatienten sollten generell fluoridhaltige Zahnpasten mit geringerer Abrasivität benutzen und höher abrasive Zahnpflegemittel vermeiden [Zero und Lussi, 2005]. Weiche „Sensitiv“-Zahnbürsten werden in diesen Fällen empfohlen und damit verbunden eine schonende Putztechnik mit vertikalen Bewegungen [Imfeld, 1996b]. Erosionspatienten mit chronischem Erbrechen wird speziell geraten, nach dem Übergeben eine zinnfluoridhaltige Mundspüllösung zu verwenden und die Zähne in dieser Situation wegen der erhöhten Abrasionsgefahr nach dem Säureangriff nicht zu putzen. Ergänzend kann eine Tiefziehschiene angefertigt werden, die vor dem Erbrechen eingesetzt werden sollte [Tolle und Ganss, 2011].

Topische Fluoride können prinzipiell in Form verschiedener fluoridhaltiger Verbindungen in Zahnpasten, Mundspüllösungen, als Gel oder Lack und auch in höheren Konzentrationen appliziert werden. Durch die intraoral erhöhte Fluorid-Verfügbarkeit kommt es nachweislich zu einer geringeren Demineralisation des

Schmelzes und über die verstärkte Resistenz zu weniger erosivem Substanzverlust [Graubart et al., 1972; Ganss et al., 2001b; van Rijkom et al., 2003; Ganss et al., 2004].

In den letzten Jahren haben zudem einige Untersuchungen in diesem Zusammenhang neben den Fluoriden besonders die Effektivität von Zinnionen hervorgehoben [Hooper et al., 2007b]. Es konnte eine vielversprechende Wirksamkeit von Zinnverbindungen (SnF_2 , SnCl_2) [Ganss et al., 2008; Schlueter et al., 2009a; Huysmans et al., 2011] in Kombination mit monovalenten Fluoridverbindungen (Natriumfluorid, NaF ; Aminfluorid, AmF) beobachtet werden [Schlueter et al., 2009b; Schlueter et al., 2009c].

Wenn sich eine erosive Zahnschädigung schon in einem weit fortgeschrittenem Stadium befindet, dann ist unter bestimmten Umständen eine restaurative Versorgung indiziert. Dies ist der Fall, wenn die strukturelle Intaktheit des Zahnes bedroht ist, eine Hypersensitivität von freiliegendem Dentin besteht, oder wenn die Eröffnung der Pulpa wahrscheinlich ist. Zudem kann der ästhetische Wunsch des Patienten ebenfalls ein ausschlaggebender Faktor sein [Lambrechts et al., 1996].

Die invasive Therapie soll danach unter Verwendung aktueller Standards in Füllungs- und Adhäsivtechnik möglichst minimalinvasiv und im Ergebnis so defektbezogen und zahnschonend wie möglich gestaltet werden. Sie erfolgt zudem erst nach Identifizierung und Eliminierung der ursächlichen Einflüsse sowie nach Ausschöpfung der wirkungsvollen symptomatischen Maßnahmen [Lussi, 2006; Jaeggi et al., 2006].

2.2 Wirkstoffe und Anwendungen bei Erosionen

2.2.1 Fluoride und ihre Verbindungen bei Karies und Erosionen

Verschiedene Wirkstoffe, Verbindungen und Kombinationen wurden zur Prophylaxe und Therapie von Erosionen erprobt oder werden in unterschiedlichen Formen erforscht und eingesetzt. An erster Stelle wurden in diesem Kontext und in vielen Studien Fluoride und Fluoridverbindungen untersucht.

Fluoride und ihre chemischen Verbindungen sind vor allem in der Kariesprophylaxe und -therapie seit Jahrzehnten etabliert und haben maßgeblich zur erfolgreichen Senkung der Kariesprävalenz beigetragen [Stephen, 1994;

Bratthall et al., 1996; Hänsel-Petersson und Bratthall, 1996; ten Cate, 1997; Twetman et al., 2003; Marthaler, 2004]. In diesem Bereich werden heute hauptsächlich konventionelle (monovalente) Fluoridverbindungen wie Natriumfluorid und Aminfluorid verwendet.

Die Fluoridionen können Hydroxylgruppen aus dem Hydroxylapatit-Kristallgitter des Schmelzes substituieren und so zur Bildung von Fluorapatit führen. Fluorapatit ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]\text{F}$) hat eine dichtere Struktur als Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$), besitzt eine höhere Stabilität und eine geringere Löslichkeit gegenüber Säuren. Das ist ein wichtiger Faktor in der Kariesprophylaxe [McCann und Bullock, 1955; Nikiforuk, 1985; Featherstone und Lussi, 2006; Radlanski, 2011b]. Die Art der applizierten Fluoridverbindung ist bei der Kariesprophylaxe weniger relevant, deutliche Wirksamkeitsunterschiede konnten bisher nicht definiert werden [Einwag et al., 1995; Marinho et al., 2009].

Neben der Fluorapatitbildung haben topische Fluoride in höheren Konzentrationen außerdem weitere Eigenschaften, die in der Kariesprophylaxe im Mittelpunkt stehen. Studien zu Reaktionen von Fluoriden mit dem Zahnschmelz zeigten, dass sie demineralisierte Bereiche remineralisieren können [Hara et al., 2009; Maggio et al., 2010] oder unter bestimmten Umständen eine Kalziumfluoridschicht (CaF_2) auf der Schmelzoberfläche bilden. Diese kann als Barriere den darunterliegenden Schmelz vor Säureangriffen und Demineralisation schützen sowie als Fluoridspeicher zu dessen Remineralisation beitragen [Gerould, 1945; McCann, 1952; McCann und Bullock, 1955; Christoffersen et al., 1988; ten Cate und Featherstone, 1991; Ganss et al., 2007]. Es konnte demonstriert werden, dass sich das Kalziumfluoridpräzipitat auf der Schmelzoberfläche bevorzugt unter sauren Bedingungen ($\text{pH} < 5$), bei höherer Fluoridkonzentration, längerer Einwirkungszeit und höherer Applikationsfrequenz ausbildet [Gray et al., 1958; Saxegaard und Rolla, 1988]. Zudem wurde eine höhere Stabilität des CaF_2 gegenüber Säureangriffen unter in situ-Verhältnissen und eine bessere Haltbarkeit auf Schmelz- als auf Dentinoberflächen festgestellt [Ganss et al., 2007].

Die Behandlung einer initialen Kariesläsion im Schmelz durch Fluoride ist möglich, weil sich mit der verhältnismäßig breiten und teildemineralisierten pseudointakten Oberfläche über dem darunter liegenden eigentlichen Läsionskörper ein Angriffspunkt für ihre remineralisierende Wirkung ergibt [Hellwig et al., 1999; Fejerskov und Kidd, 2008].

Im Gegensatz dazu handelt es sich bei Erosionen im Schmelz um ein rein oberflächliches Ereignis, bei dem oberflächliche Schmelzschichten bis in eine Tiefe von wenigen Mikrometern demineralisiert werden [Meurman und ten Cate, 1996; Eisenburger et al., 2001; Cheng Z.J. et al., 2009; Voronets und Lussi, 2009]. Ziel der Fluoridanwendung ist es daher in erster Linie diese Demineralisation der Schmelzoberfläche und nachfolgend den sukzessiven Zahnhartsubstanzverlust zu verhindern und nicht die Remineralisierung der dünnen demineralisierten Schmelzbereiche [Magalhaes et al., 2011].

Einmal verlorengegangene Zahnhartsubstanz kann nicht mehr ersetzt werden (keine restitutio ad integrum), jedoch können Reparaturprozesse mit Ablagerung von Mineralien (Brushit, CaHPO_4 ; Dikalziumphosphat, $\text{Ca}_3[\text{PO}_4]_2$) auf der demineralisierten Oberflächenschicht stattfinden [Kochavi et al., 1975; Garberoglio und Cozzani, 1979; Collys et al., 1993; Imfeld, 1996b; Eisenburger et al., 2001].

Trotz der bekannten Tatsache, dass Fluoride die Demineralisation des Schmelzes reduzieren, sind ihre Effektivität und ihr Nutzen in der Behandlung von Erosionen immer noch umstritten [Larsen und Richards, 2002; Hughes et al., 2004; Kato et al., 2010; Austin et al., 2011]. Dies besonders, da CaF_2 -ähnliche Präzipitate in saurem Milieu relativ leicht aufgelöst werden können [Lagerlöf et al., 1988; Ganss et al., 2007].

Die Anwendung von konventionellen Fluoriden (zum Beispiel NaF , AmF) erfordert daher hohe Konzentrationen [Imfeld, 1996b; Ren et al., 2011] und eine intensive Behandlung mit hoher Applikationsfrequenz [Ganss et al., 2004; Amaechi und Higham, 2005; Lagerweij et al., 2006; Lussi und Hellwig, 2006]. Infolgedessen wurden in jüngerer Zeit in einigen Untersuchungen neben jenen monovalenten Fluoridverbindungen gezielt auch andere Fluoridverbindungen mit polyvalenten Metallkationen als Liganden getestet. Bei solchen laborexperimentellen Studien offenbarten Verbindungen wie Zinnfluorid (SnF_2) oder Titan-Tetrafluorid (TiF_4) schützende Eigenschaften in Bezug auf Erosionen [Büyükyilmaz et al., 1997; Ganss et al., 2001b; van Rijkom et al., 2003; Willumsen et al., 2004].

Während in einer Studie mit humanen Molaren bei verschiedenen Fluoridverbindungen (NaF , SnF_2 , TiF_4) in vitro beobachtet werden konnte, dass sie das erosive Läsionsausmaß je nach Wirkstoff fast komplett reduzieren können (88% für TiF_4 bei 1 Minute Erosionssimulation) und daraus eine allgemeine Wirksamkeit dieser fluoridhaltigen Verbindungen abgeleitet wurde [Hove et al.,

2006], konnten andere Fluoridverbindungen (1% oder 0,25% AmF; 1% oder 4% TiF₄; 0,1% Difluor-Silan [SiH₂F₂]) bei bovinen Molaren zwar alle ebenfalls die Dimension des Erosionsschadens verringern, waren aber in dem Studiendesign außer einem fluoridhaltigen Lack (Wirkstoff: SiH₂F₂) nicht signifikant [Vieira et al., 2005].

Bezogen auf die Reduktion des erosiven Substanzverlustes erbrachten im Vergleich eindeutig die zinnhaltigen Fluoridverbindungen die vielversprechendsten Resultate [Ganss et al., 2008]. Außerdem können Präparate mit zinnhaltigen Verbindungen mittlerweile in Produkten für Patienten zum häuslichen Eigengebrauch angeboten werden.

2.2.2 Zinnfluoride und andere Zinnverbindungen bei Erosionen

Zinnverbindungen haben schon in der Mitte des 20. Jahrhunderts Eingang in die zahnmedizinische Verwendung gefunden. Zinnfluorid wurde beispielsweise in den ersten Zahnpasten verwendet. Es zeigten sich beim allgemeinen Vergleichen von verschiedenen zinn- und/oder fluoridhaltigen Verbindungen speziell für SnF₂ eine gute Schutzwirkung gegenüber Karies und günstige Resultate bei der Reduktion von Zahnhartsubstanzschäden gegenüber Säureangriffen [Muhler et al., 1954; Walsh et al., 1957; Gray et al., 1958; Muhler, 1958]. Trotz der guten Ergebnisse von SnF₂ bei der Kariesprophylaxe kamen andere Fluoridverbindungen wie Natriumfluorid, Natrium-Monofluorophosphat (MFP) und Aminfluorid vorrangig zum Einsatz. Ursache dafür war die Problematik zweiwertiges Zinnfluorid gegen Hydrolyse und Oxidation zu stabilisieren ohne dabei die Bioverfügbarkeit herabzusetzen, denn bei Lagerung oder höheren pH-Werten stieg die Instabilität der Verbindung und die Wirksamkeit gegen Karies nahm ab [Gray et al., 1958; Imfeld et al., 1999].

In der oralen Umgebung dissoziiert SnF₂. Fluoridionen und Zinnionen werden frei, die jeweils beide kariostatische und antimikrobielle Eigenschaften besitzen [Kambara und Norde, 1995; Magalhaes et al., 2011]. Es konnte dargestellt werden, dass in weiteren Reaktionen zwischen SnF₂, oder den dissoziierenden Ionen (F⁻/Sn²⁺), und dem Hydroxylapatit des Zahnschmelzes in wässriger Lösung verschiedene kristalline Produkte entstehen können. Dabei handelt es sich zum größten Teil um Kalziumfluorid. Ebenso entstehen die metallreichen Verbindungen Zinnhydroxyphosphat (Sn₂OHPO₄), Zinnfluorophosphat (Sn₃F₃PO₄) und Kalzium-Trifluorozinn (Ca[SnF₃]₂), die säureresistente Präzipitate auf der

Schmelzoberfläche ausbilden können [Jordan et al., 1971; Nelson und Bainbridge, 1973; Babcock et al., 1978; Magalhaes et al., 2011].

Das Potential von Zinn als effektivem Schutzfaktor gegen Erosionen hat sich in vielen experimentellen und vergleichenden Studien besonders in den vergangenen Jahren gezeigt.

So wurde schon früher die allgemeine Wirksamkeit von SnF_2 und SnCl_2 in der Reduktion der Löslichkeit des Schmelzes an intakten Zahnschmelzproben und an solchen mit initialen Kariesläsionen untersucht. Nach 16-minütiger Einwirkzeit von 0,1-molarer Milchsäure (pH 4,5) waren bei den mit SnF_2 und SnCl_2 behandelten Proben deutlich weniger Auflösungserscheinungen festzustellen als bei den Proben mit NaF-Behandlung. Nach 30 Minuten glichen sich die Werte von SnCl_2 und NaF an. SnF_2 blieb überlegen und war auch im weiteren Verlauf immer besser in der Wirkung, oder mindestens gleichauf mit SnCl_2 und NaF [Gray, 1965]. Sein Potential zur Erosionsprotektion deutete SnF_2 danach bei aufeinanderfolgenden in vitro- und in-situ Experimenten an [Ganss et al., 2001b; Ganss et al., 2004]. Dabei wurden humane Zahnschmelzproben mit 0,05-molarer Zitronensäure (pH 2,3) erodiert und in ähnlichem Studiendesign mit verschiedenen NaF- oder SnF_2 -haltigen Anwendungen (Zahnpasta, Mundspüllösung, Gel) in teils intensiven Schemata behandelt. Als Resultat konnte der erosive Substanzverlust im Vergleich zu den Kontrollgruppen jeweils klar reduziert werden. Deutlicher stellte sich der Erosionsschutz durch SnF_2 bei Betrachtung von humanen Schmelzproben in vitro dar, die nach einer Vorbehandlung in 0,4% SnF_2 -Lösung, 2% NaF-Lösung oder Wasser mit Salzsäure erodiert wurden. Sowohl nach 30-minütiger und 4-minütiger Säureexposition bei pH 2,2 (0,01 molar) war die Reduktion der Demineralisation durch SnF_2 -Behandlung am größten [Willumsen et al., 2004]. Auch in einem anderen in vitro-Vergleich von mit TiF_4 , SnF_2 und NaF behandelten Proben und Exposition zu Salzsäure (0,01 molar) bei pH 2,0 war SnF_2 effektiv. Nach 2, 4 und 6 Minuten war der Substanzverlust bei den mit SnF_2 behandelten Proben deutlich geringer als bei den Proben aus der NaF-Gruppe [Hove et al., 2006]. Eine in vivo-Studie verglich die Wirkung von SnF_2 und NaF in Zahnpasten, wieder zeigte sich bei Erosion mit 0,01 molarer Zitronensäure (pH 2,7) die merklich bessere Reduktion der Schmelzauflösung von SnF_2 gegenüber NaF [Young et al., 2006]. Diese Ergebnisse bestätigten sich in situ in einer ähnlichen Studie mit SnF_2 und NaF-Zahnpasten [Huysmans et al., 2011].

Eine wegweisende Studie im Verlauf der Forschung war die Untersuchung zur Bedeutung verschiedener kationischer Liganden in der Fluoridverbindung und der Bezug zur antierosiven Effektivität [Ganss et al., 2008]. Erstmals wurden gleiche Anwendungsformen bei gleicher Wirkstoffkonzentration und angeglichenem pH-Wert gegenübergestellt. Die Demineralisation erfolgte mit einer 0,05 molaren Zitronensäurelösung (pH 2,3), Testlösungen waren SnCl_2 , NaF, SnF_2 , AmF, die Kombination aus AmF/NaF sowie die Kombination aus AmF/ SnF_2 . Das Ergebnis führte zur Erkenntnis, dass zum einen die kationischen Liganden in der Fluoridverbindung oder allgemein metallische Ionen in anderen Verbindungen entscheidenden Einfluss auf die Wirkung haben. Die zinnhaltigen Verbindungen (SnF_2 , SnCl_2 , AmF/ SnF_2) hatten den besten Effekt im Schutz gegenüber säurebedingten Substanzverlusten. Dieser trat auch unabhängig von der Anwesenheit von Fluoriden (SnCl_2) auf, wodurch sich der Stellenwert von Zinnionen und auch ihre eigenständige Wirksamkeit bestätigten.

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Wirkung von zinnhaltigen Fluoridlösungen vom Einbau der Zinnionen in die oberflächlichen Schmelzschichten bestimmt wird [Schlueter et al., 2009b].

So entstehen strukturell veränderte zinnhaltige Schmelzbereiche, die eine höhere Säurestabilität besitzen.

Eine breit angelegte Untersuchung zum Vergleich verschiedenster Lösungen mit Metallfluoridverbindungen zeigte die überlegene Wirksamkeit einer hochkonzentrierten zinnhaltigen Kombination (AmF/NaF/ SnCl_2), die selbst unter sehr erosiven Bedingungen noch 93% des Substanzverlustes der Negativkontrolle in vitro verhinderte [Schlueter et al., 2009a]. Zudem wurden in einer anderen Studie unterschiedliche Anteilsverhältnisse von Kombinationslösungen der Wirkstoffe AmF, NaF und SnCl_2 getestet [Schlueter et al., 2009c]. Hier konnte festgestellt werden, dass zum einen mit steigender Zinnkonzentration in der Lösung auch die Reduktion von erosiven Substanzverlusten zunahm und zum anderen, dass für die Wirksamkeit das Verhältnis zwischen Zinn- und Fluoridkonzentration maßgeblich ist. Es wurde angenommen, dass bei Lösungen mit einem Zinn zu Fluorid-Verhältnis ab etwa 1,8 (oder höher) der günstige Effekt steigt. Vergleichbare Ergebnisse wurden auch schon in einer früheren Beobachtung beschrieben [Wachtel, 1964]. In situ-Studien belegten den überzeugenden Effekt von Zinn in Mundspüllösungen nochmals: Eine

experimentelle Lösung aus AmF/NaF/SnCl₂ zeigte mit einer Verringerung des säurebedingten Substanzverlustes von 82% gegenüber einer geringeren konzentrierten Positivkontrolle mit AmF und SnF₂ (Reduktion um 55%) [Schlueter et al., 2010] und 73% im Vergleich zu einer NaF-Lösung mit gleicher Fluoridkonzentration und gleichem pH-Wert (28% Reduktion) [Schlueter et al., 2009d], eindeutig die besseren Ergebnisse. Eine weitere in situ-Untersuchung unterstrich diese positiven Ergebnisse [Ganss et al., 2010].

Damit konnte gezeigt werden, dass Mundspüllösungen mit Zinnverbindungen eine außerordentlich gut schützende Wirkung vor erosiven Zahnhartsubstanzschäden bieten.

Zahnpasten hingegen, ebenfalls mit zinnhaltigen Verbindungen als Wirkstoff, zeigten im direkten Vergleich mit der experimentellen Mundspüllösung nicht das erhoffte Ausmaß in der antierosiven Wirkung [Lussi et al., 2008; Ganss et al., 2011]. Das brachte ein groß angelegter Versuch mit handelsüblichen Zahnpasten hervor [Ganss et al., 2011]: Zahnpasten mit unterschiedlichen Wirkstoffen wurden dabei gegenübergestellt und in einem zyklischen Erosionsmodell mit und ohne Bürstbehandlung untersucht. Unter den Testprodukten waren konventionelle NaF-haltige Zahnpasten, Zahnpasten mit der speziellen Indikation Erosion (unter anderem Produkte mit KNO₃/NaF oder unterschiedlichen Nanopartikeln oder Chitosan) und zinnhaltige Produkte (NaF/SnF₂-haltige Zahnpasta und SnF₂-haltiges Gel). Dabei konnte die NaF/SnF₂-haltige Zahnpasta den Substanzverlust im Bürstversuch weder gegenüber der Negativ-Kontrolle (nur erodiert), noch im Vergleich mit den konventionellen Zahnpasten (NaF) verringern. Die Positiv-Kontrolle (Mundspüllösung mit AmF, NaF, SnCl₂) und das SnF₂-haltige Gel reduzierten diesen jedoch deutlich.

Die Frage stellt sich demnach, warum Mundspüllösungen den Zahnpasten mit den gleichen Wirkstoffen in der Effektivität überlegen sind.

Abgesehen von den verschiedenen Studiendesigns kommt als Ursache für die abweichenden Ergebnisse und unterschiedliche Wirksamkeit der Anwendungsformen auch der komplizierte Aufbau von Zahnpasten in Betracht. Diese beinhalten neben den eigentlichen Wirkstoffen noch in beträchtlichem Maße Abrasiva (Putzkörper), Lösungsmittel und Wasser sowie zu geringeren Teilen Befeuchtungs- oder Verdickungsmittel, Tenside, Konservierungsmittel und Aromastoffe. Zu Wechselwirkungen dieser vielen Einzelbestandteile und

Zusatzstoffe mit zinnhaltigen Wirkstoffen liegen bisher nur wenige Erkenntnisse vor.

Eine Studie, die verschiedene zinnhaltige und NaF-Zahnpasten im zyklischen Erosionsmodell mit und ohne Bürstbehandlung miteinander verglich, ergab weitere aufschlussreiche und neue Erkenntnisse [Ganss et al., 2012]. Die Ergebnisse der NaF-Zahnpasten und die der unterschiedlichen zinnhaltigen Produkte (Wirkstoffkombinationen von NaF/SnCl₂, AmF/SnF₂, AmF/NaF/SnCl₂) waren annähernd gleich. Die Zahnpasten mit Zinnverbindungen erzielten damit keine besseren Werte als die NaF-Zahnpasten. Zusätzlich wurde in der beschriebenen Studie [Ganss et al., 2012] mit Chitosan ([C₆H₁₁NO₄]_n), einem vom Chitin abgeleiteten natürlichen Polyaminosaccharid, ein weiterer Wirkstoff mit Erfolg versprechendem Potential für den Erosionsschutz untersucht. Bemerkenswerterweise lieferte gerade die Zahnpastenformulierung mit der Kombination aus einem zinnhaltigen Wirkstoff (AmF/NaF/SnCl₂) und Chitosan das klar beste Ergebnis. Sie bewirkte zum einen den deutlich geringsten Substanzverlust (geringer als die Negativ-Kontrolle) sowie reduzierte diesen auch mit 67% in etwa doppelt so großem Ausmaß wie die anderen Zahnpasten. Das Ergebnis der Substanzverlustreduktion lag im Bereich der abrasivafreien Positiv-Kontrolle.

Über die Kombination von Chitosan und Zinn in Zahnpastenformulierungen, deren mögliche wechselseitige Effekte und insbesondere die gemeinsamen erosionshemmenden Wirkungen ist bisher ebenfalls wenig bekannt und sie sind aktueller Forschungsgegenstand.

Um auf dem Gebiet der Interaktionen von Zahnpastabestandteilen und Wirkstoffen neue Erfahrungen zu sammeln, wurde der Einfluss von verschiedenen Abrasivstoffen (Silika-Putzkörper in verschiedenen Konzentrationen sowie Polyethylen-Putzkörper) und Chitosan auf die Wirksamkeit von experimentellen und zinnfluoridhaltigen Zahnpasten gegenüber Erosions- und Abrasionsprozessen in vitro an Schmelzproben untersucht. Dieser Versuch war die Vorgängerstudie zur vorliegenden Arbeit. Jene Proben wurden in einem zyklischen De- und Remineralisierungs-Design mit Zitronensäure (0,5%) erodiert, dann die Hälfte von ihnen einer Bürstsimulation unterzogen und anschließend profilometrisch der vertikale Substanzverlust der einzelnen Proben gemessen. Das überraschende Ergebnis war: In den getesteten Zahnpasten mit höherer Konzentration an

Abrasiva gleichen Typs (Silika-Abrasiva) war ein geringerer Substanzverlust feststellbar. Es konnte so ein Einfluss von Art und Menge der Abrasiva auf die gesamte Wirksamkeit belegt werden.

Das verdeutlicht, dass die Effekte und Interaktionen der einzelnen Stoffe in Zahnpastenformulierungen untereinander und die Auswirkungen auf die Zinnfluoridwirksamkeit noch nicht ausreichend bekannt sind.

2.3 Zielstellung

Da bislang nicht geklärt ist, warum die Wirksamkeit zinn- und fluoridhaltiger Zahnpasten hinter derjenigen von wirkstoffgleichen Mundspüllösungen zurückbleibt, war es Ziel der vorliegenden Arbeit, zur Aufklärung des Wirkmechanismus solcher Formulierungen beizutragen.

Speziell sollten neue Erkenntnisse über die Zinnaufnahme im Schmelz und über Wechselwirkungen zwischen Abrasiva und Zinnionen gewonnen werden.

Chitosan als neuer Wirkstoff in Zahnpasten konnte die Wirksamkeit zinn- und fluoridhaltiger Formulierungen deutlich verbessern, der zugrunde liegende Wirkmechanismus ist jedoch unbekannt.

Die vorliegende Studie sollte dementsprechend folgende Fragen beantworten:

Kommt es nach Anwendung von zinnhaltigen Zahnpastenformulierungen überhaupt zur Aufnahme von Zinn in den Zahnschmelz?

Adsorbieren Abrasiva Zinn und wird dadurch die Verfügbarkeit von Zinn verringert?

Beeinflussen Abrasiva die Aufnahme von Zinn in den Schmelz?

Welchen Einfluss haben Abrasiva auf die Ultrastruktur von erodiertem Schmelz?

Erhöht Chitosan die Aufnahme von Zinn in den Zahnschmelz?

Wenn Abrasiva Zinn adsorbieren, kann Chitosan die Zinnadsorption beeinflussen?

Verändert Chitosan die Effekte von Abrasiva auf die Ultrastruktur von erodiertem Schmelz?

Aufbau und Durchführung des Vorgängerversuches

Die vorliegende Arbeit untersuchte Proben aus der im Rahmen der Dissertation von Frau M. Möllers durchgeführten Studie zur in-vitro Untersuchung von Auswirkungen unterschiedlicher Abrasiva und Chitosan in experimentellen Zahnpastenformulierungen und deren Wirksamkeit gegen Erosionen.¹ Für diese Vorgängerstudie wurden von Frau M. Möllers Zahnschmelzproben angefertigt, präpariert und in Versuchen im Erosionsmodell behandelt. Anschließend wurden von im Rahmen der Untersuchung profilometrische Messungen durchgeführt und ausgewertet. Zum besseren Verständnis wird der Versuch aus der Vorgängerstudie an dieser Stelle zusammenfassend vorgestellt.

Herstellung der Proben

Die im Versuch der Vorgängerarbeit untersuchten Zahnschmelzproben wurden aus vollständig retinierten dritten Molaren hergestellt und weiter zu insgesamt 435 einzelnen longitudinalen Schnitten mit etwa 1 mm Dicke verarbeitet. Jede dieser Proben hatte die Größe von ungefähr 6-8 mm x 3-4 mm und setzte sich an der Oberfläche aus einer Referenz- und einer Versuchsfläche zusammen, die annähernd zwei gleich große Bereiche abdeckten. Bei der Versuchsdurchführung in der vorangegangenen Studie war die Referenzfläche mit einem klaren, lichthärtenden Kunststoffkleber (Mat. 01) abgedeckt und vor Wechselwirkungen mit der Umwelt sowie vor Versuchseinflüssen geschützt.

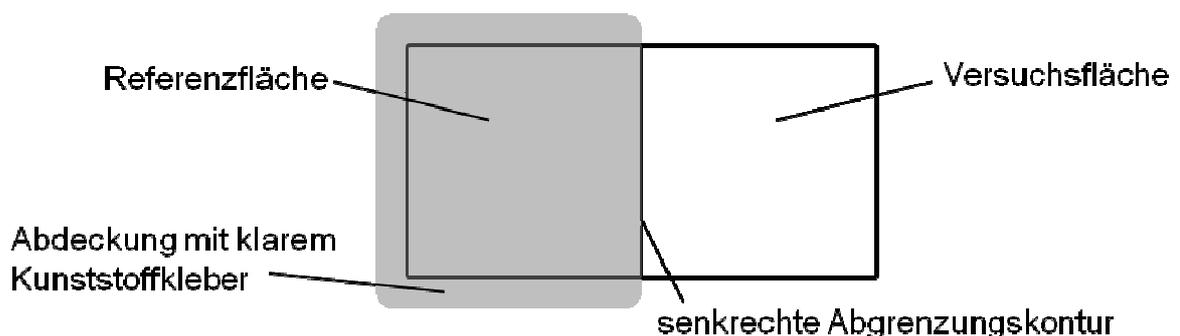


Abb. 3.01: Schematische Darstellung der Aufsicht auf eine Schmelzprobe zur Versuchsdurchführung in der Vorgängerstudie. Die Versuchsfläche befindet sich in der Abbildung rechts und die abgedeckte Referenzfläche links.

¹ Die Ergebnisse der Studie wurden auf der 59. Jahrestagung der European Organisation of Caries Research (ORCA) vorgestellt und sind als Abstract publiziert [Grunau et al., 2012].

Die 435 einzelnen Proben wurden in 29 Gruppen eingeteilt. Jede Versuchsgruppe setzte sich aus 15 Proben zusammen, ebenso die Gruppe der Negativ-Kontrolle.

Verwendete Lösungen

Demineralisationslösung:

Bei der Herstellung der Demineralisationslösung wurden 5 g Zitronensäure-Monohydrat (Chem. 01) in 1000 ml destilliertem Wasser gelöst. Die so entstandene 0,5%ige Zitronensäure hatte einen pH-Wert von 2,6.

Remineralisationslösung:

Die Remineralisationslösung wurde nach der Vorgabe und Rezeptur von Gerrard und Winter [1986] angefertigt.

Dazu wurden 0,4 g Phosphorsäure (Chem. 02) in 40 ml destilliertem Wasser, 1,5 g Kaliumchlorid (Chem. 03) in 100 ml destilliertem Wasser und 1 g Natriumhydrogencarbonat (Chem. 04) in 100 ml destilliertem Wasser gelöst und nachfolgend vermischt. Die entstandene Lösung wurde mit destilliertem Wasser zu einem Volumen von 600 ml aufgefüllt und danach noch 0,2 g Kalziumchlorid (Chem. 05), gelöst in 100 ml destilliertem Wasser, unter Rühren hinzugefügt. Diese Gesamtlösung wurde letztlich wieder mit destilliertem Wasser auf 1000 ml Gesamtvolumen ergänzt.

Verwendete experimentelle Zahnpastenformulierungen

Acht verschiedene Produkte mit verblindeten experimentellen Zahnpastenformulierungen wurden von GABA International® (Therwil, Schweiz) zur Verfügung gestellt. Grundlegende Bestandteile der Zahnpasten waren neben den eigentlichen Wirkstoffkomponenten unterschiedliche Putzkörper (Abrasiertyp und -konzentration) und zusätzlich die Anwesenheit oder das Fehlen von Chitosan in der Testformulierung.

Als Wirksubstanzen wurden 700 ppm Aminfluorid, 700 ppm Natriumfluorid und 3500 ppm Zinnchlorid eingesetzt, die in allen Testprodukten außer der Placebo-Formulierung enthalten waren.

Ebenso waren in allen Testprodukten als Putzkörper-Grundbestandteile 2% hochabrasive Silikapartikel und 0,7% wenig abrasives Aluminiumoxid vorhanden, dies jedoch nicht in der Formulierung ohne Abrasiva. Mit diesem konstanten Grundgehalt an hochabrasiven Putzkörpern sollte die Variationsbreite der Abrasivität der Zahnpastenformulierungen vereinheitlicht werden.

Dazu kamen noch die Grundsubstanzbestandteile Sorbitol, Glycerin, Natriumgluconat und Hydroxyethylzellulose als Befeuchtungs-, Binde- oder Verdickungsmittel, Stabilisatoren oder Geschmacksstoffe. Diese allgemeinen Substanzen waren als physikalisch-chemische Hilfsstoffe in sämtlichen Formulierungen beinhaltet.

Die unterschiedlichen Varianten und Konzentrationen der über die Putzkörper-Grundbestandteile hinaus gehenden Abrasiva waren für die experimentellen Zahnpastenformulierungen spezifisch und unterteilten den Versuch damit in fünf verschiedene Versuchsgruppen. Diese Testprodukte enthielten im Einzelnen (Prozentangaben in Gewichtsprozent, Gew%):

- 5% wenig abrasive Silika
- 10% wenig abrasive Silika
- 15% wenig abrasive Silika
- 20% wenig abrasive Silika
- 20% Polyethylen

Zwei weitere experimentelle Zahnpasten im Versuchsaufbau waren die folgenden Kontrollgruppen mit speziellen Formulierungen:

- Keine Abrasiva – Ohne zusätzliche Abrasivstoffe und ohne Putzkörper-Grundbestandteile, dafür mit Wirksubstanzen (AmF, NaF, SnCl₂) und allgemeinen Hilfsstoffen.
- Placebo – Mit 20% wenig abrasiven Silika sowie den Putzkörper-Grundbestandteilen und allgemeinen Hilfsstoffen, jedoch ohne die Wirksubstanzen (AmF, NaF, SnCl₂).

Jedes dieser Testprodukte wurde jeweils einmal mit Zusatz von Chitosan und einmal ohne Chitosan verwendet. Aus der Gesamtzahl der Formulierungen, dem Zusatz von Chitosan, der verschiedenen Behandlungsweisen in der Versuchsdurchführung und der zusätzlichen Negativ-Kontrollgruppe ergibt sich die Gesamtzahl der Gruppen.

Eingesetzt wurden die experimentellen Zahnpastenformulierungen im Rahmen der Vorgängerstudie in Form von Slurries. Das sind Zahnpastensuspensionen aus dem jeweiligen Testprodukt und der angesetzten Remineralisationslösung. Diese wurden nach Gewicht im Verhältnis von einem Teil experimenteller Zahnpasta zu drei Teilen Remineralisationslösung (1:3) zubereitet.

Versuchsdurchführung

In der Durchführung des Vorgängerversuches wurden alle 435 Proben während der Versuchsdauer von 10 Tagen sechsmal am Tag für 2 Minuten mit der Zitronensäurelösung demineralisiert. Anschließend wurden sie für 30 Sekunden unter fließendem Wasser abgespült und nachfolgend in der Remineralisationslösung aufbewahrt.

210 Proben (14 Gruppen) wurden im Versuchsverlauf täglich nach der ersten und letzten Demineralisation für 2 Minuten in einer Zahnpastensuspension mit der für die einzelne Gruppe spezifischen experimentellen Zahnpastenformulierung behandelt und während dieser Zeit für 15 Sekunden mit dem Zahnbürst-Simulator (Mat. 02) gebürstet (Bürstdruck: 200 g). Nach jeder Slurrybehandlung mit Bürsten wurden die Proben eine Minute unter fließendem Wasser abgespült und danach wieder in der Remineralisationslösung aufbewahrt.

Weitere 210 Proben (14 Gruppen) wurden ebenso zweimal am Tag für 2 Minuten in einer Zahnpastensuspension mit der für die einzelne Gruppe spezifischen experimentellen Zahnpastenformulierung behandelt, jedoch nicht gebürstet. Auch diese Proben wurden nach jeder Slurrybehandlung für eine Minute unter fließendem Wasser abgespült und danach in der Remineralisationslösung aufbewahrt.

Die 15 Proben der Negativ-Kontrolle wurden nur erosiv demineralisiert und nach dem Abspülen wieder in der Remineralisationslösung gelagert.

Nach dem jeweils 10. Versuchstag des Vorgängerversuches wurde bei allen Proben die Kunststoffkleber-Abdeckung von der Referenzfläche entfernt. Daraufhin erfolgten die profilometrischen Messungen der Proben und die Auswertung der Vorgängerstudie.

Abschließend wurden die Proben bis auf weiteres in einer feuchten Kammer bei 100% Luftfeuchtigkeit im Kühlschrank aufbewahrt.

3 Material und Methoden

In der vorliegenden Arbeit wurden die Proben aus der Vorgängerstudie weiterführend analysiert. Zunächst erfolgten an die Vorgängerstudie anknüpfende zusätzliche profilometrische Untersuchungen zur Oberflächenrauheitsmessung. Anschließend wurden die Proben mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) analysiert und zudem strukturell im Rasterelektronenmikroskop beurteilt.

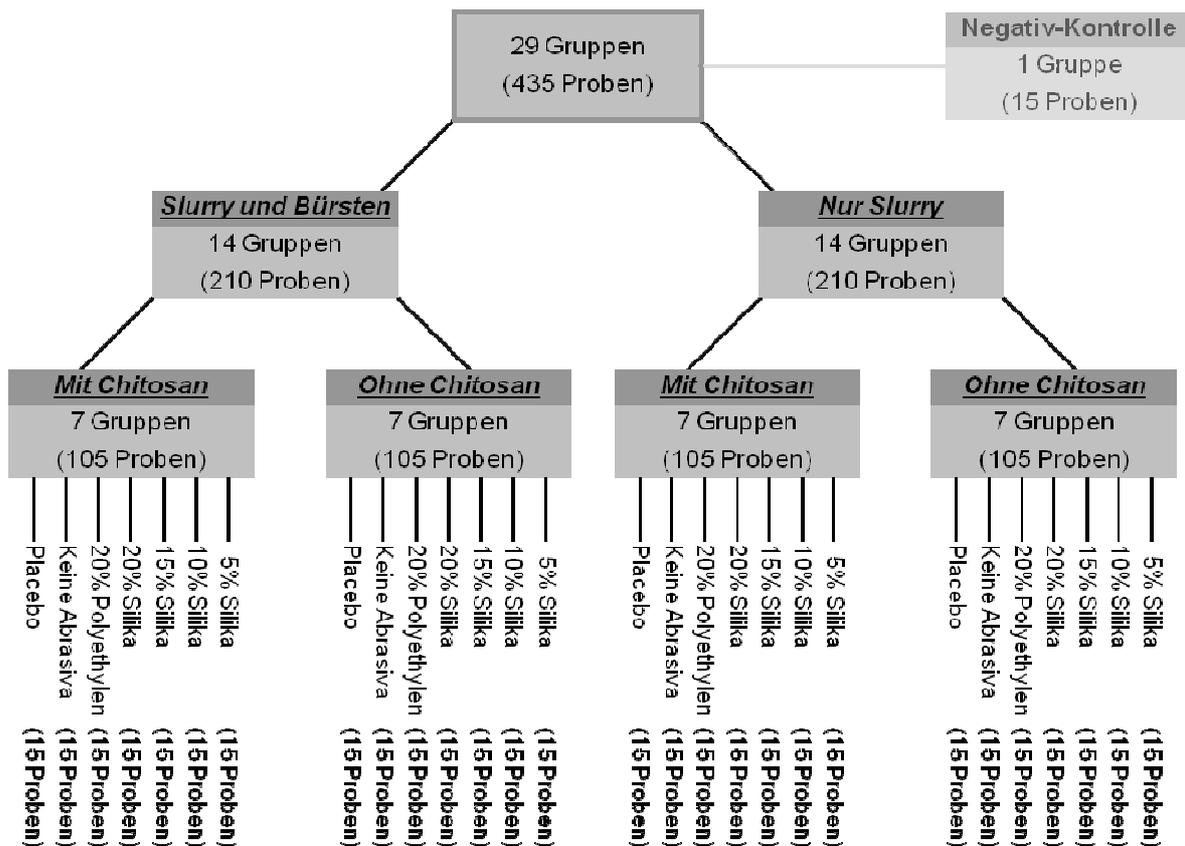


Abb. 3.02: Schematische Übersicht der Versuchsgruppen mit spezifischer Behandlungsart, verwendeter experimenteller Zahnpastenformulierung und enthaltener Probenanzahl.

3.1 Profilometrie / Rauheitsmessung

Die zunächst in der vorliegenden Studie durchgeführte Untersuchung war die Rauheitsmessung aller 435 Proben mit dem MicroProf®-Oberflächenprofilometer (Mat. 03). Dabei befanden sich die Proben in ursprünglicher gruppenweiser Anordnung noch auf den quaderförmigen Kunststoff-Probenträgern (Mat. 04), wie sie für die Bürstsimulation im Zahnbürst-Simulator aus der vorangegangenen Studie geeignet sind. Zur Fixierung der Probenträger auf dem Untersuchungstisch des Profilometers wurde einfache Knetmasse verwendet.

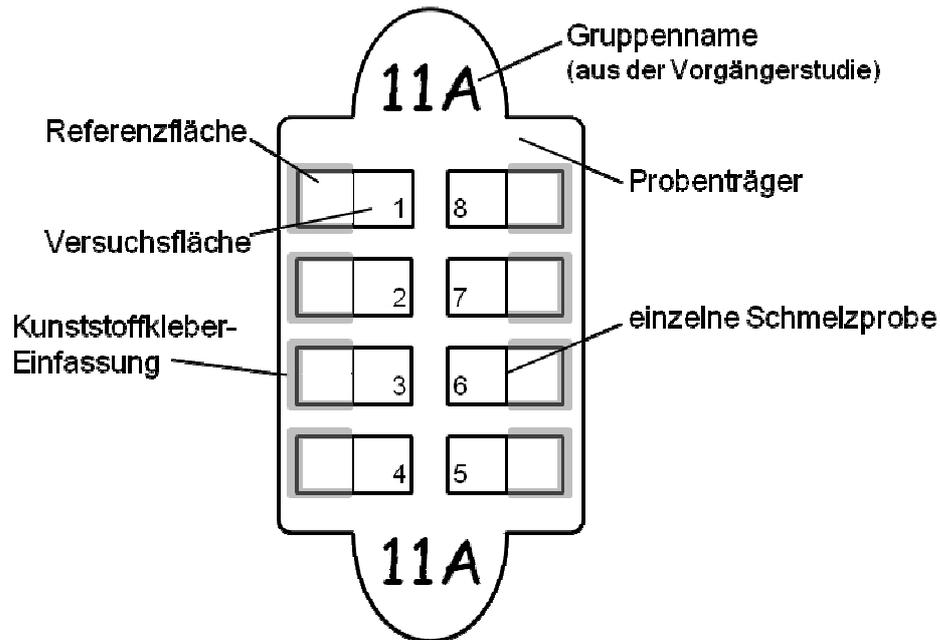


Abb. 3.03: Schematische Darstellung der Schmelzprobenanordnung auf Probenträgern während der Oberflächenprofilometrie. Die Versuchsflächen waren stets nach innen gerichtet, nummeriert wurde gegen den Uhrzeigersinn.

Die profilometrische Analyse erfolgte mit dem im MicroProf[®] integrierten chromatischen Weißlicht-Sensor FRT CWL F 300 μm (Mat. 05) optisch nach dem Prinzip der chromatischen Aberration. Dabei wird die Probe mit fokussiertem Weißlicht einer LED-Lichtquelle bestrahlt und aus der spektralen Verteilung des an der Oberfläche gebrochenen und gestreuten Lichtes der Abstand der Probenoberfläche zum Sensor bestimmt. Diese Messungen sind berührungs- und zerstörungsfrei. Das laterale Auflösungsvermögen des Sensors liegt bei 1-2 μm , mit einer vertikalen Auflösung von 10 nm.

Auf der Versuchsfläche aller Proben wurde für den Messbereich eines 0,4 mm x 0,4 mm großen Feldes die mittlere Rautiefe (R_z) bestimmt. Der zu analysierende Bereich sollte dabei repräsentativ ausgewählt werden, frei von Kratzern, Rissen und Verunreinigungen sein, sich makroskopisch unauffällig darstellen und sich mittig auf der Versuchsfläche befinden, um Randwalleffekte zu vermeiden.

Zur Aufnahme der Messwerte wurde die gerätezugehörige „Acquire“-Software (Mat. 06) benutzt. Bei einer Messrate von 2000 Hz wurden für jede Aufnahme bei jeder Probe 200 x 200 Bildpunkte erstellt. So ergab sich ein Abstand der Bildpunkte von jeweils 2 μm in der horizontalen und vertikalen Ebene, wodurch der Herstellerempfehlung für die Auflösung bei Rauheitsmessungen exakt entsprochen wurde.

Nach Erhebung der Profil-Messdaten wurde die Auswertung und Bestimmung der mittleren Rautiefe (R_z) der Probe mit dem ebenfalls geräteeigenen Programm „FRT Mark III“ (Mat. 07) durchgeführt. Von der Software wurde aus dem ungefilterten Primärprofil mit der Grenzwellenlänge λ_c des Profilfilters das gefilterte Rauheitsprofil erstellt sowie die mittlere Rautiefe (R_z) berechnet und ausgegeben. Die Grenzwellenlänge dient als Abgrenzung zwischen der Rauheit und der Welligkeit. Definiert werden die Rauheitskenngößen und die in dieser Studie gemessene mittlere Rautiefe (R_z) nach DIN EN ISO 4287:1998, ASME B46.1:

R_z : Die mittlere Rautiefe R_z ist der arithmetische Mittelwert der fünf Einzelrautiefen R_{zi} (Summe aus größter Profilspitze und größtem Profiltal einer Einzelmessstrecke l_i) aus den fünf aufeinanderfolgenden gleichlangen Einzelmessstrecken (l_i) innerhalb der Gesamtmesstrecke (l_n).

3.2 Energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX)

Der zweite Analyseschritt in der vorliegenden Studie war die energiedispersive Röntgenspektroskopie (EDX) der Oberfläche wiederum aller einzelnen Proben.

Diese Messung wurde mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM) JEOL JSM 6510 (Mat. 08) mit Wolfram-Kathode und dem darin integrierten energiedispersiven Röntgenspektrometer Bruker Nano QUANTAX XFlash[®] 410-M (Mat. 09) mit Silicon-Drift-Detektor (SDD) durchgeführt.

Vor Betrachtung und Analyse der Proben mit dem REM wurden diese auf geeignete Probenträger geklebt und mit Gold besputtert (Verfahren der Kathodenzerstäubung). Dazu wurden die Schmelzproben zuerst mit einem Skalpell (Mat. 10) von den Kunststoff-Probenträgern aus dem Vorversuch abpräpariert und die verbliebene restliche Kunststoff-Einfassung der Referenzfläche ebenso wie sämtliche weitere Kunststoffpartikel und kleinere Verunreinigungen entfernt. Nach Markierung der Probenrückseite (Mat. 11) und kurzer Zwischenlagerung in mit der entsprechenden Probennummer versehenen Probengefäßen, erfolgte sodann die Platzierung auf den vorbereiteten Stiftprobentellern (Mat. 12) für das REM.

Auf diese rückseitig und fortlaufend nummerierten Stiftprobenteller wurden doppelseitig klebende und elektrisch gut leitende Leit Tabs (Mat. 13) aufgeklebt. Ein kleiner dreieckiger Ausschnitt auf dem Leit Tab diente zur Definition der Ausrichtung „oben“. Ergänzend wurde mit alternierend einer oder zwei

Bohrmarkierungen auf der linken Seite der Probenträgeroberfläche die eindeutige Zuordnung jeder Probe auch im eingeschleusten Zustand während der Analyse im REM gewährleistet.

Auf jedem Stiftprobenteller befanden sich immer maximal zwei Proben. In Bezug auf die beschriebenen Landmarken war die Referenzfläche immer links und die Versuchsfläche immer rechts angeordnet. Die Nummerierung erfolgte ebenfalls anhand dieser Markierungen von oben nach unten.

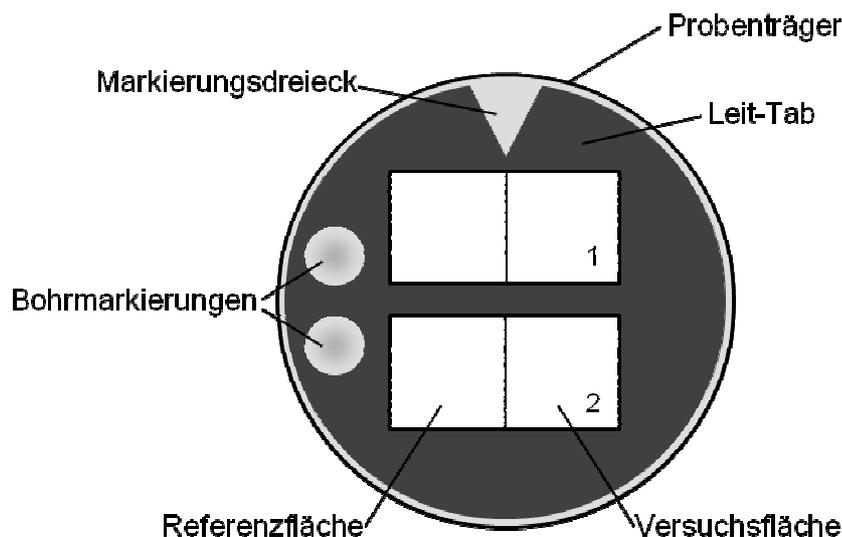


Abb. 3.04: Schematische Darstellung der Probenanordnung auf den Stiftprobentellern während der Untersuchungen im REM. Die Versuchsflächen waren in Bezug auf das Markierungsdreieck und die Bohrmarkierungen stets nach rechts gerichtet, nummeriert wurde ebenso daran orientiert von oben nach unten.

Zwischen den einzelnen Untersuchungen wurden die Probenträger in mit Schaumstoff ausgekleideten Kästen (Mat. 14) an entsprechend nummerierten Plätzen staubfrei aufbewahrt. Zudem wurde eine Tabelle zur Registrierung und Zuordnung jeder Probe zu ihrem Probenteller angelegt und damit die weitere Identifikation gesichert.

Im letzten Schritt wurden die Proben gruppenweise, also jeweils 8 Stiftprobenteller mit den 15 Proben einer Gruppe nacheinander mit dem Sputtergerät (Mat. 15) mit Gold beschichtet. Die Umgebungsluft in der Rezipientenkammer des Sputtergerätes wurde durch dreifach wiederholtes Abpumpen (Mat. 16) bis unter 5 Pa und nachfolgendem Anfluten von Argon (Chem. 06) ersetzt. Unter Argonatmosphäre bei 8 Pa und einer Stromstärke von 20 mA wurde das Gold ionisiert. Der Abstand der Probenoberseite zum Gold-Target betrug dabei ungefähr 40-50 mm und die Dauer der Beschichtung war auf 60 s festgelegt.

Die präparierten Proben wurden dann nacheinander (jeweils maximal vier zur selben Zeit, entsprechend zwei Stiftprobentellern gleichzeitig) in die Probenkammer des REM eingeschleust und im Hochvakuum analysiert.

Mit dem geräteeigenen Steuerungsprogramm „SEM Control User Interface“ (Mat. 17) des REM wurden auf der Versuchsfläche der Proben ausgewählte Bereiche in 300-facher Vergrößerung dargestellt. Dazu diente der Everhart-Thornley-Sekundärelektronendetektor (SE-Detektor) des REM. Die in der 300-fachen Vergrößerung abgescannte Fläche auf der Probe entsprach nahezu derjenigen aus der profilometrischen Messung von 0,4 mm x 0,4 mm, ist jedoch mit dieser nicht lokalisationsgleich. Kriterien für die Auswahl einer repräsentativen Lokalisation der Probenoberfläche waren auch hier die Freiheit von Kratzern, Rissen und Verunreinigungen, die mikroskopisch unauffällige Darstellung sowie eine etwa mittige Lage auf der Versuchsfläche.

Die EDX-Messungen erfolgten bei einem Arbeitsabstand von 15 mm und bei 15 kV Spannung mit dem integrierten QUANTAX XFlash[®]-Röntgenspektrometer. Die Bildaufnahme der eingestellten Lokalisation mit 1024x768 Bildpunkten wurde in das mitgelieferte EDX-Aufnahme- und Auswertungsprogramm „Bruker Esprit“ (Mat. 18) importiert und damit weiterverfahren.

Die EDX-Analysen jeder Probe wurden bei einer Spot Size zwischen 50-55 durchgeführt, sodass immer eine Zählrate um 1,0 kcps resultierte. Dabei war die Analysedauer 120 s und die Totzeit des Detektors lag bei ungefähr $\leq 5\%$.

Die erhobenen Daten der EDX-Spektroskopie wurden ebenfalls mit dem Programm „Bruker Esprit“ ausgewertet. Der angewendete Algorithmus beinhaltet eine Korrektur von bekannten Detektoreffekten (Escape, Tail, Shelf, Shift), eine Elementidentifizierung nach selbst vorgegebener Liste mit den Elementen Kohlenstoff, Phosphor, Sauerstoff, Zinn, Kalzium und Gold. Gold wurde entfaltet, jedoch nicht quantifiziert. Dazu kam eine automatische Untergrundanpassung. Die Entfaltung erfolgte über die Serien-Fit-Methode und die Quantifizierung durch das standardfreie Peak-zu-Untergrund-ZAF-Modell (P/U ZAF-Korrektur).

Als Ergebnis der energiedispersiven Röntgenspektroskopie wurden für jede Probe die normierten Gewichtsprozentanteile der ausgewählten Elemente auf der Probenoberfläche ausgegeben und vom Programm tabellarisch sowie durch eine Spektrumsgrafik dargestellt.

Brüker Nano GmbH, Germany

Quantax

Ergebnisse 199_KeineAbrasive_Bürsten_mitChitosan_XI

Element	OZ	Serie	[Gew.%]	[norm. Gew.%]	[norm. At.%]	(1 Sigma)	Gew.%	K-Fakt.	Z-Korr.	A-Korr.	F-Korr.
Sauerstoff	8	K-Serie	33,121	36,641	49,204		4,813	0,804	0,458	1,000	1,000
Kalzium	20	K-Serie	25,097	27,764	14,884		0,794	0,142	1,928	1,000	1,013
Kohlenstoff	6	K-Serie	13,013	14,396	25,751		2,284	0,543	0,285	1,000	1,000
Phosphor	15	K-Serie	11,152	12,337	8,558		0,460	0,070	1,733	1,000	1,015
Zinn	60	L-Serie	8,010	8,862	1,604		0,294	0,066	1,343	1,000	1,020
Gold	79	M-Serie	0	0	0		0	1,000	1,000	1,000	1,000
		Summe:	90,393	100	100						

Abb. 3.05a

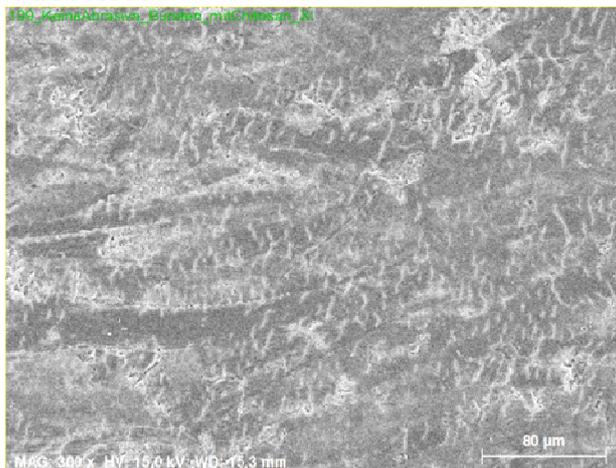


Abb. 3.05b

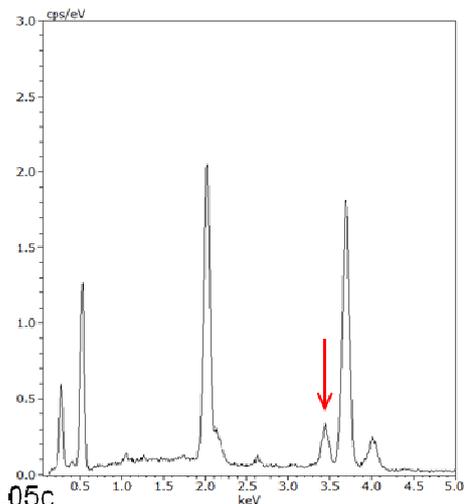


Abb. 3.05c

Abb. 3.05a-c: Darstellung der Ergebnisse für eine beispielhafte Probe: Tabellarische Ausgabe der Analysewerte (3.05a), Bildaufnahme der analysierten Lokalisation in Originalvergrößerung x 300 (3.05b) und zugehöriges exemplarisches Analysespektrum mit Markierung (Pfeil) des charakteristischen Energieniveaus von Zinn (L α -Linie bei 3,443 keV; 3.05c).

3.3 Oberflächen-Strukturaufnahmen

Nach Anfertigung der Röntgenspektroskopie wurden aus jeder Versuchsgruppe jeweils 5 zufällig ausgewählte Proben detailliert mit dem REM in ihrer Oberflächenstruktur aufgenommen.

Die Bildaufnahmen der Oberflächenstruktur erfolgten bei einem Arbeitsabstand von etwa 8 mm und 15 kV Spannung mit dem SE-Detektor bei 2560x1920 Bildpunkten und einer Spot Size von 30. Mit dem Bedienungsprogramm des REM wurden von den Proben Aufnahmen in

1500-facher Vergrößerung erstellt. Die Ausrichtung der Hauptstrukturen auf den Bildern wurde stets diagonal von links unten nach rechts oben eingestellt.

Die einzelnen Bildaufnahmen wurden dann auf DIN A0-Fotopapier (180 g/cm²) mit 1200 x 1200 dpi Auflösung ausgedruckt (Mat. 19) und manuell ausgeschnitten. Rückseitig wurden Gruppennummer, Probennummer, verwendete Zahnpastenformulierung sowie die Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) vermerkt.

Die Klassifizierung erfolgte durch folgende Merkmale:

- Vorhandensein von Ätzmuster (ja/nein)
- Struktureigenschaften (glatt/eben oder rau/zerklüftet, dazu Vorliegen von feinflockigen oder grobscholligen Auflagerungen und/oder Schleifspuren)
- Vorhandensein von amorphen Präzipitaten (ja/nein)

Als feinflockige Auflagerungen wurden kleinflächig-flache Strukturen mit geringen Konturen auf der Oberfläche definiert, die größtmäßig kleiner als 10 µm waren. Zu den grobscholligen Auflagerungen hingegen gehörten Objekte auf der Oberfläche, die flächig auf dem Schmelz lagen, solide-aufragend wirkten und um oder über 10 µm maßen. Schleifspuren resultieren aus der Präparation der Proben während der Vorgängerstudie und sind ein Indikator für einen besonders geringen erosiven Substanzverlust im Versuch. Amorphe Präzipitate waren Partikel mit unterschiedlicher Größe und nicht einheitlichen Formen die sich auf der Schmelzoberfläche befanden (zur Veranschaulichung siehe Abb. 4.14a-d).

Alle Aufnahmen wurden zufällig hintereinander und verblindet ausgewertet, also ohne Kenntnis welches Bild welcher Gruppe gerade beurteilt wurde.

3.3.1 Reproduzierbarkeit der Strukturaufnahmen-Auswertung

Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit wurden abschließend 20 zufällig ausgewählte Proben erneut nach den zuvor beschriebenen Kriterien bewertet. Die Ergebnisse dieser wiederholten Auswertung wurden mit jenen der ursprünglichen Auswertung in einer Kreuztabelle gegenübergestellt (Tab. 3.01). Die Kappa-Werte nach zweifacher Auswertung lagen für die einzelnen Auswertungskategorien zwischen 0,9 und 1,0 [Landis und Koch, 1977; Fleiss et al., 2004].

Tab. 3.01: Tabelle zur Reproduzierbarkeit der Probencharakterisierung. Die Kappa-Werte für die einzelnen Auswertungskategorien lagen zwischen 0,9 und 1,0.

		Wiederholte Auswertung												
		Ätzmuster		Struktur								amorphe Präzipitate		
				Glatt/ Eben	Rau/ Zerklüftet	Feinflockige Auflagerungen		Grobschollige Auflagerungen		Schleif- spuren				
		Ja	Nein			Ja	Nein	Ja	Nein	Ja	Nein	Ja	Nein	
Ätzmuster		Ja	8	0										
		Nein	1	11										
Ursprüngliche Auswertung	Glatt/Eben				11	0								
	Rau/Zerklüftet				0	9								
	Struktur	Feinflockige Auflagerungen	Ja				9	1						
			Nein				0	10						
	Struktur	Grobschollige Auflagerungen	Ja						2	0				
			Nein						0	18				
	Struktur	Schleifspuren	Ja								7	0		
			Nein								0	18		
	amorphe Präzipitate		Ja										18	0
			Nein										0	2

3.4 Referenzflächenmessung

Für die Referenzflächenmessung wurden aus allen 435 in den Versuchen analysierten Proben vier zufällig ausgewählt. Hier wurde die im Versuch der vorangehenden Studie nicht mit behandelte, unbeeinflusste Referenzfläche dieser ausgewählten Proben untersucht.

Von den Referenzflächen wurden EDX-Analysen durchgeführt und Oberflächen-Strukturaufnahmen erstellt.

Dabei waren die verwendeten Geräte und Methoden sowie damit verbunden die Einstellungen und Parameter in Analyse- und Aufnahmeverfahren, wie auch in Auswertungsmethode und -algorithmus und die Auswertetechnik, mit denen der allgemeinen zuvor in dieser Studie durchgeführten Untersuchungen gleich.

Ausgewählte Proben zur Referenzflächenuntersuchung:

- 15% Silika – Slurrybehandlung – Ohne Chitosan
- 20% Polyethylen – Slurrybehandlung – Mit Chitosan
- Placebo – Bürstbehandlung – Mit Chitosan
- Keine Abrasiva – Slurrybehandlung – Ohne Chitosan

3.5 Reproduzierbarkeitsmessungen

Zur Reproduzierbarkeitsmessung wurden drei verschiedene Proben mit repräsentativen Zinngehalten ausgewählt. Dabei handelte es sich um:

- Eine Probe mit besonders hohem Zinngehalt ($\approx 7-8$ Gew%)
- Eine Probe mit eher geringem Zinngehalt (≈ 1 Gew%)
- Eine Probe mit einem mittlerem Zinngehalt, welcher sich etwa am Bereich der am häufigsten gemessenen Zinngehalte orientiert ($\approx 2,5$ Gew%)

Bei diesen Proben wurden in zwei Versuchsreihen EDX-Untersuchungen wiederholt durchgeführt um die Reproduzierbarkeit des angewendeten Analyseverfahrens festzustellen.

Jene Messreihen beinhalteten zum einen zehn aufeinanderfolgende EDX-Analysen auf derselben Probe an der jeweils selben Position.

Zum anderen wurden zehn weitere EDX-Erhebungen auf der gleichen Probe durchgeführt indem die zu messende Lokalisation immer wieder neu ausgewählt, mit dem REM neu eingestellt, und analysiert wurde.

Die hier zur EDX-Betrachtung verwendeten Geräte und Einstellungen waren mit denen bei der zuvor erhobenen Messung aller Proben hinsichtlich Aufnahmeparameter (Methode, Software, Dauer, Vergrößerung, Spot Size/kcps) und Auswertungsmethode (Software, Algorithmen) identisch.

Die EDX-Analyse mit Elementquantifizierung zeigte bei allen drei Proben und in beiden angewendeten Kontrollverfahren eine gute Reproduzierbarkeit (Abb. 3.06). Die festgestellten Unterschiede betragen bei zehnmalem neuen Anfahren und Einstellen derselben Probe $\pm 1,1$ Gew% (mittlerer Zinngehalt der Probe 7,4 Gew%), $\pm 0,2$ Gew% (mittlerer Zinngehalt der Probe 2,4 Gew%) und wiederum $\pm 0,2$ Gew% (mittlerer Zinngehalt der Probe 1,0 Gew%). Noch geringer waren die Divergenzen bei zehnfacher Messung identischer Positionen auf derselben Probe. Hier lagen die Unterschiede bei $\pm 0,2$ Gew% (mittlerer Zinngehalt der Probe 8,0 Gew%), $\pm 0,1$ Gew% (mittlerer Zinngehalt der Probe 2,3 Gew%) und ebenfalls $\pm 0,1$ Gew% (mittlerer Zinngehalt der Probe 1,1 Gew%).

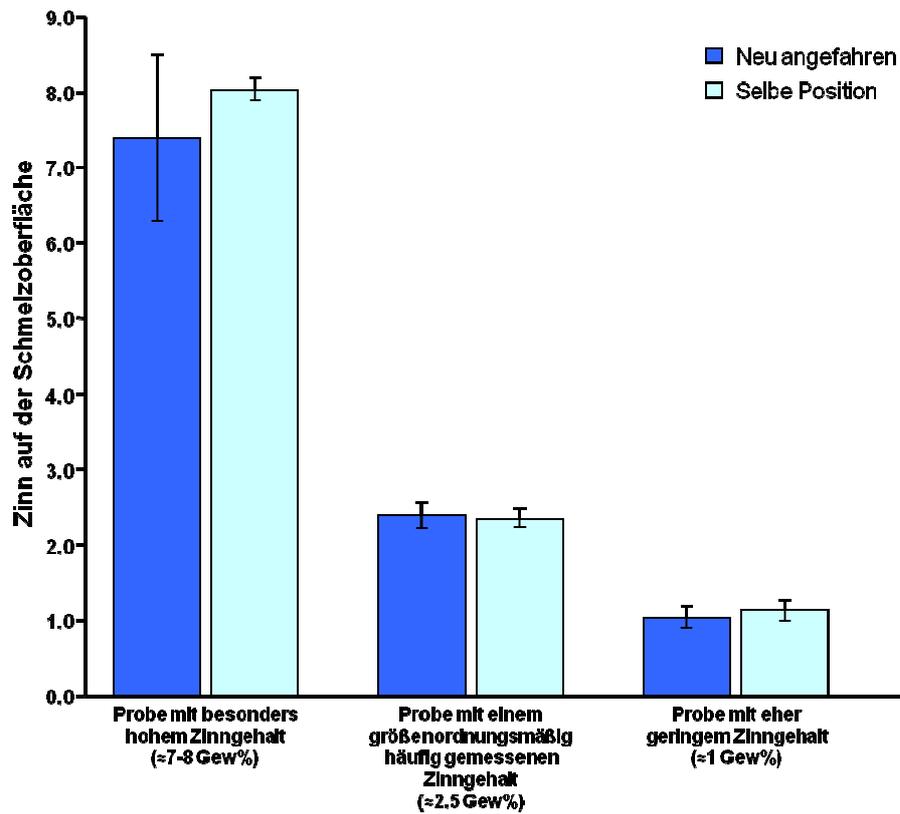


Abb. 3.06: Reproduzierbarkeit der EDX-Analyse mit Elementquantifizierung. Nach zehnmaliger Neueinstellung der Proben im Gerät und bei zehnfacher Messung der identischen Position derselben Probe zeigten sich gut übereinstimmende Ergebnisse (arithmetischer Mittelwert und Standardabweichung, Gew%).

3.6 Putzkörperaufnahmen

Im Anschluss an die Analysen der Schmelzproben wurden sechs der in der Vorgängerstudie verwendeten experimentellen Zahnpastenformulierungen ausgewählt und weiterführend untersucht. Dafür wurden neben detaillierten Strukturaufnahmen der verschiedenen Abrasivatypen auch zusätzliche EDX-Analysen von einzelnen Oberflächen der dargestellten Abrasivkörper erstellt.

Bevor die Messungen durchgeführt werden konnten, mussten die Putzkörper aus dem Gemisch des Zahnpastaproduktes isoliert und für die Untersuchungen präpariert werden. Insgesamt wurden 12 Putzkörperproben erstellt und analysiert. Hierin handelte es zum einen um Proben aus den Zahnpastenformulierungen mit den unterschiedlichen Abrasivatypen:

- 20% wenig abrasive Silika mit und ohne Chitosan
- 20% Polyethylen mit und ohne Chitosan

Zusätzlich wurden auch Proben aus den Placebo-Formulierungen untersucht, die ebenfalls 20% wenig abrasive Silika enthielten.

Zuerst wurden jeweils 30 g einer Zahnpastenformulierung und 90 ml destilliertes Wasser präzise abgewogen (Mat. 20) und in einem Becherglas bis zum Entstehen einer augenscheinlich homogenen Suspension über ungefähr 15-20 Minuten mit einem Magnetrührgerät (Mat. 21) bei etwa 200 rpm Drehzahl vermischt.

Von jeder Suspension wurden 30 g mit Hilfe einer Präzisionswaage und einer für jeden Ansatz neuen Einmalpipette in einzelne Zentrifugenröhrchen (Mat. 22) gefüllt. Diese wurden fest verschlossen und bis zur anschließenden Zentrifugation kurz stehend in einem Reagenzglasständer gelagert.

Die Proben wurden danach bei 10000 G über 10 Minuten Laufzeit zentrifugiert (Mat. 23) und in der Folge aus dem erhaltenen Sediment jedes Ansatzes, einmal für kleinere Strukturen aus der Oberfläche und einmal für größere Strukturen am Grund, mit einem Spatel vorsichtig Proben entnommen. Diese Proben wurden einzeln auf entsprechend beschrifteten Filterpapieren (Mat. 24) ausgebreitet, danach mit Petrischalen abgedeckt, und für 72 Stunden bei Raumluft getrocknet. Anschließend konnten die Putzkörperproben auf die für das REM geeigneten und mit elektrisch leitfähigen Leit Tabs vorbereiteten Stiftprobenteller stempelartig aufgetragen werden.

Für die EDX-Analyse blieben die Putzkörperproben zunächst im nativen Zustand ohne leitfähige Goldbeschichtung. Folglich war die bildliche Darstellung aufgrund leichter elektrischer Aufladungen der Probenoberfläche erschwert, allerdings für die Auswahl von geeigneten Lokalisationen zur EDX-Untersuchung völlig ausreichend. Bei 1500-facher Vergrößerung wurden die Putzkörperproben auf der Probenträgeroberfläche mit Hilfe des SE-Detektors und der Software des REM dargestellt und als Bild mit 1024x768 Bildpunkten in das EDX-Aufnahme- und Auswertungsprogramm („Bruker-Esprit“) importiert. Im Vergrößerungsbild wurden auf einzelnen Abrasiva-Partikeln mit der Bruker-Esprit-Software rechteckige Flächen markiert und diese nachfolgend analysiert. Die Messungen erfolgten bei einem Arbeitsabstand von annähernd 15 mm und 15 kV Spannung mit dem QUANTAX X-Flash[®] Röntgenspektrometer.

Die Spot Size wurde zwischen 50-55 eingestellt, sodass immer eine Zählrate um 1,0 kcps resultierte, bei einer Analysedauer von 120 s und einer Totzeit des Detektors von ungefähr $\leq 5\%$. Auswahlkriterien repräsentativer Strukturen waren möglichst gut abgrenzbare große Partikel, die sich frei von Verunreinigungen oder Artefakten zeigten und keine Konglomerate bildeten. Auf jedem Probenteller

wurden an insgesamt drei verschiedenen Lokalisationen einzelne Abrasiv-Partikel untersucht. Diese wurden jeweils neu eingestellt und angefahren.

Ausgewertet wurden die Daten ebenfalls mit dem Programm „Bruker-Esprit“. Der Algorithmus unterschied sich hier von jenem bei der EDX-Analyse der Schmelzproben angewendeten in der Auswahl der Elementidentifizierung: Bei den Putzkörpermessungen wurden die Elemente Kohlenstoff, Sauerstoff, Silizium, Zinn und Aluminium bestimmt. Ansonsten war die Auswertemethode in Entfaltungs- und Quantifizierungsmodus mit dem vorher angewandten gleich.

Vor Anfertigung der Oberflächen-Strukturaufnahmen wurden die Putzkörperproben nun mit Gold besputtert. Die dabei verwendeten Einstellungen und das Vorgehen waren mit jenem Verfahren zur Beschichtung der Schmelzproben identisch, unterschieden sich nur in der hier eingestellten Dauer: Bei den Putzkörperproben der Testprodukte mit den Abrasivstoffen 20% Silika und der Placebo-Gruppe betrug sie 90 s (jeweils mit und ohne Chitosan), und bei der Formulierung 20% Polyethylen 120 s (mit und ohne Chitosan). Mit der verlängerten Beschichtungszeit konnte die detaillierte Darstellbarkeit des organischen Abrasivatyps (Polyethylen) im REM verbessert werden, da sich die elektrischen Oberflächenaufloadungen reduzierten.

Die Bildaufnahmen der Oberflächenstruktur wurden analog zu den Schmelzprobenaufnahmen bei einem Arbeitsabstand von etwa 8 mm, 15 kV Spannung und einer Spot Size von 30, mit dem SE-Detektor durchgeführt. Es wurden von jeder Putzkörperprobe zwei verschiedene repräsentative Lokalisationen ausgewählt. Diese wurden mit der Software des REM in den Vergrößerungen 1500-fach und 5000-fach dargestellt, mit 2560x1920 Bildpunkten aufgenommen und gespeichert.

Als ausschlaggebende Kriterien repräsentativer Strukturen galten möglichst gut abgrenzbare große Partikel, die sich frei von Verunreinigungen oder Artefakten zeigten und keine Konglomerate bildeten. Ebenfalls sollte sich die Oberfläche allenfalls gering elektrisch aufgeladen haben.

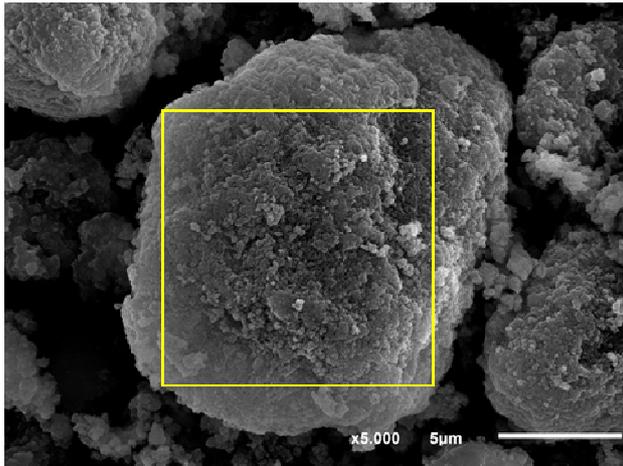


Abb. 3.07a

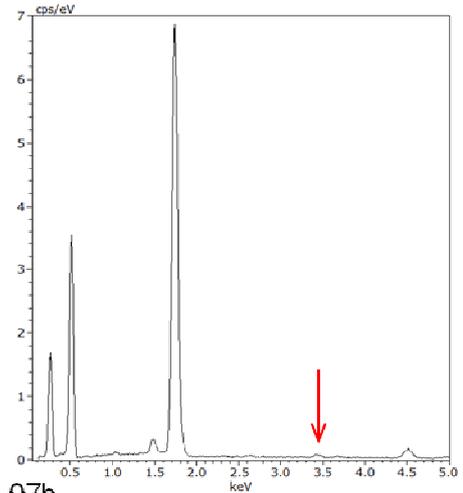


Abb. 3.07b

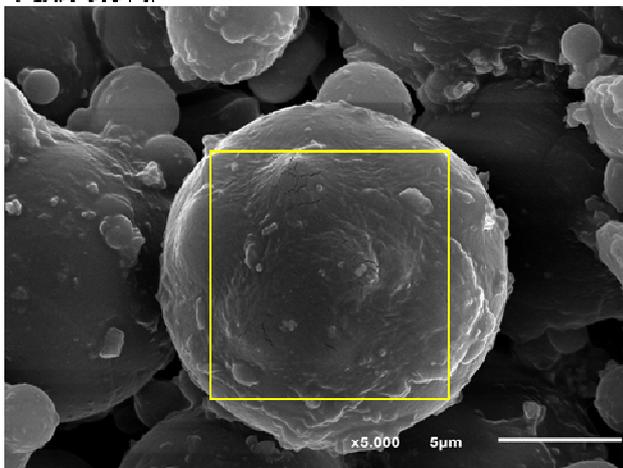


Abb. 3.07c

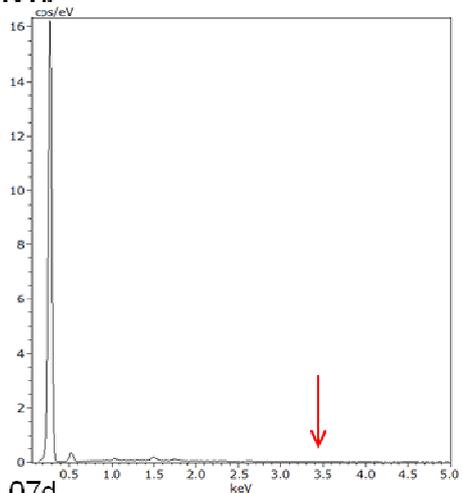


Abb. 3.07d

Abb. 3.07a-d: Darstellung von Strukturaufnahmen verschiedener Putzkörper in Originalvergrößerung x 5000. 20% Silika (3.07a) und dazugehöriges exemplarisches Analysespektrum der EDX-Analyse (3.07b). 20% Polyethylen (3.07c) mit entsprechendem EDX-Analysespektrum (3.07d). Die Pfeile in den Spektren markieren das charakteristische Zinnenergieniveau ($L\alpha$ -Linie bei 3,443 keV) für die Quantifizierung. Die eingezeichneten Quadrate in den Bildern zeigen die untersuchten Flächen aus der EDX-Analyse.

Sämtliche in diesem Kapitel beschriebenen Arbeiten mit direktem Kontakt zu Versuchsmaterialien, insbesondere zu den Schmelz- oder Putzkörperproben, wurden während ihrer Präparation oder während der Untersuchung vorsichtig und sorgfältig zum Schutz der Analyseobjekte durchgeführt. Dazu gehörte neben der Aufbewahrung der Proben in geschützten Probenaufbewahrungskästen die regelmäßige Verwendung von Einmalhandschuhen (Mat. 25), auch bei indirektem Kontakt nur mit den Proben Tellern. Zudem wurden für die Handhabung der Proben teller und für die Platzierung dieser im Stiftproben tellerhalter des REM beim Ein- und Ausschleusen Präparationspinzetten (Mat. 26) verwendet. Die direkte manuelle Berührung der Probenoberfläche oder andere grobe Einflüsse

oder Kontakte der Proben mit Umwelteinflüssen konnten so stets vermieden werden.

3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der in den unterschiedlichen Versuchsschritten erhaltenen Ergebnisse erfolgte mit dem Programm Statistical Package for Social Sciences (SPSS, Version 20.0) (Mat. 27).

Die Messwerte werden im weiteren Verlauf jeweils als arithmetische Mittelwerte (MW) mit dazugehörigen Standardabweichungen (SD) dargestellt.

Durch die grundlegende Verteilungsanalyse mit dem Kolmogoroff-Smirnoff-Test konnte für alle interessierenden Variablen in den Auswertungen der EDX-Analysen und der Profilometrie keine signifikante Abweichung von der Gauß-Verteilung festgestellt werden.

Die Ergebnisse aus der Profilometrie wurden in Bezug auf die mittlere Rautiefe (R_z) als Zielvariable und mit den unterschiedlichen Abrasivatypen in den verschiedenen Testprodukten als Einflussfaktor ausgewertet. Dies geschah im Kreuzvergleich der Gruppen die in Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) und gleichzeitiger Anwesenheit (oder dem Fehlen) von Chitosan im Testprodukt übereinstimmten. Statistische Verfahren waren die ANOVA-Varianzanalyse und nachfolgend der Tamhane-Post-Hoc-Test. Das Signifikanzniveau wurde bei $p \leq 0,05$ definiert.

Daraufhin wurden in den Daten der EDX-Versuchsreihen diejenigen Gruppen, welche sich in Abrasivatyp und -konzentration der Zahnpastenformulierung sowie der Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) entsprachen, bezüglich des Zinngehaltes auf der Probenoberfläche miteinander verglichen. Einflussfaktor war die Anwesenheit (oder das Fehlen) von Chitosan in der Zahnpastenformulierung. Dazu dienten zunächst zur Feststellung der Varianzhomogenität zwischen den Vergleichsgruppen der Levene-Test, und hiernach der t-Test für unabhängige Stichproben für den direkten Gruppenvergleich. Der durch multiples Testen im selben Datensatz erhöhten Fehler-Wahrscheinlichkeit (α -Fehler) wurde mit der Bonferroni-Korrektur entgegengewirkt. Es resultierte für den Gruppenvergleich ein Signifikanzniveau von $p \leq 0,008$. (Die mit nicht wirkstoffhaltigen Testprodukten behandelten Proben der Placebo-Gruppen fanden hierbei keine Berücksichtigung.)

Ebenso wurden diejenigen Gruppen, welche sich in verwendetem Abrasivatyp und Anwesenheit (oder Fehlen) von Chitosan im Testprodukt glichen, hinsichtlich des Zinngehaltes auf der Probenoberfläche gegeneinander geprüft. Die Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) war in diesem Fall die Einflussvariable. Auch hier kamen der Levene-Test, der t-Test für unabhängige Stichproben und die Bonferroni-Korrektur zum Einsatz. Als Signifikanzniveau ergab sich für den Vergleich dieser Gruppen $p \leq 0,008$.

Für die Proben der Gruppen 20% Silika, 20% Polyethylen, Keine Abrasiva und Placebo erfolgte dann noch der gruppenweise Vergleich dieser genannten Versuchsgruppen mit derselben Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) untereinander bezüglich des Kohlenstoffgehalts auf der Probenoberfläche. Die Einflussfaktoren dabei waren zum einen der unterschiedliche Gehalt an verschiedenen Abrasiva in der Zahnpastenformulierung und zum anderen der Zusatz (oder das Fehlen) von Chitosan. Nach Analyse der Varianzhomogenität mit dem Levene-Test und der ANOVA-Methode, wurden mit dem anschließenden Tamhane-Post-Hoc-Test die Gruppen einzeln gegenübergestellt. Das Signifikanzniveau wurde bei $p \leq 0,05$ definiert.

Die Auswertung der auf den Putzkörperproben gemessenen Zinnkonzentrationen erfolgte aufgrund des geringen Stichprobenumfangs lediglich deskriptiv.

3.8 Materialien und Chemikalien

- Mat. 01: Lichthärtender Fixierungs-Kleber – Technovit 7230 VLC
Heraeus-Kulzer GmbH, Wehrheim/Taunus, Deutschland
- Mat. 02: Zahnbürst-Simulator – ZM-3
SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen-Westerham, Deutschland
- Mat. 03: Oberflächenprofilometer – MicroProf®
Fries Research & Technology GmbH, Bergisch Gladbach,
Deutschland
- Mat. 04: Kunststoff-Probenträger für Zahnbürst-Simulator ZM-3
SD Mechatronik GmbH, Feldkirchen-Westerham, Deutschland

- Mat. 05: Weißlicht-Sensor – FRT CWL F 320 µm
Fries Research & Technology GmbH, Bergisch Gladbach,
Deutschland
- Mat. 06: Aufnahme-Software Profilometer – „Acquire“, Version 1.42
Fries Research & Technology GmbH, Bergisch Gladbach,
Deutschland
- Mat. 07: Auswertungs-Software Profilometer – „FRT Mark III“, Version 3.9.2.2
Fries Research & Technology GmbH, Bergisch Gladbach,
Deutschland
- Mat. 08: Rasterelektronenmikroskop (REM) – JSM-6510
JEOL Germany GmbH, Eching bei München, Deutschland
- Mat. 09: Energiedispersives Röntgenspektrometer – Bruker Nano QUANTAX
XFlash[®] 410-M mit Silicon-Drift-Detektor (SDD)
Bruker Nano GmbH, Berlin, Deutschland
- Mat. 10: Einmalskalpell – Feather disposable Scalpel No. 15
Feather Safety Razor Co., LTD., Osaka, Japan
- Mat. 11: Permanentmarker – Edding[®] 140 S, ohp marker permanent
Edding International GmbH, Ahrensburg, Deutschland
- Mat. 12: Stiftprobenteller – G301
Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland
- Mat. 13: Leit-Tabs – G3347
Plano GmbH, Wetzlar, Deutschland
- Mat. 14: Probenaufbewahrungskasten – Dublettenschachtel aus Kunststoff
Entomologie MEIER GmbH, München, Deutschland
- Mat. 15: Sputtergerät – JEOL Fine Coater JFC-1200
JEOL Germany GmbH, Eching bei München, Deutschland
- Mat. 16: Vakuumpumpe – Zweistufige Drehschieberpumpe DUO 2.5
Pfeiffer Vacuum GmbH, Asslar, Deutschland

Material und Methoden

- Mat. 17: Software Rasterelektronenmikroskop – „SEM Control User Interface“,
Version 3.04
JEOL Germany GmbH, Eching bei München, Deutschland
- Mat. 18: Software energiedispersives Röntgenspektrometer – „Bruker Esprit“,
Version 1.9.2.2558
Bruker Nano GmbH, Berlin, Deutschland
- Mat. 19: Großformatdrucker – HP DesignJet L25500 am HRZ der JLU Gießen
Hewlett-Packard GmbH, Böblingen, Deutschland
- Mat. 20: Präzisionswaage – Mettler PJ 3000
Mettler-Toledo GmbH, Gießen, Deutschland
- Mat. 21: Magnetrührgerät – IKA RCT classic
IKA-Werke GmbH & Co. KG, Staufen, Deutschland
- Mat. 22: Zentrifugenröhrchen – Blue Max 50 ml Polypropylene Conocal Tube
BD Medical Systems, Le Pont de Claix Cedex, Frankreich
- Mat. 23: Zentrifuge – SIGMA 3K30
SIGMA Laborzentrifugen GmbH, Osterode am Harz, Deutschland
- Mat. 24: Filterpapier – S&S Rundfilter 125 mm
Schleicher & Schuell, Dassel, Deutschland
- Mat. 25: Einmalhandschuhe – Nobaglove[®]-Latex
Noba Verbandmittel Danz GmbH und Co KG, Wetter, Deutschland
- Mat. 26: Pinzette – College RS
Orbis Dental Handelsgesellschaft mbH, Münster, Deutschland
- Mat. 27: Statistik-Software – SPSS, Version 20.0
IBM Deutschland GmbH, Ehningen, Deutschland
- Chem. 01: Zitronensäure-Monohydrat ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) – CAS-Nummer 5949-29-1
Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

Material und Methoden

- Chem. 02: Phosphorsäure (H_3PO_4) – CAS-Nummer 7664-38-2
Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
- Chem. 03: Kaliumchlorid (KCl) – CAS-Nummer 7447-40-7
Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
- Chem. 04: Natriumhydrogencarbonat (NaHCO_3) – CAS-Nummer 144-55-8
Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
- Chem. 05: Kalziumchlorid (CaCl_2) – CAS-Nummer 10043-52-4
Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
- Chem. 06: Argon 5.0 – DIN 14175:11, Reinheit $\geq 99,999\%$
Linde AG, Pullach, Deutschland

4 Ergebnisse

Alle im Verlauf der Vorgängerstudie hergestellten 435 Proben konnten für die vorliegende Arbeit weiterverwendet werden. Die Gruppe der Negativ-Kontrolle bestand ursprünglich aus 16 Proben. Um eine einheitliche Gruppengröße für die statistische Auswertung zu erhalten wurden die erhaltenen Messergebnisse der 16. Probe aus dieser Gruppe entfernt, sodass alle Versuchsgruppen jeweils genau 15 Proben beinhalteten.

Die Gesamtzahl der für die Ergebnisstatistik ausgewerteten Proben belief sich damit auf 435 Proben in 29 Gruppen.

Zusätzlich zu den im Rahmen der vorliegenden Arbeit selbst erhobenen Datenreihen wurden auch einzelne Datensätze aus der Vorgängerstudie von Frau M. Möllers und Daten aus Laborversuchen von GABA International® (Therwil, Schweiz) mit in der Auswertung dieser aktuellen Studie berücksichtigt. Die Verwendung der externen Daten erfolgte unter freundlicher Bereitstellung der Urheber und wird im Folgenden stets gekennzeichnet.

4.1 Quantifizierung von Zinn auf der Oberfläche

Mit der energiedispersiven röntgenspektroskopischen Analyse der Proben wurden Spektren erstellt, die die Anzahl der detektierten Röntgenquanten (counts per second, cps) im Hinblick auf ihre charakteristische und spezifische Energie (keV) darstellen. Die so entstandenen Abbildungen weisen neben Bereichen mit hoher Signalintensität und damit gut abgrenzbaren spezifischen Peaks auch ein kontinuierliches Untergrundrauschen mit breit verteilt registrierten Teilchen unterschiedlicher Energieniveaus und vor allem Röntgenbremsstrahlung auf.

Abb. 4.01a zeigt ein beispielhaftes Spektrum einer Probe der Gruppe Keine Abrasiva, behandelt mit einer Testformulierung mit Chitosan und mit Slurrybehandlung (Zinngehalt 5,8 Gew%). Die großen Peaks der quantitativen Elementanalyse entsprechen hier in Verteilung und Intensität der physiologischen Zusammensetzung von humanem Zahnschmelz mit den Hauptbestandteilen Kalzium ($K\alpha$ -Linie bei 3,690 keV) und Phosphat ($K\alpha$ -Linie bei 2,013 keV) (vgl. [Nikiforuk, 1985; Radlanski, 2011b]). Zusätzlich finden sich die Elemente Sauerstoff ($K\alpha$ -Linie bei 0,525 keV) und Kohlenstoff ($K\alpha$ -Linie bei 0,277 keV). Die Position des in dieser Studie bedeutsamen Zinnpeaks liegt bei 3,443 keV ($L\alpha$ -Linie) und wird in der Abbildung (4.01a-b) durch einen Pfeil verdeutlicht. Anhand

der Signalintensität (Höhe dieses Peaks) an dem für Zinn charakteristischen Energieniveau der Röntgenquanten wird die Menge des Elements auf der Probenoberfläche berechnet. Nach dieser quantitativen Spektrenanalyse wird als Ergebnis der normierte Gewichtsprozentanteil (Gew%) der einzelnen Elemente ausgegeben. Sofern nicht anders erwähnt wird hier auch immer dieser normierte Wert verwendet.

Neben Abb. 4.01a mit vergleichsweise hohem Zinngehalt der Probe zeigt Abb. 4.01b ein Spektrum einer anderen Probe (20% Polyethylen im Testprodukt, mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan) mit einem deutlich geringeren Zinngehalt (2,1 Gew%) und sichtbar kleinerem charakteristischen Zinnpeak (Pfeilposition).

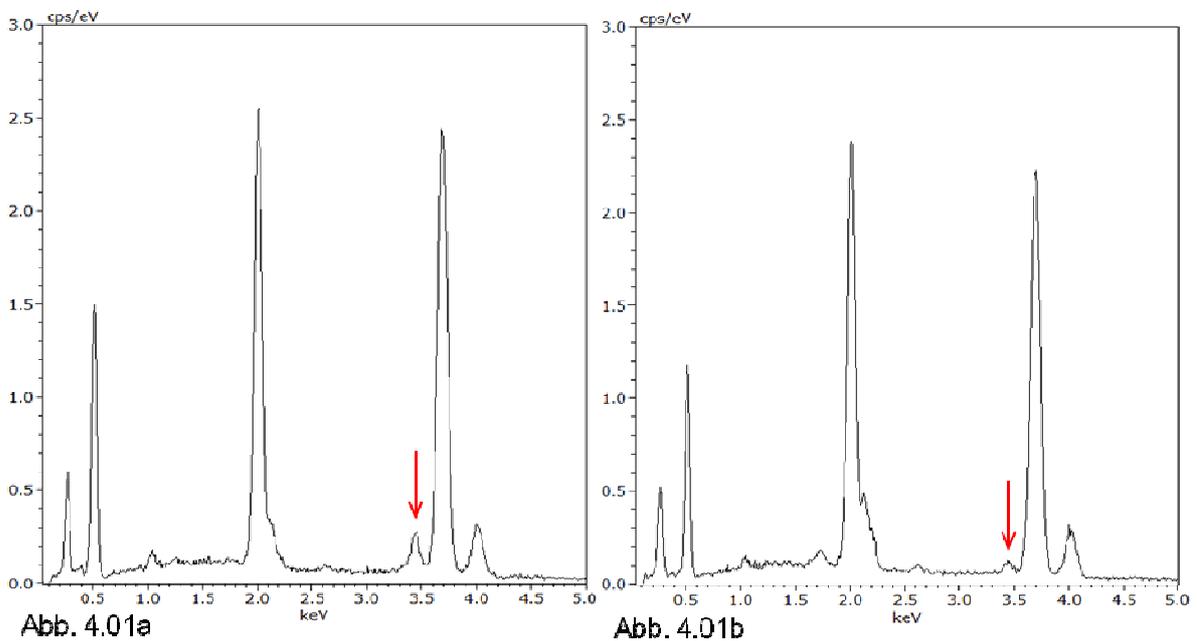


Abb. 4.01a-b: Spektren der energiedispersiven Röntgenspektroskopie mit Markierung der Position des Zinnpeaks ($L\alpha$ -Linie bei 3,443 keV) durch den senkrechten Pfeil. Probe der Gruppe Keine Abrasiva, behandelt mit einer Testformulierung mit Chitosan im Testprodukt und mit Slurrybehandlung (Zinngehalt 5,8 Gew%), hier deutlicher Peak im Zinn-Energieniveau (4.01a). 20% Polyethylen-Probe mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan (Zinngehalt 2,1 Gew%) und wesentlich geringerem Peak im Zinnbereich (4.01b).

4.2 Ergebnisse der Profilometrie

4.2.1 Mittlere Rautiefe (R_z) der Schmelzoberfläche

4.2.1.1 Versuchsgruppen ohne Chitosan

Die verschiedenen Abrasiva-Gruppen ohne Chitosan im Testprodukt zeigten im Versuch mit Bürstbehandlung verhältnismäßig gleichartige Ergebnisse (Abb. 4.02a). So bewegten sich die mittleren Rautiefen (R_z) dieser Versuchsgruppen zwischen $2,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$ (15% Silika) und $3,2 \pm 0,8 \mu\text{m}$ (20% Polyethylen). Auffällig waren dabei die geringen R_z -Werte der Gruppen Keine Abrasiva ($2,6 \pm 0,3 \mu\text{m}$) und 15% Silika ($2,5 \pm 0,3 \mu\text{m}$), die sich damit signifikant von der Placebo-Gruppe mit einem R_z -Wert von $3,1 \pm 0,3 \mu\text{m}$ (und von der Gruppe der Negativ-Kontrolle) unterschieden. Die Ergebnisse der anderen Abrasiva-Gruppen wichen nicht signifikant voneinander ab.

Bei den Versuchsgruppen mit Slurrybehandlung, lagen die Werte der mittleren Rautiefen (R_z) zwischen $2,4 \pm 0,4 \mu\text{m}$ (Keine Abrasiva) und $3,6 \pm 0,6 \mu\text{m}$ (10% Silika) und waren damit etwas höher als die mittleren Rautiefen (R_z) der Gruppen mit Bürstbehandlung (Abb. 4.02b). Zudem wiesen sie eine größere Divergenz der Gruppen untereinander auf. Auch hier unterschied sich die Gruppe Keine Abrasiva mit den vergleichsweise geringen $2,4 \pm 0,4 \mu\text{m}$ mittlerer Rautiefe (R_z) signifikant von den meisten anderen Abrasiva-Gruppen. Nur die 20% Polyethylen-Gruppe ($2,8 \pm 0,2 \mu\text{m}$) war mit einem ähnlich geringen R_z -Wert nicht signifikant zur Gruppe ohne Abrasiva, selbst jedoch damit signifikant unterschiedlich zumindest zu den Gruppen 20% Silika ($3,6 \pm 0,6 \mu\text{m}$) und Placebo ($3,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$). Andere Abrasiva-Gruppen waren mit R_z -Werten von $3,3 \pm 0,6 \mu\text{m}$ (5% Silika) bis $3,6 \pm 0,6 \mu\text{m}$ (20% Silika) nicht signifikant unterschiedlich zueinander.

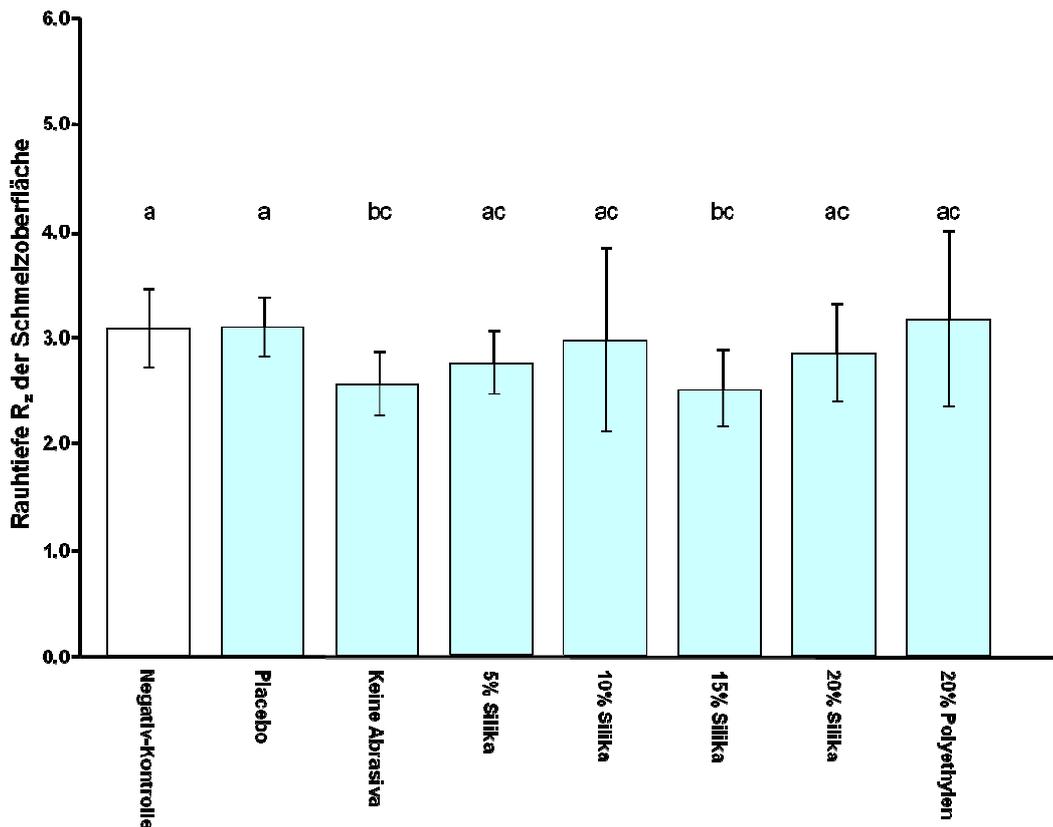


Abb. 4.02a

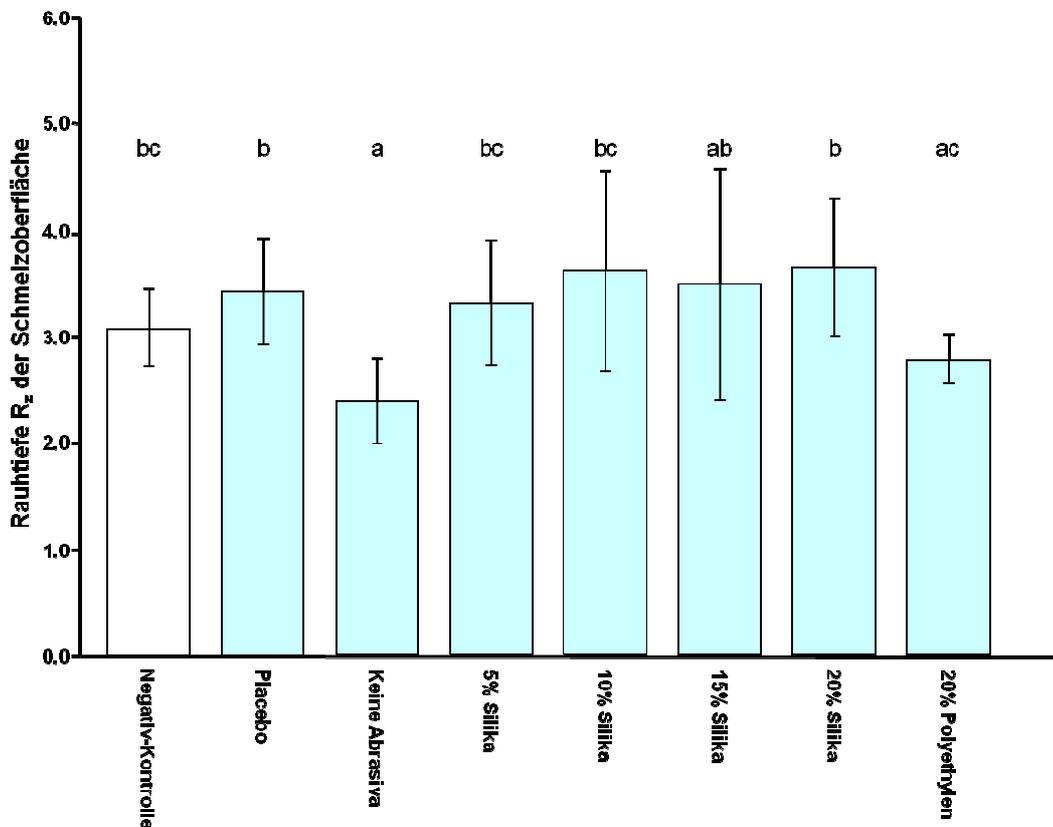


Abb. 4.02b

Abb. 4.02a-b: Darstellung der profilometrisch gemessenen mittleren Rautiefen (R_z ; $MW \pm SD$, μm) der Schmelzprobenoberflächen ohne Chitosan im Testprodukt. Gruppen mit Bürstbehandlung (4.02a) und Gruppen mit Slurrybehandlung (4.02b). Verschiedene Buchstaben kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede.

4.2.1.2 Versuchsgruppen mit Chitosan

In vergleichbarer Weise wie im Versuch ohne Chitosan kennzeichnete sich auch der Versuchsablauf mit Chitosan in den Zahnpastenformulierungen durch im Verhältnis sehr ähnliche Ergebnisse in der mittleren Rautiefenbestimmung (R_z) bei Bürstbehandlung (Abb. 4.03a). Die R_z -Werte der verschiedenen Abrasiva-Gruppen lagen mit dem geringsten Wert von $2,3 \pm 0,6 \mu\text{m}$, wieder in der Gruppe Keine Abrasiva, bis zum höchsten Wert in der Placebo-Gruppe mit $3,1 \pm 1,2 \mu\text{m}$ dicht zusammen. Bemerkenswert waren insbesondere vier Abrasivatypen (5% Silika, 10% Silika, 15% Silika, 20% Polyethylen), die zwischen $2,4 \pm 0,2 \mu\text{m}$ (10% Silika) und $2,6 \pm 0,4 \mu\text{m}$ (15% Silika) aufwiesen. Es ergaben sich daraus keine signifikanten Unterschiede zwischen diesen einzelnen Testformulierungen. Allein die Gruppe der Negativ-Kontrolle ($3,1 \pm 0,4 \mu\text{m}$; nur erodiert) zeigte signifikante Unterschiede zu allen anderen Versuchsgruppen, außer aber zur 20% Silika-Gruppe ($2,8 \pm 0,8 \mu\text{m}$) und der Placebo-Gruppe ($3,1 \pm 1,2 \mu\text{m}$), die sich bezüglich des Abrasivatyps entsprechen.

Im Versuch mit Slurrybehandlung und mit Chitosan waren die mittleren Rautiefenwerte (R_z) bezogen auf den Versuch mit Bürstbehandlung wiederum geringfügig höher, und mit Werten von $2,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$ (Keine Abrasiva) bis $4,5 \pm 0,8 \mu\text{m}$ (Placebo) auch durch merklich größere Differenzen zwischen den Gruppen gekennzeichnet (Abb. 4.03b). Die Gruppe ohne Abrasiva hatte erneut die geringste mittlere Rautiefe (R_z) und war damit signifikant niedriger als die Abrasivatypen 5% Silika ($4,0 \pm 1,5 \mu\text{m}$), 10% Silika ($3,3 \pm 1,0 \mu\text{m}$), 15% Silika ($2,9 \pm 0,6 \mu\text{m}$), die Placebo-Gruppe ($4,5 \pm 0,8 \mu\text{m}$) und die Negativ-Kontrolle ($3,1 \pm 0,4 \mu\text{m}$). Demgegenüber war der beschriebene Höchstwert aus der Placebo-Gruppe ($4,5 \pm 0,8 \mu\text{m}$) ebenso signifikant höher gegenüber allen anderen Gruppen außer der 5% Silika-Gruppe ($4,0 \pm 1,5 \mu\text{m}$). Zudem fand sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe 10% Silika ($3,3 \pm 1,0 \mu\text{m}$) und der Gruppe 20% Silika ($2,5 \pm 0,6 \mu\text{m}$).

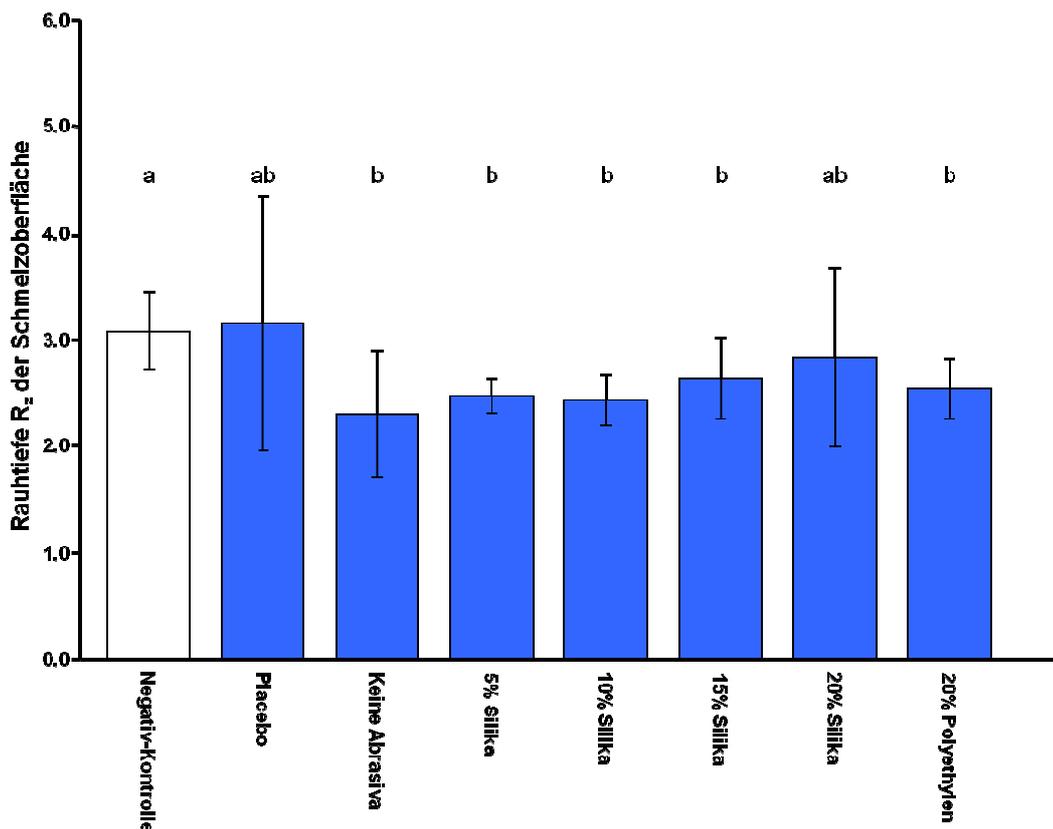


Abb. 4.03a

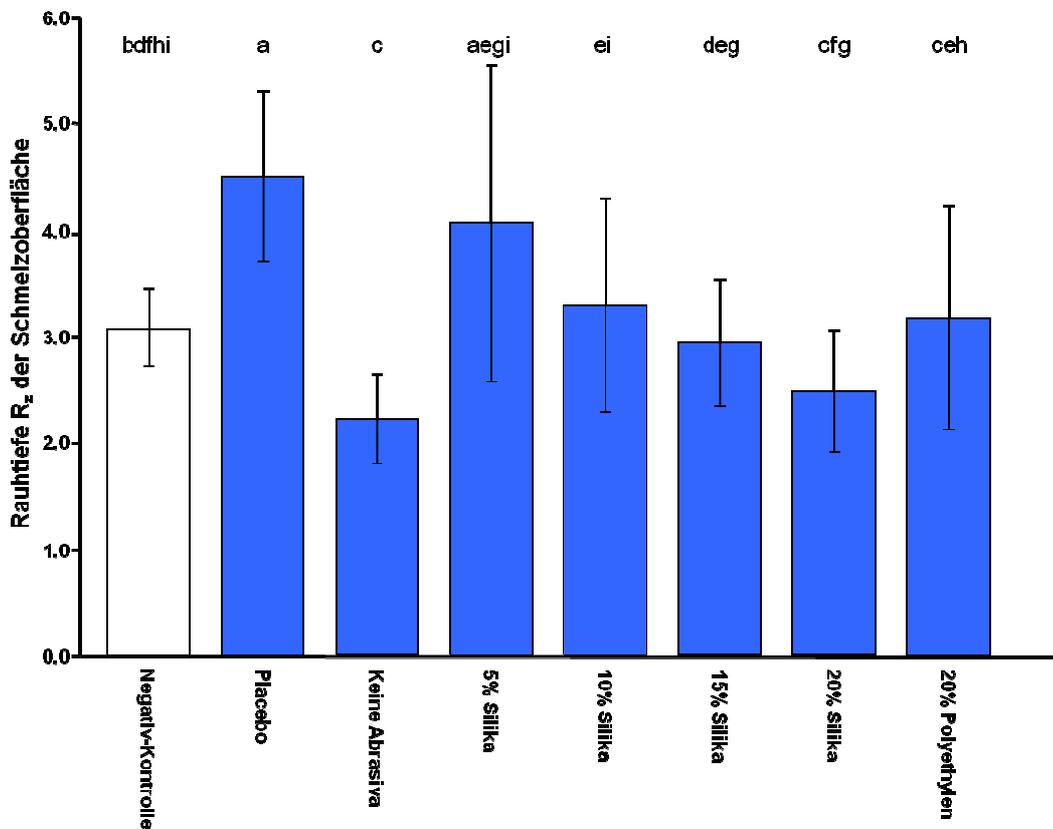


Abb. 4.03b

Abb. 4.03a-b: Darstellung der profilometrisch gemessenen mittleren Rautiefen (R_z ; $MW \pm SD \mu m$) der Schmelzprobenoberflächen mit Chitosan im Testprodukt. Gruppen mit Bürstbehandlung (4.03a) und Gruppen mit Slurrybehandlung (4.03b). Verschiedene Buchstaben kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede.

4.2.1.3 Vergleich der Gruppen aus Bürst- und Slurrybehandlung sowie Gegenüberstellung der Gruppen mit und ohne Chitosan

Die Betrachtung der Ergebnisse für die mittlere Rautiefenmessung (R_z) lieferte sowohl bei den Versuchsgruppen ohne und mit Chitosan, als auch bezüglich der sich in der Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) unterscheidenden Gruppen ähnliche Ergebnisse.

Gruppen mit Bürstbehandlung zeigten sich insgesamt tendenziell mit etwas geringeren Werten und waren homogener gegenüber den nur in der Zahnpastasuspension behandelten Proben. So waren mit Bürstbehandlung R_z -Werte zwischen $2,3 \pm 0,6 \mu\text{m}$ (Keine Abrasiva, mit Chitosan) und $3,2 \pm 0,8 \mu\text{m}$ (20% Polyethylen, ohne Chitosan) zu verzeichnen, während bei Slurrybehandlung diese Werte zwischen $2,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$ (Keine Abrasiva, mit Chitosan) und $4,5 \pm 0,8 \mu\text{m}$ (Placebo, mit Chitosan) lagen. Ebenso waren die Differenzen der Messergebnisse in den Gruppen mit Bürstbehandlung geringer mit einem Mittelwert der Standardabweichungen von $\pm 0,48 \mu\text{m}$, im Vergleich zu den Unterschieden der Gruppen ohne Bürstbehandlung, die einen Mittelwert der Standardabweichungen von $\pm 0,69 \mu\text{m}$ aufwiesen.

Bezogen auf den Chitosangehalt waren zwischen den Gruppen ohne und mit Chitosan in der Testformulierung ebenso keine großen Unterschiede festzustellen. Es verdeutlichte sich allerdings unabhängig des angewendeten Behandlungsverfahrens (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) der Trend zu geringeren R_z -Werten bei den Versuchsgruppen mit Chitosan in der Formulierung. Dies zeigte die Gegenüberstellung der Differenzen von R_z -Werten sich entsprechender Vergleichsgruppen. Hier waren bei Bürstbehandlung in fünf der Vergleichsgruppen um $0,3 \mu\text{m}$ (Keine Abrasiva) bis $0,6 \mu\text{m}$ (20% Polyethylen) geringere mittlere Rautiefen (R_z) mit Chitosan zu messen. Höhere mittlere Rautiefen (R_z) mit Chitosan hatten nur zwei Gruppen mit Bürstbehandlung, dieser betrug maximal lediglich $0,1 \mu\text{m}$ (15% Silika). Ähnlich war es auch bei den Versuchsgruppen mit Slurrybehandlung: Hierbei gab es in vier der Vergleichsgruppen mit Chitosan niedrigere Ergebnisse, und zwar um $0,2 \mu\text{m}$ (Keine Abrasiva) bis $1,2 \mu\text{m}$ (20% Silika). Größere mittlere Rautiefen (R_z) waren in drei Gruppen feststellbar und auf $0,4 \mu\text{m}$ (20% Polyethylen) bis $1,0 \mu\text{m}$ (Placebo) zu beziffern.

4.3 Ergebnisse der energiedispersiven Röntgenspektroskopie

4.3.1 Zinngehalt der Schmelzoberfläche

Tab. 4.01a-b: Zinngehalt (MW \pm SD, Gew%) auf der Oberfläche der Schmelzproben; Gruppen ohne Chitosan (4.01a) und mit Chitosan (4.01b).

Verschiedene Buchstaben innerhalb einer Spalte kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede zwischen den mit verschiedenen Abrasiva behandelten Gruppen.

Verschiedene Dreiecke zwischen den Tabellen kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der Anwesenheit oder dem Fehlen von Chitosan (Δ / \blacktriangle).

Verschiedene Symbole innerhalb der Zeilen einer Tabelle kennzeichnen statistisch signifikante Unterschiede bezüglich der Behandlungsart (\boxtimes / \star).

	Gruppen ohne Chitosan	
	Bürstbehandlung	Slurrybehandlung
Keine Abrasiva	3,133 \pm 0,665 ^{c$\Delta$$\boxtimes$}	3,153 \pm 0,743 ^{c$\Delta$$\boxtimes$}
5% Silika	0,947 \pm 0,267 ^{a$\Delta$$\boxtimes$}	1,656 \pm 0,244 ^{a$\Delta$$\star$}
10% Silika	1,089 \pm 0,311 ^{a$\Delta$$\boxtimes$}	1,639 \pm 0,252 ^{a$\Delta$$\star$}
15% Silika	0,901 \pm 0,272 ^{a$\Delta$$\boxtimes$}	1,643 \pm 0,255 ^{a$\Delta$$\star$}
20% Silika	0,939 \pm 0,210 ^{a$\Delta$$\boxtimes$}	1,148 \pm 0,258 ^{b$\Delta$$\boxtimes$}
20% Polyethylen	1,752 \pm 0,219 ^{b$\Delta$$\boxtimes$}	1,621 \pm 0,317 ^{a$\Delta$$\boxtimes$}

Tab. 4.01a

	Gruppen mit Chitosan	
	Bürstbehandlung	Slurrybehandlung
Keine Abrasiva	8,568 \pm 1,894 ^{c$\blacktriangle$$\boxtimes$}	7,343 \pm 0,846 ^{c$\blacktriangle$$\boxtimes$}
5% Silika	2,218 \pm 0,276 ^{a$\blacktriangle$$\boxtimes$}	2,719 \pm 0,454 ^{a$\blacktriangle$$\star$}
10% Silika	2,589 \pm 0,273 ^{a$\blacktriangle$$\boxtimes$}	3,054 \pm 0,851 ^{a,b$\blacktriangle$$\boxtimes$}
15% Silika	2,607 \pm 0,360 ^{a$\blacktriangle$$\boxtimes$}	2,922 \pm 0,334 ^{a$\blacktriangle$$\boxtimes$}
20% Silika	3,334 \pm 0,553 ^{b$\blacktriangle$$\boxtimes$}	3,730 \pm 0,598 ^{b$\blacktriangle$$\boxtimes$}
20% Polyethylen	3,019 \pm 0,248 ^{b$\blacktriangle$$\boxtimes$}	2,850 \pm 0,206 ^{a$\blacktriangle$$\boxtimes$}

Tab. 4.01b

4.3.1.1 Versuchsgruppen ohne Chitosan

Die Versuchsgruppen ohne Abrasiva im Testprodukt hatten sowohl bei Bürstbehandlung ($3,1 \pm 0,7$ Gew%), als auch bei Slurrybehandlung ($3,2 \pm 0,7$ Gew%), den gegenüber ihren Vergleichsgruppen höchsten Zinngehalt auf der Oberfläche.

Gruppen mit verschiedenen Silikakonzentrationen zeigten bei Bürstbehandlung sehr ähnliche Zinnwerte auf ihrer Oberfläche mit jeweils $0,9 \pm 0,3$ Gew% in den Gruppen 5% Silika und 15% Silika, beziehungsweise $0,9 \pm 0,2$ Gew% in der Gruppe 20% Silika. Etwas höher lag der Zinngehalt der Gruppe 10% Silika ($1,1 \pm 0,3$ Gew%), was allerdings keinen signifikanten Unterschied zu den Gruppen gleichen Abrasivatyps bedeutete. Eine höhere Zinnaufnahme konnte in der Gruppe mit 20% Polyethylen festgestellt werden, sie lag bei $1,8 \pm 0,2$ Gew%, und unterschied sich damit signifikant von den Silika-Gruppen.

Auch der Zinngehalt der Gruppen mit Slurrybehandlung war vergleichbar. Sämtliche Gruppen mit Abrasiva in der Zahnpastenformulierung zeigten mit $1,6 \pm 0,3$ Gew% bei 10% Silika, 15% Silika und 20% Polyethylen sowie $1,7 \pm 0,2$ Gew% bei 5% Silika ähnliche Werte. Nur die Gruppe mit 20% Silika lag mit $1,1 \pm 0,3$ Gew% Zinngehalt auf der Schmelzoberfläche signifikant niedriger.

In der Gruppe der Negativ-Kontrolle konnte kein Zinn auf der Schmelzoberfläche nachgewiesen werden.

4.3.1.2 Versuchsgruppen mit Chitosan

Auch im Versuch mit Chitosan waren die Gruppen ohne Abrasiva in der Zahnpastenformulierung jeweils in der Behandlungsart mit Bürstbehandlung ($8,6 \pm 1,9$ Gew%) und mit Slurrybehandlung ($7,3 \pm 0,8$ Gew%) diejenigen mit dem höchsten Zinngehalt der Schmelzoberfläche.

Bei den Silika-Gruppen mit Bürstbehandlung ergaben sich vergleichbare Werte für 5% Silika mit $2,2 \pm 0,3$ Gew% Zinn, und etwas höher mit $2,6 \pm 0,3$ Gew% für 10% Silika und $2,6 \pm 0,4$ Gew% für 15% Silika. Hierzu signifikant höhere Zinngehaltswerte wiesen die 20% Polyethylen-Gruppe mit $3,0 \pm 0,2$ Gew% und die Gruppe 20% Silika ($3,3 \pm 0,6$ Gew%) auf, die damit die größte Menge Zinn der Abrasiva-Gruppen hatte.

Entsprechend war auch die Zinnverteilung im Versuch mit Slurrybehandlung. Hier lag der Zinngehalt der Proben auf ähnlichem Niveau von $2,7 \pm 0,5$ Gew% bei 5%

Silika über $2,9 \pm 0,3$ Gew% (15% Silika) und $2,9 \pm 0,2$ Gew% (20% Polyethylen) bis $3,1 \pm 0,9$ Gew% in der Gruppe 10% Silika. Der höchste Zinngehalt der Chitosan-Gruppen einer Abrasiva-Formulierung wurde in der Gruppe 20% Silika mit $3,7 \pm 0,6$ Gew% gemessen. Dieser war signifikant höher gegenüber allen anderen Abrasiva-Gruppen, außer 10% Silika.

In der Gruppe der Negativ-Kontrolle wurde kein Zinn auf der Schmelzoberfläche nachgewiesen.

4.3.1.3 Vergleich der Gruppen mit und ohne Chitosan

Beim Vergleich von Gruppen mit dem jeweils gleichen Abrasivatyp (oder gleicher Abrasivakonzentration) und derselben Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) stellte sich bei allen Vergleichsgruppen ein signifikant höherer Zinngehalt der Probenoberflächen heraus, die in der Zahnpastenformulierung zusätzlich Chitosan enthielten.

Im Versuchsablauf mit Bürstbehandlung (Abb. 4.04a) war die größte Divergenz der Zinnkonzentration ohne und mit Chitosan zwischen den Keine Abrasiva-Gruppen festzustellen (5,4 Gew%). Die sich entsprechenden Silika-Gruppen zeigten mit zunehmendem Abrasiva-Anteil größere Differenzen: 1,3 Gew% bei 5% Silika und 2,4 Gew% in der 20% Silika-Gruppe. Die 20% Polyethylen-Gruppen hatten mit 1,3 Gew% eine im Vergleich niedrige Differenz.

Bei den Vergleichsgruppen mit Slurrybehandlung (Abb. 4.04b) zeigten sich ähnliche Beziehungen der Zinnkonzentrationen. Der deutlichste Unterschied war mit 4,2 Gew% erneut bei den Keine Abrasiva-Gruppen zu sehen. Die Unterschiede der Silika-Vergleichsgruppen stiegen wieder bei zunehmendem Abrasiva-Anteil und lagen zwischen 1,1 Gew% (5% Silika) und 2,6 Gew% (20% Silika). In den 20% Polyethylen-Gruppen ohne und mit Chitosan war wiederum eine tendenziell geringere Differenz des Zinngehalts festzustellen (1,3 Gew%) als bei den Silika-Gruppen.

Ergebnisse

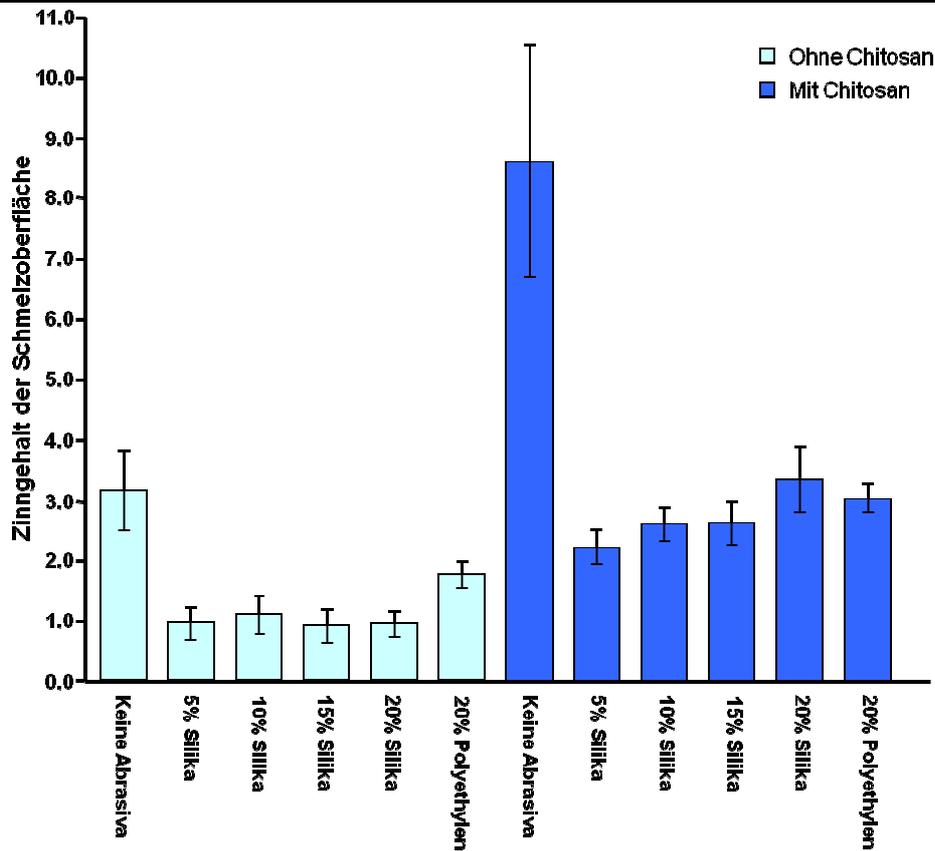


Abb. 4.04a

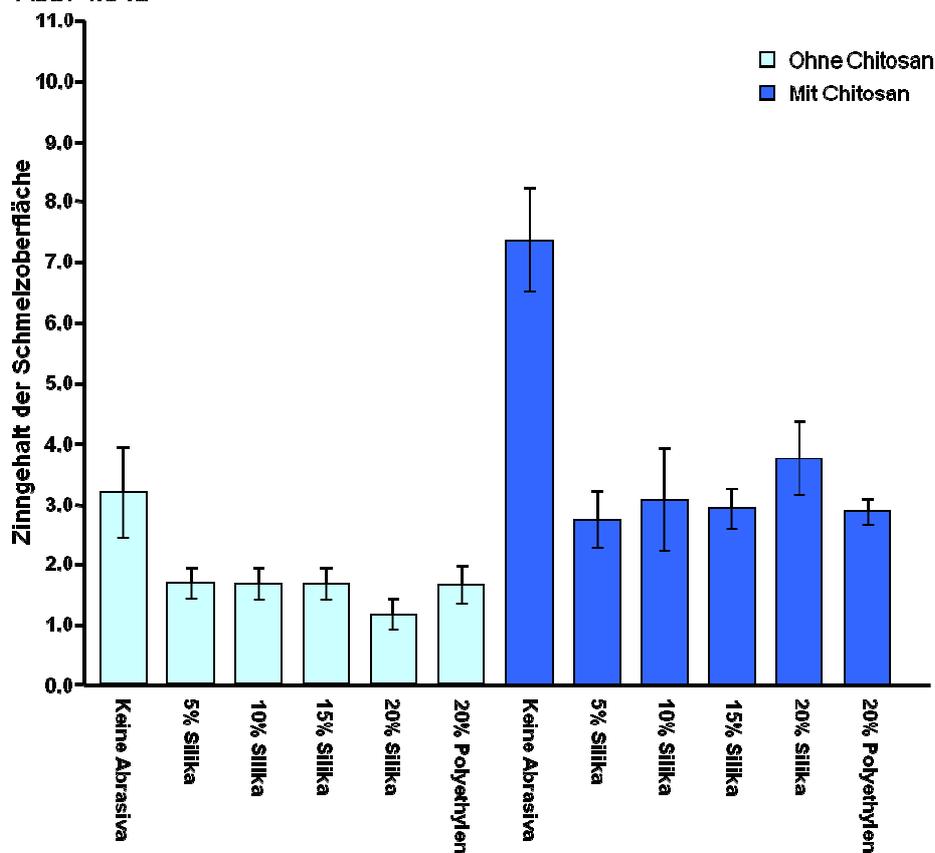


Abb. 4.04b

Abb. 4.04a-b: Vergleich des Zinngehaltes (MW ± SD, Gew%) zwischen den bezüglich Abrasivkonzentration und -typ korrespondierenden Versuchsgruppen, einmal mit und einmal ohne Chitosan. Gruppen mit Bürstbehandlung (4.04a) und Gruppen mit Slurrybehandlung (4.04b). Alle Vergleichsgruppen mit Chitosan in der Zahnpastenformulierung hatten einen signifikant höheren Zinngehalt auf der Oberfläche.

4.3.1.4 Vergleich der Gruppen aus Bürst- und Slurrybehandlung

Die Gegenüberstellung von Versuchsgruppen, die sich sowohl in Abrasivatyp und -konzentration, als auch in der Anwesenheit oder dem Fehlen von Chitosan in der Testformulierung entsprachen, ergab nur wenige signifikante Unterschiede der Zinnkonzentrationen hinsichtlich der verschiedenen Behandlungsarten.

Allerdings ist in diesem Zusammenhang bemerkenswert, dass sich die Zinnkonzentration bei Bürstbehandlung der Proben und dem Fehlen von Chitosan in der Formulierung stärker verringerte als sie es bei Bürstbehandlung und Anwesenheit von Chitosan tat.

In der Versuchsreihe ohne Chitosan (Abb. 4.05a) waren dies die Differenzen in den Gruppen 5% Silika (0,7 Gew% Unterschied), 10% Silika (0,6 Gew% Unterschied), und 15% Silika (0,7 Gew% Unterschied). Die Gruppen mit Slurrybehandlung hatten dabei jeweils mehr Zinn auf der Oberfläche. Die übrigen Vergleichsgruppen waren nicht signifikant zueinander (Unterschiede von lediglich <0,1 Gew% bei Keine Abrasiva bis 0,2 Gew% bei 20% Silika).

Der Versuchsarm mit Chitosan (Abb. 4.05b) war gekennzeichnet durch überwiegend nicht signifikanten Unterschieden des Zinngehalts zwischen den korrespondierenden Vergleichsgruppen (0,2 Gew% Differenz bei 20% Polyethylen bis 1,2 Gew% in der Gruppe Keine Abrasiva). Als einzig signifikanter Unterschied ergab sich in den 5% Silika-Gruppen, eine 0,5 Gew% höhere Zinnkonzentration wiederum bei denjenigen Proben mit Slurrybehandlung.

Ergebnisse

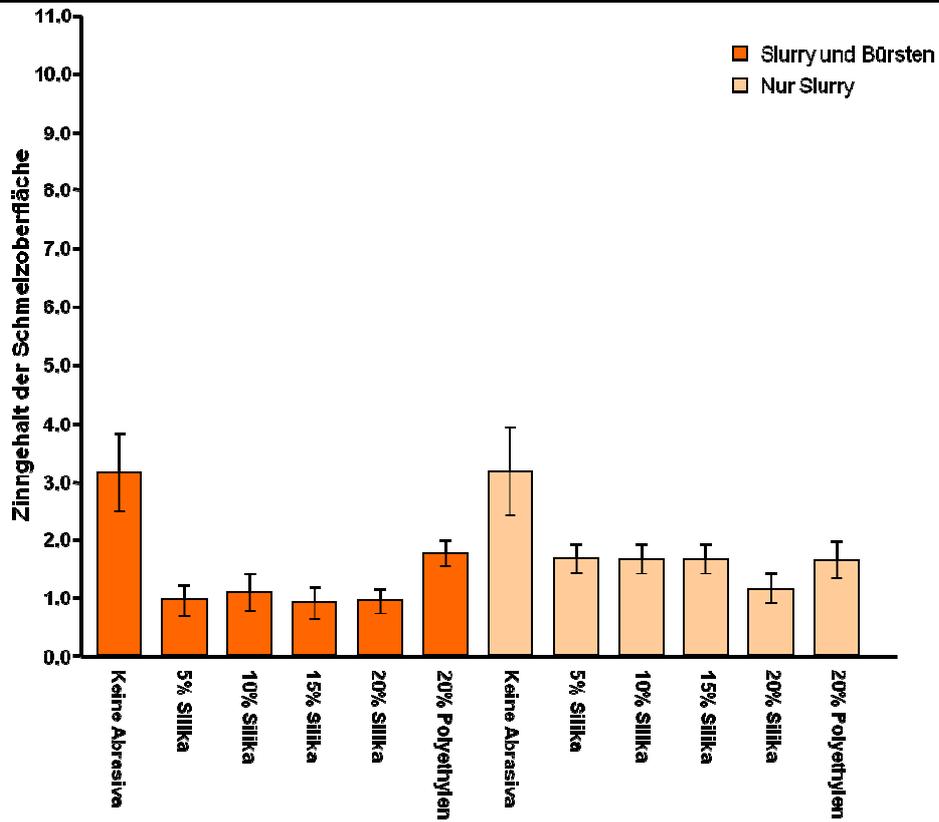


Abb. 4.05a

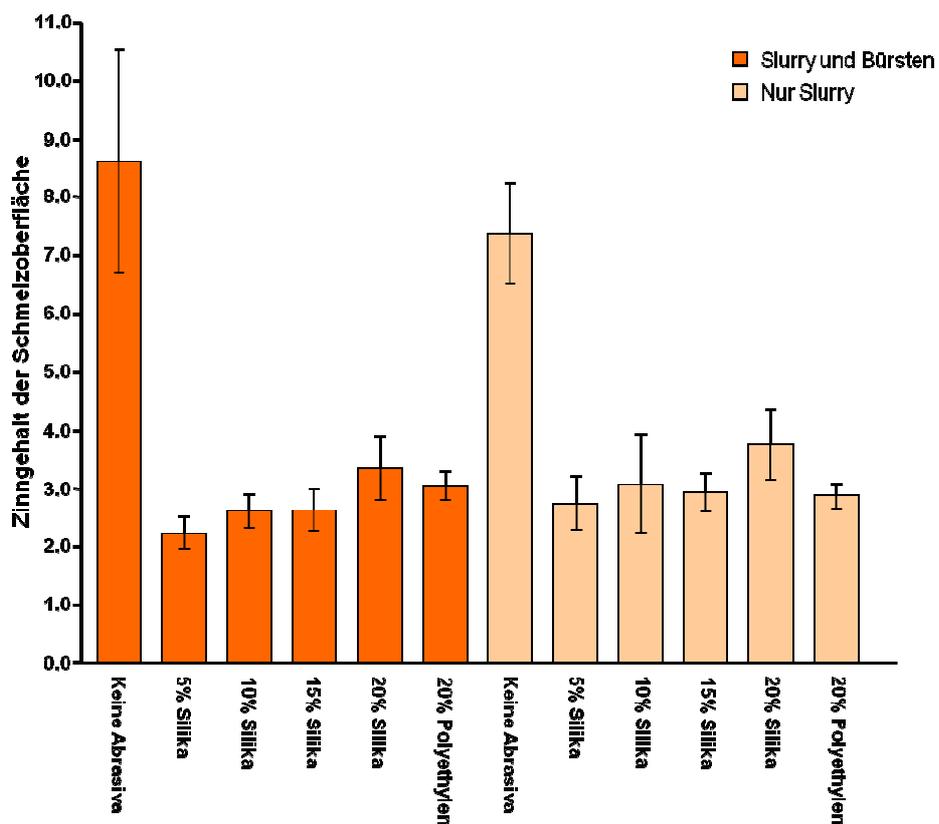


Abb. 4.05b

Abb. 4.05a-b: Vergleich des Zinngehaltes (MW \pm SD, Gew%) zwischen den sich in Abrasivkonzentration und -typ entsprechenden Versuchsgruppen, einmal mit Bürstbehandlung und einmal mit Slurrybehandlung. Gruppen ohne Chitosan (4.05a) und Gruppen mit Chitosan (4.05b).

4.3.1.5 Elementanalyse der Referenzflächen

Tab. 4.02: Ergebnisse der EDX-Analyse (Gew%) von Referenzflächen der Schmelzproben. Es wurden vier zufällig ausgewählte Proben untersucht.

Unbehandelte Referenzfläche der Probe			C	O	P	Ca	Sn	Au
Gruppe	Behandlungsart	Anwesenheit von Chitosan						
Keine Abrasiva	Nur Slurry	Ohne Chitosan	3,66	38,75	16,08	41,42	0,10	0,00
15% Sident	Nur Slurry	Ohne Chitosan	4,63	38,45	15,71	40,88	0,32	0,00
Placebo	Slurry und Bürsten	Mit Chitosan	5,74	39,03	15,89	39,22	0,12	0,00
20% Polyethylen	Nur Slurry	Mit Chitosan	5,53	37,45	16,03	40,94	0,05	0,00

Die Ergebnisse der Elementanalysen von in den Versuchen unbehandelten und geschützten Referenzoberflächen der Schmelzproben zeigt Tab. 4.02.

Die Zinnkonzentrationen lagen mit Werten zwischen 0,05 Gew% und 0,32 Gew% unterhalb der Nachweisgrenze, es waren im Diagramm keine Peaks feststellbar. Im Gegensatz zu den Messergebnissen auf den Versuchsoberflächen war damit auf den Referenzflächen kein Zinn nachzuweisen.

4.3.1.6 Zinngehalt der Placebo-Gruppen

Die Placebo-Gruppen der verschiedenen Versuchsreihen mit Bürstbehandlung oder mit Slurrybehandlung wurden in den zugehörigen Diagrammen zum Zinngehalt auf der Probenoberfläche nicht dargestellt.

Auf den Oberflächen der Placebo-Proben konnte kein spezifischer Zinngehalt nachgewiesen werden. So war in den Spektren der EDX-Analysen im zur Quantifizierung herangezogenen Energiebereich von Zinn ($L\alpha$ -Linie bei 3,443 keV) kein abgrenzbarer Peak feststellbar. Hingegen wurden lediglich uncharakteristische Untergrundsignale detektiert, maßgeblich verursacht durch die verfahrenstechnisch auftretende Röntgenbremsstrahlung. Die überlagerte Darstellung der Spektren aller 15 Proben einer Gruppe verdeutlicht dies (Abb. 4.06a-d).

Außerdem zeigte sich in der Überlagerung die gute Reproduzierbarkeit der durchgeführten EDX-Analysen.

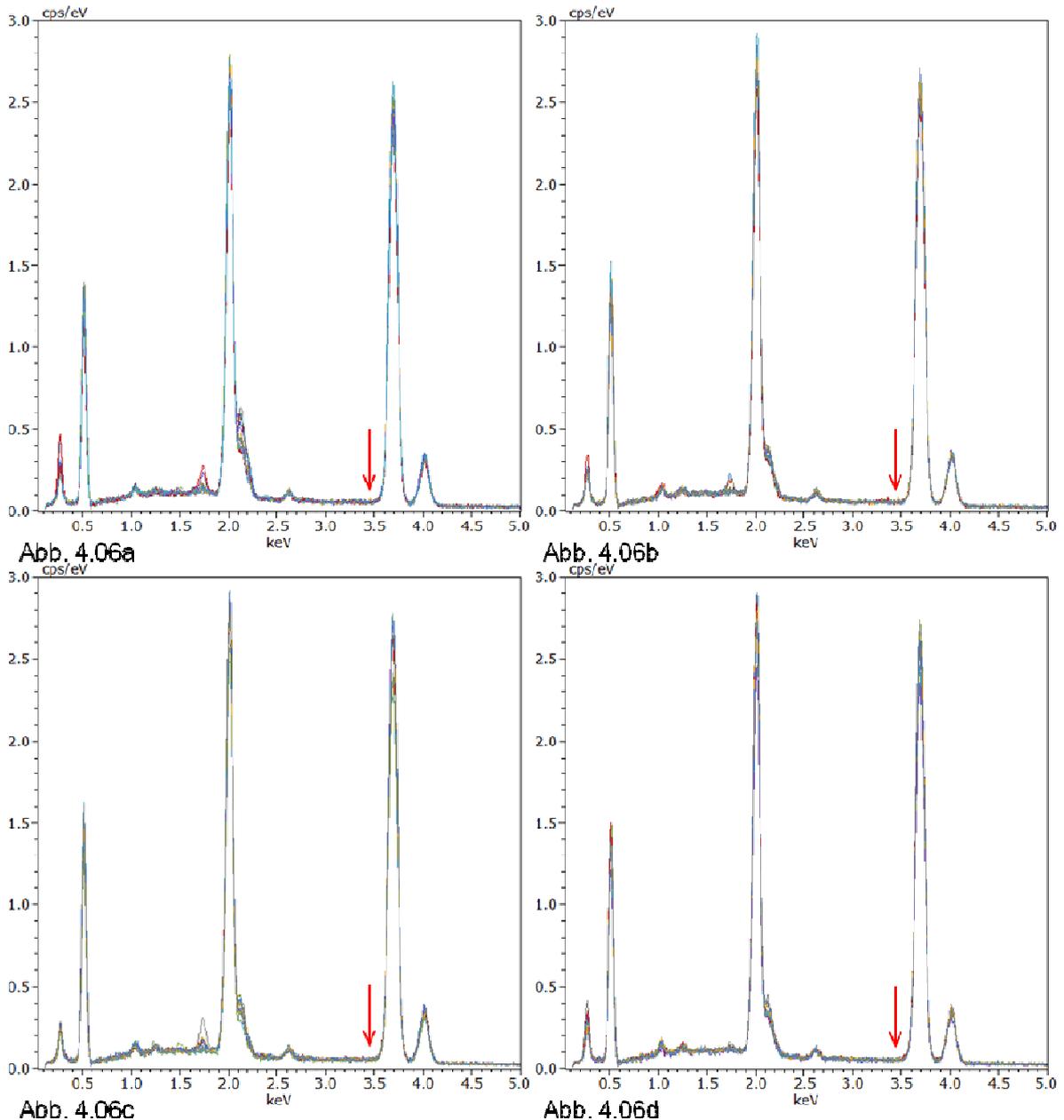


Abb. 4.06a-d: Darstellung der Spektren aller vier Placebo-Gruppen. Es sind jeweils die 15 Proben jeder Gruppe überlagert abgebildet: Placebo, Bürstbehandlung, ohne Chitosan (4.06a); Placebo, Slurrybehandlung, ohne Chitosan (4.06b); Placebo, Bürstbehandlung, mit Chitosan (4.06c); Placebo, Slurrybehandlung, mit Chitosan (4.06d). An der Stelle des charakteristischen Zinn-Energieniveaus ($L\alpha$ -Linie bei 3,443 keV) ist kein Peak abzugrenzen. Es konnte so kein Zinn auf der Schmelzoberfläche der Placebo-Proben nachgewiesen werden. Ebenso zeigte sich die gute Reproduzierbarkeit der Spektren.

4.3.2 Kohlenstoffgehalt der Schmelzoberfläche

Analog zur Bestimmung der Zinnkonzentrationen auf der Schmelzoberfläche wurde auch der Kohlenstoffgehalt bestimmt. Die zur Quantifizierung des Kohlenstoffes herangezogenen detektierten Röntgenquanten haben ihr Energieniveau bei 0,277 keV ($K\alpha$ -Linie; siehe Abschnitt 4.1). Im Folgenden werden die vier Gruppen (je 15 Proben) der Testprodukte mit 20% Silika, 20%

Polyethylen, Keine Abrasiva und Placebo, jeweils einmal ohne und einmal mit Chitosan, bezüglich ihres Kohlenstoffgehaltes miteinander verglichen. Insbesondere werden die Gruppen mit demselben Abrasivatyp je einmal mit und ohne Chitosan gegenübergestellt.

Bei den Gruppen mit Bürstbehandlung fand sich der einzige signifikant unterschiedliche Kohlenstoffgehalt zwischen den Keine Abrasiva-Gruppen, mit deutlich höherer Kohlenstoffkonzentration der Proben mit Chitosan (Abb. 4.07). Hier waren bei einer Differenz von 5,9 Gew% Werte von $8,2 \pm 1,1$ Gew% Kohlenstoff ohne Chitosan und $14,0 \pm 2,0$ Gew% Kohlenstoff mit Chitosan feststellbar. In den abrasivahaltigen Versuchsgruppen mit Bürstbehandlung lag der Kohlenstoffgehalt zwischen $4,7 \pm 0,5$ Gew% (Placebo mit Chitosan) und $13,2 \pm 3,0$ Gew% (20% Polyethylen ohne Chitosan), mit zum Teil sehr großen Standardabweichungen (bis zu $\pm 5,6$ Gew% bei 20% Silika ohne Chitosan). Die Differenzen der Kohlenstoffkonzentrationen zwischen Gruppen mit gleichen Abrasiva unterschieden sich nur geringfügig und nicht signifikant (0,2 Gew% Unterschied bei 20% Silika, 1,4 Gew% Unterschied bei der Placebo-Gruppe und bis zu 2,7 Gew% Unterschied bei 20% Polyethylen). Die Placebo-Gruppen (mit und ohne Chitosan) wiesen beide einen zu allen anderen Versuchsgruppen signifikant geringeren Kohlenstoffgehalt auf. Die Differenz zur 20%-Silika-Gruppe ohne Chitosan erreichte aufgrund der großen Standardabweichung keine Signifikanz.

Innerhalb der Gruppen mit Slurrybehandlung stellten sich ebenfalls die Vergleichsproben der Gruppen Keine Abrasiva als einzige mit signifikant unterschiedlicher Kohlenstoffkonzentration dar (Abb. 4.08). Mit $14,7 \pm 1,8$ Gew% zu $8,0 \pm 1,3$ Gew% war der Wert der Gruppe mit Chitosan um 6,7 Gew% höher.

Bei den sich entsprechenden abrasivahaltigen Versuchsgruppen lagen die Kohlenstoffkonzentrationen verhältnismäßig nahe zusammen und waren nicht signifikant. Mit Blick auf die Spannweite der Kohlenstoffkonzentrationen ($4,9 \pm 1,0$ Gew% bei Placebo ohne Chitosan und $10,1 \pm 2,4$ Gew% bei 20% Polyethylen ohne Chitosan) betragen die Differenzen der gleichen Abrasiva-Gruppen 1,3 Gew% bei 20% Silika, 0,2 Gew% bei 20% Polyethylen und 0,9 Gew% bei Placebo. Auch im Versuch mit Slurrybehandlung waren die Kohlenstoffkonzentrationen der beiden Placebo-Gruppen (mit und ohne Chitosan) verglichen mit allen anderen Gruppen signifikant geringer.

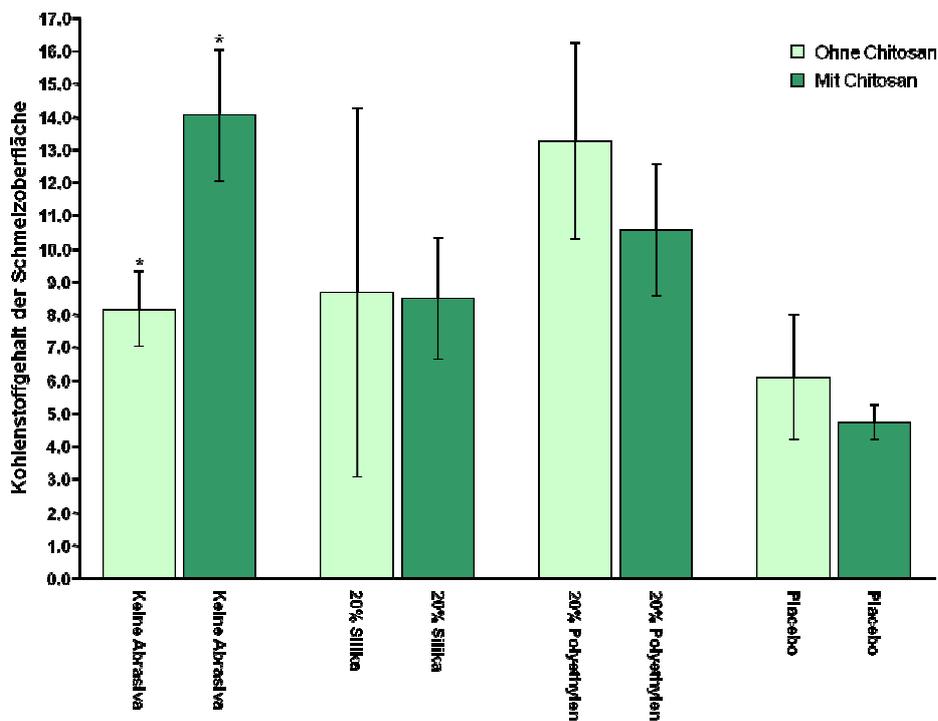


Abb. 4.07: Kohlenstoffgehalt (MW ± SD, Gew%) der sich bezüglich Abrasivkonzentration und -typ gleichenden Versuchsgruppen, einmal mit und einmal ohne Chitosan, mit Bürstbehandlung. Nur die Keine Abrasiva-Gruppen zeigten einen signifikanten Unterschied (*) der Formulierungen ohne und mit Chitosan. Die Werte der Placebo-Gruppen waren zu allen anderen Gruppen signifikant geringer (außer 20% Silika ohne Chitosan).

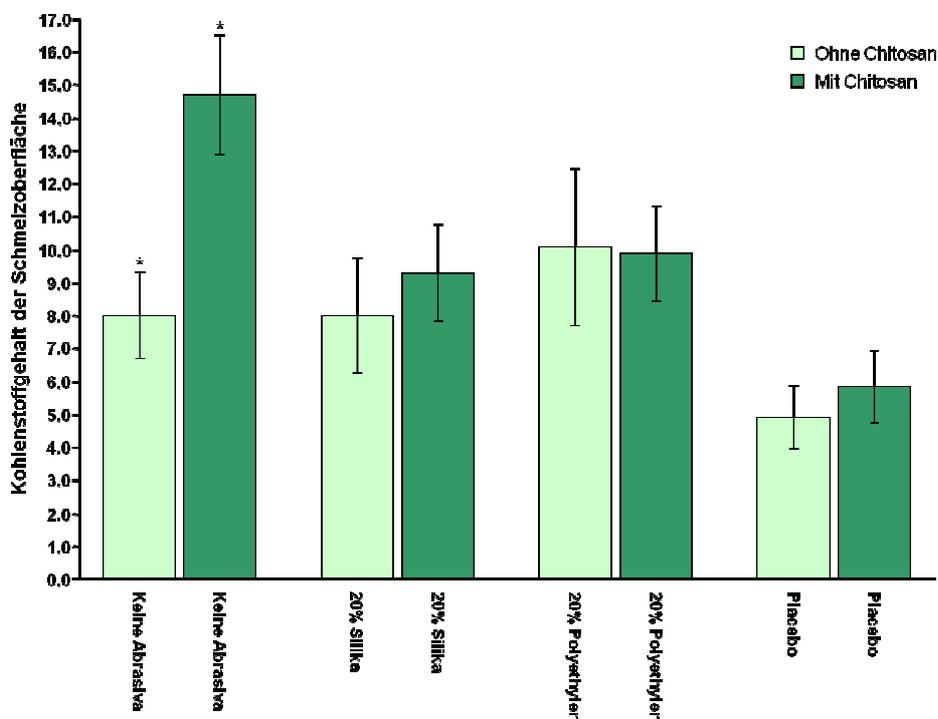


Abb. 4.08: Kohlenstoffgehalt (MW ± SD, Gew%) der sich bezüglich Abrasivkonzentration und -typ gleichenden Versuchsgruppen, einmal mit und einmal ohne Chitosan, mit Slurrybehandlung. Nur die Keine Abrasiva-Gruppen zeigten einen signifikanten Unterschied (*) der Formulierungen ohne und mit Chitosan. Die Werte der Placebo-Gruppen waren zu allen anderen Gruppen signifikant geringer.

Zusammenfassend kam zum Ausdruck, dass nur die Keine Abrasiva-Gruppen einen signifikant unterschiedlichen Kohlenstoffgehalt der Formulierungen ohne und mit Chitosan hatten (Abb. 4.09). Sie stellten damit gegenüber den anderen Gruppen (20% Silika, 20% Polyethylen, Placebo) eine Ausnahme dar. Jene abrasivahaltigen Gruppen hatten ohne und mit Chitosan jeweils vergleichbare Kohlenstoffkonzentrationen (daher in Abb. 4.09 nicht mehr abgebildet).

Auffällig war außerdem, dass die Placebo-Gruppen sowohl bei den Formulierungen ohne als auch mit Chitosan signifikant geringere Kohlenstoffkonzentrationen aufwiesen als alle Vergleichsgruppen. Lediglich zur 20%-Silika-Gruppe ohne Chitosan wurde aufgrund deren großer Standardabweichung keine Signifikanz erreicht.

Bezogen auf die Behandlungsart ergaben sich zwischen den Gruppen mit Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung innerhalb der gleichen Formulierungen allgemein keine signifikanten Differenzen des Kohlenstoffgehalts.

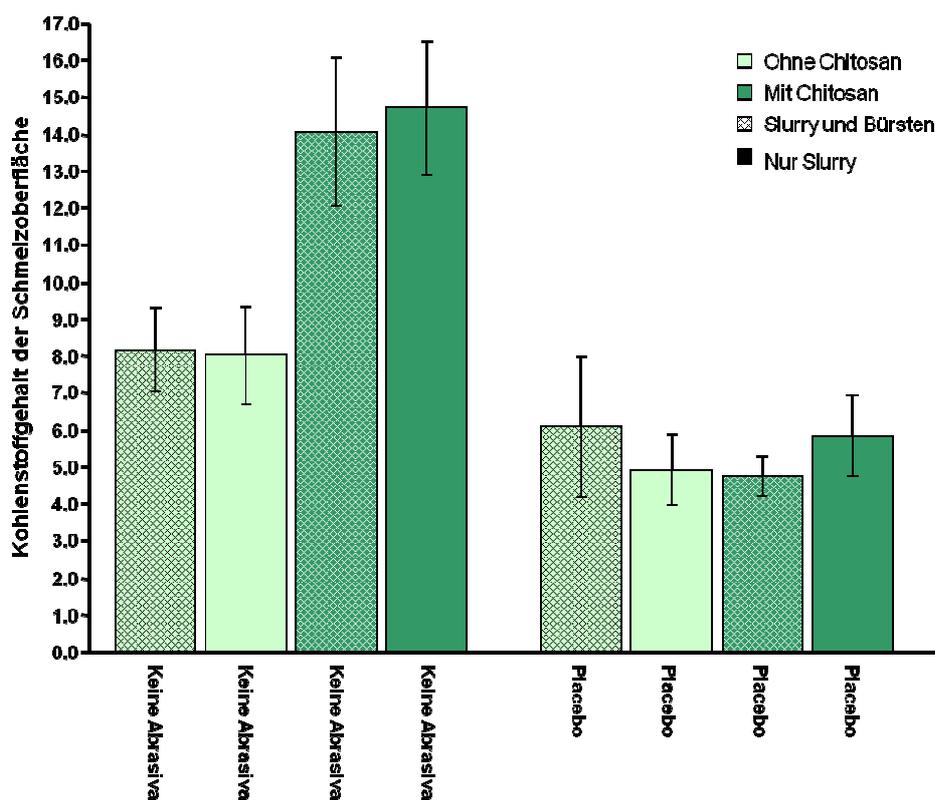


Abb. 4.09

Abb. 4.09: Kohlenstoffgehalt (MW ± SD, Gew%) der Keine Abrasiva- und der Placebo-Gruppen, jeweils mit und ohne Chitosan sowie beider Behandlungsarten (Bürstbehandlung schraffiert, Slurrybehandlung homogen). Die Keine Abrasiva-Gruppen waren bei den Formulierungen ohne und mit Chitosan signifikant unterschiedlich, die Placebo-Gruppen hatten gegenüber allen anderen Gruppen signifikant geringere Werte. Bezüglich der Behandlungsart zeigten sich innerhalb der Formulierungen nur geringfügige Differenzen der Kohlenstoffkonzentration mit entsprechend vergleichbaren Werten.

4.3.3 Zusammenhang zwischen Zinn- und Kohlenstoffgehalt

In den folgenden Diagrammen wird der Zusammenhang zwischen Zinn- und Kohlenstoffgehalt dargestellt. Dazu wird der Kohlenstoffgehalt der Versuchsgruppen Keine Abrasiva, 5% Silika, 10% Silika, 15% Silika, 20% Silika und 20% Polyethylen, jeweils einmal ohne und einmal mit Chitosan, dem Zinngehalt dieser Gruppen gegenübergestellt.

Bei Betrachtung der Gruppen aus der Versuchsreihe mit Bürstbehandlung (Abb. 4.10a) fand sich ein mittelstarker linearer positiver Zusammenhang zwischen Zinn- und Kohlenstoffgehalt. Mit zunehmender Kohlenstoffkonzentration stieg die Menge des detektierten Zinns auf den Proben an. Ein ähnlicher Zusammenhang konnte auch bei den Gruppen mit Slurrybehandlung (Abb. 4.10b) nachgewiesen werden.

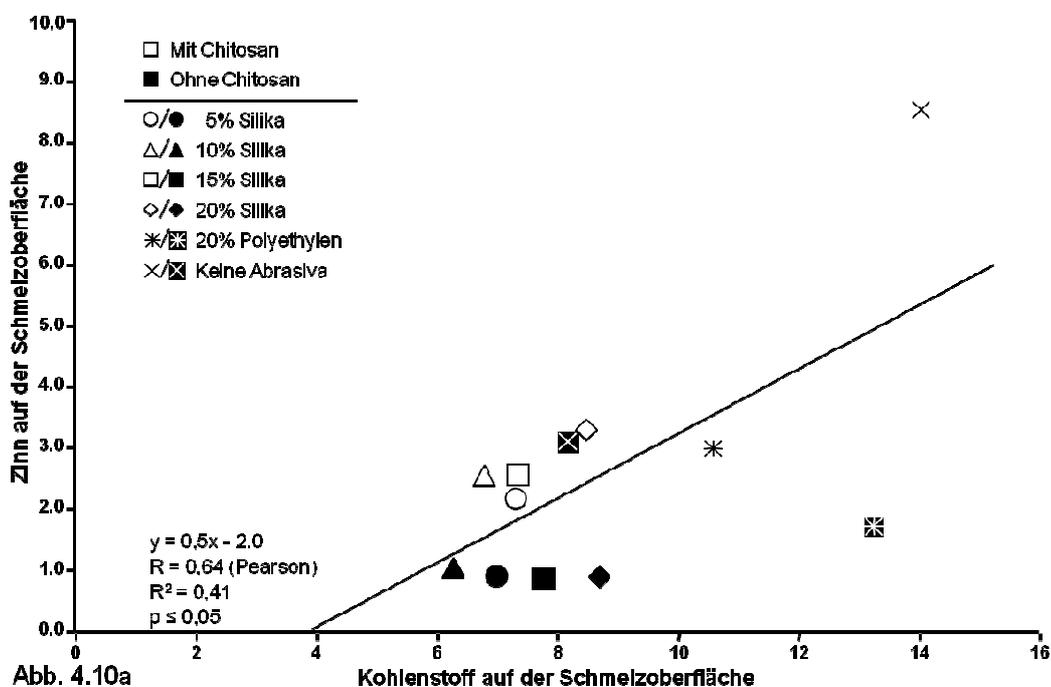


Abb. 4.10a: Korrelation von Kohlenstoff und Zinnkonzentration (MW, Gew%). Gruppen mit Bürstbehandlung. Der Zusammenhang beider Größen wird jeweils durch eine Regressionsgerade verdeutlicht. Deren Funktion ist angegeben, ebenso der Korrelationskoeffizient (R) und das Bestimmtheitsmaß (R^2).

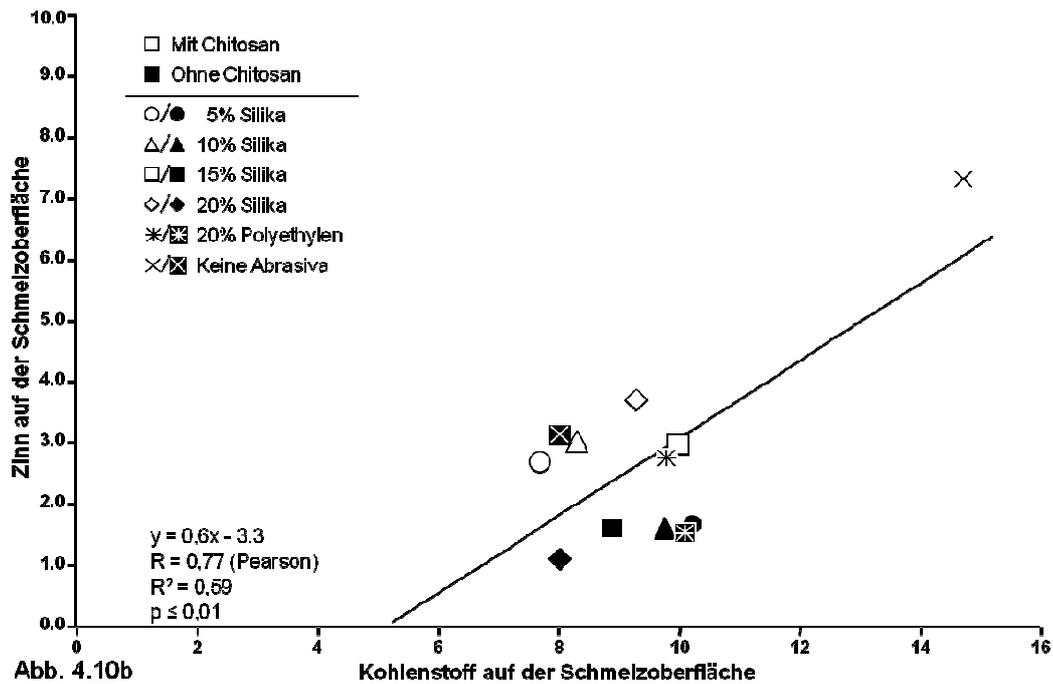


Abb. 4.10b: Korrelation von Kohlenstoff und Zinnkonzentration (MW, Gew%). Gruppen mit Slurrybehandlung. Der Zusammenhang beider Größen wird jeweils durch eine Regressionsgerade verdeutlicht. Deren Funktion ist angegeben, ebenso der Korrelationskoeffizient (R) und das Bestimmtheitsmaß (R^2).

4.3.4 Zinngehalt auf Putzkörperoberflächen

Die EDX-Elementanalyse der Putzkörperoberflächen zeigte, dass sich grundsätzlich Zinn auf Putzkörpern nachweisen lässt. Es fanden sich jedoch deutliche unterschiedliche Werte zwischen den verschiedenen Abrasivatypen. Die Anwesenheit von Chitosan hatte keinen bedeutsamen Einfluss auf die hier gemessenen Zinnkonzentrationen.

Untersucht wurden dieselben experimentellen Zahnpasten, die auch in der Vorgängerstudie verwendet worden waren.

Den höchsten Zinngehalt auf der Oberfläche hatten die Silika-Partikel (Abb. 4.11). Deren Werte waren mit $1,16 \pm 0,24$ Gew% Zinn ohne Chitosan und $1,21 \pm 0,25$ Gew% mit Chitosan vergleichbar groß. Die Zinnkonzentration auf den Polyethylen-Putzkörpern war weitaus geringer oder unterhalb der Nachweisgrenze. Ohne Chitosan lag sie mit gerade noch feststellbarem Peak bei $0,35 \pm 0,08$ Gew%, während mit Chitosan kein Zinn nachweisbar war (Messwert $\leq 0,1$ Gew%). In der Placebo-Gruppe war bei den Messungen ohne Chitosan und mit Chitosan im Testprodukt in beiden Fällen kein Zinn auf der Putzkörperoberfläche nachweisbar (Messwerte $\leq 0,04$ Gew%).

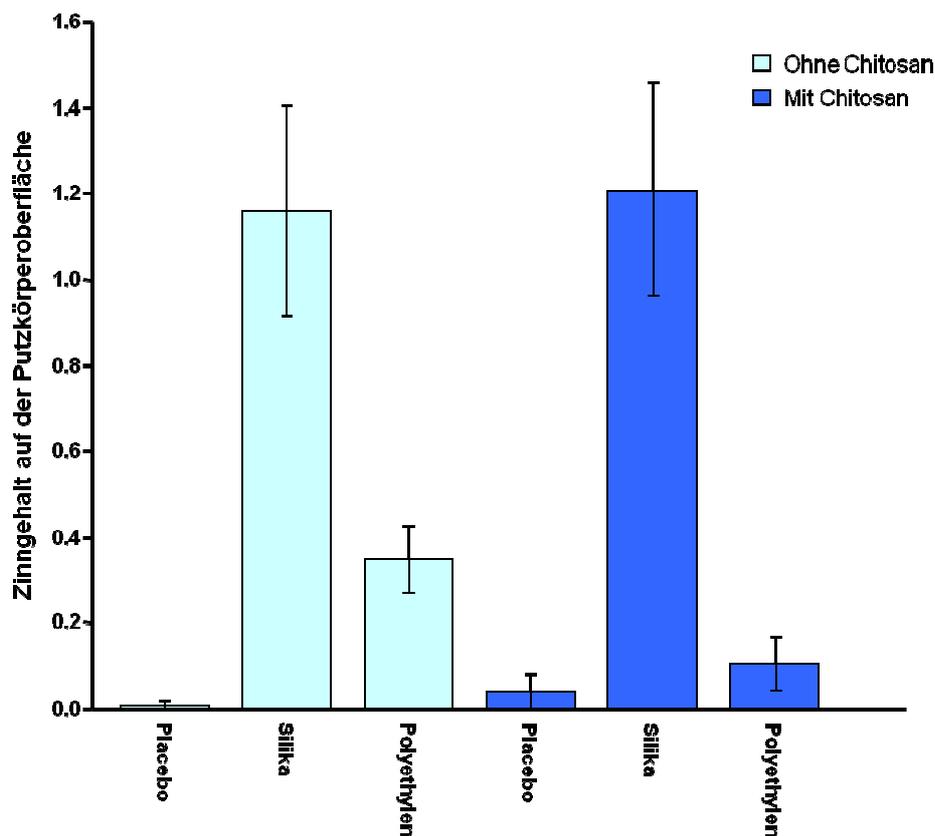


Abb. 4.11: Zinngehalt (MW \pm SD, Gew%) auf der Oberfläche verschiedener Putzkörpertypen. Die Messungen erfolgten an den in der Vorgängerstudie verwendeten experimentellen Zahnpasten jeweils einmal ohne und einmal mit Chitosan.

4.4 Zinnverfügbarkeit in Zahnpastasuspensionen (Slurries)²

Die mit den unterschiedlichen Abrasivatypen und -konzentrationen der Zahnpasta-Testprodukte hergestellten Slurries wurden hinsichtlich des Zinngehaltes in ihrem Überstand untersucht. Dabei wurden die Formulierungen mit Chitosan und ohne Chitosan verglichen. Für jede Formulierung ist der Mittelwert aus 3 Messungen angegeben. Die Zinnkonzentration (in ppm) des Überstandes der mit dem entsprechenden Abrasivatyp hergestellten Suspension ist in Abb. 4.12 dargestellt. Es zeigten sich bei der Formulierung Keine Abrasiva jeweils die höchsten Zinnwerte mit 3797 ppm (ohne Chitosan) und 3844 ppm (mit Chitosan). Bei den Formulierungen mit verschiedenen Silikakonzentrationen (5%, 10%, 15%, 20%) lagen die Werte ohne Chitosan zwischen 1929 ppm und 2239 ppm sowie mit Chitosan zwischen 1994 ppm und 2676 ppm und waren damit deutlich geringer. In diesem Zusammenhang enthielt die Formulierung 20% Polyethylen etwa mittlere Zinnkonzentrationen von 2703 ppm ohne Chitosan und 2976 ppm mit Chitosan.

² Daten von GABA International AG (Therwil, Schweiz)

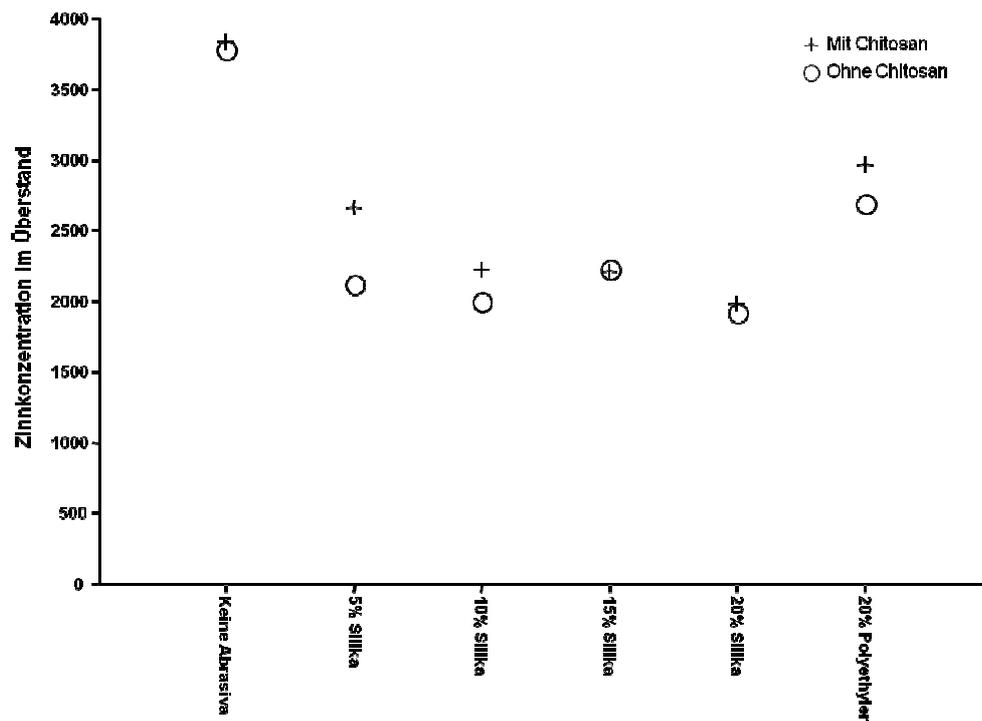


Abb. 4.12: Zinnkonzentration (MW, ppm) im Überstand in den im Versuch verwendeten Testprodukten. Die Daten wurden von der GABA International AG (Therwil, Schweiz) bereitgestellt und mit freundlicher Genehmigung weiterverwendet.

4.5 Zusammenhang von Zinngehalt der Schmelzoberfläche und erosivem Substanzverlust³

Den Zinnkonzentrationen aus der vorliegenden Studie wurden die Substanzverlustwerte derselben Proben aus der Vorgängerstudie gegenübergestellt. Der erosive Substanzverlust wurde in der Vorgängerstudie profilometrisch bestimmt und durch die vertikale Differenz der Oberflächenniveaus von der Versuchsfläche und der Referenzfläche definiert (Werte in μm). (Die Substanzverlustdaten der Proben wurden in der Vorgängerstudie von Frau M. Möllers erhoben und mit freundlicher Genehmigung weiterverwendet.)

Bei Betrachtung der Korrelation in den Gruppen mit Bürstbehandlung zeigten die Abrasivgruppen ohne Chitosan deutlich stärkere Substanzverluste und eine geringere Aufnahme von Zinn als ihre Vergleichsgruppen mit Chitosan (Abb. 4.13a). In der Regressionsanalyse der Mittelwerte dieser Gruppen ergab sich mit einem Korrelationskoeffizienten nach Pearson von $R = 0,82$ ($R^2 = 0,68$) ein deutlicher negativ-linearer Zusammenhang der Messwerte.

³ Daten aus der Vorgängerstudie von Frau M. Möllers

Bei den sich bezüglich ihres Abrasivatyps und -konzentration entsprechenden Versuchsgruppen hatten alle Gruppen mit Chitosan signifikant mehr Zinn aufgenommen oder weniger Substanz verloren und damit eine klar bessere Wirksamkeit. Am ausgeprägtesten war diese unterschiedliche Aufnahme von Zinn in der Abrasivagruppe 20% Silika mit 2,4 Gew% mehr Zinn, am geringsten in den Gruppen 5% Silika und 20% Polyethylen mit jeweils 1,3 Gew% mehr Zinn. Der größte Unterschied in der Reduktion des Substanzverlustes war bei 5% Silika mit 7,3 µm zu finden, die kleinste Differenz bei 15% Silika mit 2,4 µm weniger Verlust, dies jeweils mit dem geringeren Wert in der Gruppe mit Chitosan. Im Versuch der Gruppen mit Slurrybehandlung ergab sich für die Korrelation der Zinnaufnahmewerte und des Substanzverlustes zwischen den Gruppen ohne und mit Chitosan weniger große Unterschiede (Abb. 4.13b).

Die Abrasivagruppen ohne Chitosan zeigten hier vergleichbare Substanzverluste, allerdings eine deutlich geringere Aufnahme von Zinn als die Vergleichsgruppen mit Chitosan. Die Regressionsanalyse der Gruppen mit Slurrybehandlung ergab einen Korrelationskoeffizienten nach Pearson von $R = 0,69$ ($R^2 = 0,48$) und so einen mittleren negativ-linearen Zusammenhang der Messwerte.

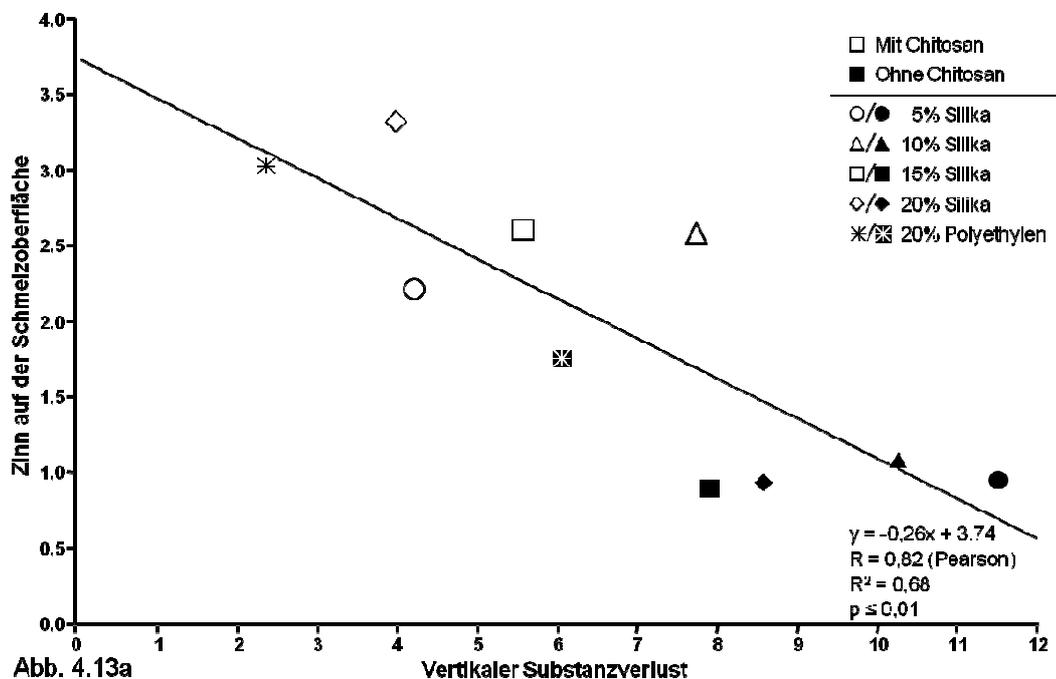


Abb. 4.13a: Korrelation von Zinnkonzentration (MW, Gew%) auf der Schmelzoberfläche und Substanzverlust (MW, µm) derselben Abrasivagruppen, jeweils mit und ohne Chitosan. Gruppen mit Bürstbehandlung. Der Zusammenhang beider Größen wird durch die lineare Regressionsgerade verdeutlicht. Deren Funktion ist angegeben, ebenso der Korrelationskoeffizient (R) und das Bestimmtheitsmaß (R^2).

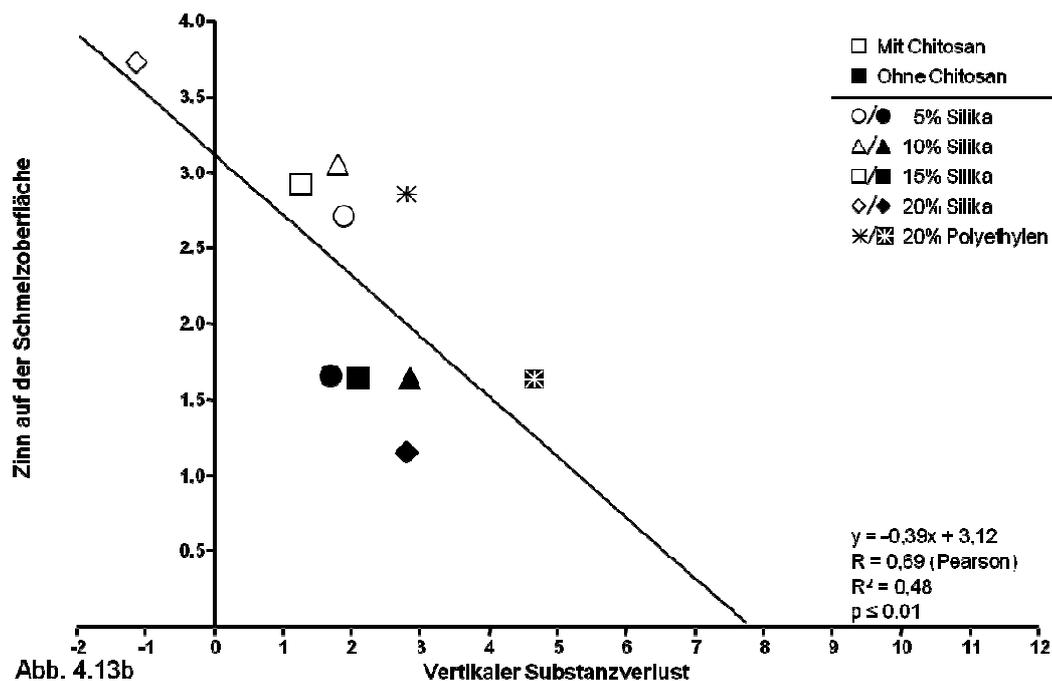


Abb. 4.13b: Korrelation von Zinnkonzentration (MW, Gew%) auf der Schmelzoberfläche und Substanzverlust (MW, μm) derselben Abrasivgruppen, jeweils mit und ohne Chitosan. Gruppen mit Slurrybehandlung. Der Zusammenhang beider Größen wird durch die lineare Regressionsgerade verdeutlicht. Deren Funktion ist angegeben, ebenso der Korrelationskoeffizient (R) und das Bestimmtheitsmaß (R^2).

In beiden Versuchsabläufen war grundsätzlich ein ähnlicher Zusammenhang von Substanzverlust und Zinnaufnahme zu beobachten. Es zeigte sich, dass eine höhere Zinnkonzentration auf der Probenoberfläche mit einem geringeren Substanzverlust einherging.

4.6 Qualitative Auswertung der Oberflächen-Strukturaufnahmen

Bei der kategorisierenden Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Oberflächen-Strukturaufnahmen zeigten sich insgesamt keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen Oberflächenstruktur der Proben und Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) oder der verwendeten Test-Zahnpastenformulierung (verschiedene Abrasivatypen und -konzentrationen). Die detaillierten Ergebnisse sind in Tab. 4.03 dargestellt.

Zur Veranschaulichung der Auswertungsergebnisse und Darstellung der Bewertungskriterien folgen hier einige beispielhafte Oberflächen-Strukturaufnahmen mit Beschreibung der Charakteristika (Abb. 4.14a-d).

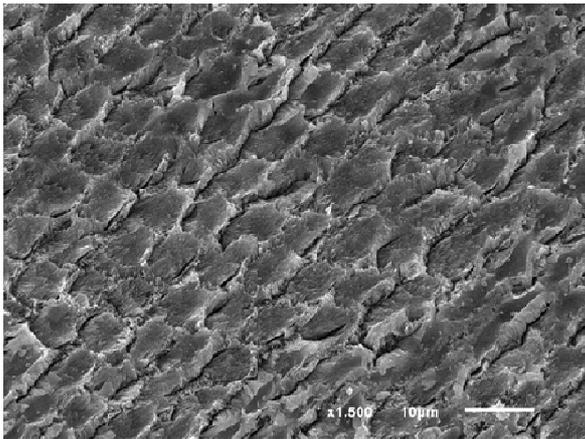


Abb. 4.14a

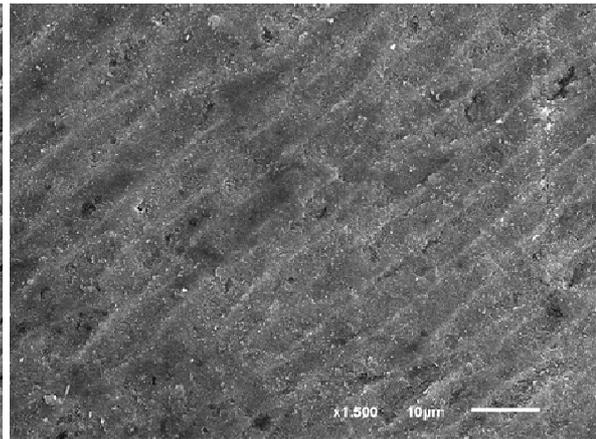


Abb. 4.14b

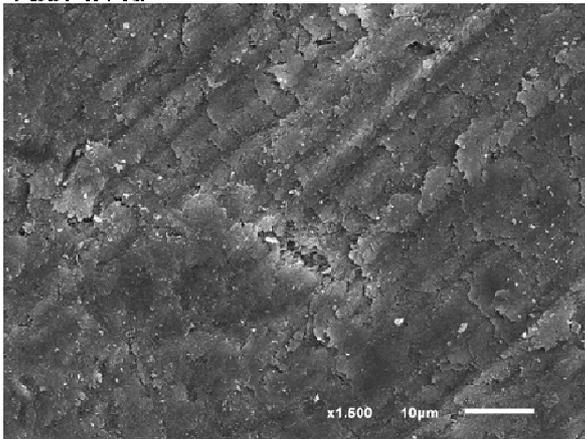


Abb. 4.14c

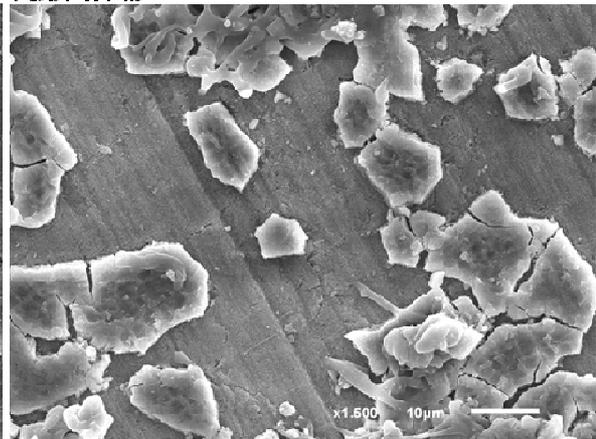


Abb. 4.14d

Abb. 4.14a-d: Beispielhafte rasterelektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) mit charakteristischen Befunden:

- Ausgeprägtes Ätzmuster und rau/zerklüftete Oberfläche, keine amorphen Präzipitate (4.14a; 20% Polyethylen, Bürstbehandlung, mit Chitosan)
- Glatte Oberfläche bei angedeutetem Ätzmuster, keine amorphen Präzipitate (4.14b; 15% Silika, Bürstbehandlung, mit Chitosan)
- Kein erkennbares Ätzmuster bei rau/zerklüfteter Oberfläche, dazu feinflockige Auflagerungen und kleine amorphe Präzipitate; außerdem sind Schleifspuren sichtbar (4.14c; 20% Polyethylen, Bürstbehandlung, ohne Chitosan)
- Kein erkennbares Ätzmuster bei rau/zerklüfteter Oberfläche mit grobscholligen Auflagerungen und größeren amorphen Präzipitaten; außerdem sind Schleifspuren sichtbar (4.14d; 5% Silika, Slurrybehandlung, mit Chitosan).

Die Oberflächen-Strukturaufnahmen mit tabellarischer Auflistung der entsprechenden Elementkonzentrationen aus der EDX-Analyse finden sich im Anhang dieser Arbeit.

Tab. 4.03: Ergebnistabelle zur qualitativen Auswertung der elektronenmikroskopischen Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500). Aus jeder Versuchsgruppe wurden 5 Proben ausgewertet. In den Kategorien „Ätzmuster“ und „amorphe Präzipitate“ erfolgte die Einteilung alternativ, bei den Strukturcharakteristika waren Mehrfachnennungen möglich.

Gruppe	Bürst- bzw. Slurry-behandlung	Chitosan	Ätzmuster		Struktur							amorphe Präzipitate	
			Ja	Nein	Glatt/ Eben	Rau/ Zerküffert	Feinflockige Auflagerungen	Grob-schollige Auflagerungen	Schleif- spuren	Ja	Nein		
Placebo	Slurry und Bürsten	Ohne Chitosan	4	1	2	3	1	0	0	0	0	3	2
Keine Abrasiva	Slurry und Bürsten	Ohne Chitosan	2	3	3	2	2	0	0	1	0	5	0
5% Silika	Slurry und Bürsten	Ohne Chitosan	3	2	5	0	0	0	0	0	0	3	2
10% Silika	Slurry und Bürsten	Ohne Chitosan	3	2	2	3	3	0	0	2	0	5	0
15% Silika	Slurry und Bürsten	Ohne Chitosan	0	5	4	1	1	0	0	0	0	3	2
20% Silika	Slurry und Bürsten	Ohne Chitosan	1	4	5	0	2	0	0	0	4	1	1
20% Polyethylen	Slurry und Bürsten	Ohne Chitosan	0	5	1	4	4	0	0	1	5	0	0
Placebo	Nur Slurry	Ohne Chitosan	4	1	3	2	3	0	0	0	0	4	1
Keine Abrasiva	Nur Slurry	Ohne Chitosan	1	4	3	2	4	0	0	1	0	5	0
5% Silika	Nur Slurry	Ohne Chitosan	2	3	4	1	4	1	2	2	0	3	2
10% Silika	Nur Slurry	Ohne Chitosan	0	5	1	4	5	2	1	2	2	5	0
15% Silika	Nur Slurry	Ohne Chitosan	2	3	3	2	2	1	0	1	1	5	0
20% Silika	Nur Slurry	Ohne Chitosan	1	4	4	1	3	0	0	2	0	5	0
20% Polyethylen	Nur Slurry	Ohne Chitosan	2	3	4	1	2	0	0	1	0	4	1
Placebo	Slurry und Bürsten	Mit Chitosan	5	0	1	4	1	0	0	1	1	1	4
Keine Abrasiva	Slurry und Bürsten	Mit Chitosan	1	4	2	3	2	0	0	3	0	5	0
5% Silika	Slurry und Bürsten	Mit Chitosan	2	3	4	1	4	0	0	1	1	5	0
10% Silika	Slurry und Bürsten	Mit Chitosan	2	3	4	1	2	0	0	0	0	5	0
15% Silika	Slurry und Bürsten	Mit Chitosan	4	1	4	1	2	0	0	1	0	4	1
20% Silika	Slurry und Bürsten	Mit Chitosan	1	4	3	2	2	1	1	0	0	4	1
20% Polyethylen	Slurry und Bürsten	Mit Chitosan	5	0	1	4	1	0	0	1	0	4	1
Placebo	Nur Slurry	Mit Chitosan	0	5	0	5	3	0	0	0	0	4	1
Keine Abrasiva	Nur Slurry	Mit Chitosan	2	3	2	3	1	1	1	4	5	0	0
5% Silika	Nur Slurry	Mit Chitosan	3	2	3	2	3	2	2	4	4	4	1
10% Silika	Nur Slurry	Mit Chitosan	2	3	3	2	1	4	4	5	5	0	0
15% Silika	Nur Slurry	Mit Chitosan	5	0	2	3	1	1	1	2	5	0	0
20% Silika	Nur Slurry	Mit Chitosan	5	0	5	0	1	0	0	5	5	0	0
20% Polyethylen	Nur Slurry	Mit Chitosan	3	2	2	3	1	0	0	0	0	5	0
Negativ-Kontrolle	(Nur erodiert)	Ohne Chitosan	3	2	4	1	4	0	0	1	0	3	2

Qualitative Auswertung der Oberflächen-Strukturaufnahmen

5 Diskussion

5.1 Material und Methoden

5.1.1 Probenmaterial und Versuchsdurchführung

In der vorliegenden Untersuchung wurden die während der Vorgängerstudie hergestellten Proben weiterverwendet. Diese humanen Schmelzproben wurden aus vollständig retinierten dritten Molaren gewonnen. Es handelt sich also um Zahnschmelz, der nicht gegenüber den verschiedenen posteruptiven Einflüssen der Mundhöhle exponiert war [Driessens et al., 1985; Cardoso et al., 2009]. Damit sollte eine möglichst homogene Ausgangsbeschaffenheit des Probenmaterials gewährleistet werden.

Die weitere Bearbeitung der Molaren und Anfertigung der Proben sowie die Durchführung des Versuchs mit erosiver Demineralisation, Exposition zu den experimentellen Zahnpasten und den verschiedenen Behandlungsarten fand insgesamt in der Vorgängerstudie statt. In der gegenwärtigen Studie wurden die Proben nicht weiter experimentellen Einflüssen ausgesetzt oder strukturell verändert. Es erfolgte lediglich die für die verschiedenen Messmethoden notwendige Übertragung auf geeignete Probenträger und im Verlauf die Vorbereitung für die Analysen im REM.

5.1.2 Profilometrie

Allgemein ist die Profilometrie eine in der Industrie zur Kontrolle verschiedenster Werkstoffe und Produkte (Qualitätsmanagement) weit verbreitete und etablierte Methode, die inzwischen eine Standardmethode in der zahnmedizinischen Erosionsforschung ist [Zhang et al., 2000; Barbour und Rees, 2004; Attin, 2006; Schlueter et al., 2011]. Sie ist ohne aufwendige Probenmodifikation und mit kurzer Untersuchungsdauer anwendbar und liefert schnell zuverlässige Ergebnisse. Es können sowohl in situ- als auch in vitro-Proben mit unterschiedlichsten Fragestellungen quantitativ untersucht werden.

Mit verschiedenen Verfahren wird entweder mechanisch die Auslenkung eines Tasters oder optisch der Abstand des Sensors zur Probenoberfläche ermittelt. Die optische Methode bringt die großen Vorteile von berührungs- und zerstörungsfreien sowie wiederholbaren Messungen mit sich. Beeinträchtigende

Faktoren können reflektierende oder transparente Oberflächen sein. Aus den Messwerten wird ein Oberflächenprofil erstellt [Attin, 2006]. Das Auflösungsvermögen hängt vom angewendeten Verfahren ab. Bei dem in der vorliegenden Studie verwendeten optischen Sensor beträgt das vertikale Auflösungsvermögen des Sensors 10 nm und die laterale Auflösung 1-2 μm . Die repräsentative Analysefläche konnte bei der Messung videoassistent ausgewählt und eingestellt werden. Das Gerät arbeitet nach dem Prinzip der chromatischen Aberration.

Häufig werden mit profilometrischen Verfahren die vertikalen Niveauunterschiede zwischen einer unbehandelten Referenzfläche und einer erosiv demineralisierten Versuchsfläche auf derselben Probe gemessen [Attin, 2006]. Als erosiver Substanzverlust ist dann der vertikale Abstand der beiden Ebenen definiert, repräsentiert durch in den Profilgraph eingefügte Ausgleichsgeraden [Barbour und Rees, 2004; Ganss et al., 2005; Ganss et al., 2009]. Auf diese Weise wurden in der Vorgängerstudie die Stufenhöhen der Proben bestimmt, die hier in Bezug zu den Zinnkonzentrationen aus der vorliegenden Arbeit gesetzt wurden.

Das Ziel der Profilometrie in der vorliegenden Untersuchung war hingegen die Messung der Rauheit ausschließlich auf jenen den Testprodukten ausgesetzten Versuchsflächen. In eigenen Vorversuchen zeigte sich, dass im Vergleich verschieden großer Messflächen auf den Proben mit unterschiedlichen Auflösungen, eine 0,4 mm x 0,4 mm große Fläche mit 200 x 200 Bildpunkten adäquate Einstellungen waren. Damit ließen sich konsistente Ergebnisse mit geringen Standardabweichungen erzielen. Zudem war das Verhältnis von Ausmaß der Messfläche zur Probengröße geeignet und praktisch gut umsetzbar.

Die Auswertung der Messdaten zum Erhalt der mittleren Rautiefe (R_z) erfolgte nach den definierten Normen der Rauheitskenngrößen (DIN EN ISO 4287:1998, ASME B46.1). Demnach ist die mittlere Rautiefe R_z der arithmetische Mittelwert der fünf Einzelrautiefen R_{zi} (Summe aus größter Profilspitze und größtem Profiltal einer Einzelmessstrecke l_{ri}) aus fünf aufeinanderfolgenden gleichlangen Einzelmessstrecken (l_{ri}) innerhalb der Gesamtmesstrecke (l_n).

5.1.3 Rasterelektronenmikroskopie und EDX-Analyse

Die Verwendung von Rasterelektronenmikroskopen ist Standardmethode bei der optischen Beurteilung von Proben sowie zur Anfertigung von detaillierten Strukturaufnahmen [Meurman und Frank, 1991a; Meurman und Frank, 1991b;

Barbour und Rees, 2004; Attin, 2006; Schlueter et al., 2009b]. Die Rasterelektronenmikroskopie ist ein Verfahren zur Gewinnung qualitativer Ergebnisse. Durch den in der Methode verwendeten energiereichen Elektronenstrahl kann es je nach Probenmaterial, Untersuchungsdauer und eingestellter Beschleunigungsenergie in unterschiedlichem Ausmaß zu Veränderungen oder Beschädigungen der Probenoberfläche kommen.

Im Gegensatz zum Lichtmikroskop, dessen Auflösungsvermögen durch die Wellenlänge des sichtbaren Lichtes ($\lambda \approx 400 \mu\text{m}$) auf etwa $1 \mu\text{m}$ begrenzt ist, können REM deutlich stärker vergrößern. Hier wird der Dualismus von Korpuskular- und Wellenstrahlung aus der Quantenmechanik genutzt. Nach de Broglie kann den beschleunigten Elektronen mit der Geschwindigkeit v eine bestimmte Wellenlänge λ zugeschrieben werden [Meschede, 2006]:

$$\lambda = \frac{h}{m \cdot v}$$

Abb. 5.01: Die Wellenlänge λ eines Teilchens ergibt sich aus dem Planckschen Wirkungsquantum h , seiner Masse m und seiner Geschwindigkeit v .

Die de Broglie-Wellenlänge ist direkt abhängig von der Beschleunigungsspannung und liegt weit unter der des sichtbaren Lichtes ($\lambda = 0,005 \text{ nm}$ bei 60 kV). So lassen sich Auflösungen im Nanometerbereich realisieren.

Mit dem fokussierten Elektronenstrahl des REM wird zeilenweise die Probenoberfläche abgefahren (gerastert), sodass die Primärelektronen lokal gestreut werden und es zu Anregungen und Wechselwirkungen mit dem Probenmaterial kommt. Für die Bilderstellung werden hauptsächlich resultierende Sekundärelektronen aus den äußeren Atomschalen verarbeitet.

Die stärkere Vergrößerungsmöglichkeit von REM kann stufenlos variiert und eingestellt werden, außerdem besitzen diese Geräte eine bessere Tiefenschärfe als Lichtmikroskope. Allerdings muss die Rasterelektronenmikroskopie im Vakuum stattfinden um Wechselwirkungen des Elektronenstrahls mit Molekülen und Partikeln der Umgebungsluft auszuschließen. Daher können mit einem REM nur speziell geeignete oder vorbereitete und nicht vitale Proben untersucht werden. Anforderungen an das Probenmaterial sind zum einen die Stabilität im Ultrahochvakuum und Wasserfreiheit (nötigenfalls erreicht durch Trocknungstechniken) sowie andererseits die elektrische Leitfähigkeit der Struktur. Elektrische Aufladungen speziell von biologischen Proben können durch

ausreichende Goldbedampfung weitgehend reduziert werden [Attin, 2006]. Weiterhin sollte die Probenoberfläche unbeschädigt und sauber sein, denn Beschädigungen oder Präzipitate können Oberflächendetails verdecken, falsche Informationen liefern und die Untersuchungsqualität beeinträchtigen.

In der vorliegenden Studie wurde mit einer Beschleunigungsspannung von 15 kV gearbeitet. Das so mit dem REM erreichte Auflösungsvermögen (≈ 10 nm) war im Vergleich zu den abgebildeten Strukturen im Mikrometerbereich ausreichend. Die Spannung ermöglichte zudem eine gute Tiefenschärfe und war durch das niedrigere Energieniveau relativ schonend für das Probenmaterial.

Einige alternative Methoden zur Detaildarstellung von Objekten sind in der Forschung geläufig, jedoch für das hier untersuchte Probenmaterial und Studienziel nicht in dem Umfang geeignet wie das REM [Sieber und Schué, 2010; Wengenmayr, 2011].

Neben den zur Bilderstellung genutzten Sekundärelektronen können auch andere Wechselwirkungsprodukte von Elektronenstrahl und Probenoberfläche zur Analyse verwendet werden. Die energiedispersive Röntgenspektroskopie nutzt den Elektronenstrahl des REM dazu, die Probe zur Emission von Röntgenstrahlung anzuregen und so eine qualitative Aussage über die chemische Zusammensetzung der oberflächlichen Probenstruktur zu ermöglichen [Attin, 2006]. Die auftretenden Röntgenquanten werden von einem Detektor registriert und gezählt sowie jeweils ihre spezifische Energie bestimmt. Diese Energie ist charakteristisch für jedes Element. Das Ergebnis einer solchen Messung wird als Energiespektrum ausgegeben. Darin ist die Identifikation und Quantifizierung einzelner Elemente durch verschiedene Algorithmen anhand ihrer charakteristischen Röntgenpeaks vor dem kontinuierlichen Untergrund der allgemeinen Röntgenbremsstrahlung möglich [Statham, 1976; Roomans, 1988; Love und Scott, 2001]. Damit ein Element zweifelsfrei nachgewiesen werden kann, müssen die Quanten-Zählrate und der Peak am spezifischen Energieniveau im Spektrum klar über dem aufgezeichneten Untergrund liegen und auch von Peaks anderer Elemente abgegrenzt werden können. Im Grenzbereich zum Untergrund liegende Peaks sind nicht aussagekräftig [Love und Scott, 2001].

Lange galt die wellenlängendispersive Elementanalyse (WDX) mit ihrer hohen spektralen Auflösung und Genauigkeit als Maßstab auf diesem Gebiet. Mit

Weiterentwicklung der energiedispersiven Elementanalyse (EDX) und Einführung von Silicon-Drift-Detektoren (SDD) in diesem Bereich können heute aber EDX-Messungen mit derselben Präzision durchgeführt werden. Vorteile der EDX-Untersuchungen sind zudem eine deutlich kürzere Untersuchungszeit, geringere Anforderungen an die Probenpräparation (auch raue Oberflächen, kein Polieren nötig) sowie die simultane Aufzeichnung mehrerer Spektren zur synchronen Analyse verschiedener Elemente. WDX-Untersuchungen können unterschiedliche Elemente nur sequentiell analysieren [Reimer, 1998; Love und Scott, 2001; Abou-Ras et al., 2011; Newbury und Ritchie, 2012; Ritchie et al., 2012].

In der vorliegenden Studie wurde mit einer Analysedauer von 120 s und einer konstant gehaltenen Gesamt-Zählrate von 1,0 kcps bei einer Detektor-Totzeit von $\leq 5\%$ gearbeitet. Die Elementidentifizierung und -quantifizierung durch den Software-Algorithmus im Peak-zu-Untergrund-ZAF-Modell schloss Detektor-Korrekturfaktoren ein und war standardfrei. Die standardfreie Quantifizierung liefert auf Basis von Atomdatenbanken relative Elementkonzentrationen der zur Messung ausgewählten Elemente an der Zusammensetzung im Analysevolumen [Pouchou, 1994; Reimer, 1998; Eggert, 2006; Newbury und Ritchie, 2012].

Das Entfallen eines Standards schließt die Möglichkeit von Abweichungen oder Messfehlern aus, die aus unterschiedlichen Zusammensetzungen der Proben und des Standards an sich entstehen können. Die standardfreie Analyse ist etwas weniger exakt, gleichwohl für die vorliegende Fragestellung vollkommen geeignet [Nicholson, 1994; Newbury, 1999; Burgess et al., 2007; Ritchie et al., 2012]. Gerade bei einem biologischen und topographisch heterogenen Analysestoff wie dem Zahnschmelz wäre die Definition eines Referenzstandards schwierig. Das Mineral ist zwar eine fast rein kristalline Struktur, enthält jedoch etwa 1 Gew% organische Matrix (Proteine, Kohlenhydrate, Lipide), ungefähr 4 Gew% überwiegend gebundenes Wasser und verschiedenste Spurenelemente [Nikiforuk, 1985; Radlanski, 2011b]. Zudem ist der Zahnschmelz chemisch ein stark substituierter, kalziumarmer und kohlenstoffhaltiger Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10-x}\text{Na}_x[\text{PO}_4]_{6-y}[\text{CO}_3]_z[\text{OH}]_{2-u}\text{F}_u$), wodurch sich im Vergleich zu reinem Hydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$) stets variierende Abweichungen ergeben würden [Featherstone und Lussi, 2006].

Die Ergebnisse der EDX-Analyse mit standardfreier Elementquantifizierung zeigen im vorliegenden Fall eine sehr gute Reproduzierbarkeit. Das verdeutlicht sich zum einen direkt in den übereinstimmenden Ergebnissen der Reproduzierbarkeitsmessungen zur EDX-Analyse und zum anderen auch in den übereinander projizierten Spektren aller 15 Proben jeweils einer Placebo-Gruppe, deren Graphen sehr homogen und deckungsgleich waren.

5.2 Ergebnisse

Die antierosiven Wirkungen von Zinn, ihre beachtliche Effektivität sowie der Wirkungsmechanismus wurden in den vergangenen Jahren beschrieben [Willumsen et al., 2004; Young et al., 2006; Hove et al., 2006; Ganss et al., 2008; Schlueter et al., 2009b]. Mundspüllösungen mit Zinn- und Fluoridverbindungen führen zu einer Aufnahme von Zinn in den Zahnschmelz, wodurch strukturell veränderte und zinnhaltige Schmelzbereiche entstehen, die eine höhere Säurestabilität besitzen [Schlueter et al., 2009b]. Es wurde gezeigt, dass Mundspüllösungen mit diesen Wirkstoffen eine außerordentlich gute Schutzwirkung vor erosiven Zahnhartsubstanzschäden bieten [Ganss et al., 2008; Schlueter et al., 2009a; Ganss et al., 2010]. Im Gegensatz dazu blieb der schützende Effekt von Zahnpasten mit ebenfalls zinn- und fluoridhaltigen Verbindungen als Wirkstoff hinter den erhofften Erwartungen zurück [Ganss et al., 2011]. Eine eventuelle Ursache dafür könnte der komplizierte Aufbau von Zahnpasten sein, die sich anders als Mundspüllösungen aus einer Vielzahl von Bestandteilen zusammensetzen. Neben den eigentlichen Wirkstoffen (<1%) sind vor allem Abrasivkörper (30-50%), Lösungsmittel und Wasser (je 20-30%) deren Hauptbestandteile. Dazu kommen weitere Komponenten, die für die Haltbarkeit (Konservierungsmittel), die Funktion (Befeuchtungs- oder Verdickungsmittel, Tenside) oder die Verbesserung der Wirksamkeit hinzugefügt werden [Addy, 2005]. Die Wirkungsweise von zinn- und fluoridhaltigen Zahnpasten weicht daher möglicherweise aufbaubedingt von derjenigen der Mundspüllösungen ab. Diese Überlegungen führen zu der Hypothese, ob Zinn mit den einzelnen Bestandteilen von Zahnpasten reagiert oder Wechselwirkungen eingehen kann und inwiefern solche Effekte die Wirksamkeit beeinflussen.

In der Vorgängerstudie wurde der Zusammenhang von verschiedenen Abrasivstoffen (Silika-Putzkörper in verschiedenen Konzentrationen sowie

Polyethylen-Putzkörper) in zinn- und fluoridhaltigen Zahnpasten gegenüber dem erosiven Substanzverlust untersucht. Es ergab sich dabei für die Zahnpastenformulierungen mit höherer Konzentration an Silika-Putzkörpern ein geringerer Zahnhartsubstanzverlust. Somit beeinflusste die Art und Menge der Abrasiva die Gesamtwirksamkeit der Zahnpastenformulierung. Außerdem demonstrierte jene Vorgängerstudie das antierosive Potential des Biopolymers Chitosan. Unabhängig von Art und Menge der Abrasiva im Testprodukt war die Wirksamkeit bezüglich der Reduktion des Substanzverlustes in Gegenwart von Chitosan erhöht. Chitosan als neuer Wirkstoff in Zahnpasten kann die Wirkung von zinn- und fluoridhaltigen Formulierungen demnach verstärken. Der zugrunde liegende Wirkmechanismus ist jedoch bisher unbekannt.

Vor dem Hintergrund der Ergebnisse der Vorgängerstudie blieben einige Fragen zum Wirkmechanismus von Zinn und Chitosan sowie der Bedeutung von Abrasiva offen, die durch die vorliegende Studie beantwortet werden sollten.

Mit diesem Ziel wurde zunächst analysiert, ob es nach der Anwendung von zinn- und fluoridhaltigen Zahnpastenformulierungen überhaupt zu einer Aufnahme von Zinn in den Zahnschmelz kommt.

Darüber hinaus sollte die Frage beantwortet werden, inwiefern Abrasivstoffe einen Einfluss auf die Aufnahme von Zinn in den Schmelz und damit die Wirksamkeit der Zahnpasta haben. In diesem Zusammenhang bleibt ebenso zu klären, ob Abrasiva in der Zahnpastenformulierung mit Zinn interagieren indem sie es adsorbieren und so dessen Verfügbarkeit verringern. Dadurch könnten Abrasiva die allgemeinen Effekte des Produktes beeinflussen. Weiterhin war von Interesse, welchen Einfluss Abrasiva auf die Ultrastruktur von erodiertem Schmelz haben. Dazu wurden hier REM-Strukturaufnahmen ausgewertet.

Außerdem sollte die Frage geklärt werden, ob der neue Wirkstoff Chitosan zu einer möglicherweise höheren Zinnaufnahme im Schmelz führt. Ebenso wurde analysiert, ob Chitosan die Effekte von Abrasiva auf die Ultrastruktur von erodiertem Schmelz verändert sowie gleichfalls, ob Chitosan die Zinnadsorption an Abrasiva beeinflussen kann, falls diese Zinn adsorbieren.

Voraussetzung zur Beurteilung des Zinngehalts auf den Schmelzoberflächen ist die Kenntnis der allgemein verfügbaren Zinnkonzentration in den verwendeten

Zahnpastensuspensionen (Slurries) aus dem Versuch. In diesbezüglichen Messungen hat sich herausgestellt, dass die Zinnverfügbarkeit in den Zahnpastensuspensionen grundsätzlich ausreichend ist (GABA-Daten). Jedoch war sie gegenüber der ursprünglichen Zinnkonzentration in den Zahnpasten teils merklich reduziert. In den Keine Abrasiva-Versuchsgruppen wurde vollständig verfügbares freies Zinn festgestellt.

Ähnliche Beobachtungen zur Zinnverfügbarkeit wurden in einer aktuellen Studie beschrieben; darin waren die verfügbaren Zinnkonzentrationen in Zahnpasten ebenfalls in vergleichbarer Größenordnung reduziert während diejenige eines abrasivfreien Gels nicht eingeschränkt war [Ganss et al., 2012].

Trotz der unterschiedlichen Zinnverfügbarkeiten in den Zahnpastensuspensionen konnte mithilfe von EDX-Messungen auf allen Schmelzoberflächen, die wirkstoffhaltigen Testprodukten ausgesetzt waren, Zinn nachgewiesen werden. Bemerkenswert am höchsten waren die Zinnkonzentrationen jeweils in den Gruppen ohne Abrasiva (Keine Abrasiva). Dieser Effekt war gegenüber den Gruppen mit Abrasiva im gesamten Versuch mit bis zu dreifach höheren Werten deutlich erkennbar.

Eine ähnliche Wirksamkeit wurde auch in einer anderen Studie zu Zahnpastenformulierungen beschrieben, in der ein Produkt ohne Abrasiva die höchste Zinnaufnahme im Schmelz bewirkte und als Positiv-Kontrolle fungierte [Ganss et al., 2012]. Einen ebenfalls vergleichbaren Zusammenhang, allerdings hinsichtlich der Substanzverlustreduktion, fand eine andere Zahnpasten-Studie auch beim Vergleich zweier zinnhaltiger Produkte, denn das abrasivfreie Testprodukt schnitt dabei deutlich besser ab als die Zahnpasta mit Abrasiva [Ganss et al., 2011].

Die Beobachtung aus der vorliegenden Studie mit besonders starker Zinnaufnahme bei den Keine Abrasiva-Gruppen lässt sich zudem mit der schon zuvor beschriebenen Zinnaufnahme im Schmelz nach Anwendung einer zinnhaltigen Mundspüllösung in Beziehung setzen [Schlueter et al., 2009b]. In dieser Studie wurde eine zinn- und fluoridhaltige Mundspüllösung in verschiedenen Konzentrationen angewendet und nachfolgend die Zinnaufnahme im Schmelz gemessen. Die Zahnpastensuspensionen aus den Keine Abrasiva-Gruppen der vorliegenden Arbeit entsprachen bei fehlenden Abrasivkörpern und

gleichem Wirkstoff (SnCl_2) am ehesten der Zusammensetzung jener Mundspüllösung. Lediglich die enthaltene Fluoridkonzentration unterschied sich geringfügig. Bei einer Zinnkonzentration von 400 ppm in der Mundspüllösung resultierten in der beschriebenen Studie Zinnaufnahmewerte auf der Schmelzoberfläche von $6,1 \pm 1,1$ Gew% und bei 1400 ppm Zinnkonzentration waren es $14,5 \pm 2,8$ Gew%, bevor danach langsam ein Sättigungsbereich erreicht wurde. Im Vergleich dazu war hier die Zinnaufnahme aus der abrasivafreien Zahnpastensuspension bei umgerechnet 875 ppm Zinngehalt mit $3,2 \pm 0,7$ Gew% deutlich geringer.

Obwohl nach Anwendung der zinn- und fluoridhaltigen Zahnpastenformulierung also eine offenkundige Zinnaufnahme in die Schmelzoberfläche stattgefunden hat, ist diese selbst bei Betrachtung der abrasivafreien und damit mundspüllösungsähnlichsten Zahnpastenformulierung wesentlich weniger stark ausgeprägt. Als Ursache dafür können neben dem geringfügig verschiedenen Fluoridgehalt der hier verglichenen Produkte weiterhin vor allem aufbaubedingte Unterschiede zwischen Mundspüllösungen und Zahnpastenformulierungen angesehen werden.

5.2.1 Chitosan

Die Stoffbezeichnung Chitosan ($\text{C}_6\text{H}_{11}\text{NO}_4$)_n steht als Überbegriff für Biopolymere, die vom Ursprungsstoff Chitin ($\text{C}_8\text{H}_{13}\text{NO}_5$) abstammen und der einer der weit verbreitetsten Naturstoffe ist (unter anderem im Exoskelett von Insekten, Krebstieren und Spinnen sowie in der Zellwand von Pilzen). Aus Chitin kann Chitosan durch Deacetylierung gewonnen werden. Ab einem Grad an Deacetylierung von über 70% spricht man von Chitosan [Li et al., 1992]. Dieses Ausmaß ist es, was den Hauptunterschied zum Ausgangsstoff darstellt und das für die verschiedenen Eigenschaften verantwortlich ist.

Chitosan hat durch seine primären Aminogruppen bei niedrigem pH-Wert eine starke positive Ladung, ist daher polar und in der Lage zu elektrostatischen Wechselwirkungen. Es agiert als schwache Base (pK_s 6-7) und ist so löslich in sauren wässrigen Lösungen [Tharanathan und Kittur, 2003; Ravi Kumar et al., 2004; Bernkop-Schnürch und Dünnhaupt, 2012]. Mit diesen physikochemischen Eigenschaften bietet es ein sehr großes Anwendungspotential in Industrie und Gewerbe. Durch seine biologische Herkunft, fehlende Toxizität oder Nebenwirkungen und die enzymatische Abbaubarkeit ist Chitosan ebenso für den

medizinischen Einsatz vielfältig geeignet. In der Pharmakologie gibt es erhebliche Forschung zu Verwendungen in der Medikamentenapplikation und als Trägerstoff zur gezielten Wirkstoffdeposition, bis hin zur Nutzung als Vektor in der Gentherapie [Tharanathan und Kittur, 2003; Ravi Kumar et al., 2004; Bernkop-Schnürch und Dünnhaupt, 2012].

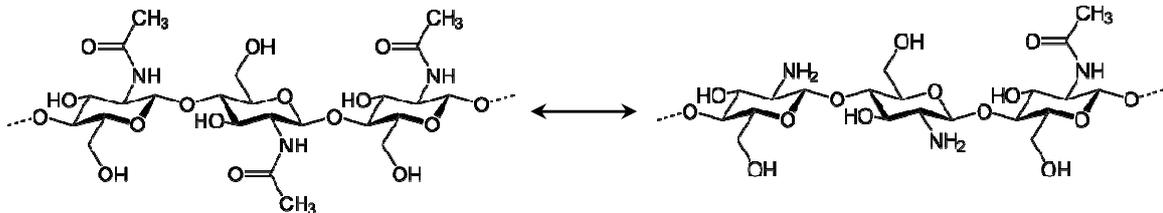


Abb. 5.02: Ausgangsstoff Chitin (links; $[C_8H_{13}NO_5]$); nach zweimaliger Deacetylierung entsteht Chitosan (rechts; $[C_6H_{11}NO_4]_n$) mit hier noch einer verbliebenen Acetylgruppe. (Abbildung aus Wikipedia, nicht urheberrechtlich geschützt)

Eine *in vitro*-Studie fand einen deutlich reduzierenden Einfluss von Chitosan in Lösungen auf die Schmelzdemineralisation und Freisetzung von Phosphaten [Arnaud et al., 2010]. Weiterhin wurden zur Kariesprophylaxe erfolgreich Aerosole von Chitosan-Mikropartikeln als Trägerstoffe für den Transport von Fluoriden in die Mundhöhle eingesetzt. Dieser Ansatz könnte vielleicht auch in Kombination mit Zinnionen zur Erosionstherapie eingesetzt werden [Keegan et al., 2012].

Seine antierosiven Eigenschaften demonstrierte Chitosan eindrucksvoll in einer fluoridfreien, aber chitosanhaltigen Zahnpasta, die den erosiven Substanzverlust in vergleichbarem Maße reduzieren konnte wie fluoridhaltige Produkte [Ganss et al., 2011]. Die Wirkung von Chitosan auf den Substanzverlust war auch in der Vorgängerstudie unabhängig von Menge und Art der Abrasiva positiv.

In der vorliegenden Studie wurde die Zinnaufnahme im Schmelz durch Chitosan in den Zahnpastenformulierungen maßgeblich beeinflusst und erheblich erhöht. Sämtliche Schmelzproben, die mit Zahnpasten inklusive Chitosan behandelt worden waren, zeigten signifikant höhere Zinnaufnahmewerte ihrer Oberflächen gegenüber den Proben die einer Formulierung ohne Chitosan ausgesetzt waren. Neben der günstigen Beeinflussung des Substanzverlustes in der Vorgängerstudie verbesserte Chitosan hier also grundsätzlich auch die Zinnaufnahme in oberflächlichen Schmelzschichten. Dies fand in einem bemerkenswerten Ausmaß statt und ist ein hervorzuhebendes Ergebnis der vorliegenden Arbeit.

Einen vergleichbaren Effekt deutete Chitosan auch in einer anderen Studie an, in der verschiedene Zahnpasten hinsichtlich ihrer antierosiven Wirkung auf den Substanzverlust untersucht wurden [Ganss et al., 2012]. Bei den Zahnpasten mit zusätzlich zinnhaltigem Wirkstoff war außerdem der Zinngehalt der Schmelzproben gemessen worden. Dabei war aufgefallen, dass bei zwei grundsätzlich gleich formulierten Zahnpasten mit Zinn diejenige mit Chitosan eine Zinnaufnahme in doppelter Höhe bewirkte. Ebenfalls war die Zahnpasta mit Chitosan in der Reduktion des Substanzverlustes deutlich am wirksamsten und verminderte diesen im Vergleich zu den anderen zinnhaltigen Formulierungen doppelt so effektiv.

Über die genaue Wirkungsweise dieses Biopolymers und seine Interaktionen mit dem Schmelz, den zinnhaltigen Wirkstoffen, dem Pellikel und anderen Geweben oder Zahnpastabestandteilen ist allerdings noch wenig bekannt. Ein auffälliges antierosives Potential, gerade in Kombination mit Zinn, scheint aber vorhanden.

Aufgrund seiner physikalisch-chemischen Eigenschaften kann Chitosan an Oberflächenstrukturen mit negativen elektrischen Potentialen adsorbieren und einen flachen Oberflächenfilm bilden. Diese Schicht verändert sich pH-abhängig, bleibt insgesamt beständig und liegt gerade unter sauren Bedingungen eng an der Oberfläche an [Claesson und Ninham, 1992; Tharanathan und Kittur, 2003]. Zudem können die Chitosan-Auflagerungen mehrschichtig sein [Svensson et al., 2006; Guo und Gemeinhart, 2008]. Der Zahnschmelz bietet mit seinem negativen Zeta-Potential (ζ) von -17 bis -30 mV (oder unter Speichereinfluss -10 bis -14 mV) [Young et al., 1997] eine entsprechend gute Anlagerungskapazität für Chitosan.

Vor diesem Hintergrund ist vor allem interessant, dass der Schmelz durch Behandlung mit Zinnfluorid-Lösungen eine besonders stark negativ geladene Oberfläche mit hoher negativer Ladungsdichte erhält. Eine Studie, die diesen Zusammenhang untersucht hat, ermittelte ein Zeta-Potential (ζ) der Schmelzoberfläche von etwa -50 mV nach SnF_2 -Einwirkung in vitro (auf synthetischen Hydroxylapatit-Scheiben waren es sogar -70 mV) [Kambara und Norde, 1995]. Das wären denkbar optimale Bedingungen für Chitosan um sich auf der Schmelzoberfläche anzureichern.

Es kann nun postuliert werden, dass Chitosan über die Adsorption an den Schmelz eine schützende Barrierschicht aufbaut, die möglicherweise wiederum

die Zinnaufnahme im Schmelz beeinflusst und erhöht. Ebenso könnte die Chitosanauflagerung selbst eine zusätzliche Auswirkung auf die Anfälligkeit gegen Erosionen haben [Arnaud et al., 2010].

Darüber hinaus gibt es in vivo mit der Mundschleimhaut und den Pellikel-Proteinen weitere Strukturen zur möglichen Chitosan-Anlagerung. So führt die Adsorption von Chitosan an Pellikel-Proteine zu deren Aggregation [van der Mei et al., 2007]. Auch adsorbierte Zinnionen können eine Wirkung auf die Pellikel-Proteine haben. Indem sie deren Quervernetzungen auslösen, wird die Durchlässigkeit des Speichelfilms für Ionen reduziert, was auf diesem Wege eine weitere Erklärung für den antierosiven Effekt von Zinn und ein weiterer Wirkmechanismus sein könnte [Hannig et al., 2003; Veeregowda et al., 2011]. Es kann an dieser Stelle lediglich gemutmaßt werden, ob die beschriebenen Effekte jeweils einzeln zu beobachten und zu werten sind, oder ob es mögliche Kombinationswirkungen von Chitosan und Zinn mit Pellikel-Proteinen geben könnte, die wiederum die Zinnaufnahme im Schmelz oder dessen Säurestabilität entscheidend beeinflussen.

Daneben bleibt festzuhalten, dass auch das Pellikel ein vorstellbarer Angriffspunkt für Erosionsschutz versprechende neue Therapieansätze oder Wirkstoffe sein kann. Über Quervernetzungen oder andere Wechselwirkungen zwischen den Pellikel-Proteinen und den Wirkstoffen kann dessen Säurestabilität und physiologische Schutzwirkung möglicherweise verbessert werden [Tabak, 1990; Yin et al., 2006; Cheaib und Lussi, 2011].

Gemäß der Hypothese, dass sich Chitosan auf der Schmelzoberfläche in bedeutender Menge anreichert, müsste es dort auch mess- und nachweisbar sein. Um auf diese Fragestellung einzugehen wurden in der vorliegenden Studie spezielle Kohlenstoffgehaltsuntersuchungen auf den Schmelzoberflächen durchgeführt. Da Chitosan $(C_6H_{11}NO_4)_n$ im Molekül einen hohen Gehalt an Kohlenstoff aufweist, könnte so vermeintlich der indirekte Nachweis erfolgen.

Die EDX-Analysen von ausgewählten Versuchsgruppen wurden daher zusätzlich hinsichtlich der Kohlenstoffkonzentration auf der Schmelzoberfläche ausgewertet. Nach Kontakt einer Probe mit chitosanhaltigen Testformulierungen während des Versuches könnte sich möglicherweise eine erhöhte Kohlenstoffmenge finden lassen. Allerdings kann der gemessene Kohlenstoff auch aus anderen Quellen

stammen. Hierzu kommen neben den verschiedenen Bestandteilen oder Hilfsstoffen der experimentellen Zahnpastenformulierungen auch die weiterhin enthaltenen Wirkstoffkomponenten in Frage: Aminfluorid ist als Ursprung für erhöhte Kohlenstoffwerte ebenso denkbar. Daher ist der Vergleich von Abrasivagruppen gleichen Typs und gleicher Zusammensetzung aber mit unterschiedlicher Anwesenheit von Chitosan in der Testformulierung besonders interessant.

Bei der allgemeinen Gegenüberstellung der hier ermittelten Ergebnisse waren die Kohlenstoffkonzentrationen in allen wirkstoffhaltigen Gruppen (Keine Abrasiva, 20% Silika, 20% Polyethylen) höher als die in den Placebo-Gruppen. Der Kohlenstoffgehalt auf den Versuchsflächen der Placebo-Proben hingegen entsprach im Wesentlichen jenem niedrigen Ausmaß, das auch auf den Referenzflächen verschiedener Proben gemessen worden war. Damit wurde festgestellt, dass die Kohlenstoffkonzentration auf den Versuchsflächen nicht von den Hilfsstoffen der Zahnpastenformulierungen stammen kann, denn die unbehandelten Referenzflächen hatten bei vergleichbaren Kohlenstoffwerten keinen Kontakt zu den Testformulierungen.

Die Kohlenstoffwerte in den abrasivafreien Gruppen mit Chitosan waren unabhängig von der Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) deutlich am höchsten. Diese Werte waren auch signifikant höher als die der abrasivafreien Gruppen ohne Chitosan.

Die verschiedenen Gruppen mit Abrasiva und Wirkstoffen in der Testformulierung (20% Silika, 20% Polyethylen) zeigten grundsätzlich höhere Kohlenstoffkonzentrationen als die Placebo-Gruppen, ihre Werte waren jedoch ohne und mit Chitosan jeweils etwa vergleichbar groß. Bei allen untersuchten Gruppen bewirkten die verschiedenen Behandlungsarten (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) keine wesentlichen Unterschiede des Kohlenstoffgehalts.

Im Ergebnis war ausschließlich in den Keine Abrasiva-Gruppen eine Beziehung zwischen dem Kohlenstoffgehalt der Schmelzoberfläche und der Anwesenheit von Chitosan in der Testformulierung festzustellen. Der indirekte Nachweis von Chitosan über den Kohlenstoffgehalt der Oberfläche wäre demnach nur in den Gruppen ohne Abrasiva (Keine Abrasiva) möglich gewesen und konnte bei Anwesenheit von Abrasiva nicht gelingen.

Dementsprechend wurde deutlich, dass Wechselwirkungen zwischen Chitosan und den Abrasivstoffen in den experimentellen Zahnpasten auftreten. Diese könnten ebenfalls Auswirkungen auf die Zinnaufnahme im Schmelz haben.

Die Betrachtung der Korrelation von Kohlenstoff- und Zinnkonzentration auf der Schmelzoberfläche ergab danach sowohl bei Bürstbehandlung als auch bei Slurrybehandlung einen positiven linearen Zusammenhang in unterschiedlicher Ausprägung. Damit wird gezeigt, dass bei zunehmendem Kohlenstoffgehalt ebenfalls eine steigende Menge Zinn auf den Proben nachweisbar ist.

Chitosan erhöht die Zinnaufnahme im Schmelz. Es kann damit ein möglicher Synergismus von Chitosan und Zinn gefolgert werden, der eventuell auch ihre protektiven Wirkungen beeinflusst. Welche einzelnen Mechanismen oder Effekte sich im komplizierten Zusammenspiel der Wirkstoffe und Bestandteile der Zahnpasten genau ereignen konnte hier allerdings nicht aufgeklärt werden.

5.2.2 Abrasiva

Abrasiva sind grundlegende Bestandteile einer Zahnpasta und werden dazu eingesetzt Plaque und Verfärbungen von den Zähnen zu beseitigen [Joiner, 2010]. Verbunden mit dieser Säuberungsfunktion ist immer auch das Risiko Schäden an der Zahnhartsubstanz hervorzurufen oder zu verstärken [Moore und Addy, 2005]. Damit die verbesserte Putzeigenschaft nicht eine erhöhte Abrasivität zur Folge hat, wurden spezielle Abrasivstoffe entwickelt, die ein großes Reinigungspotential mit einer geringen Substanzschädigung verbinden [Wülknitz, 1997]. Neben früher geläufigen Putzkörpertypen wie Kalziumkarbonat, verschiedenen Kalziumphosphat-Verbindungen ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; CaHPO_4 ; $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$) oder natriumhaltigen Substanzen ($[\text{NaPO}_3]_x$; NaHCO_3) sind heute vor allem Silika-Abrasiva (SiO_2) gebräuchlich, auch da sie die Verfügbarkeit von Fluorid nicht einschränken [Hattab, 1989; Einweg et al., 1995]. In der vorliegenden Studie kamen zusätzlich Polyethylen-Partikel ($[\text{C}_2\text{H}_4]_n$) zum Einsatz. Abrasiva machen mit 30-50% oder mehr den größten Teil der Inhaltsstoffe einer Zahnpasta aus [Hattab, 1989]. Dabei ergibt sich eine kontroverse Situation für den Erosionsschutz. Abrasivstoffe sind nämlich unabdingbar für den physikalischen Reinigungseffekt. Sie können aber über Abrasion ebenso die Zahnhartsubstanz schädigen sowie demineralisierten Schmelz, der anfälliger als intakter Schmelz ist, angreifen und zur Aggravation von Erosionsschäden führen [Addy und Hunter, 2003; Vieira et al., 2006; Voronets und Lussi, 2009].

Insgesamt betrachtet gibt es bisher nur sehr wenige Erkenntnisse zu spezifischen Wirkungen von Abrasiva in antierosiven Zahnpasten. Abgesehen von dem vor allem physikalischen Effekt ihrer Reinigungsfunktion ist ihr Einfluss auf die Zinn-Wirkstoffe, auf Chitosan und ebenso die Gesamtwirkung des Produktes noch weitestgehend unklar.

Die Vorgängerstudie konnte eine Beziehung zwischen Abrasivatyp und -konzentration in der Zahnpastenformulierung und der Wirkung auf die Reduktion des erosiven Substanzverlustes aufdecken. Dabei war unerwartet und überraschend, dass der Substanzverlust bei den Silika-Abrasiva nicht proportional mit ihrer Konzentration zunahm, sondern insbesondere bei höherem Silika-Gehalt wieder abnahm. Um eine Erklärung für diesen Zusammenhang zu finden und dieses Ergebnis zu interpretieren, wurde in der vorliegenden Studie auf jenen Proben auf denen zuvor der Substanzverlust gemessen worden war jetzt die Zinnkonzentration auf der Schmelzoberfläche bestimmt.

Hier konnte bei den mit Silika-Abrasiva behandelten Proben allerdings keine grundsätzlich höhere Zinnaufnahme im Schmelz bei höherer Abrasivakonzentration in der Zahnpastenformulierung nachgewiesen werden. Mit zunehmender Silika-Konzentration in der Formulierung wurden entweder sehr ähnliche Zinnkonzentrationen auf der Schmelzoberfläche gemessen oder überdies eine abnehmende Tendenz festgestellt.

Aus den Messungen der vorliegenden Studie ließ sich vor diesem Hintergrund ableiten, dass für die Abrasiva weniger deren Konzentration in der Zahnpastenformulierung, sondern vielmehr deren grundsätzliche Anwesenheit oder ihr Fehlen entscheidend für die Zinnaufnahme auf der Schmelzoberfläche ist.

Auch wenn in allen Versuchsreihen die Keine Abrasiva-Vergleichsgruppen mit bis zu dreifach höheren Werten weitaus die höchsten Zinnkonzentrationen aufwiesen, sollte dennoch auf die Unverzichtbarkeit der Putzkörper in einer Zahnpasta hingewiesen werden und mögliche eigene Effekte oder Wechselwirkungen der Abrasiva mit den Wirkstoffen skizziert werden.

Die Zinnaufnahme und damit die Wirksamkeit der Zahnpastenformulierung wird durch die Verfügbarkeit der Wirkstoffe beeinflusst. Abrasiva können je nach Typ

unterschiedliche physikochemische Eigenschaften haben und damit verbunden verschiedene Auswirkungen auf die Wirkstoff-Verfügbarkeit. Diese Effekte zeigten sich bei den Messungen zur Zinnverfügbarkeit in den Zahnpastensuspensionen.

Es ergaben sich bei den Silika-Gruppen gegenüber den abrasivafreien Suspensionen vergleichsweise reduzierte Werte. Grundsätzlich wurde jedoch noch genügend freies Zinn in allen Formulierungen festgestellt. Auch bei höheren Silika-Konzentrationen in den experimentellen Zahnpasten hatte die Zinnverfügbarkeit praktisch einen eher konstanten Wert. Die Polyethylen-Gruppen wiesen geringfügig höhere Verfügbarkeiten als die Silika-Gruppen auf (GABA-Daten).

Um der Frage nachzugehen ob Interaktionen des Zinnwirkstoffs mit den Silika-Putzkörpern hierbei einen Einfluss haben, wurden Putzkörperanalysen der Silika- und Polyethylen-Abrasiva bezüglich ihres oberflächlichen Zinngehalts mit EDX-Messungen durchgeführt. Es konnte dabei erstmals gezeigt werden, dass sich Zinn in nachweisbaren Konzentrationen auf Silika-Putzkörpern befindet. Diese neue Erkenntnis könnte einen Erklärungsansatz für die reduzierte Zinnverfügbarkeit bei Anwesenheit von Silika in der Zahnpastensuspension bieten. Es fiel ein großer Unterschied in der Zinnadsorption zwischen den oberflächlich zerklüfteten sowie rauen Silika- und den glatt-sphärischen Polyethylen-Abrasiva auf. Die Silika-Abrasiva zeigten klar die höchsten Zinnkonzentrationen. Gleichzeitig war auf den Polyethylen-Partikeln nur sehr wenig Zinn messbar. Mit diesem bedeutsamen Ergebnis wird in der vorliegenden Studie erstmals die Annahme bestätigt, dass positiv geladene Zinnionen (Sn^{2+}) an die Silika-Abrasiva mit negativem Zeta-Potential (ζ) adsorbieren können [Kim und Lawler, 2005]. Eine Strategie könnte folglich sein, Silika-Abrasiva als Transportvehikel für die Zinnionen aus der Zahnpasta zur Schmelzoberfläche einzusetzen. Jedoch bleibt festzuhalten, dass der Effekt auf die zusätzliche Zinnaufnahme eher gering ausgefallen war. Die Anwesenheit von Chitosan in der Formulierung beeinflusste die Zinnadsorption an die verschiedenen Abrasivatypen nicht wesentlich.

Die leicht höheren Zinnverfügbarkeitswerte der Polyethylen-Gruppen sind vermutlich der Tatsache geschuldet, dass kaum Zinn auf diesem Abrasivatyp nachgewiesen werden konnte und damit etwas höhere Werte als in den Silika-Gruppen resultierten. Allerdings wurde die Zinnverfügbarkeit der Polyethylen-Gruppen generell durch ebenfalls enthaltene Silika-Partikel reduziert, die der

Formulierung als Putzkörper-Grundbestandteile hinzugefügt wurden um die Abrasivität zu adjustieren.

Weitere Überlegungen betreffen perspektivisch Alternativen zu Silika-Putzkörpern. Ein Abrasivatyp, der die Wirkstoffe (Zinn und/oder Fluorid) in der Zahnpasta nicht bindet und damit eine höhere Verfügbarkeit von diesen ermöglicht sowie gleichzeitig eine zufriedenstellende Putzkraft bietet, wäre für eine Zahnpasta mit antierosiver Indikation ideal. Noch ist die Entwicklung solcher Partikel allerdings nicht abzusehen. Die hier ebenfalls verwendeten Polyethylen-Abrasiva adsorbierten den Zinnwirkstoff zwar kaum, allerdings ist deren Potential bei alleinigem Einsatz als Reinigungspartikel nur gering und nicht ausreichend. So bleibt dieses Gebiet eine Aufgabe der zukünftigen Forschung.

In der vorliegenden Studie konnten die absolut höchsten Zinnkonzentrationen auf den Proben der Keine Abrasiva-Gruppen nachgewiesen werden, bei bis zu dreifach höheren Zinnwerten verglichen mit abrasivhaltigen Formulierungen.

Innerhalb der abrasivhaltigen Gruppen war die Zinnaufnahme bei Anwesenheit von Chitosan in den 20%-Silika-Gruppen am größten. Im Gegensatz dazu lag der Zinngehalt der 20%-Silika-Gruppen ohne Chitosan abhängig von der Behandlungsart im Bereich der anderen Silika-Gruppen, beziehungsweise darunter.

Demnach hatten auch Abrasiva und ihre zunehmende Konzentration bei Anwesenheit von Chitosan einen Einfluss auf die Zinnaufnahme im Schmelz. Es ist jedoch zu berücksichtigen, dass der hier beschriebene Effekt in seinem Ausmaß deutlich hinter der von Chitosan bedingten stark erhöhten Zinnaufnahme zurückblieb. Somit war in der vorliegenden Studie bei steigendem Silika-Abrasivagehalt nur in Anwesenheit von Chitosan und in vergleichbar geringem Ausmaß mehr Zinn auf der Schmelzoberfläche nachzuweisen. Ein solcher Zusammenhang war bei den Vergleichsgruppen ohne Chitosan nicht zu beobachten.

Darüber hinaus stellte sich in anderen Versuchen heraus, dass die Wirkung zinnhaltiger Zahnpasten immer abhängig von ihrer Anwendungsform in Zahnpastensuspensionen (Slurries) oder mit Bürstsimulation war und damit

physikalischen Einflüssen eine bedeutende Rolle zukommt [Ganss et al., 2011; Ganss et al., 2012]. Vorstellbare Ursachen für die geringere Zinnwirkung bei Bürstbehandlung könnte die behinderte Ausbildung von säureresistenteren und zinnhaltigen Schmelzbereichen sein, oder aber die Abtragung von solchen bereits strukturell modifizierten Schmelzschichten.

In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass die Behandlungsart ebenfalls zum Teil signifikante Auswirkungen auf die oberflächliche Zinnkonzentration hatte. Bei den Gruppen mit 5%, 10% und 15% Silika-Abrasiva und mit Slurrybehandlung war die Zinnaufnahme auf ihrer Oberfläche signifikant höher gegenüber ihren Vergleichsgruppen mit Bürstbehandlung.

Andererseits lag der Zinngehalt der 20% Silika-Gruppe mit Slurrybehandlung signifikant unter denjenigen der anderen Silika-Gruppen.

Die Versuchsgruppen mit Polyethylen-Abrasiva zeigten eine unterschiedliche Beziehung der Zinnaufnahme. Bei Bürstbehandlung der Proben wiesen sie gegenüber den Silika-Gruppen eine signifikant höhere Zinnkonzentration auf. Die Polyethylen-Gruppe hatte hierbei den höchsten Zinngehalt aller abrasivahaltigen Gruppen. Umgekehrt stellte es sich in den Fällen mit Slurrybehandlung dar. Dabei lag die Polyethylen-Gruppe auf einem Niveau mit den meisten Silika-Gruppen. Eine Erklärung hierfür bietet womöglich die spezielle Morphologie, das beschriebene Zinnabsorptionsverhalten sowie das geringere Reinigungspotential der Polyethylen-Partikel.

Zusammenfassend war der Vergleich der Zinnaufnahmewerte aus der vorliegenden Studie mit den Substanzverlustdaten der vorangehenden Arbeit durch einen in etwa linearen Zusammenhang gekennzeichnet: Mit zunehmender Zinnkonzentration in den oberflächlichen Schmelzschichten ließ sich ein geringerer Substanzverlust feststellen. Diese Beziehung war wiederum besonders charakteristisch bei den mit Chitosan behandelten Proben, die die höchsten Zinnwerte besaßen, bei der gleichzeitig geringsten erosiven Schmelzreduktion. Ein solcher Zusammenhang zwischen Zinnaufnahme und Substanzverlust wurde bereits an Querschnittsproben nach Anwendung einer zinnhaltigen Mundspüllösung beschrieben, dort jedoch von exponentieller Art [Schlueter et al., 2009b]. Der genannte Versuch mit verschiedenen zinnhaltigen Zahnpasten und Zinnkonzentrationsbestimmung auf der Schmelzoberfläche konnte eine Dosis-

Wirkungsbeziehung bei den Produkten mit Zinn alleine zwar nicht finden, allerdings zeigte die Formulierung mit Zinn und Chitosan dort einen vergleichbaren Zusammenhang wie die hier vorliegenden Messungen mit Chitosan, und hob dadurch das große Potential der Kombination dieser beiden Wirkstoffe hervor [Ganss et al., 2012].

Der lineare Aspekt bezogen auf den geringeren Substanzverlust bei höherer Zinnkonzentration war bezüglich der Behandlungsart (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung) grundsätzlich gleichartig. Trotzdem war die Korrelation mit Bürstbehandlung der Proben etwas anschaulicher. Die physikalischen Einflüsse der Bürstbehandlung führten zu einer deutlicheren Abgrenzung zwischen den unterschiedlich behandelten Gruppen (Bürstbehandlung oder Slurrybehandlung). Insgesamt betrachtet beeinflusste die Bürstbehandlung die Zinnaufnahme in der vorliegenden Studie im Vergleich zu anderen Auswirkungen nur wenig, gleichwohl tendenziell etwas höhere Zinnkonzentrationen auf Proben mit Slurrybehandlung gemessen wurden. Es kann daher angenommen werden, dass die Wirkung von Chitosan auf die Zinnabsorption im Schmelz unabhängig von den abrasiven Bürsteinwirkungen ausgesprochen gut ist.

5.2.3 Quantitative und qualitative Analyse der Oberflächenstruktur

Damit die Auswirkung der Abrasivität der verschiedenen Testformulierungen gegenüber der Schmelzoberfläche in ihrer Größenordnung quantitativ beurteilt werden konnte, wurden Rauheitsmessungen durchgeführt. Unabhängig von der angewendeten Zahnpastenformulierung und ebenso unbeeinflusst von der Anwesenheit oder dem Fehlen von Chitosan zeigten sich dabei vergleichbare Werte für die mittlere Rautiefe (R_z) in allen Versuchsgruppen.

Weder innerhalb der Gruppen mit steigendem Silika-Abrasiva Anteil, noch beim Vergleich von Silika- und Polyethylen-Partikeln oder sogar in den Gruppen ohne Abrasiva (Keine Abrasiva) wichen die Rauheitswerte regelhaft voneinander ab.

Ebenso war es beim Vergleich bezüglich der Behandlungsart. Die Proben, welche nur mit der jeweiligen Zahnpastasuspension behandelt worden waren, zeigten lediglich eine größere Variationsbreite der Rauheitswerte. Die im Vergleich eher einheitlichen Ergebnisse der Gruppen mit Bürstbehandlung könnten gerade durch diese erfolgte Behandlung hervorgerufen und angeglichen worden sein. Es ergaben sich auch hier keine deutlichen Zusammenhänge. Abschließend kann festgehalten werden, dass die Oberflächenrauheit, gemessen an der mittleren

Rautiefe (R_z), von dem variablen Teil der Abrasiva in den experimentellen Zahnpastenformulierungen nicht entscheidend beeinflusst wurde. Die Abrasivität der Testformulierungen bewegte sich also in einem vergleichbaren Ausmaß.

Zusätzlich zu der Oberflächenrauheit sollten auch die Auswirkungen der unterschiedlichen Abrasivatypen und -konzentrationen sowie Anwesenheit oder Fehlen von Chitosan in den Testformulierungen auf die Oberflächenstruktur qualitativ bewertet werden. Dies erfolgte anhand der Kategorisierung und Analyse der REM-Strukturaufnahmen.

Grundsätzlich ließen sich dabei keine wesentlichen Unterschiede oder Merkmale aufdecken, die Ultrastrukturen der Proben verschiedenster Gruppen zeigten keine eindeutig zuordnungsbaaren Veränderungen. In den meisten Fällen präsentierte sich die Beschaffenheit der Oberfläche von eher zufälliger Struktur und unabhängig des eingesetzten Versuchsproduktes mit oder ohne Wirkstoffen.

Lediglich in den Gruppen der Testformulierungen mit Chitosan und ohne Abrasiva (Keine Abrasiva; mit Bürstbehandlung und mit Slurrybehandlung) oder mit 5% Silika (Slurrybehandlung) sowie 10% Silika (Slurrybehandlung), war eine glatte und abgrenzbare anorganische Abdeckung feststellbar. Diese überzog die Probe entweder komplett oder nur zum Teil.

Die Strukturaufnahmen aller Gruppen zeigten zum Teil sehr deutlich erkennbare Ätzmuster der Schmelzprismen wie sie bei erodierten Schmelzoberflächen zu erwarten waren und zuvor beschrieben wurden [Ellingsen, 1986]. In einigen Fällen stellten sie sich undeutlich und scheinbar verwischt dar. Die Silika-Gruppen mit Bürstbehandlung (mit und ohne Chitosan) schienen tendenziell eine leicht glattere Oberfläche zu haben als die Gruppen mit Polyethylen-Putzkörpern. Doch diese Annahme ließ sich nicht mit den Werten zur mittleren Rautiefe (R_z) aus den betreffenden Gruppen untermauern.

Im Übrigen waren häufig amorphe Präzipitate auf der Oberfläche zu finden, die in ihrer Größe oder Struktur uneinheitlich und variabel waren sowie keine Beziehung zum verwendeten Testprodukt zeigten. Bei Formulierungen mit Silika-Abrasiva könnten einige dieser Präzipitate Residuen der Putzkörper darstellen. Vergleichbare heterogene Auflagerungen auf der Schmelzoberfläche in Form von granulosem oder amorphem Material wurden allerdings auch schon in vitro bei

Verwendung einer abrasivfreien und wässrigen SnF_2 -Lösung beobachtet [Wei, 1974].

Darüber hinaus waren auf einigen Probenoberflächen verschiedene feinflockige oder grobschollige Auflagerungen zu erkennen. REM-Bilder aus einer weiteren in vitro-Studie zeigten ähnliche feinflockige Strukturen nach Kontakt der Schmelzoberfläche mit einer wässrigen SnCl_2 -Lösung, die in diesem Zusammenhang als feinglobuläre Partikel bezeichnet worden waren [Ellingsen, 1986].

Es konnte in der vorliegenden Studie außerdem kein kontinuierliches und zinnhaltiges Präzipitat gefunden werden, wie es zuvor schon nach Anwendung von Lösungen beschrieben worden war [Ganss et al., 2008] oder sich in einer anderen Studie nach Zinnfluorid-Behandlung darstellte [Austin et al., 2011]. Jene Studie kam allerdings nach Erosion und Abrasion der Proben in der qualitativen Beurteilung zu ganz ähnlichen REM-Aufnahmen wie die vorliegende Studie [Austin et al., 2011]. Eine andere in vitro-Studie zu den verschiedenen Effekten von Fluoridlösungen auf Erosionen stellte für Zinnfluorid ebenfalls keine Präzipitatbildung oder andere globulären Auflagerungen fest [Yu et al., 2010].

Anders als bei den Elementanalysen konnte bei der qualitativen Analyse der Oberflächenstruktur kein eindeutiger Bezug zur Zinnaufnahme auf der Schmelzoberfläche, der Anwesenheit von Chitosan oder den Auswirkungen von unterschiedlichen Typen und Konzentrationen von Abrasiva hergestellt werden. Zur der Analyse der REM-Aufnahmen wurde hier eine neue Kategorisierung angewandt, die möglicherweise noch keine ausreichende Trennschärfe bei der Unterscheidung der Kategorien erreicht.

Für den Einsatz dieser Auswertungsmethode in zukünftigen Studien sollte eine Modifikation und Weiterentwicklung des Klassifikationssystems in Betracht gezogen werden. Zudem könnte in einem ähnlichen Fall die weiterführende Analyse von Proben im Querschnitt geeignet sein um charakteristische Strukturmerkmale besser abgrenzen zu können.

Mit den hier vorliegenden Ergebnissen und Erfahrungen wird die insgesamt komplexe und umfassende Situation der Forschung zum Wirkmechanismus von Zahnpasten bei Erosionen verdeutlicht.

5.3 Schlussfolgerung

Bei Anwendung zinn- und fluoridhaltiger Zahnpastenformulierungen findet grundsätzlich eine Zinnaufnahme in den oberflächlichen Schmelzschichten statt. Unter den vorliegenden in vitro-Bedingungen hat das Biopolymer Chitosan einen deutlich signifikanten und steigernden Einfluss auf die Zinnaufnahme im Zahnschmelz. Durch Typ und Menge der Abrasivstoffe waren ebenfalls geringe Auswirkungen feststellbar, allerdings beeinflusste vielmehr ihre grundsätzliche Anwesenheit oder das Fehlen in der Zahnpastenformulierung die Zinnkonzentration auf der Schmelzoberfläche. Die Einwirkung physikalischer Kräfte durch die Bürstsimulation reduzierte die Zinnaufnahme im Schmelz, jedoch konnte Chitosan diesen Effekt verringern.

Erstmalig wurde nachgewiesen, dass Silika-Putzkörper Zinn adsorbieren können, wodurch sie in der Lage sind die freie Wirkstoffkonzentration zu beeinflussen. Weiterhin scheint ein Synergismus der Wirkmechanismen von Chitosan und Zinn möglich. Deren einzelne Wirkmechanismen, nämlich die Inkorporation von Zinn in oberflächliche Schmelzschichten und die wahrscheinliche Ausbildung einer dem Schmelz aufliegenden und schützenden Barrierschicht durch Chitosan, könnten sich in ihrem protektiven Effekt positiv verstärken.

Die experimentellen Zahnpastenformulierungen mit ihrer ganz unterschiedlichen Zusammensetzung führten nach Erosion und Abrasion weder bei der quantitativen Betrachtung der mittleren Rautiefe (R_z), noch in der qualitativen Beurteilung der REM-Strukturaufnahmen bezüglich der Schmelzoberflächen zu charakteristischen Abweichungen, Morphologien oder Merkmalen.

6 Zusammenfassung

Zinn und Chitosan haben gute antierosive Eigenschaften. Die Effekte von Zinn in Zahnpasten sind im Vergleich mit Mundspüllösungen jedoch deutlich geringer. Bei Zusatz von Chitosan konnten ermutigende Resultate erzielt werden. Zahnpasten sind komplexe Formulierungen. Wirkstoffe, Hilfsstoffe sowie Abrasiva können interagieren, über deren Einfluss bei Erosionen ist bislang nur sehr wenig bekannt. Die aktuelle Studie sollte zur Aufklärung des Wirkungsmechanismus beitragen und folgende Fragen untersuchen: Kommt es bei Sn^{2+} -Zahnpasten zur Zinnaufnahme im Schmelz? Adsorbieren Abrasiva Zinn, verringert sich so die Verfügbarkeit von Zinn? Beeinflussen Abrasiva die Zinnaufnahme im Schmelz, welchen Einfluss haben sie auf die Ultrastruktur? Erhöht Chitosan die Aufnahme von Zinn in den Schmelz? Beeinflusst Chitosan die mögliche Zinnadsorption an Abrasiva? Verändert Chitosan die Effekte von Abrasiva auf die Ultrastruktur von Schmelz?

In einer Vorgängerstudie zur erosionsinhibierenden Wirkung von experimentellen Zahnpastenformulierungen mit unterschiedlichen Abrasiva sowie Chitosan erfolgte die Proben-Herstellung und Versuchsdurchführung. Humane Schmelzproben (n=15/Gruppe) wurden periodisch demineralisiert (10 Tage, 0,5% Zitronensäure; 6x2 Min/Tag). 14 Gruppen wurden für 2x2 Min/Tag in Slurries getaucht. Weitere 14 Gruppen wurden zusätzlich während der Eintauchzeit in einem Zahnbürst-Simulator gebürstet (15 s). Die Negativ-Kontrolle wurde ausschließlich erodiert. Zu der Zahnpasten-Basisformulierung (3500 ppm Sn, 1400 ppm F, Basisgehalt Abrasiva), jeweils mit und ohne Chitosan, kamen differente Mengen Abrasiva (5, 10, 15, 20% Silika oder 20% Polyethylen). Ein Testprodukt enthielt nur Wirkstoffe, keine Abrasiva; die Placebo-Gruppe nur 20% Silika.

Es wurde hier die Zinnmenge im Schmelz und auf Abrasiva untersucht (EDX-Analyse; Gew%). Externe Messungen (GABA International) zur Zinnverfügbarkeit in den Slurries sowie Substanzverlustwerte (Vorgängerstudie) kamen hinzu. Weiter erfolgten REM-Aufnahmen der Schmelzproben und Rauheitsmessungen.

Nach allen Anwendungen zinnhaltiger Formulierungen konnte Zinn auf der Probenoberfläche nachgewiesen werden. Chitosan-Gruppen hatten signifikant

höhere Zinnwerte (Slurry: $2,7 \pm 0,5$ - $3,7 \pm 0,6$ Gew%; mit Bürstbehandlung: $2,2 \pm 0,3$ - $3,3 \pm 0,6$ Gew%) als Gruppen ohne Chitosan (Slurry: $1,6 \pm 0,3$ - $1,7 \pm 0,2$ Gew%; mit Bürstbehandlung: $0,9 \pm 0,2$ - $1,8 \pm 0,2$ Gew%). Die Zinnaufnahme war unabhängig vom Abrasivatyp. Keine Abrasiva-Gruppen wiesen den höchsten Zinngehalt auf, und das mit bis zu dreifach höheren Werten (ohne Chitosan: Slurry $3,2 \pm 0,7$, mit Bürstbehandlung $3,1 \pm 0,7$ Gew%; mit Chitosan: Slurry $7,3 \pm 0,8$, mit Bürstbehandlung $8,6 \pm 1,9$ Gew%).

Die Korrelation der Zinnwerte mit den Substanzverlustwerten der Vorgängerstudie ergab: Der Substanzverlust war umso geringer, je höher die Zinnaufnahme war. Dies war besonders deutlich in den Chitosan-Gruppen sowie bei Bürstbehandlung. Auf Silika-Abrasiva konnte erstmals adsorbiertes Zinn nachgewiesen werden, auf Polyethylen-Abrasiva nicht. Chitosan verringerte die Adsorption von Zinn nicht. Verschiedene Abrasiva-Konzentrationen und Chitosan-An/Abwesenheit hatten auf die mittlere Rautiefe und Ultrastruktur der Schmelzoberfläche keine Signifikanz.

Es wurde bei Anwendung von Sn^{2+} -Zahnpasten Zinn im Schmelz nachgewiesen, der Wirkungsmechanismus entspricht scheinbar dem von Sn^{2+} -Mundspüllösungen. Abrasiva reduzieren die Zinnaufnahme deutlich. Zinn adsorbiert an Silikapartikel, damit reduziert sich dessen Verfügbarkeit, was die geringere Wirksamkeit im Vergleich zu Mundspüllösungen zum Teil erklären kann. Chitosan erhöht die Zinnaufnahme im Schmelz stark, jedoch nicht die Zinnverfügbarkeit in den Slurries. Anscheinend bildet Chitosan protektive Beschichtungen auf der Zahnoberfläche.

Die qualitative sowie quantitative Analyse der Ultrastruktur der Schmelzproben ergab keine eindeutigen Zusammenhänge. Hier sind tiefergehende Studien mit verbesserten Untersuchungskriterien in Zukunft notwendig.

7 Summary

Mode of action of erosion inhibiting Sn/F toothpastes in enamel: Effects of abrasives in experimental formulations with and without chitosan. A study on tin uptake and ultrastructure.

Tin and Chitosan have promising anti-erosion properties. However, in comparison to mouthrinses, the effects of Sn in toothpaste formulations are much less distinct. Encouraging results were found when adding chitosan. Toothpastes are complex formulations: Active ingredients can interact with recipients as well as with abrasives to a currently unknown extent. Overall, little is known about the mode of action of Sn/F toothpastes, particularly in combination with chitosan.

Aim of the study was to examine the mode of action of such formulations and to address the following issues: Is there an uptake of Sn on enamel after application of Sn-containing toothpastes? Can abrasives adsorb Sn, does this affect the availability of Sn in toothpastes? Do abrasives affect the Sn uptake on enamel, what is the impact on the enamel structure? Is chitosan increasing the amount of Sn on the enamel surface? If Sn adsorbs to abrasives, is chitosan capable of reducing this effect? Does chitosan impact the effects of abrasives on the enamel structure?

The present study uses samples deriving from a previous study investigating the effects of different types and amounts of abrasives as well as chitosan on the erosion/abrasion preventing efficacy of experimental Sn/F toothpastes.

Human enamel specimens (n=15/group) were cyclically demineralised (10 days, 0.5% citric acid; 6x2 min/day). Fourteen groups were immersed in toothpaste slurries for 2x2 min/day. Further fourteen groups were additionally brushed in a brushing machine (15 s) within immersion time. Negative control was demineralised only. To the basic toothpaste formulation (3500 ppm Sn, 1400 ppm F, basic content of silica), with and without Chitosan, varying amounts of abrasives were added (5, 10, 15, 20% silica or 20% polyethylene). One formulation contained active ingredients only, but no abrasives. Placebo toothpaste contained 20% silica, but no active ingredients.

In the present study, tin-uptake (wt%) was measured by energy-dispersive-X-ray-spectroscopy (EDX) on enamel as well as on abrasive surfaces. External analyses

(GABA International) of availability of Sn in the slurries were taken into consideration as well as substance loss data from the precursor-trial of this study. Structural analyses were performed with scanning electron microscopy and profilometric surface roughness measurements (R_z).

All specimens treated with Sn-containing formulations led to distinct amounts of Sn on the sample surfaces. Chitosan formulations led to significantly higher tin-uptakes (slurry: 2.7 ± 0.5 and 3.7 ± 0.6 wt%; slurry/brushing: 2.2 ± 0.3 and 3.3 ± 0.6 wt%), than formulations without Chitosan (slurry: 1.6 ± 0.3 and 1.7 ± 0.2 wt%; slurry/brushing: 0.9 ± 0.2 and 1.8 ± 0.2 wt%). Sn-uptake was independent from the type of abrasives. Formulations without abrasives showed the highest Sn uptake reaching up to threefold higher values than the corresponding toothpastes with abrasives (without Chitosan: slurry 3.2 ± 0.7 , slurry/brushing: 3.1 ± 0.7 wt%; with Chitosan: slurry: 7.3 ± 0.8 , slurry/brushing: 8.6 ± 1.9 wt%). There was a clear linear relationship between tin-uptake and substance loss: Increased amounts of Sn on the surface were related to lower substance loss values. This relation was more pronounced in chitosan treated specimens and in the in the slurry/brushing-groups. In contrast to polyethylene, silica showed distinct amounts of Sn on the surface regardless of the presence or absence of chitosan.

Enamel surface roughness and structural characteristics were not significantly influenced by the different amounts and types of abrasives or presence of chitosan.

The application of Sn-containing toothpastes led to an uptake of Sn on the enamel surface indicating a similar mode of action as for mouthrinses. Abrasives clearly reduce the Sn uptake and Sn can be adsorbed to silica thus decreasing its availability. This could at least in part explain the limited efficacy of Sn-toothpastes compared to mouthrinses. Chitosan can increase amounts of Sn on enamel but did not increase its availability. This indicates that chitosan might establish protective layers on the enamel surface.

Neither the amount and type of abrasives or chitosan nor the treatment mode seems to cause distinguishable effects on the surface structure of enamel. Further studies with refined evaluation criteria should investigate respective effects more detailed.

8 Literaturverzeichnis

1. Abou-Ras D, Caballero R, Fischer CH, Kaufmann CH, Lauermann I, Mainz R, Mönig H, Schöpke A, Stephan C, Streeck C, Schorr S, Eicke A, Döbeli M, Gade B, Hinrichs J, Nunney T, Dijkstra H, Hoffmann V, Klemm D, Efimova V, Bergmaier A, Dollinger D, Wirth T, Unger W, Rockett AA, Perez-Rodriguez A, Alvarez-Garcia J, Izquierdo-Roca V, Schmid T, Choi PP, Müller M, Bertram F, Christen J, Khatri H, Collins RW, Marsillac S, Kötschau I: Comprehensive Comparison of Various Techniques for the Analysis of Elemental Distributions in Thin Films. *Microscopy and Microanalysis* 2011;17:728-751.
2. Addy M: Tooth brushing, tooth wear and dentine hypersensitivity – are they associated? *Int Dent J* 2005;55:261-267.
3. Addy M, Hunter ML: Can tooth brushing damage your health? Effects on oral and dental tissues. *Int Dent J* 2003;53 Suppl 3:177-186.
4. Addy M, Shellis RP: Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear; in Lussi A (ed): *Dental Erosion: From Diagnosis to therapy*. Basel, Karger, 2006 pp 17-31.
5. Al-Dlaigan YH, Shaw L, Smith A: Dental erosion in a group of British 14-year-old school children. Part II: Influence of dietary intake. *Br Dent J* 2001a;190:258-261.
6. Al-Dlaigan YH, Shaw L, Smith A: Dental erosion in a group of British 14-year-old, school children. Part I: Prevalence and influences differing socioeconomic backgrounds. *Br Dent J* 2001b;190:145-149.
7. Al-Majed I, Maguire A, Murray JJ: Risk factors for dental erosion in 5-6 year old and 12-14 year old boys in Saudi Arabia. *Community Dent Oral Epidemiol* 2002;30:38-46.
8. Amaechi BT, Higham SM: Dental erosion: possible approaches to prevention and control. *J Dent* 2005;33:243-252.
9. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM: Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time. *J Oral Rehabil* 1999a;26:624-630.
10. Amaechi BT, Higham SM, Edgar WM, Milosevic A: Thickness of Acquired Salivary Pellicle as the Determinant of the Sites of Dental Erosion. *J Dent Res* 1999b;32:1821-1828.
11. Arnaud TM, Neto BD, Diniz FB: Chitosan effect on dental enamel remineralization: An in vitro evaluation. *J Dent* 2010.
12. Attin T: Methods for assessment of dental erosion. *Monogr Oral Sci* 2006;20:152-172.

13. Attin T, Koidl U, Buchalla W, Schaller HG, Kielbassa AM, Hellwig E: Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Arch Oral Biol* 1997;42:243-250.
14. Austin RS, Stenhagen KS, Hove LH, Dunne S, Moazzez R, Bartlett DW, Tveit AB: A qualitative and quantitative investigation into the effect of fluoride formulations on enamel erosion and erosion-abrasion in vitro. *J Dent* 2011;39:648-655.
15. Babcock FD, King JC, Jordan TH: The reaction of stannous fluoride and hydroxyapatite. *J Dent Res* 1978;57:933-938.
16. Barbour ME, Finke M, Parker DM, Hughes JA, Allen GC, Addy M: The relationship between enamel softening and erosion caused by soft drinks at a range of temperatures. *J Dent* 2006;34:207-213.
17. Barbour ME, Lussi A, Shellis RP: Screening and prediction of erosive potential. *Caries Res* 2011;45:24-32.
18. Barbour ME, Rees JS: The laboratory assessment of enamel erosion: A review. *J Dent* 2004;32:591-602.
19. Bardsley PF: The evolution of tooth wear indices. *Clin Oral Invest* 2008;12:S15-S19.
20. Bartlett D: Intrinsic causes of erosion; in Lussi A (ed): *Dental Erosion*. Basel, Karger, 2006 pp 119-139.
21. Bartlett D, Dugmore C: Pathological or physiological erosion - is there a relationship to age? *Clin Oral Invest* 2008;12:S27-S31.
22. Bartlett D, Ganss C, Lussi A: Basic Erosive Wear Examination (BEWE): a new scoring system for scientific and clinical needs. *Clin Oral Invest* 2008;12:S65-S68.
23. Bartlett DW, Coward PY: Comparison of the erosive potential of gastric juice and a carbonated drink in vitro. *J Oral Rehab* 2001;28:1045-1047.
24. Bartlett DW, Evans DF, Smith BG: The relationship between gastro-oesophageal reflux disease and dental erosion. *J Oral Rehabil* 1996;23:289-297.
25. Berg-Beckhoff G, Kutschmann M, Bardehele D: Methodological considerations concerning the development of oral dental erosion indexes: literature survey, validity and reliability. *Clin Oral Invest* 2008;12:S51-S58.
26. Bernkop-Schnürch A, Dünnhaupt S: Chitosan-based drug delivery systems. *Eur J Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2012;81:463-469.
27. Beyer M, Reichert J, Bossert J, Sigusch BW, Watts DC, Jandt KD: Acids with an equivalent taste lead to different erosion of human dental enamel. *Dental Materials* 2011;27:1017-1023.

28. Bratthall D, Hänsel-Petersson G, Sundberg H: Reasons for the caries decline: What do the experts believe? *European Journal of Oral Sciences* 1996;104:416-422.
29. Burgess SR, Statham PJ, Holland J, Chou Y: Standardless quantitative analysis using a drift detector, what accuracy is possible from live and reconstructed data? *Microscopy and Microanalysis* 2007;13:1432-1433.
30. Büyükyilmaz T, Ogaard B, Rolla G: The resistance of titanium tetrafluoride-treated human enamel to strong hydrochloric acid. *Eur J Oral Sci* 1997;105:473-477.
31. Cardoso CA, Magalhaes AC, Rios D, Lima J: Cross-Sectional Hardness of Enamel from Human Teeth at Different Post-eruptive Ages. *Caries Res* 2009;43:491-494.
32. Cheaib Z, Lussi A: Impact of Acquired Enamel Pellicle Modification on Initial Dental Erosion. *Caries Res* 2011;45:107-112.
33. Cheng Z.J., Wang X.M., Cui F.Z., Ge J., Yan J.X.: The enamel softening and loss during early erosion studied by AFM, SEM and nanoindentation. *Biomedical Materials* 2009;4:1-7.
34. Cheng ZJ, Wang XM, Cui FZ, Ge J, Yan JX: The enamel softening and loss during early erosion studied by AFM, SEM and nanoindentation. *Biomedical Materials* 2009;4:1-7.
35. Cheung A, Zid Z, Hunt D, McIntyre J: The potential for dental plaque to protect against erosion using an in vivo-in vitro model - a pilot study. *Aust Dent J* 2005;50:228-234.
36. Christoffersen J, Christoffersen MR, Kibalczyk W, Perdok WG: Kinetics of dissolution and growth of calcium fluoride and effects of phosphate. *Acta Odontol Scand* 1988;46:325-336.
37. Claesson PM, Ninham BW: pH-Dependent Interactions between Adsorbed Chitosan Layers. *Langmuir* 1992;8:1406-1412.
38. Cochrane NJ, Yuan Y, Walker GD, Shen P, Chang CH, Reynolds C, Reynolds EC: Erosive potential of sports beverages. *Aust Dent J* 2012;57:359-364.
39. Collys K, Cleymaet R, Coomans D, Michotte Y, Slop D: Rehardening of surface softened and surface etched enamel in vitro and by intraoral exposure. *Caries Res* 1993;27:15-20.
40. Dababneh RH, Khouri AT, Addy M: Dentine hypersensitivity - an enigma? A review of terminology, epidemiology, mechanisms, aetiology and management. *Br Dent J* 1999;187:606-611.
41. Dorozhkin SV, Epple M: Biological and Medical Significance of Calcium Phosphates. *Angew Chem Int Ed* 2002;41:3130-3146.

42. Driessens FCM, Heijligers HJM, Borggreven JMPM, Wöltgens JHM: Posteruptive maturation of tooth enamel studied with the electron microprobe. *Caries Res* 1985;19:390-395.
43. Dugmore CR, Rock WP: The progression of tooth erosion in a cohort of adolescents of mixed ethnicity. *Int J Paediatr Dent* 2003;13:295-303.
44. Dugmore CR, Rock WP: The prevalence of tooth erosion in 12-year-old children. *Br Dent J* 2004;196:279-282.
45. Eccles JD: Dental erosion of nonindustrial origin. A clinical survey and classification. *J Prosthet Dent* 1979;42:649-653.
46. Eccles JD, Jenkins WG: Dental erosion and diet. *J Dent* 1974;2:153-159.
47. Eggert F: EDX-spectra simulation in electron probe microanalysis. Optimization of excitation conditions and detection limits. *Microchim Acta* 2006;155:129-136.
48. Einwag J, Hellwig E, Hotz P, Städler P: The relative caries-inhibiting efficacy of amine fluoride and sodium fluoride in compatible dentifrices-Results of a consensus conference. *Quintessence Int* 1995;26:707-713.
49. Eisenburger M, Addy M, Hughes JA, Shellis RP: Effect of time on the remineralisation of enamel by synthetic saliva after citric acid erosion. *Caries Res* 2001;35:211-215.
50. Eisenburger M, Shellis RP, Addy M: Scanning electron microscopy of softened enamel. *Caries Res* 2004;38:67-74.
51. El Aidi H, Bronkhorst EM, Huysmans MC, Truin GJ: Dynamics of tooth erosion in adolescents: A 3-year longitudinal study. *J Dent* 2009;38:131-137.
52. Ellingsen JE: Scanning electron microscope and electron microprobe study of reactions of stannous fluoride and stannous chloride with dental enamel. *Scand J Dent Res* 1986;94:299-305.
53. Featherstone JDB, Lussi A: Understanding the chemistry of dental erosion; in Lussi A (ed): *Dental Erosion*. Basel, Karger, 2006 pp 66-76.
54. Fejerskov O, Kidd EA: *Dental Caries: The Disease and Its Clinical Management*. Munksgaard, Wiley-Blackwell, 2008.
55. Fleiss JL, Levin B, Paik MC: The Measurement of Interrater Agreement; in David J. Balding, Noel A.C. Cressie, Nicholas I. Fisher, Iain M. Johnstone, J.B. Kadane, Louise M. Ryan, David W. Scott, Adrian F.M. Smith, Jozef L. Teugels (eds): *Statistical Methods for Rates and Proportions*. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc., 2004 pp 598-626.
56. Ganss C: Definition of erosion and links to tooth wear; in Lussi A (ed): *Dental erosion: from diagnosis to therapy*. Basel, Karger, 2006 pp 9-16.

57. Ganss C, Klimek J, Brune V, Schürmann A: Effects of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in situ. *Caries Res* 2004;38:561-566.
58. Ganss C, Klimek J, Giese K: Dental erosion in children and adolescents - a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol* 2001a;29:264-271.
59. Ganss C, Klimek J, Schäffer U, Spall T: Effectiveness of two fluoridation measures on erosion progression in human enamel and dentine in vitro. *Caries Res* 2001b;35:325-330.
60. Ganss C, Lussi A: Diagnosis of erosive tooth wear; in Lussi A (ed): *Dental Erosion: from diagnosis to therapy*. Basel, Karger, 2006 pp 32-43.
61. Ganss C, Lussi A: Current erosion indices - flawed or valid? *Clin Oral Invest* 2008;12:S1-S3.
62. Ganss C, Lussi A, Grunau O, Klimek J, Schlueter N: Conventional and Anti-Erosion Fluoride Toothpastes: Effect on Enamel Erosion and Erosion-Abrasion. *Caries Res* 2011;45:581-589.
63. Ganss C, Lussi A, Klimek J: Comparison of calcium/phosphorus analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosive demineralisation. *Caries Res* 2005;39:178-184.
64. Ganss C, Lussi A, Scharmann I, Weigelt T, Hardt M, Klimek J, Schlueter N: Comparison of Calcium Analysis, Longitudinal Microradiography and Profilometry for the Quantitative Assessment of Erosion in Dentine. *Caries Res* 2009;43:422-429.
65. Ganss C, Neutard L, von Hinckeldey J, Klimek J, Schlueter N: Efficacy of a tin/fluoride rinse: a randomized in situ trial on erosion. *J Dent Res* 2010;89:1214-1218.
66. Ganss C, Schleichriemen M, Klimek J: Dental erosions in subjects living on a raw food diet. *Caries Res* 1999;33:74-80.
67. Ganss C, Schlueter N, Hardt M, Schattenberg P, Klimek J: Effect of fluoride compounds on enamel erosion in vitro - a comparison of amine, sodium and stannous fluoride. *Caries Res* 2008;42:2-7.
68. Ganss C, Schlueter N, Klimek J: Retention of KOH-soluble fluoride on enamel and dentine under erosive conditions - A comparison of in vitro and in situ results. *Arch Oral Biol* 2007;52:9-14.
69. Ganss C, von Hinckeldey J, Tolle A, Schulze K, Klimek J, Schlueter N: Efficacy of the stanous ion and a biopolymer in toothpastes on enamel erosion/abrasion. *J Dent* 2012;in print:1036-1043.
70. Garberoglio R, Cozzani G: In vivo effect of oral environment on etched enamel: a scanning electron microscopic study. *J Dent Res* 1979;58:1859-1865.

71. Gerould CH: Electron Microscope Study of the Mechanism of Fluorine Deposition in Teeth. *J Dent Res* 1945;24:223-233.
72. Graubart J, Gedalia I, Pisanti S: Effects of fluoride pretreatment in vitro on human teeth exposed to citrus juice. *J Dent Res* 1972;51:1677.
73. Gray JA: Acid dissolution rate of sound and white-spot enamel treated with tin(II) and fluoride compounds. *J Dent Res* 1965;44:493-501.
74. Gray JA, Schweizer HC, Rosevear FB, Broge RW: Electron microscopic observations of the differences in the effects of stannous fluoride and sodium fluoride on dental enamel. *J Dent Res* 1958;37:638-648.
75. Grenby TH: Lessening dental erosive potential by product modification. *Eur J Oral Sci* 1996;104:221-228.
76. Grenby TH, Phillips A, Desai T, Mistry M: Laboratory studies of the dental properties of soft drinks. *Br J Nutr* 1989;62:451-464.
77. Grunau, O., Schlueter, N., Möllers, M., Klimek, J., and Ganss, C.: Impact of Abrasives and Chitosan on the Efficacy of Experimental F/Sn-Toothpastes against Erosion/Abrasion in-vitro. *Caries Res* 2012;46:276 (Abstract).
78. Guo C, Gemeinhart RA: Understanding the adsorption mechanism of chitosan onto poly(lactide-co-glycolide) particles. *Eur J Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2008;70:597-604.
79. Hannig C, Berndt D, Hoth-Hannig W, Hannig M: The effect of acidic beverages on the ultrastructure of the acquired pellicle - An in situ study. *Arch Oral Biol* 2009;54:518-526.
80. Hannig C, Hamkens A, Becker K, Attin R, Attin T: Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in vitro. *Arch Oral Biol* 2005a;50:541-552.
81. Hannig C, Hannig M, Attin T: Enzymes in the acquired enamel pellicle. *Eur J Oral Sci* 2005b;113:1-12.
82. Hannig M, Balz M: Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res* 1999;33:372-379.
83. Hannig M, Balz M: Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel erosion. *Caries Res* 2001;35:142-148.
84. Hannig M, Hess NJ, Hoth-Hannig W, de Vrese M: Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization - an in situ pilot study. *Clin Oral Invest* 2003;7:158-161.
85. Hänsel-Petersson G, Bratthall D: The caries decline: A review of reviews. *European Journal of Oral Sciences* 1996;104:436-443.

86. Hara AT, Ando M, González-Cabezas C, Cury JA, Serra MC, Zero DT: Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *J Dent Res* 2006;85:612-616.
87. Hara AT, Kelly SA, Gonzalez-Cabezas C, Eckert GJ, Barlow AP, Mason SC, Zero DT: Influence of fluoride availability of dentifrices on eroded enamel remineralization in situ. *Caries Res* 2009;43:57-63.
88. Hara AT, Zero DT: Analysis of the erosive potential of calcium-containing acidic beverages. *Eur J Oral Sci* 2008;116:60-65.
89. Hattab FN: The state of fluorides in toothpastes. *J Dent* 1989;17:47-54.
90. Hellwig E, Klimek J, Attin T: Einführung in die Zahnerhaltung. München, Jena, Urban und Fischer, 1999.
91. Hellwig E, Klimek J, Attin T: Ätiologie, Histologie und Epidmiologie der Karier und anderer Zahnhartsubstanzdefekte; in Urban und Fischer Verlag (ed): Einführung in die Zahnerhaltung. München, Elsevier Verlag, 2007 pp 13-64.
92. Hooper S, Hughes J, Parker D, Finke M, Newcombe RG, Addy M, West NX: A clinical study in situ to assess the effect of a food approved polymer on the erosion potential of drinks. *J Dent* 2007a;35:541-546.
93. Hooper SM, Newcombe RG, Faller R, Eversole S, Addy M, West NX: The protective effects of toothpaste against erosion by orange juice: studies in situ and in vitro. *J Dent* 2007b;35:476-481.
94. Hove L, Holme B, Ogaard B, Willumsen T, Tveit AB: The protective effect of TiF(4), SnF(2) and NaF on erosion of enamel by hydrochloric acid in vitro measured by white light interferometry. *Caries Res* 2006;40:440-443.
95. Hughes JA, West NX, Addy M: The protective effect of fluoride treatments against enamel erosion in vitro. *J Oral Rehab* 2004;31:357-363.
96. 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.
97. Huysmans MC, Jager DHJ, Ruben JL, Unk DE, Klijn CP, Vieira AM: Reduction of Erosive Wear in situ by Stannous Fluoride-Containing Toothpaste. *Caries Research* 2011;45:518-523.
98. Imfeld T: Dental erosion. Definition, classification and links. *Eur J Oral Sci* 1996a;104:151-155.
99. Imfeld T: Prevention of progression of dental erosion by professional and prophylactic measures. *Eur J Oral Sci* 1996b;104:215-220.
100. Imfeld T, Sener B, Kuytz C, Brodowski D: Mechanische und chemische Wirkung einer neuen Zinnfluorid-Zahnpaste auf Dentin. *Acta Med Dent Helv* 1999;4:107-114.

101. Jaeggi T, Schaffner M, Bürgin W, Lussi A: Erosionen und keilförmige Defekte bei Rekruten der Schweizer Armee. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1999;109:1171-1178.
102. Jaeggi T, Grüniger A, Lussi A: Restorative Therapy of Erosion; in Lussi J (ed): *Dental erosion. From Diagnosis to Therapy*. Basel, Karger, 2006 pp 200-214.
103. Jaeggi T, Lussi A: Prevalence, incidence and distribution of erosion; in Lussi A (ed): *Dental Erosion: from diagnosis to therapy*. Basel, Karger, 2006 pp 44-65.
104. Järvinen VK, Rytömaa I, Heinonen OP: Risk factors in dental erosion. *J Dent Res* 1991;70:942-947.
105. Jensdottir T, Bardow A, Holbrook P: Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro. *J Dent* 2005;33:569-575.
106. Johansson AK, Johansson A, Birkhed D, Omar R, Baghdadi S, Khan N, Carlsson GE: Dental erosion associated with soft-drink consumption in young Saudi men. *Acta Odontol Scand* 1997;55:390-397.
107. Johansson AK, Lingström P, Imfeld T, Birkhed D: Influence of drinking method on tooth-surface pH in relation to dental erosion. *Eur J Oral Sci* 2004;112:484-489.
108. Johansson AK, Omar R, Carlsson GE, Johansson A: Dental Erosion and Its Growing Importance in Clinical Practice: From Past to Present. *Int J Dent* 2012;2012:632907.
109. Joiner A: Whitening toothpastes: A review of the literature. *J Dent* 2010;38:e17-e24.
110. Jordan TH, Wei SHY, Bromberger SH, King JC: Sn(3)F(3)PO(4): The product of the reaction between stannous fluoride and hydroxyapatite. *Arch Oral Biol* 1971;16:241-246.
111. Kambara M, Norde W: Influence of Fluoride Applications on Some Physicochemical Surface Properties of Synthetic Hydroxyapatite and Human Dental Enamel and Its Consequences for Protein Adsorption. *Caries Res* 1995;29:210-217.
112. Kato MT, Lancia M, Sales-Peres SH, Buzalaf MA: Preventive effect of commercial desensitizing toothpastes on bovine enamel erosion in vitro. *Caries Res* 2010;44:85-89.
113. Keegan GM, Smart JD, Ingram MJ, Barnes LM, Burnett GR, Rees GD: Chitosan microparticles for the controlled delivery of fluoride. *J Dent* 2012;40:229-240.
114. Kim J, Lawler DF: Characteristics of Zeta Potential Distribution in Silica Particles. *Bull Korean Chem Soc* 2005;26:1083-1089.

115. Kochavi D, Gedalia I, Anaise J: Effect of Conditioning with Fluoride and Phosphoric Acid on Enamel Surfaces as Evaluated by Scanning Electron Microscopy and Fluoride Incorporation. *J Dent Res* 1975;54:304-309.
116. Lagerlöf F, Saxegaard E, Barkvoll P, Rolla G: Effects of inorganic orthophosphate and pyrophosphate on dissolution of calcium fluoride in water. *J Dent Res* 1988;447-449.
117. Lagerweij MD, Buchalla W, Kohnke S, Becker K, Lennon AM, Attin T: Prevention of erosion and abrasion by a high fluoride concentration gel applied at high frequencies. *Caries Res* 2006;40:148-153.
118. Lambrechts P, VanMeerbeek B, Perdigao J, Gladys S, Braem M, Vanherle G: Restorative therapy for erosive lesions. *Eur J Oral Sci* 1996;104:229-240.
119. Landis JR, Koch GG: The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics* 1977;33:159-174.
120. Larsen MJ, Richards A: Fluoride is unable to reduce dental erosion from soft drinks. *Caries Res* 2002;36:75-80.
121. Laurance-Young P, Bozec L, Gracia L, Rees G, Lippert F, Lynch RJM, Knowles JC: A review of the structure of human and bovine dental hard tissues and their physicochemical behaviour in relation to erosive challenge and remineralisation. *Journal of Dentistry* 2011;39:266-272.
122. Lendenmann U, Grogan J, Oppenheim FG: Saliva and dental pellicle: a review. *Adv Dent Res* 2000;14:22-28.
123. Li Q, Dunn ET, Grandmaison EW, Goosen MFA: Applications and Properties of Chitosan. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 1992;7:370-397.
124. Linkosalo E, Markkanen H: Dental erosions in relation to lactovegetarian diet. *Scand J Dent Res* 1985;93:436-441.
125. Love G, Scott VD: Electron probe microanalysis using soft X-rays - a review. Part 1: Instrumentation, spectrum processing and detection sensitivity. *Journal of Microscopy* 2001;201:1-32.
126. Lussi A: Erosive Tooth Wear - A Multifactorial Condition of Growing Concern and Increasing Knowledge; in Lussi A (ed): *Dental erosion. From Diagnosis to Therapy*. Basel, Karger, 2006 pp 1-8.
127. Lussi A, Hellwig E: Risk assessment and preventive measures; in Lussi A (ed): *Dental erosion: from diagnosis to therapy*. Basel, Karger, 2006 pp 190-199.
128. Lussi A, Jaeggi T: Occupation and sports; in Lussi A (ed): *Dental Erosion*. Basel, Karger, 2006a pp 106-111.

129. Lussi A, Jaeggi T: Chemical factors; in Lussi A (ed): Dental erosion - From diagnosis to therapy. Basel, Karger, 2006b pp 77-87.
130. Lussi A, Jaeggi T, Jaeggi-Schärer S: Prediction of the erosive potential of some beverages. *Caries Res* 1995;29:349-354.
131. Lussi A, Jaeggi T, Zero D: The role of diet in the aetiology of dental erosion. *Caries Res* 2004;38 (suppl 1):34-44.
132. Lussi A, Jaggi T, Schärer S: The influence of different factors on in vitro enamel erosion. *Caries Res* 1993;27:387-393.
133. Lussi A, Megert B, Eggenberger D, Jaeggi T: Impact of Different Toothpastes on the Prevention of Erosion. *Caries Res* 2008;42:62-67.
134. Lussi A, Portmann P, Burhop B: Erosion on abraded dental hard tissues by acid lozenges: an in situ study. *Clin Oral Invest* 1997;1:191-194.
135. Lussi A, Schaffner M: Progression of and risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. *Caries Res* 2000;34:182-187.
136. Lussi A, Schaffner M, Hotz P, Suter P: Dental erosion in a population of Swiss adults. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991;19:286-290.
137. Lussi A, Schaffner M, Jaeggi T, Grüniger A: Erosionen Befund-Diagnose-Risikofaktoren-Prävention-Therapie. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2005;115:917-935.
138. Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C: Dental erosion - an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res* 2011;45:2-12.
139. Magalhaes AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MAR, Lussi A: Fluoride in Dental Erosion; in Buzalaf MAR (ed): Fluoride and the Oral Environment. Basel, Karger, 2011, vol. 22, pp 158-170.
140. Maggio B, Guibert RG, Mason SC, Karwal R, Rees GD, Kelly S, Zero DT: Evaluation of mouthrinse and dentifrice regimens in an in situ erosion remineralisation model. *J Dent* 2010;38:37-44.
141. Manguiera DF, Sampiano FC, Oliveira AF: Association Between Socioeconomic Factors and Dental Erosion in Brazilian Schoolchildren. *J Public Health Dent* 2009;69:254-259.
142. Mantonanaki M, Koletsi-Kounari H, Mamai-Homata E, Papaioannou W: Dental erosion prevalence and associated risk indicators among preschool children in Athens, Greece. *Clin Oral Invest* 2012;Epub ahead of print:1-9.
143. Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S: Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents (Review). *The Cochrane Collaboration* 2009;CD002278.

144. Marthaler TM: Changes in Dental Caries 1953-2003. *Caries Res* 2004;38:173-181.
145. McCann H-G: Reactions of the Fluoride Ion with Hydroxyapatite. *J Biol Chem* 1952;201:247-259.
146. McCann H-G, Bullock FA: Reactions of Fluoride Ion with Powdered Enamel and Dentin. *J Dent Res* 1955;34:59-67.
147. McClure F: The destructive action, in vivo, of dilute acids and acid drinks and beverages on the rats molar teeth. *J Nutrition* 1943;26:251-259.
148. McClure F, Ruzicka S: The destructive effect of citrate vs. lactate ions on rats' molar tooth surfaces, in vivo. *J Dent Res* 1946;25:1-12.
149. Meschede D: Teilchen, Wellen, mikroskopische Physik; in Meschede D (ed): *Gerthsen Physik*. Berlin, Springer, 2006 pp 677-730.
150. Meurman JH, Frank RM: Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res* 1991a;25:81-87.
151. Meurman JH, Frank RM: Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion. *Caries Res* 1991b;25:1-6.
152. Meurman JH, Rytomaa I, Kari K, Laakso T, Murtomaa H: Salivary pH and glucose after consuming various beverages, including sugar-containing drinks. *Caries Res* 1987;21:353-359.
153. Meurman JH, ten Cate JM: Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci* 1996;104:199-206.
154. Moore C, Addy M: Wear of dentine in vitro by toothpaste abrasives and detergents alone and combined. *J Clin Periodontol* 2005;32:1242-1246.
155. Muhler JC: Effects of fluoride and nonfluoride containing tin salts on the dental caries experience in children. *J Dent Res* 1958;37:422-426.
156. Muhler JC, Nebergall WH, Day HG: Studies on stannous fluoride and other fluorides in relation to the solubility of enamel in acid and the prevention of experimental dental caries. *J Dent Res* 1954;33:33-49.
157. Mulic A, Tveit AB, Wang N.J., Hove LH, Espelid I, Skaare AB: Reliability of Two Clinical Scoring Systems for Dental Erosive Wear. *Caries Res* 2010;44:294-299.
158. Nekrashevych Y, Stösser L: Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. *Caries Res* 2003;37:225-231.
159. Nelson KG, Bainbridge CA: SnHPO₄ from the reaction of stannous fluoride and hydroxyapatite at a low pH. *J Dent Res* 1973;52:318-321.

160. Newbury DE: Standard less Quantitative Electron-Excited X-ray Microanalysis by Energy-Dispersive Spectrometry: What Is Its Proper Role? *Microscopy and Microanalysis* 1999;4:585-597.
161. Newbury DE, Ritchie NWM: Is Scanning Electron Microscopy/Energy Dispersive X-ray Spectrometry (SEM/EDS) Quantitative? *Scanning* 2012;Epub ahead of print:1-28.
162. Nicholson P: Standardless Quantitation of Thin Film Specimens. *Mikrochimica Acta* 1994;114/115:53-70.
163. Nikiforuk G: *Understanding dental caries*. Basel, New York, Karger, 1985.
164. Pace F, Pallotta S, Tonini M, Vakil N, Bianchi Porro G: Systematic review: gastro-oesophageal reflux disease and dental lesions. *Aliment Pharmacol Ther* 2008;27:1179-1186.
165. Packer CD: Cola-induced hypokalaemia: a super-sized problem. *Int J Clin Pract* 2009;63:833-835.
166. Parry J, Shaw L, Arnaud MJ, Smith AJ: Investigation of mineral waters and soft drinks in relation to dental erosion. *J Oral Rehabil* 2001;28:766-772.
167. Patel MV, Fox JL, Higuchi WI: Effect of acid type on kinetics and mechanism of dental enamel demineralization. *J Dent Res* 1987;66:1425-1430.
168. Petersen PE, Gormsen C: Oral conditions among German battery factory workers. *Community Dent Oral Epidemiol* 1991;19:104-106.
169. Pindborg, J. J. *Pathology of the dental hard tissues*. Copenhagen, Munksgaard, 1970.
170. Pouchou JL: Standardless x-ray analysis of bulk specimens. *Microchim Acta* 1994;114:33-52.
171. Radlanski: Dentin; in Quintessenz Verlag (ed): *Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie*. Berlin, 2011a pp 257-308.
172. Radlanski: Schmelz; in Quintessenz Verlag (ed): *Orale Struktur- und Entwicklungsbiologie*. Berlin, 2011b pp 199-256.
173. Ravi Kumar MNV, Muzzarelli RAA, Muzzarelli C, Sashiwa H: Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives. *Chemical Reviews* 2004;104:6017-6084.
174. Reimer L: *Scanning electron microscopy. Physics of image formation and microanalysis*. Berlin, Springer, 1998.
175. Ren YF, Liu X, Fadel N, Malmstrom H, Barrie AM, Xu T: Preventive effects of dentifrice containing 5000 ppm fluoride against dental erosion in situ. *Journal of Dentistry* 2011;39:672-678.

176. Ritchie NWM, Newbury DE, Davis JM: EDS Measurements of X-Ray Intensity at WDS Precision and Accuracy Using a Silicon Drift Detector. *Microscopy and Microanalysis* 2012;18:892-904.
177. Robb ND, Smith BG, Geidrys LE: The distribution of erosion in the dentitions of patients with eating disorders. *Br Dent J* 1995;178:171-175.
178. Roomans GM: Quantitative X-Ray Microanalysis of Biological Specimens. *J Electron Microscopy Technique* 1988;9:19-43.
179. Rytömaa I, Järvinen V, Kanerva R, Heinonen OP: Bulimia and tooth erosion. *Acta Odontol Scand* 1998;56:36-40.
180. Saxegaard E, Rolla G: Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 1988;96:523-535.
181. Scheutzel P: Etiology of dental erosion - intrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996;104:178-190.
182. Schiffner U, Micheelis W, Reich E: Erosionen und keilförmige Zahnhalsdefekte bei deutschen Erwachsenen und Senioren. *Dtsch Zahnärztl Z* 2002;57:102-106.
183. Schlueter N, Duran A, Klimek J, Ganss C: Investigation of the effect of various fluoride compounds and preparations thereof on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Caries Res* 2009a;43:10-16.
184. Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C: Methods for the measurement and characterization of erosion in enamel and dentine. *Caries Res* 2011;45 Suppl 1:13-23.
185. Schlueter N, Hardt M, Lussi A, Engelmann F, Klimek J, Ganss C: Tin-containing fluoride solutions as anti-erosive agents in enamel: an in vitro tin-uptake, tissue-loss, and scanning electron micrograph study. *Eur J Oral Sci* 2009b;117:427-434.
186. Schlueter N, Klimek J, Ganss C: Effect of stannous and fluoride concentration in a mouth rinse on erosive tissue loss in enamel in vitro. *Arch Oral Biol* 2009c;54:432-436.
187. Schlueter N, Klimek J, Ganss C: Efficacy of an Experimental Tin-F-Containing Solution in Erosive Tissue Loss in Enamel and Dentine in situ. *Caries Res* 2009d;43:415-421.
188. Schlueter N, Klimek J, Ganss C: Efficacy of tin-containing solutions on erosive mineral loss in enamel and dentine in situ. *Clin Oral Investig* 2010.
189. Schmidt N, Ganss C, Klimek J: Ätiologie, Epidemiologie und Therapie von Erosionen. *Oralprophylaxe* 2003;25:101-109.
190. Sieber JJ, Schué A: STED-Mikroskopie Lebendzellbeobachtungen jenseits der Beugungsgrenze. *Optik & Photonik* 2010;5:36-39.

191. Smith BG, Knight JK: An index for measuring the wear of teeth. *Br Dent J* 1984;156:435-438.
192. Smith BGN, Robb ND: Dental erosion in patients with chronic alcoholism. *J Dent* 1989;17:219-221.
193. Sorvari R, Pelttari A, Meurman JH: Surface ultrastructure of rat molar teeth after experimentally induced erosion and attrition. *Caries Res* 1996;30:163-168.
194. Sreebny LM: Saliva in health and disease: appraisal and update. *Int Dent J* 2000;50:140-161.
195. Statham PJ: A Comparative Study of Techniques for Quantitative Analysis of the X-Ray Spectra Obtained with a Si(Li) Detector. *X-Ray Spectrometry* 1976;5:16-28.
196. Stephen KW: Fluoride toothpastes, rinses, and tablets. *Adv Dent Res* 1994;8:185-189.
197. Svensson O, Lindh L, Cárdenas M, Arnebrant T: Layer-by-layer assembly of mucin and chitosan-Influence of surface properties, concentration and type of mucin. *J Colloid Interface Sci* 2006;299:608-616.
198. Tabak LA: Structure And Function of Human Salivary Mucins. *Crit Rev Oral Biol Med* 1990;1:229-234.
199. ten Bruggen Cate HJ: Dental Erosion in Industry. *Brit J industr Med* 1968;25:249-266.
200. ten Cate JM: Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci* 1997;105:461-465.
201. ten Cate JM, Featherstone JDB: Mechanistic aspects of the interactions of fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991;2:283-296.
202. ten Cate JM, Imfeld T: Dental erosion, summary. *Eur J Oral Sci* 1996;104:241-244.
203. Tharanathan RN, Kittur FS: Chitin - The Undisputed Biomolecule of Great Potential. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2003;43:61-87.
204. Tolle A, Ganss C: Erosionen der Zahnhartsubstanzen: Risiken und Prävention. *Quintessenz Team-Journal* 2011;41:189-196.
205. Twetman S, Axelsson S, Dahlgren H, Holm A-K, Källestal C, Lagerlöf F, Lingström P, Mejare I, Nordenram G, Norlund A, Petersson LG, Söder B: Caries-preventive effect of fluoride toothpaste: A systematic review. *Acta Odontol Scand* 2003;61:347-355.
206. van der Mei HC, Engels E, De Vries J, Dijkstra RJB, Busscher HJ: Chitosan adsorption to salivary pellicles. *Eur J Oral Sci* 2007;115:303-307.

207. van Rijkom H, Ruben J, Vieira A, Huysmans MC, Truin GJ, Mulder J: Erosion-inhibiting effect of sodium fluoride and titanium tetrafluoride treatment in vitro. *Eur J Oral Sci* 2003;111:253-257.
208. van Rijkom HM, Truin GJ, Frencken JEFM, König KG, van't Hof MA, Bronkhorst EM, Roeters FJM: Prevalence, distribution and background variables of smooth-bordered tooth wear in teenagers in the hague, the Netherlands. *Caries Res* 2001;36:147-154.
209. Veeregowda DH, van der Mei HC, Busscher HJ, Sharma PK: Influence of fluoride-detergent combinations on the visco-elasticity of adsorbed salivary protein films. *Eur J Oral Sci* 2011;119:21-26.
210. Vieira A, Lugtenborg M, Ruben JL, Huysmans MC: Brushing abrasion of eroded bovine enamel pretreated with topical fluorides. *Caries Res* 2006;40:224-230.
211. Vieira A, Ruben JL, Huysmans MC: Effect of titanium tetrafluoride, amine fluoride and fluoride varnish on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 2005;39:371-379.
212. Voronets J, Jaeggi T, Buergin W, Lussi A: Controlled toothbrush abrasion of softened human enamel. *Caries Res* 2008;42:286-290.
213. Voronets J, Lussi A: Thickness of softened human enamel removed by toothbrush abrasion: an in vitro study. *Clin Oral Investig* 2009;14:251-256.
214. Wachtel LW: In vitro comparison of effects of topical stannic fluoride and stannous fluoride solutions on enamel solubility. *Arch Oral Biol* 1964;9:439-445.
215. Walsh RH, Nebergall WH, Muhler JC, Day HG: Effects of buffered solutions of sodium fluoride and stannous fluoride on the solubility of powdered enamel using repeated decalcification. *J Dent Res* 1957;36:118-123.
216. Wei SH: Scanning electron microscope study of stannous fluoride-treated enamel surfaces. *J Dent Res* 1974;53:57-63.
217. Wengenmayr, R. TechMAX. 15. 2011. München/Germany, Max-Planck-Gesellschaft.
218. 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 Rehab* 2000;27:875-880.
219. West NX, Hughes JA, Addy M: The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. *J Oral Rehabil* 2001;28:860-864.
220. Wetton S, Hughes J, West NX, Addy M: Exposure time of enamel and dentine to saliva for protection against erosion: a study in vitro. *Caries Res* 2006;40:213-217.

221. Wiegand A, Attin T: Occupational dental erosion from exposure to acids: a review. *Occup Med (Lond)* 2007;57:169-176.
222. Wiegand A, Bliggenstorfer S, Magalhaes AC, Sener B, Attin T: Impact of the in situ formed salivary pellicle on enamel and dentine erosion induced by different acids. *Acta Odontol Scand* 2008a;66:225-230.
223. Wiegand A, Müller J, Werner C, Attin T: Prevalence of erosive tooth wear and associated risk factors in 2-7-year-old German kindergarten children. *Oral Diseases* 2006;12:117-124.
224. Wiegand A, Schwerzmann M, Sener B, Magalhaes AC, Roos M, Ziebolz D, Imfeld T, Attin T: Impact of toothpaste slurry abrasivity and toothbrush filament stiffness on abrasion of eroded enamel - an in vitro study. *Acta Odontol Scand* 2008b;66:231-235.
225. Wiktorsson AM, Zimmerman M, Angmar-Månsson B: Erosive tooth wear: prevalence and severity in Swedish winetasters. *Eur J Oral Sci* 1997;105:544-550.
226. Willumsen T, Ogaard B, Hansen BF, Rolla G: Effects from pretreatment of stannous fluoride versus sodium fluoride on enamel exposed to 0.1 M or 0.01 M hydrochloric acid. *Acta Odontol Scand* 2004;62:278-281.
227. Wülknitz P: Cleaning power and abrasivity of european toothpastes. *Adv Dent Res* 1997;11:576-579.
228. Yin A, Margolis HC, Yao Y, Grogan J, Oppenheim FG: Multi-component adsorption model for pellicle formation: The influence of salivary proteins and non-salivary phospho proteins on the binding of histatin 5 onto hydroxyapatite. *Arch Oral Biol* 2006;51:102-110.
229. Young A TLM: Initial erosion models. *Caries Res* 2011;45:33-42.
230. Young A, Smistad G, Karlsen J, Rølla G, Rykke M: Zeta Potentials of Human Enamel and Hydroxyapatite as measured by the Coulter® DELSA 440. *Adv Dent Res* 1997;11:560-565.
231. Young A, Thrane PS, Saxegaard E, Jonski G, Rølla G: Effect of stannous fluoride toothpaste on erosion-like lesions: an in vivo study. *Eur J Oral Sci* 2006;114:180-183.
232. Yu H, Attin T, Wiegand A, Buchalla W: Effects of various fluoride solutions on enamel erosion in vitro. *Caries Res* 2010;44:390-401.
233. Zahradnik RT: Modification by Salivary Pellicles of in vitro Enamel Remineralization. *J Dent Res* 1979;58:2066-2073.
234. Zahradnik RT, Moreno EC, Burke EJ: Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro. *J Dent Res* 1976;55:664-670.
235. Zero D, Lussi A: Erosion - chemical and biological factors of importance to the dental practitioner. *Int Dent J* 2005;55:285-290.

236. Zero D, Lussi A: Behavioral factors; in Lussi A (ed): Dental Erosion. Basel, Karger, 2006 pp 100-105.
237. Zero DT: Etiology of dental erosion - extrinsic factors. Eur J Oral Sci 1996;104:162-177.
238. Zhang XZ, Anderson P, Dowker SEP, Enzell K: Optical profilometric study of changes in surface roughness of enamel during in vitro demineralisation. Caries Res 2000;34:164-174.
239. Zipkin J, McClure F: Salivary citrate and dental erosion. J Dent Res 1949;28:613-626.

9 Anhang

9.1 REM-Strukturaufnahmen der Probenoberflächen und Ergebnisse der energiedispersiven Röntgenspektroskopie

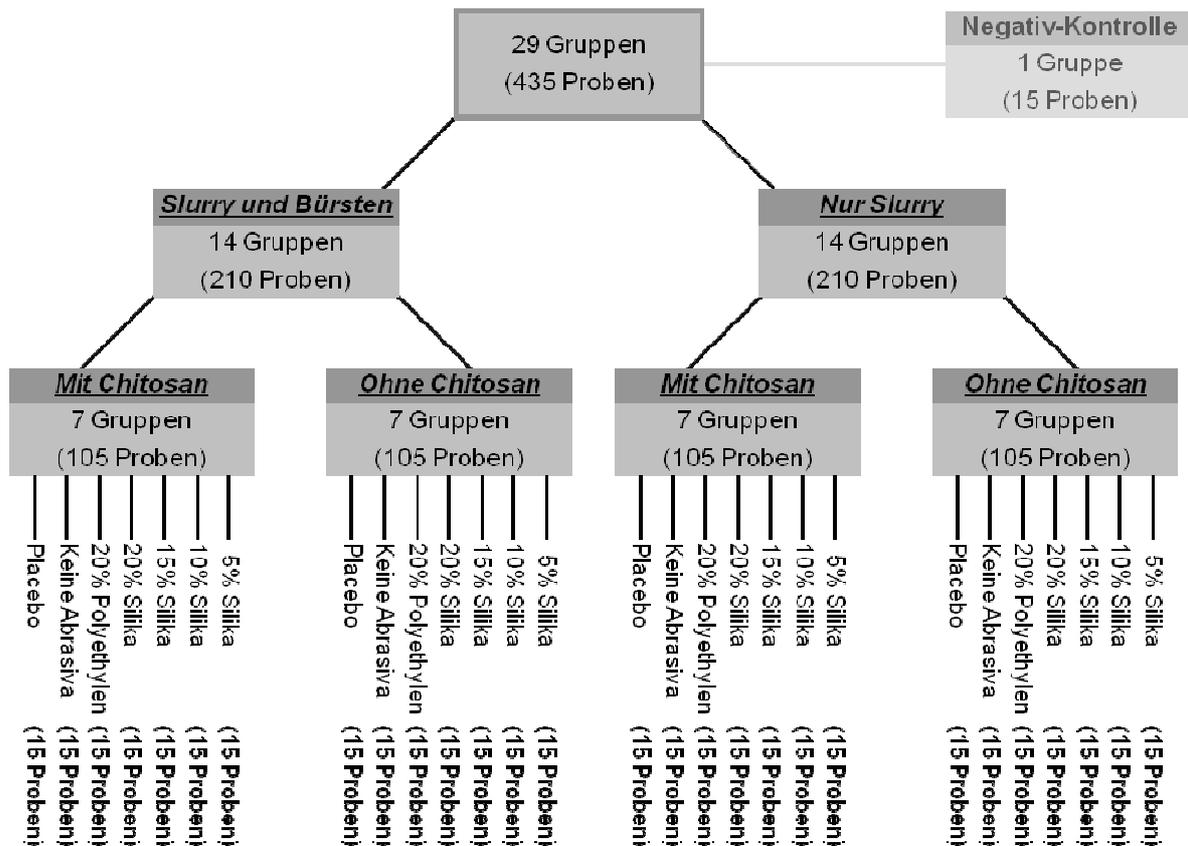


Abb. 9.01: Schematische Übersicht der Versuchsgruppen mit spezifischer Behandlungsart, verwendeter experimenteller Zahnpastenformulierung und enthaltener Probenanzahl.

9.1.1 Versuchsgruppen ohne Chitosan und mit Bürstbehandlung

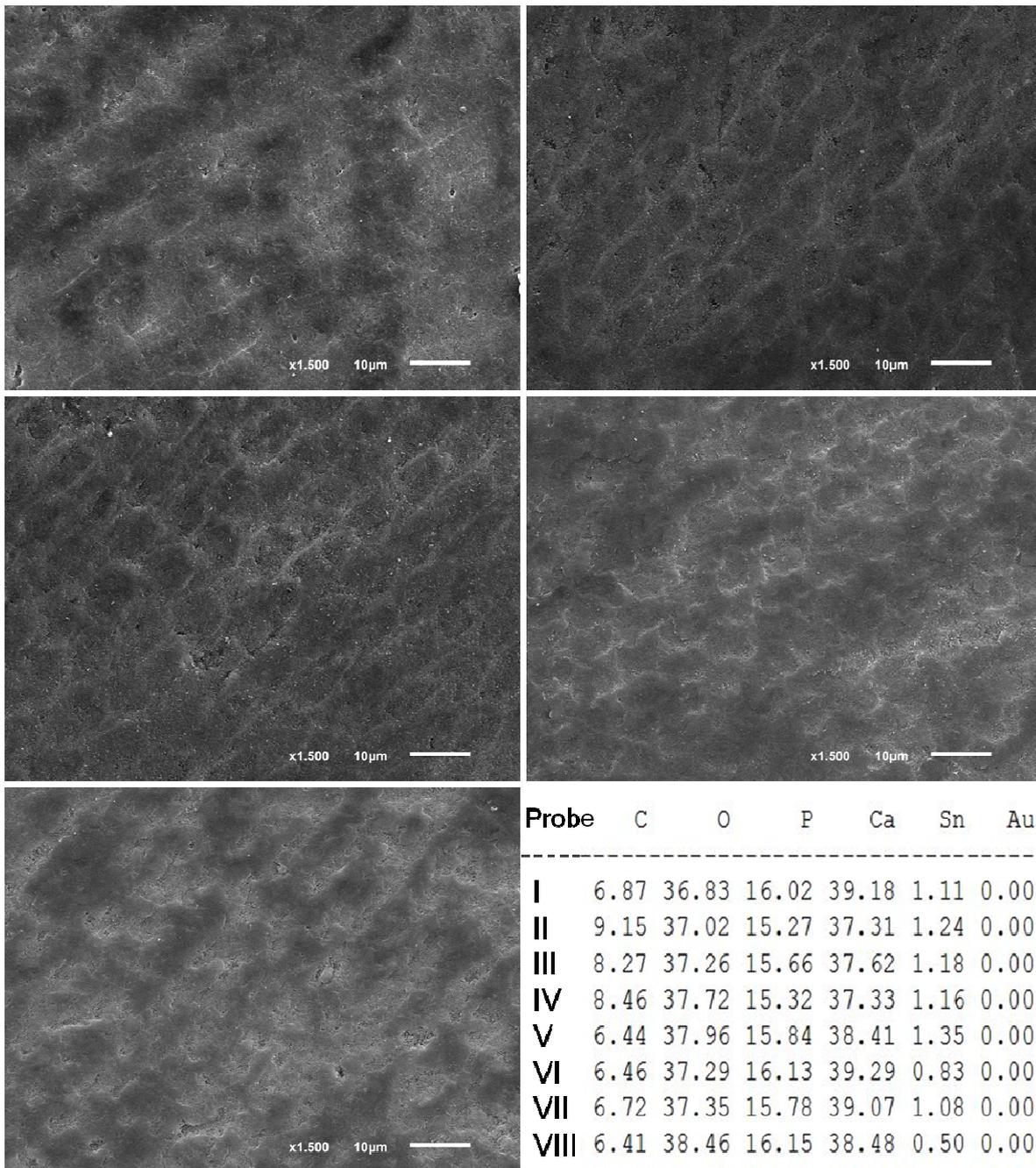


Abb. 9.02: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe Keine Abrasiva, mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan. Probennummern II, IV, VII, XIII, XV (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	6.87	36.83	16.02	39.18	1.11	0.00
II	9.15	37.02	15.27	37.31	1.24	0.00
III	8.27	37.26	15.66	37.62	1.18	0.00
IV	8.46	37.72	15.32	37.33	1.16	0.00
V	6.44	37.96	15.84	38.41	1.35	0.00
VI	6.46	37.29	16.13	39.29	0.83	0.00
VII	6.72	37.35	15.78	39.07	1.08	0.00
VIII	6.41	38.46	16.15	38.48	0.50	0.00
IX	5.76	38.38	15.95	39.15	0.76	0.00
X	6.63	39.44	15.35	37.88	0.69	0.00
XI	6.26	36.80	16.68	39.39	0.87	0.00
XII	7.00	38.97	15.81	37.47	0.75	0.00
XIII	7.15	36.65	16.16	38.79	1.25	0.00
XIV	5.65	37.48	16.43	39.90	0.55	0.00
XV	7.10	37.16	16.02	38.83	0.89	0.00
MW	6.96	37.65	15.91	38.54	0.95	0.00
SD	0.98	0.83	0.40	0.83	0.27	0.00

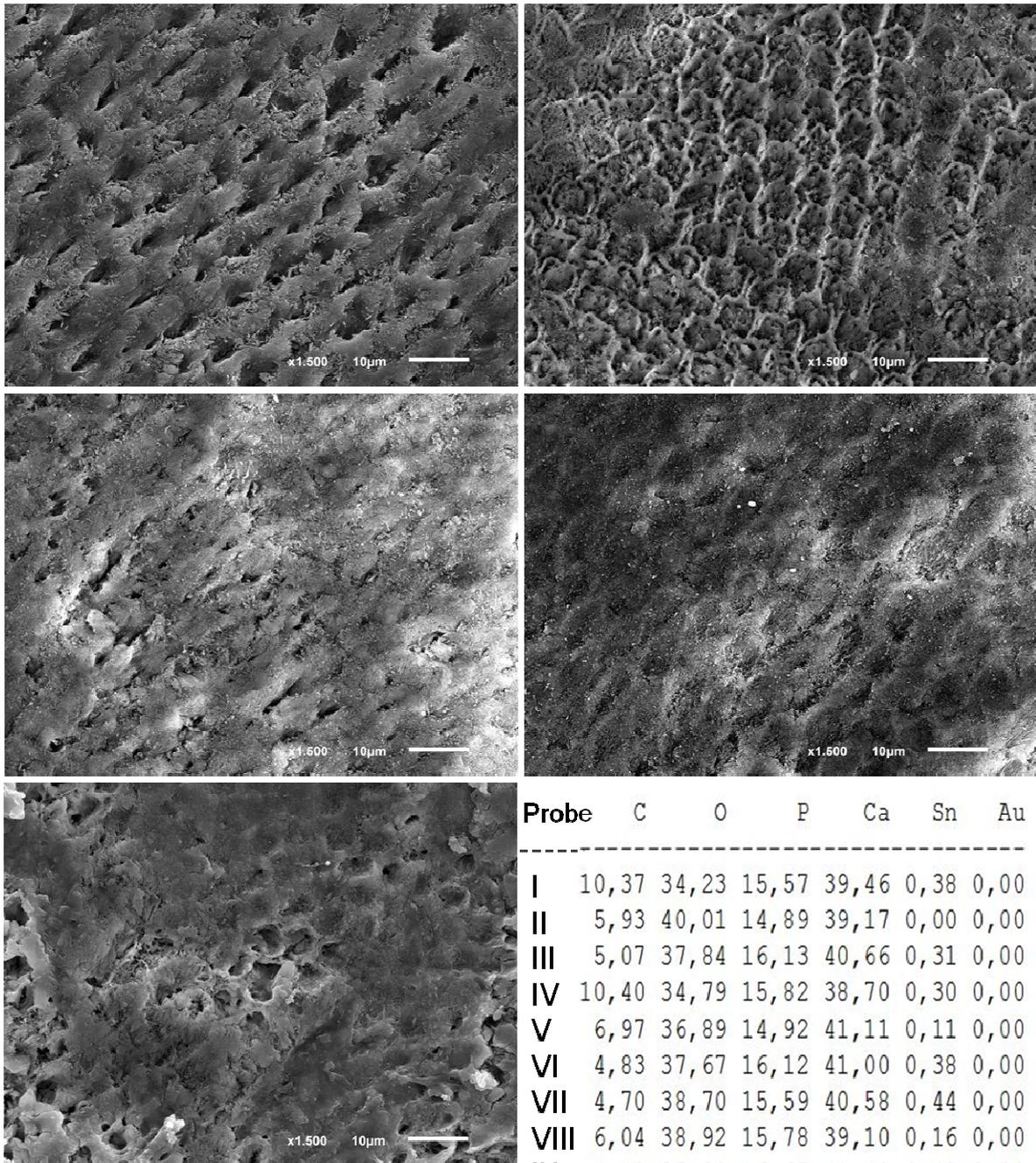


Abb. 9.03: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe Placebo, mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan. Probennummern I, III, VI, XI, XV (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	10,37	34,23	15,57	39,46	0,38	0,00
II	5,93	40,01	14,89	39,17	0,00	0,00
III	5,07	37,84	16,13	40,66	0,31	0,00
IV	10,40	34,79	15,82	38,70	0,30	0,00
V	6,97	36,89	14,92	41,11	0,11	0,00
VI	4,83	37,67	16,12	41,00	0,38	0,00
VII	4,70	38,70	15,59	40,58	0,44	0,00
VIII	6,04	38,92	15,78	39,10	0,16	0,00
IX	4,40	37,09	16,65	41,43	0,43	0,00
X	6,26	38,08	15,51	40,00	0,14	0,00
XI	5,31	37,47	15,79	41,29	0,14	0,00
XII	5,40	38,33	15,27	40,99	0,00	0,00
XIII	6,22	36,26	15,80	41,50	0,22	0,00
XIV	5,09	37,49	15,57	41,70	0,15	0,00
XV	4,31	37,69	16,43	41,23	0,34	0,00
MW	6,09	37,43	15,72	40,53	0,23	0,00
SD	1,90	1,49	0,49	0,99	0,15	0,00

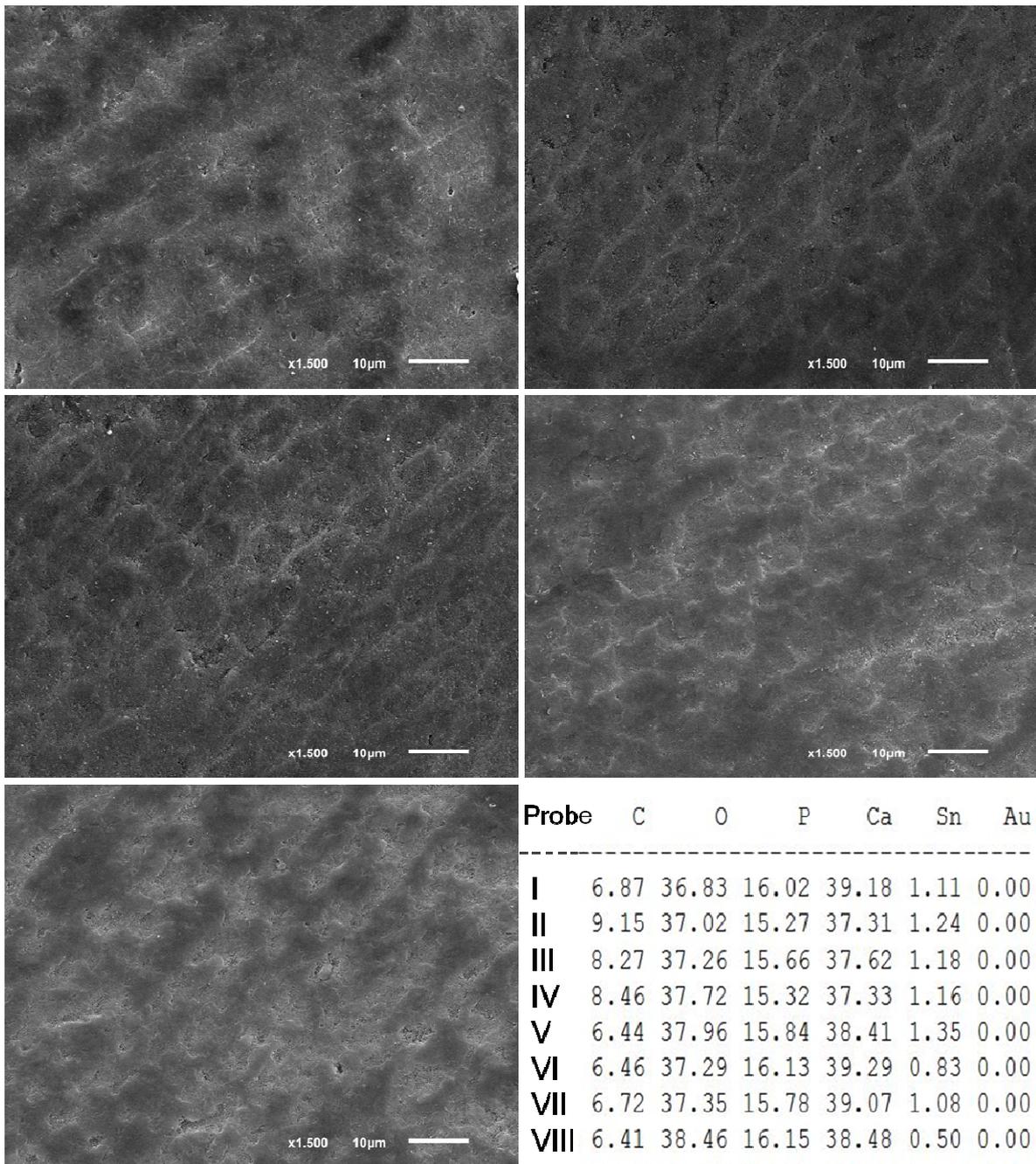


Abb. 9.04: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 5% Silika, mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan. Probennummern II, IV, VIII, XIII, XIV (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	6.87	36.83	16.02	39.18	1.11	0.00
II	9.15	37.02	15.27	37.31	1.24	0.00
III	8.27	37.26	15.66	37.62	1.18	0.00
IV	8.46	37.72	15.32	37.33	1.16	0.00
V	6.44	37.96	15.84	38.41	1.35	0.00
VI	6.46	37.29	16.13	39.29	0.83	0.00
VII	6.72	37.35	15.78	39.07	1.08	0.00
VIII	6.41	38.46	16.15	38.48	0.50	0.00
IX	5.76	38.38	15.95	39.15	0.76	0.00
X	6.63	39.44	15.35	37.88	0.69	0.00
XI	6.26	36.80	16.68	39.39	0.87	0.00
XII	7.00	38.97	15.81	37.47	0.75	0.00
XIII	7.15	36.65	16.16	38.79	1.25	0.00
XIV	5.65	37.48	16.43	39.90	0.55	0.00
XV	7.10	37.16	16.02	38.83	0.89	0.00
MW	6.96	37.65	15.91	38.54	0.95	0.00
SD	0.98	0.83	0.40	0.83	0.27	0.00

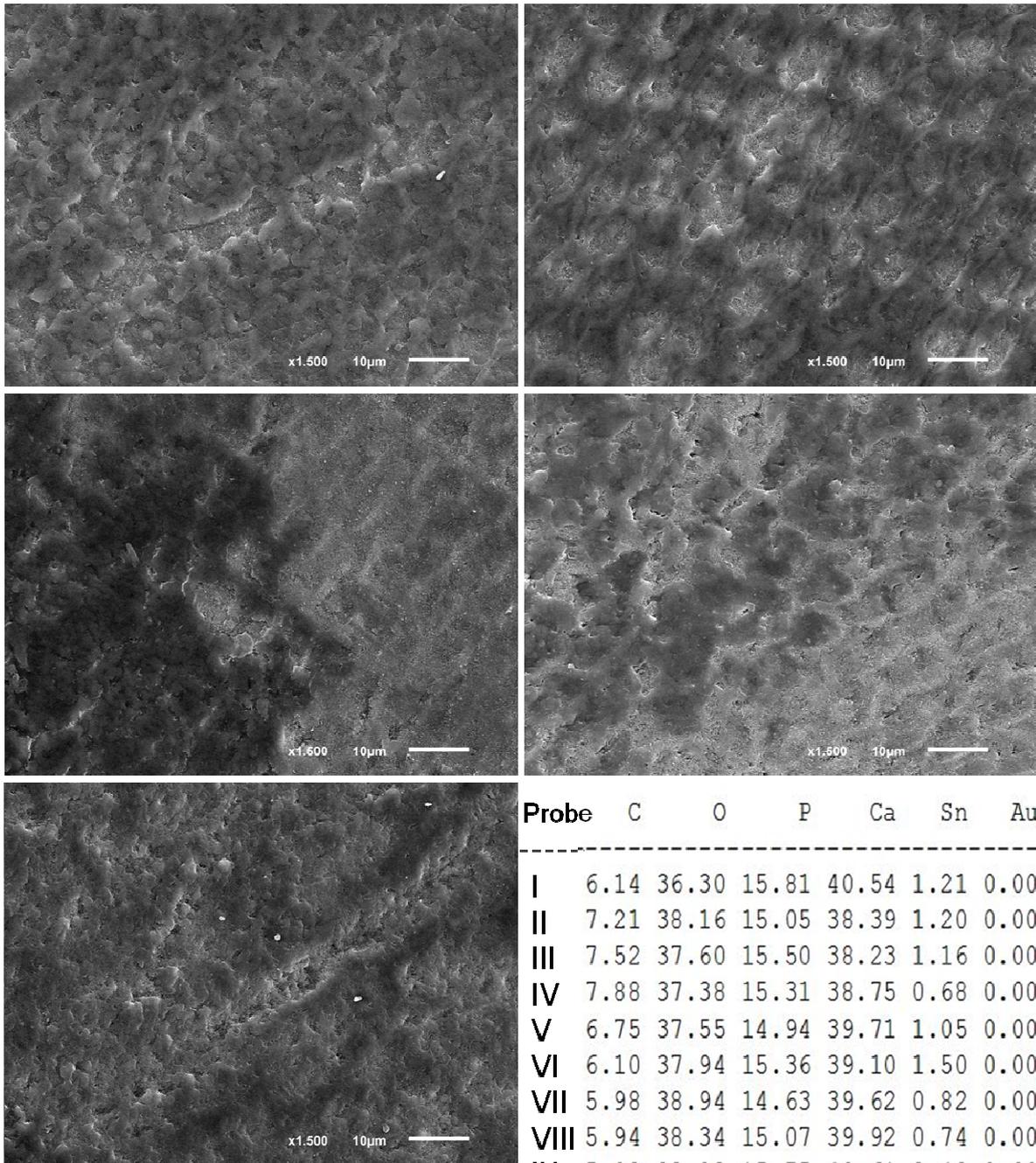


Abb. 9.05: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 10% Silika, mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan. Probennummern III, IV, VI, XI, XIV (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	6.14	36.30	15.81	40.54	1.21	0.00
II	7.21	38.16	15.05	38.39	1.20	0.00
III	7.52	37.60	15.50	38.23	1.16	0.00
IV	7.88	37.38	15.31	38.75	0.68	0.00
V	6.75	37.55	14.94	39.71	1.05	0.00
VI	6.10	37.94	15.36	39.10	1.50	0.00
VII	5.98	38.94	14.63	39.62	0.82	0.00
VIII	5.94	38.34	15.07	39.92	0.74	0.00
IX	5.02	38.22	15.75	40.61	0.40	0.00
X	6.44	38.23	15.06	39.14	1.13	0.00
XI	5.88	37.04	15.75	39.77	1.56	0.00
XII	4.76	37.12	16.10	40.70	1.32	0.00
XIII	6.17	37.88	15.46	39.27	1.22	0.00
XIV	6.19	38.38	15.47	38.73	1.22	0.00
XV	5.78	37.43	15.59	40.10	1.10	0.00
MW	6.25	37.77	15.39	39.50	1.09	0.00
SD	0.84	0.66	0.39	0.79	0.31	0.00

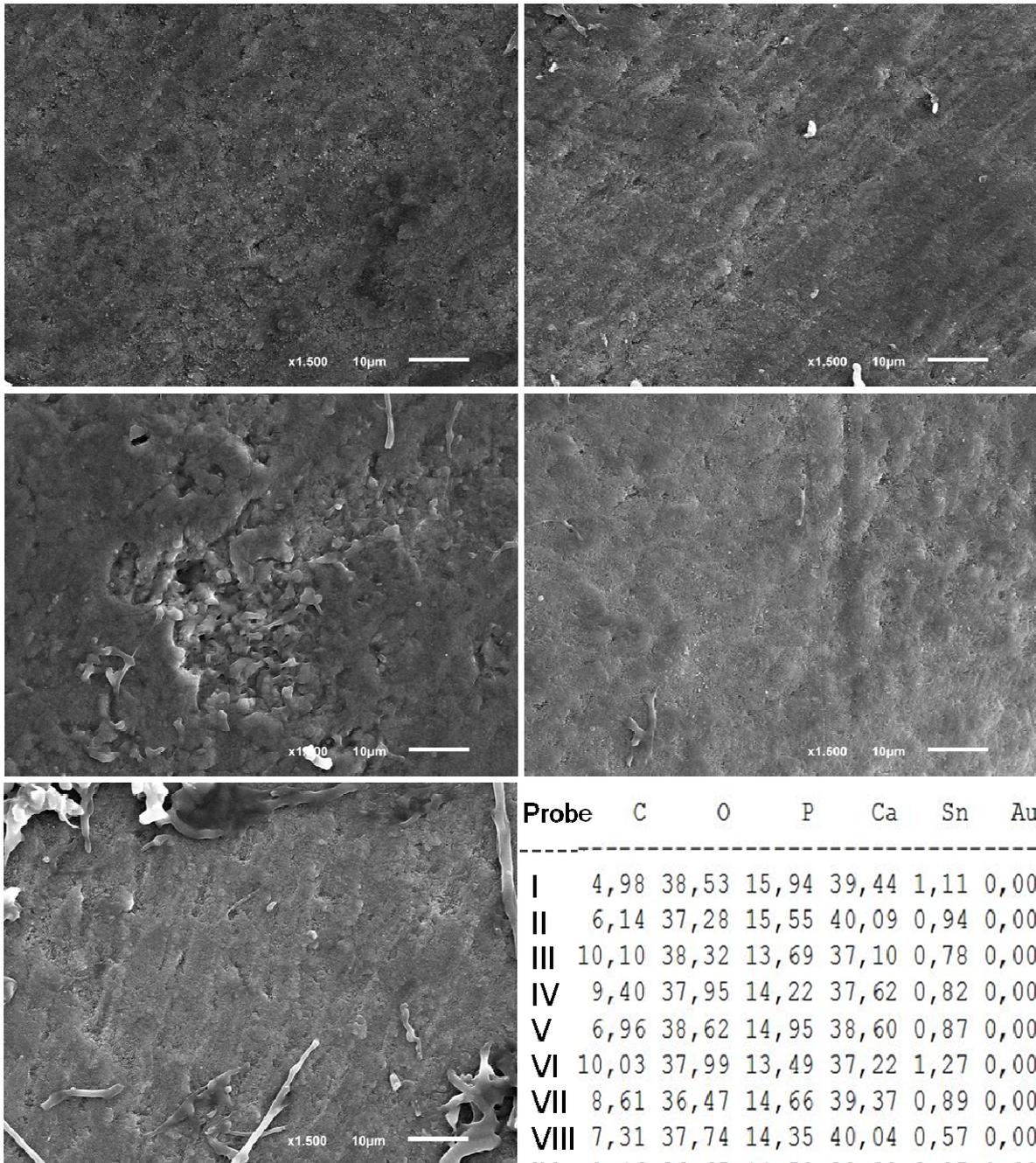


Abb. 9.06: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 15% Silika, mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan. Probennummern I, V, VI, X, XI (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	4,98	38,53	15,94	39,44	1,11	0,00
II	6,14	37,28	15,55	40,09	0,94	0,00
III	10,10	38,32	13,69	37,10	0,78	0,00
IV	9,40	37,95	14,22	37,62	0,82	0,00
V	6,96	38,62	14,95	38,60	0,87	0,00
VI	10,03	37,99	13,49	37,22	1,27	0,00
VII	8,61	36,47	14,66	39,37	0,89	0,00
VIII	7,31	37,74	14,35	40,04	0,57	0,00
IX	8,46	36,67	14,59	39,32	0,97	0,00
X	7,49	38,25	14,57	38,85	0,84	0,00
XI	7,91	36,95	14,93	38,76	1,46	0,00
XII	8,53	37,46	14,81	38,29	0,90	0,00
XIII	6,66	37,86	14,48	40,66	0,34	0,00
XIV	7,08	36,60	15,72	39,92	0,68	0,00
XV	6,35	38,39	15,37	38,80	1,08	0,00
MW	7,73	37,67	14,76	38,94	0,90	0,00
SD	1,47	0,73	0,69	1,06	0,27	0,00

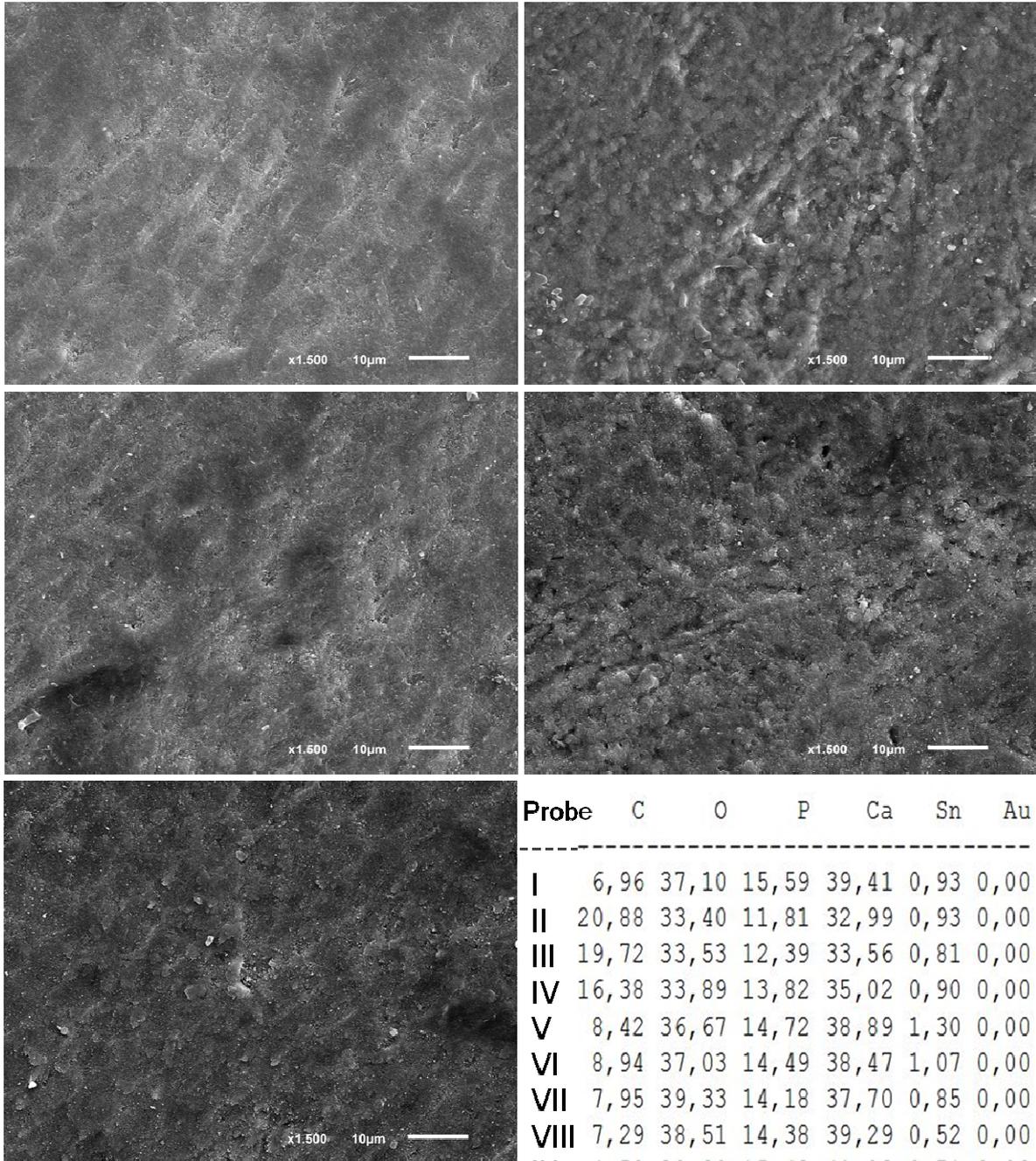


Abb. 9.07: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 20% Silika, mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan. Probennummern I, II, VI, XI, XIV (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	6,96	37,10	15,59	39,41	0,93	0,00
II	20,88	33,40	11,81	32,99	0,93	0,00
III	19,72	33,53	12,39	33,56	0,81	0,00
IV	16,38	33,89	13,82	35,02	0,90	0,00
V	8,42	36,67	14,72	38,89	1,30	0,00
VI	8,94	37,03	14,49	38,47	1,07	0,00
VII	7,95	39,33	14,18	37,70	0,85	0,00
VIII	7,29	38,51	14,38	39,29	0,52	0,00
IX	4,58	38,00	15,48	41,23	0,71	0,00
X	4,81	37,81	15,79	40,40	1,19	0,00
XI	5,29	36,47	16,24	40,76	1,24	0,00
XII	4,53	37,94	15,80	40,68	1,06	0,00
XIII	4,33	37,77	15,71	41,28	0,90	0,00
XIV	5,26	37,16	16,01	40,63	0,94	0,00
XV	4,67	37,67	14,94	41,98	0,74	0,00
MW	8,67	36,82	14,76	38,82	0,94	0,00
SD	5,62	1,81	1,30	2,84	0,21	0,00

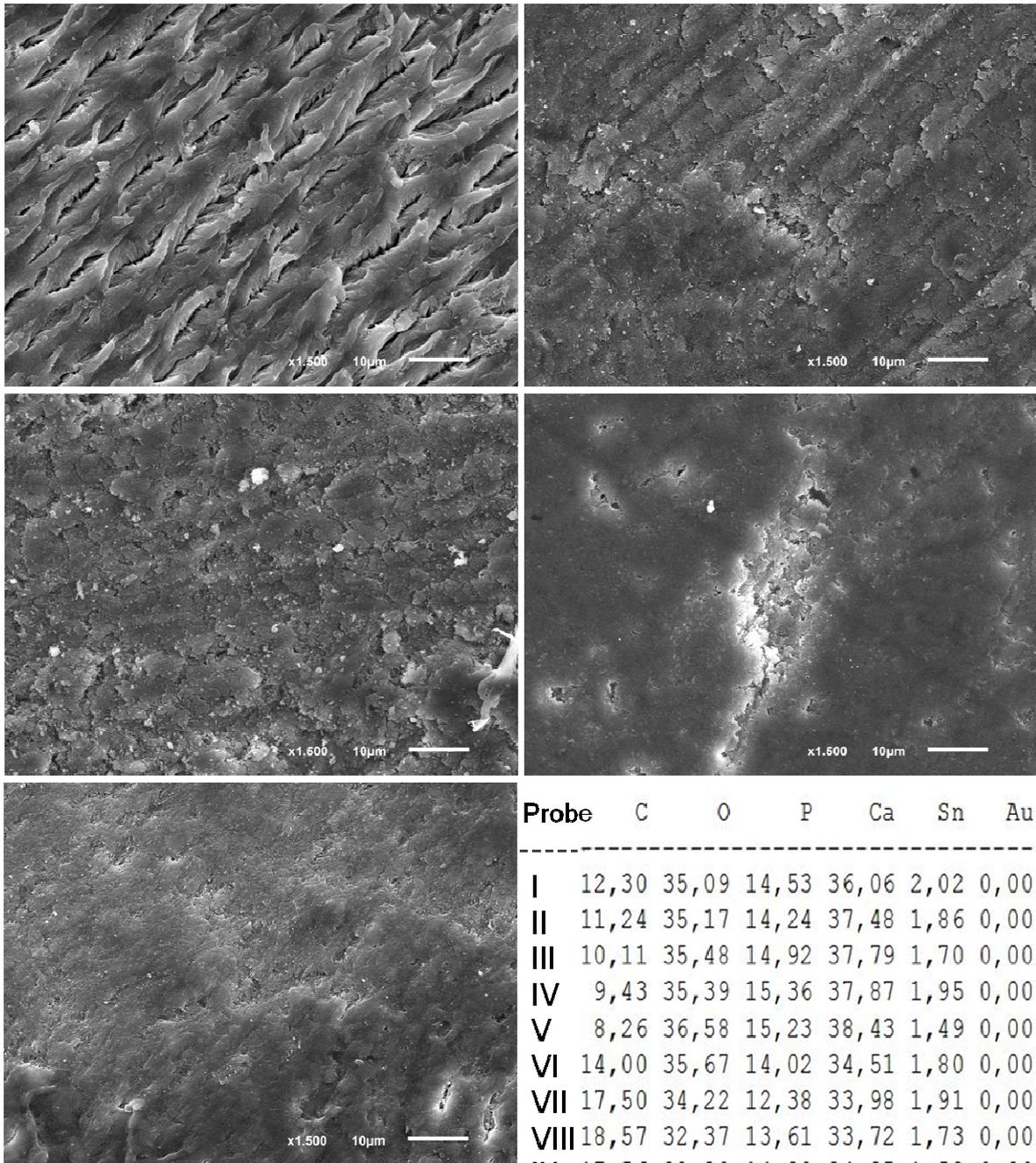


Abb. 9.08: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 20% Polyethylen, mit Bürstbehandlung, ohne Chitosan. Probennummern I, III, V, VI, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	12,30	35,09	14,53	36,06	2,02	0,00
II	11,24	35,17	14,24	37,48	1,86	0,00
III	10,11	35,48	14,92	37,79	1,70	0,00
IV	9,43	35,39	15,36	37,87	1,95	0,00
V	8,26	36,58	15,23	38,43	1,49	0,00
VI	14,00	35,67	14,02	34,51	1,80	0,00
VII	17,50	34,22	12,38	33,98	1,91	0,00
VIII	18,57	32,37	13,61	33,72	1,73	0,00
IX	17,56	32,29	14,28	34,35	1,53	0,00
X	14,82	33,66	13,63	36,26	1,63	0,00
XI	13,26	33,39	14,73	36,42	2,20	0,00
XII	11,96	32,05	15,24	38,89	1,86	0,00
XIII	12,82	33,72	14,06	37,94	1,46	0,00
XIV	12,88	32,07	15,09	38,49	1,47	0,00
XV	13,79	31,95	14,99	37,60	1,67	0,00
MW	13,23	33,94	14,42	36,65	1,75	0,00
SD	2,98	1,56	0,81	1,77	0,22	0,00

9.1.2 Versuchsgruppen ohne Chitosan und mit Slurrybehandlung

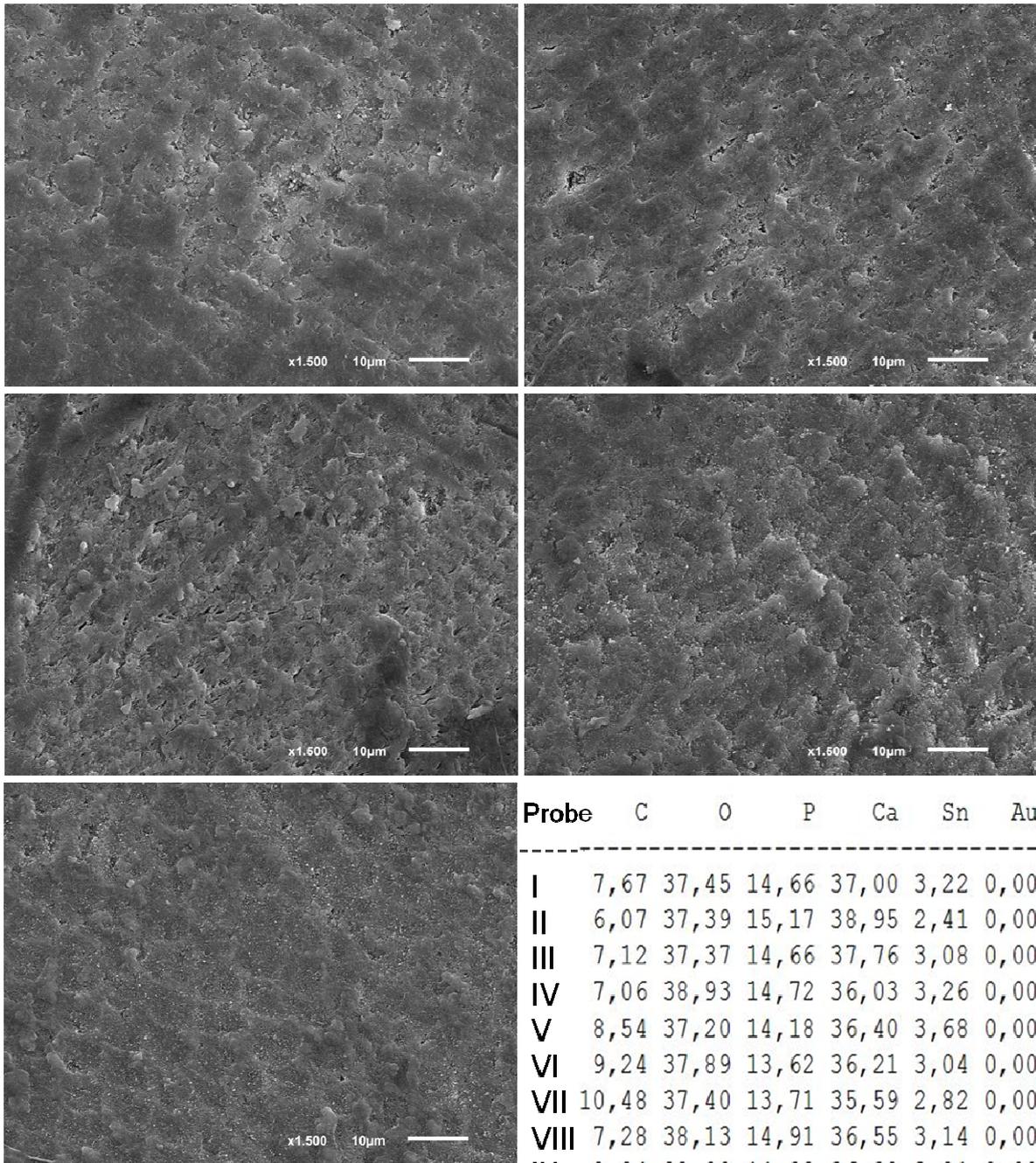


Abb. 9.09: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe Keine Abrasiva, mit Slurrybehandlung, ohne Chitosan. Probennummern II, V, VI, X, XI (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	7,67	37,45	14,66	37,00	3,22	0,00
II	6,07	37,39	15,17	38,95	2,41	0,00
III	7,12	37,37	14,66	37,76	3,08	0,00
IV	7,06	38,93	14,72	36,03	3,26	0,00
V	8,54	37,20	14,18	36,40	3,68	0,00
VI	9,24	37,89	13,62	36,21	3,04	0,00
VII	10,48	37,40	13,71	35,59	2,82	0,00
VIII	7,28	38,13	14,91	36,55	3,14	0,00
IX	8,24	38,00	14,23	36,32	3,21	0,00
X	10,58	38,35	13,40	32,15	5,52	0,00
XI	7,60	36,79	14,84	37,91	2,86	0,00
XII	7,83	38,22	14,15	36,84	2,97	0,00
XIII	7,03	36,50	15,02	38,34	3,12	0,00
XIV	8,95	36,36	14,64	37,34	2,70	0,00
XV	6,57	38,69	15,05	37,43	2,25	0,00
MW	8,02	37,64	14,46	36,72	3,15	0,00
SD	1,33	0,76	0,55	1,57	0,74	0,00

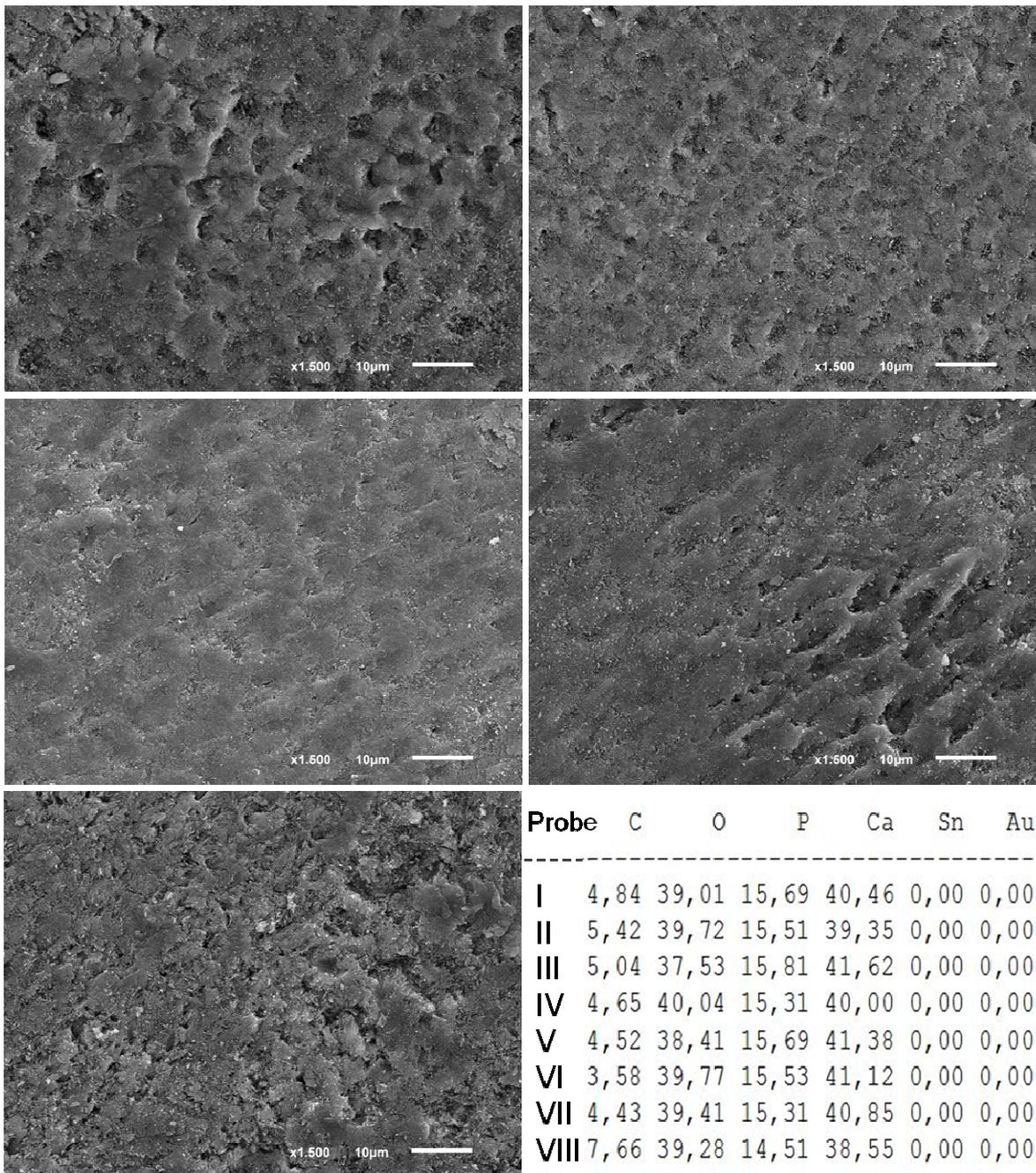


Abb. 9.10: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe Placebo, mit Slurrybehandlung, ohne Chitosan. Probennummern III, VIII, X, XI, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	4,84	39,01	15,69	40,46	0,00	0,00
II	5,42	39,72	15,51	39,35	0,00	0,00
III	5,04	37,53	15,81	41,62	0,00	0,00
IV	4,65	40,04	15,31	40,00	0,00	0,00
V	4,52	38,41	15,69	41,38	0,00	0,00
VI	3,58	39,77	15,53	41,12	0,00	0,00
VII	4,43	39,41	15,31	40,85	0,00	0,00
VIII	7,66	39,28	14,51	38,55	0,00	0,00
IX	4,37	38,32	16,03	41,28	0,00	0,00
X	4,17	39,02	16,24	40,56	0,00	0,00
XI	4,36	37,99	16,22	41,43	0,00	0,00
XII	4,91	38,34	15,45	41,30	0,00	0,00
XIII	4,48	37,46	16,14	41,91	0,00	0,00
XIV	6,13	38,17	15,18	40,53	0,00	0,00
XV	4,24	39,25	15,38	41,10	0,03	0,00
MW	4,85	38,78	15,60	40,76	0,00	0,00
SD	0,97	0,81	0,46	0,90	0,01	0,00

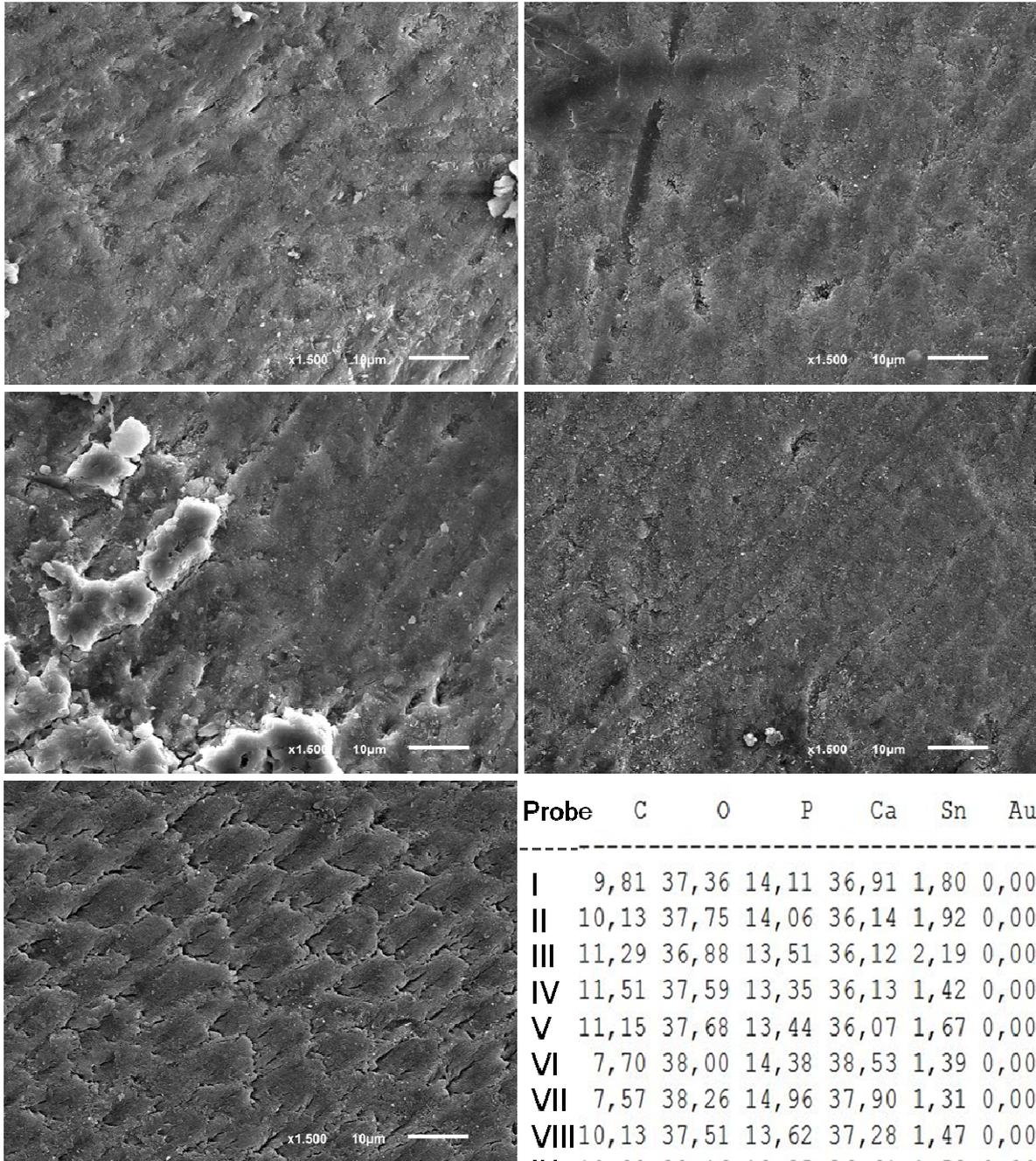


Abb. 9.11: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 5% Silika, mit Slurrybehandlung, ohne Chitosan. Probennummern I, VII, IX, X, XI (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	9,81	37,36	14,11	36,91	1,80	0,00
II	10,13	37,75	14,06	36,14	1,92	0,00
III	11,29	36,88	13,51	36,12	2,19	0,00
IV	11,51	37,59	13,35	36,13	1,42	0,00
V	11,15	37,68	13,44	36,07	1,67	0,00
VI	7,70	38,00	14,38	38,53	1,39	0,00
VII	7,57	38,26	14,96	37,90	1,31	0,00
VIII	10,13	37,51	13,62	37,28	1,47	0,00
IX	10,39	38,16	13,25	36,61	1,59	0,00
X	10,09	37,15	13,90	36,92	1,94	0,00
XI	9,30	35,91	14,98	38,35	1,47	0,00
XII	11,17	36,28	13,56	37,30	1,68	0,00
XIII	9,82	37,39	13,98	37,27	1,54	0,00
XIV	10,85	36,01	14,50	36,80	1,83	0,00
XV	11,42	36,54	14,03	36,41	1,60	0,00
MW	10,16	37,23	13,98	36,98	1,66	0,00
SD	1,23	0,75	0,55	0,80	0,24	0,00

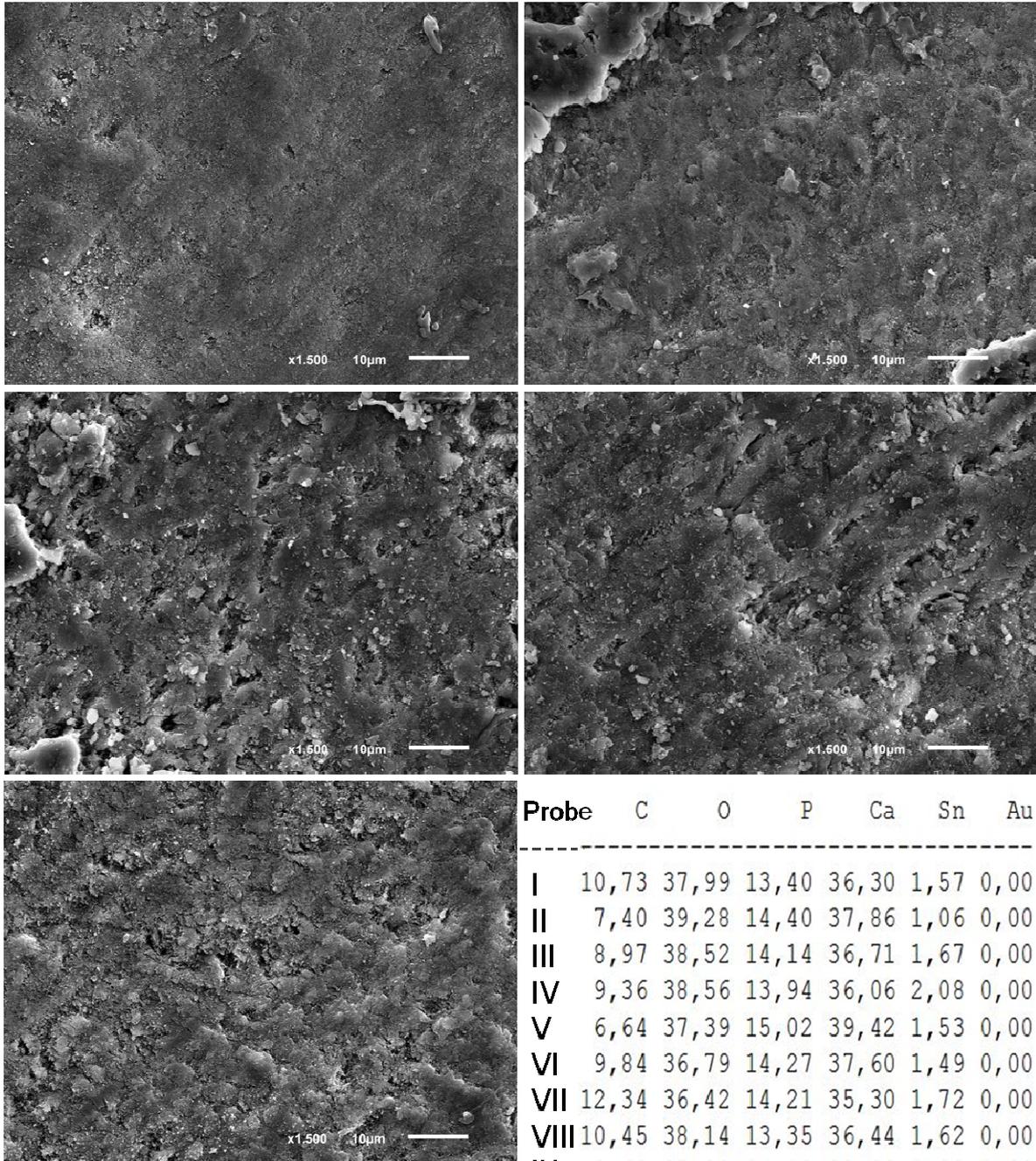


Abb. 9.12: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 10% Silika, mit Slurrybehandlung, ohne Chitosan. Probennummern III, V, VII, VIII, XII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	10,73	37,99	13,40	36,30	1,57	0,00
II	7,40	39,28	14,40	37,86	1,06	0,00
III	8,97	38,52	14,14	36,71	1,67	0,00
IV	9,36	38,56	13,94	36,06	2,08	0,00
V	6,64	37,39	15,02	39,42	1,53	0,00
VI	9,84	36,79	14,27	37,60	1,49	0,00
VII	12,34	36,42	14,21	35,30	1,72	0,00
VIII	10,45	38,14	13,35	36,44	1,62	0,00
IX	8,63	37,90	14,12	38,02	1,33	0,00
X	10,35	37,89	13,90	35,83	2,02	0,00
XI	8,83	37,94	14,50	37,00	1,72	0,00
XII	11,84	40,15	12,74	33,76	1,50	0,00
XIII	11,54	37,35	13,31	36,05	1,75	0,00
XIV	9,20	37,14	15,12	36,80	1,74	0,00
XV	10,05	39,16	13,78	35,23	1,78	0,00
MW	9,75	38,04	14,01	36,56	1,64	0,00
SD	1,57	0,99	0,64	1,35	0,25	0,00

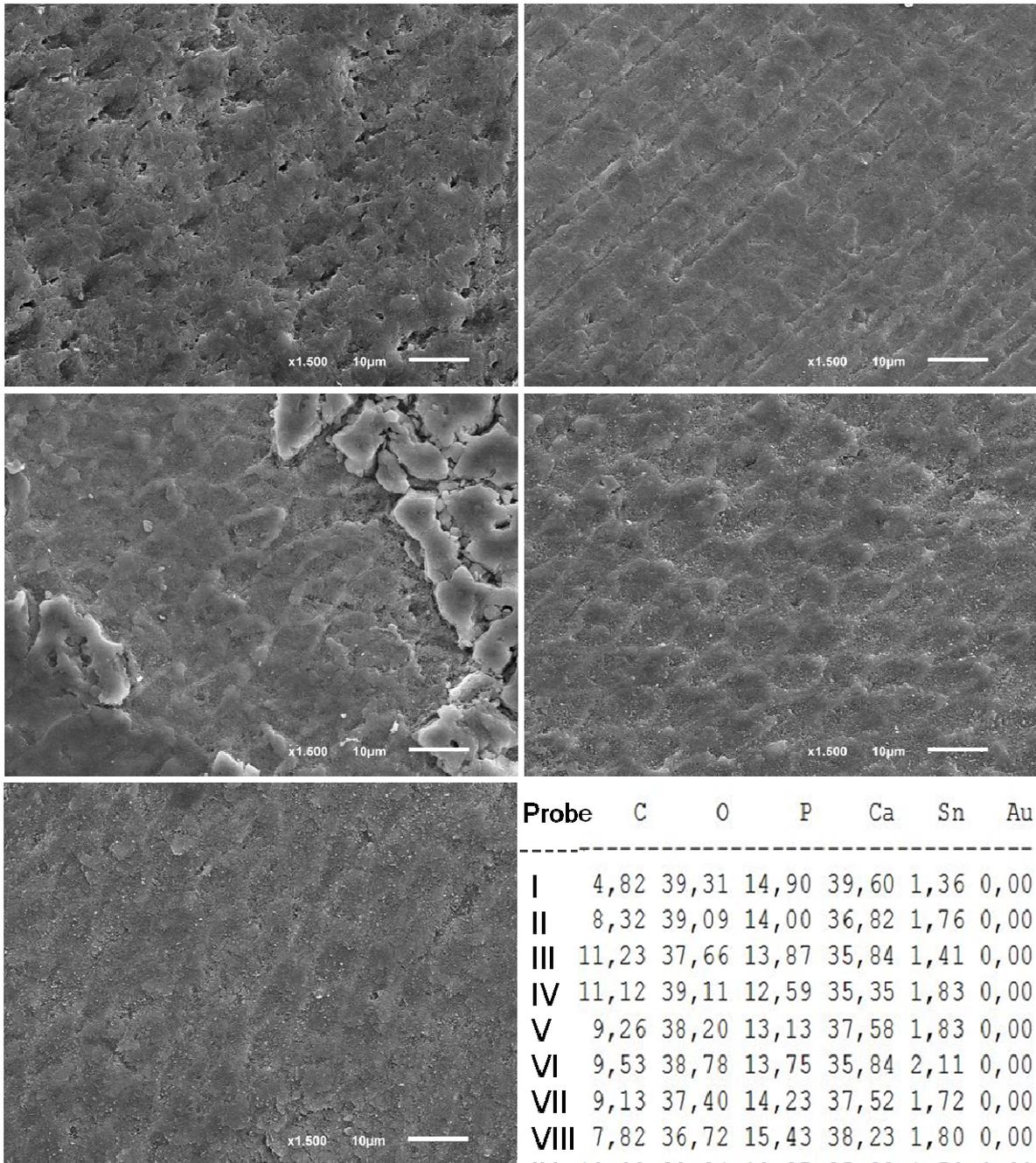


Abb. 9.13: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 15% Silika, mit Slurrybehandlung, ohne Chitosan. Probennummern I, X, XIII, XIV, XV (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	4,82	39,31	14,90	39,60	1,36	0,00
II	8,32	39,09	14,00	36,82	1,76	0,00
III	11,23	37,66	13,87	35,84	1,41	0,00
IV	11,12	39,11	12,59	35,35	1,83	0,00
V	9,26	38,20	13,13	37,58	1,83	0,00
VI	9,53	38,78	13,75	35,84	2,11	0,00
VII	9,13	37,40	14,23	37,52	1,72	0,00
VIII	7,82	36,72	15,43	38,23	1,80	0,00
IX	10,98	38,04	13,37	35,83	1,79	0,00
X	9,83	38,32	13,75	36,85	1,25	0,00
XI	9,52	38,68	13,89	36,24	1,68	0,00
XII	9,24	38,12	13,99	37,10	1,55	0,00
XIII	7,41	36,83	14,95	39,66	1,14	0,00
XIV	6,46	36,62	15,91	39,37	1,65	0,00
XV	8,47	37,21	14,57	37,99	1,77	0,00
MW	8,88	38,01	14,15	37,32	1,64	0,00
SD	1,75	0,90	0,87	1,43	0,26	0,00

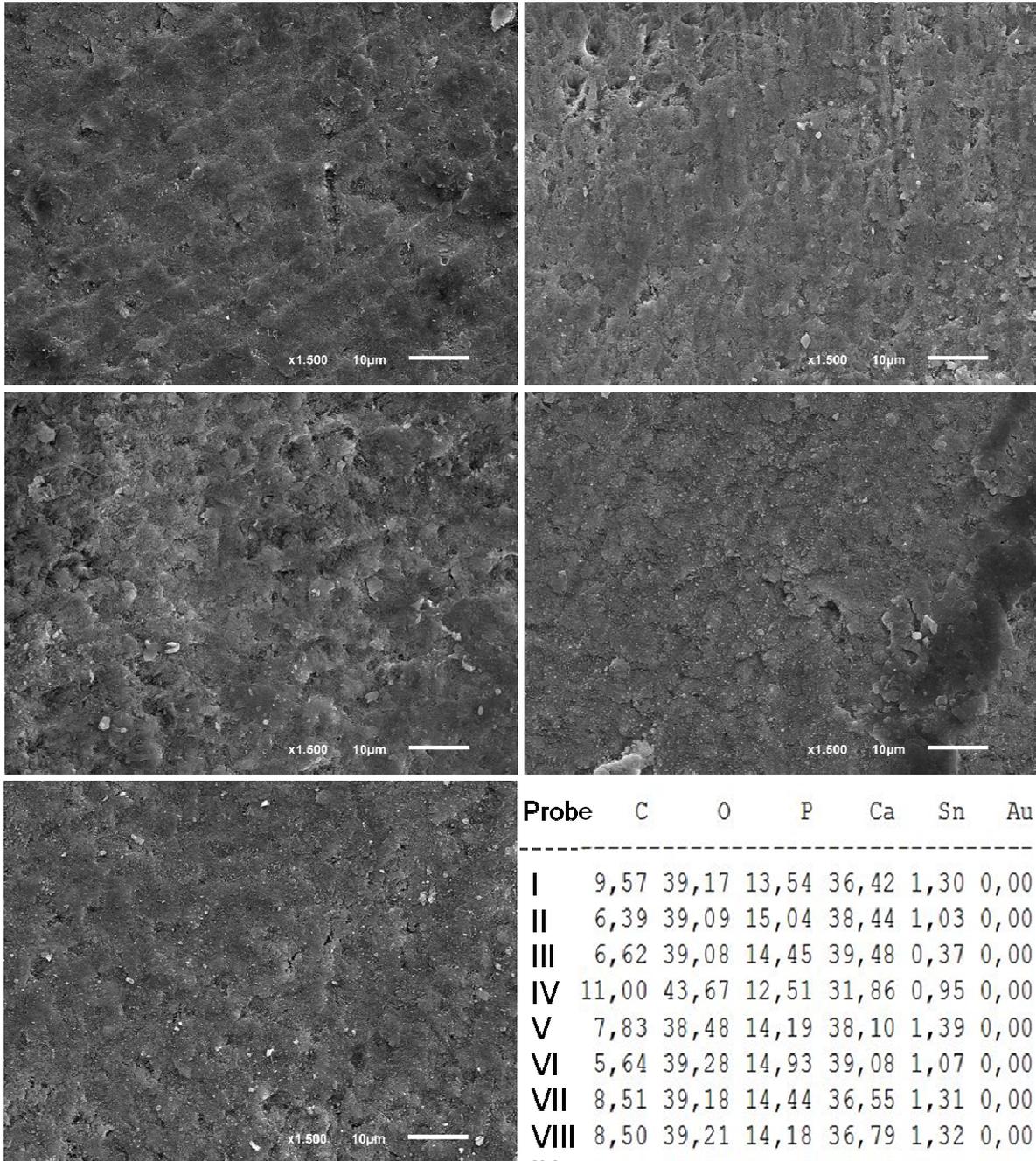


Abb. 9.14: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 20% Silika, mit Slurrybehandlung, ohne Chitosan. Probennummern VI, VIII, X, XI, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	9,57	39,17	13,54	36,42	1,30	0,00
II	6,39	39,09	15,04	38,44	1,03	0,00
III	6,62	39,08	14,45	39,48	0,37	0,00
IV	11,00	43,67	12,51	31,86	0,95	0,00
V	7,83	38,48	14,19	38,10	1,39	0,00
VI	5,64	39,28	14,93	39,08	1,07	0,00
VII	8,51	39,18	14,44	36,55	1,31	0,00
VIII	8,50	39,21	14,18	36,79	1,32	0,00
IX	8,66	37,50	14,67	37,85	1,31	0,00
X	9,52	38,45	13,94	37,05	1,04	0,00
XI	8,34	37,45	14,98	38,09	1,13	0,00
XII	5,65	37,85	15,62	39,50	1,37	0,00
XIII	5,29	36,29	15,75	41,59	1,07	0,00
XIV	8,55	37,73	14,28	38,16	1,27	0,00
XV	9,99	35,77	14,18	38,79	1,26	0,00
MW	8,01	38,55	14,45	37,85	1,15	0,00
SD	1,73	1,79	0,80	2,13	0,26	0,00

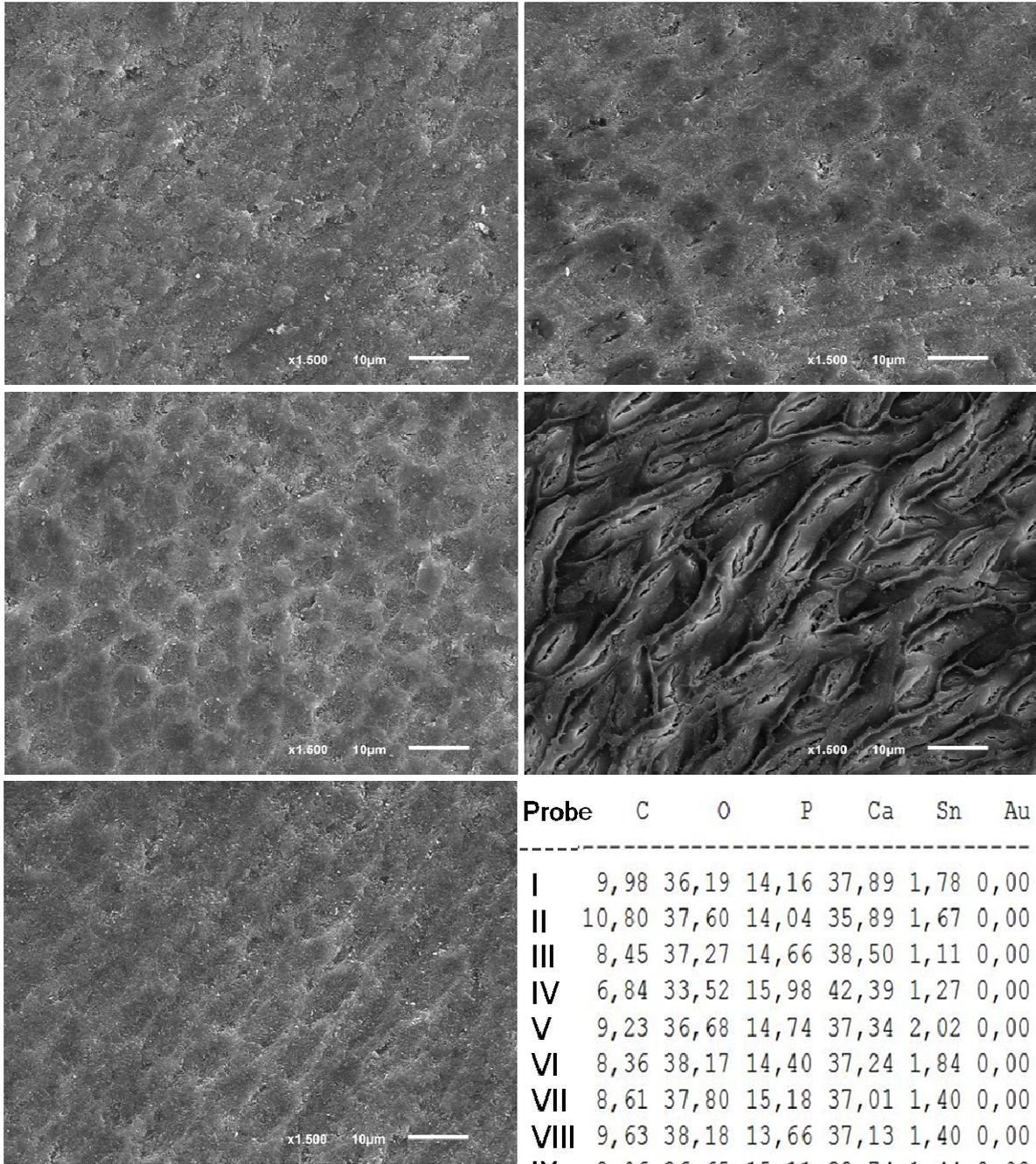


Abb. 9.15: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 20% Polyethylen, mit Slurrybehandlung, ohne Chitosan. Probennummern III, V, VI, VIII, IX (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	9,98	36,19	14,16	37,89	1,78	0,00
II	10,80	37,60	14,04	35,89	1,67	0,00
III	8,45	37,27	14,66	38,50	1,11	0,00
IV	6,84	33,52	15,98	42,39	1,27	0,00
V	9,23	36,68	14,74	37,34	2,02	0,00
VI	8,36	38,17	14,40	37,24	1,84	0,00
VII	8,61	37,80	15,18	37,01	1,40	0,00
VIII	9,63	38,18	13,66	37,13	1,40	0,00
IX	8,06	36,65	15,11	38,74	1,44	0,00
X	13,99	35,89	13,29	34,91	1,92	0,00
XI	7,27	37,29	14,80	39,52	1,12	0,00
XII	13,89	36,65	12,96	34,88	1,62	0,00
XIII	14,07	36,19	13,12	34,51	2,11	0,00
XIV	10,98	36,05	13,92	37,16	1,89	0,00
XV	11,09	36,58	14,41	36,20	1,72	0,00
MW	10,08	36,71	14,30	37,29	1,62	0,00
SD	2,38	1,16	0,83	2,03	0,32	0,00

9.1.3 Versuchsgruppen mit Chitosan und mit Bürstbehandlung

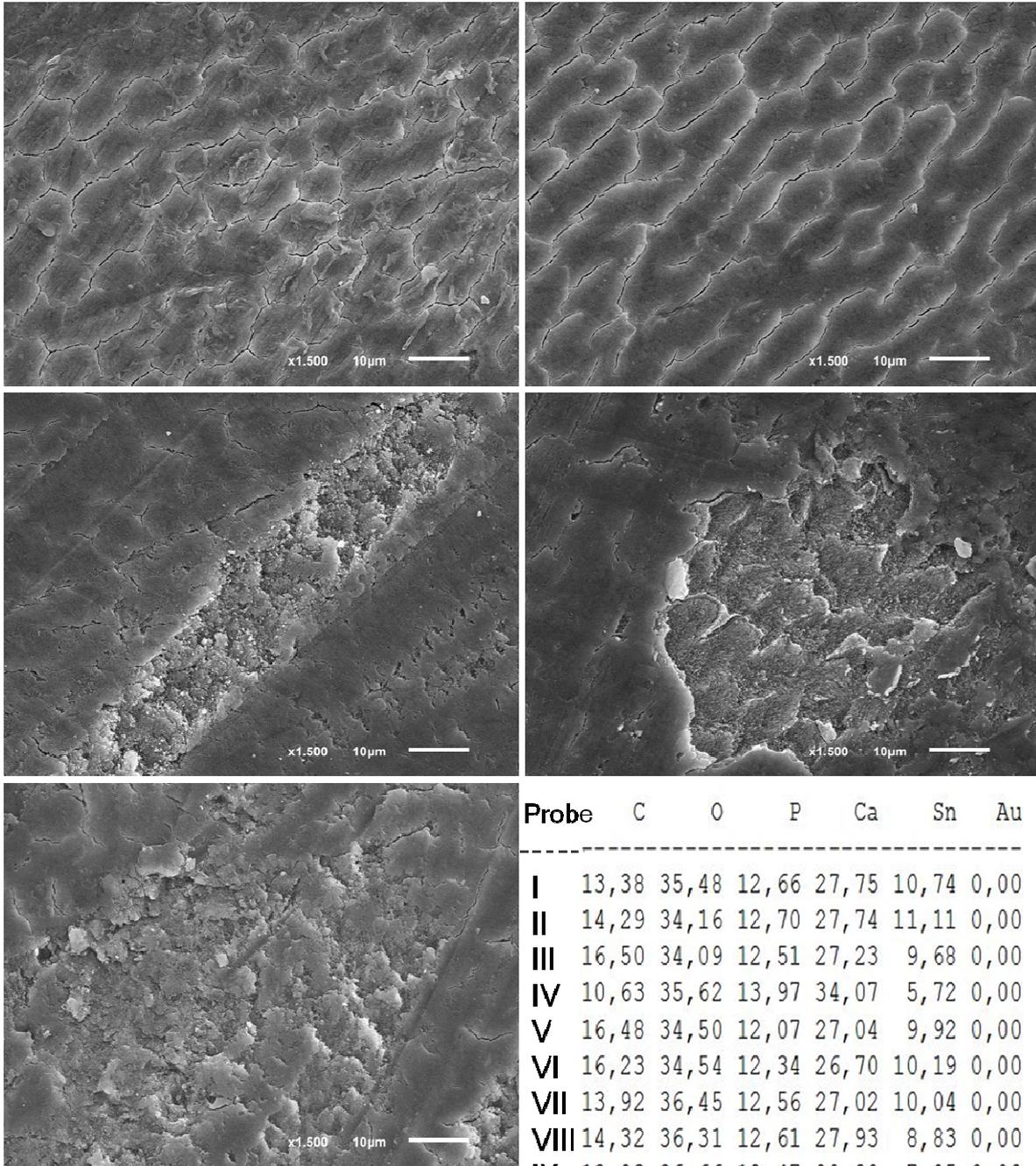


Abb. 9.16: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe Keine Abrasiva, mit Bürstbehandlung, mit Chitosan. Probennummern I, II, IV, V, XI (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	13,38	35,48	12,66	27,75	10,74	0,00
II	14,29	34,16	12,70	27,74	11,11	0,00
III	16,50	34,09	12,51	27,23	9,68	0,00
IV	10,63	35,62	13,97	34,07	5,72	0,00
V	16,48	34,50	12,07	27,04	9,92	0,00
VI	16,23	34,54	12,34	26,70	10,19	0,00
VII	13,92	36,45	12,56	27,02	10,04	0,00
VIII	14,32	36,31	12,61	27,93	8,83	0,00
IX	13,93	36,66	12,47	28,99	7,95	0,00
X	16,12	34,78	12,03	28,22	8,86	0,00
XI	14,40	36,64	12,34	27,76	8,86	0,00
XII	14,12	35,16	13,11	30,28	7,33	0,00
XIII	9,64	37,33	13,77	34,27	5,00	0,00
XIV	12,28	35,70	13,64	32,68	5,71	0,00
XV	14,31	35,29	13,14	28,65	8,60	0,00
MW	14,04	35,51	12,79	29,09	8,57	0,00
SD	2,00	1,00	0,60	2,55	1,89	0,00

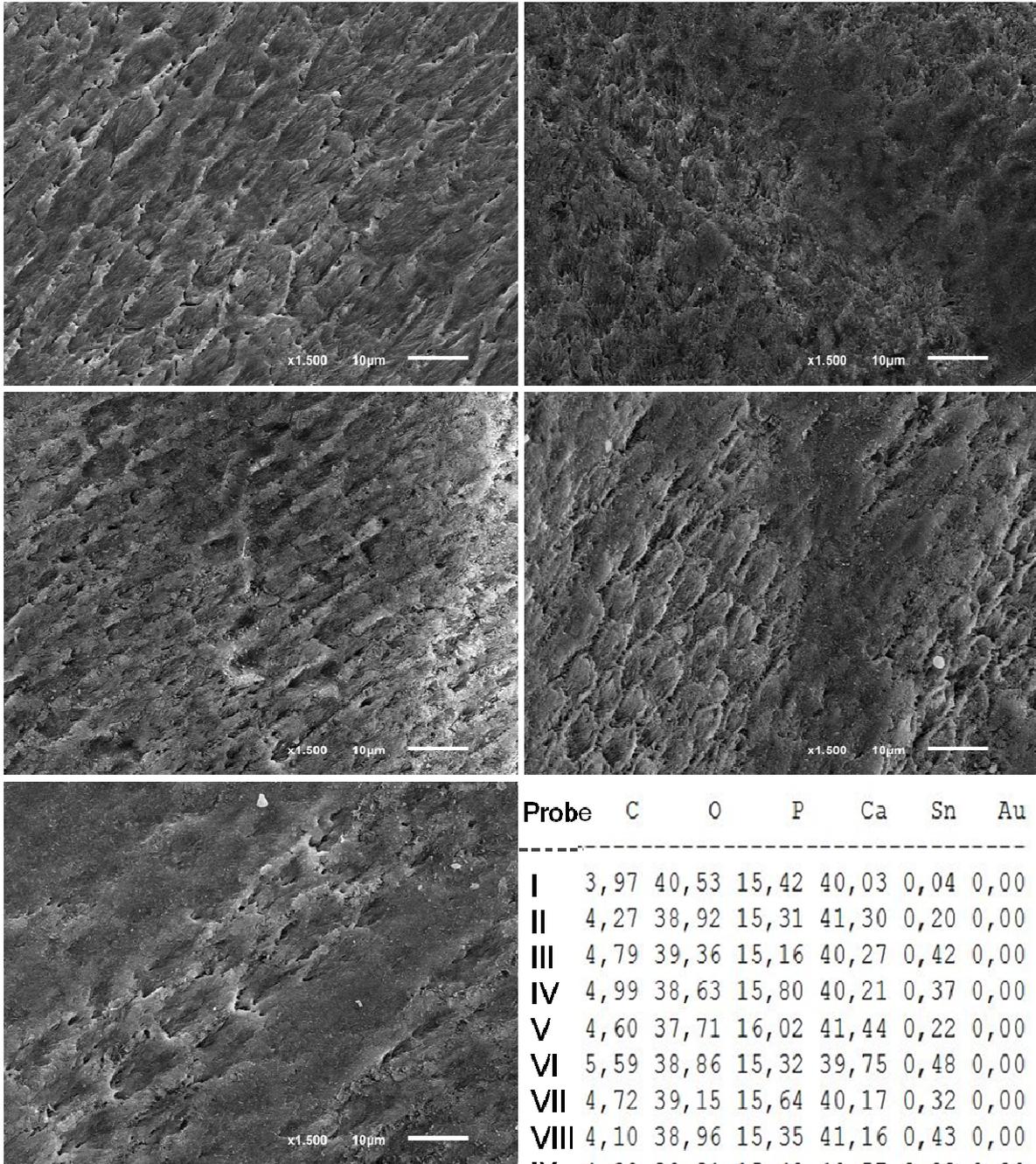


Abb. 9.17: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe Placebo, mit Bürstbehandlung, mit Chitosan. Probennummern I, III, VII, VIII, IX (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	3,97	40,53	15,42	40,03	0,04	0,00
II	4,27	38,92	15,31	41,30	0,20	0,00
III	4,79	39,36	15,16	40,27	0,42	0,00
IV	4,99	38,63	15,80	40,21	0,37	0,00
V	4,60	37,71	16,02	41,44	0,22	0,00
VI	5,59	38,86	15,32	39,75	0,48	0,00
VII	4,72	39,15	15,64	40,17	0,32	0,00
VIII	4,10	38,96	15,35	41,16	0,43	0,00
IX	4,39	39,31	15,42	40,57	0,32	0,00
X	4,52	40,33	14,74	39,91	0,50	0,00
XI	4,21	38,71	16,34	40,39	0,34	0,00
XII	4,60	38,81	15,60	40,76	0,23	0,00
XIII	4,86	39,05	15,75	39,94	0,40	0,00
XIV	5,59	38,95	15,43	39,66	0,37	0,00
XV	5,71	39,07	15,12	39,98	0,12	0,00
MW	4,73	39,09	15,49	40,37	0,32	0,00
SD	0,54	0,67	0,39	0,56	0,13	0,00

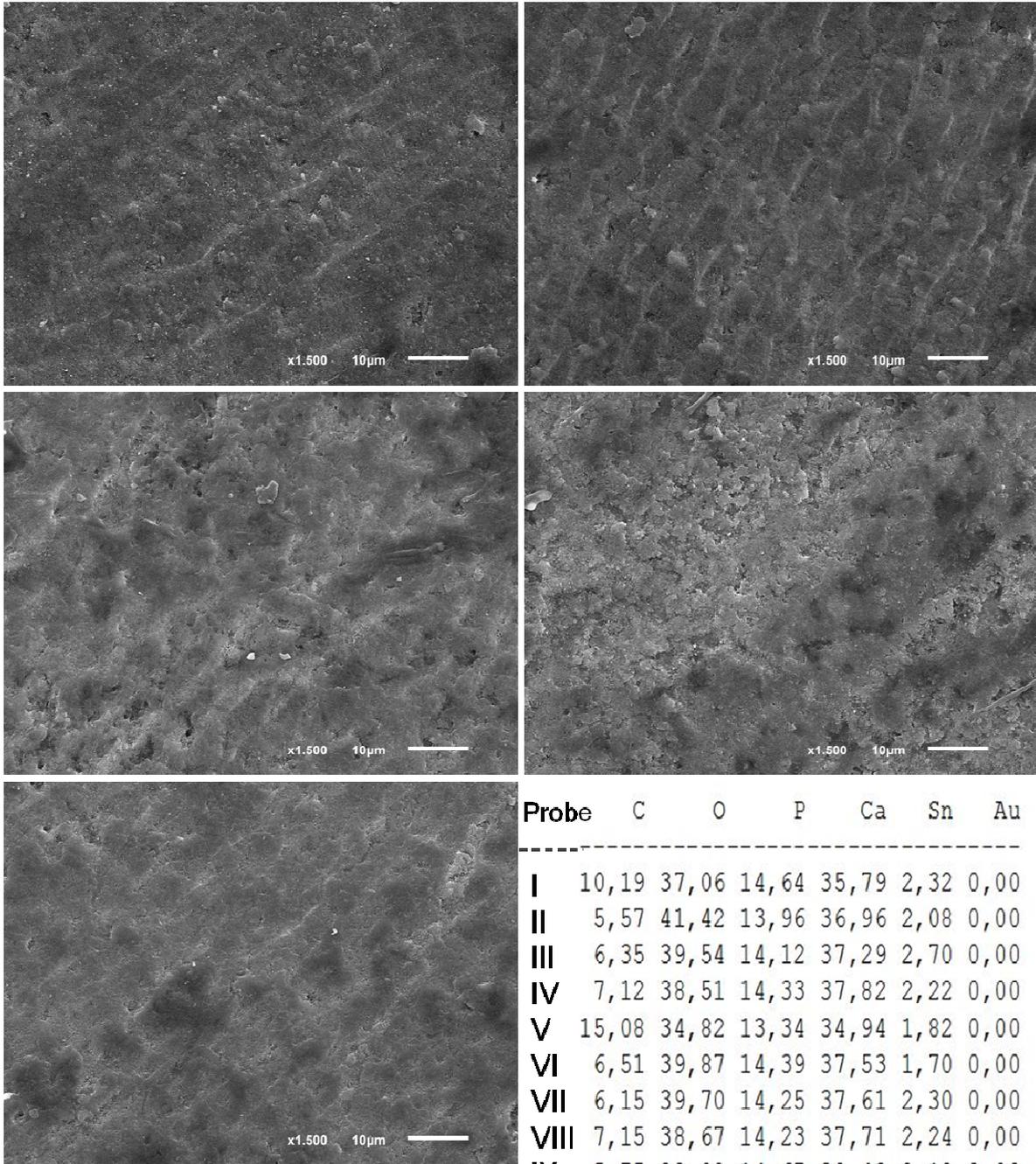


Abb. 9.18: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 5% Silika, mit Bürstbehandlung, mit Chitosan. Probennummern II, III, VI, XI, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	10,19	37,06	14,64	35,79	2,32	0,00
II	5,57	41,42	13,96	36,96	2,08	0,00
III	6,35	39,54	14,12	37,29	2,70	0,00
IV	7,12	38,51	14,33	37,82	2,22	0,00
V	15,08	34,82	13,34	34,94	1,82	0,00
VI	6,51	39,87	14,39	37,53	1,70	0,00
VII	6,15	39,70	14,25	37,61	2,30	0,00
VIII	7,15	38,67	14,23	37,71	2,24	0,00
IX	5,75	38,98	14,67	38,43	2,18	0,00
X	6,59	40,00	13,85	37,03	2,53	0,00
XI	7,26	38,29	14,13	37,92	2,41	0,00
XII	5,32	38,94	15,20	38,12	2,42	0,00
XIII	5,83	38,87	14,57	38,93	1,79	0,00
XIV	6,75	38,50	14,21	38,18	2,36	0,00
XV	7,60	38,21	14,44	37,53	2,22	0,00
MW	7,28	38,76	14,29	37,45	2,22	0,00
SD	2,45	1,48	0,42	1,00	0,28	0,00

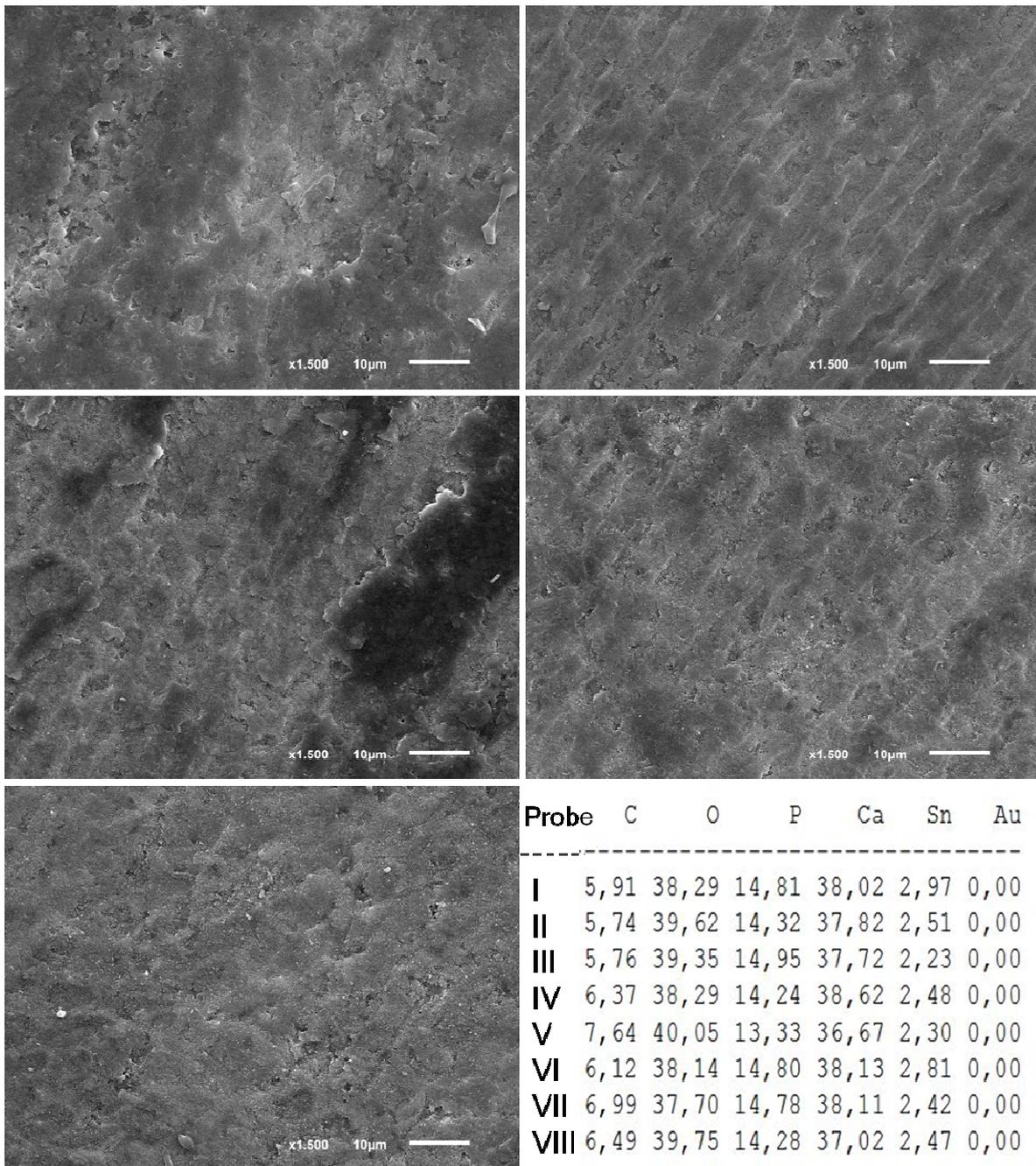


Abb. 9.19: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 10% Silika, mit Bürstbehandlung, mit Chitosan. Probennummern II, III, VIII, X, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	5,91	38,29	14,81	38,02	2,97	0,00
II	5,74	39,62	14,32	37,82	2,51	0,00
III	5,76	39,35	14,95	37,72	2,23	0,00
IV	6,37	38,29	14,24	38,62	2,48	0,00
V	7,64	40,05	13,33	36,67	2,30	0,00
VI	6,12	38,14	14,80	38,13	2,81	0,00
VII	6,99	37,70	14,78	38,11	2,42	0,00
VIII	6,49	39,75	14,28	37,02	2,47	0,00
IX	7,37	38,21	14,48	37,59	2,35	0,00
X	8,25	38,76	14,12	35,78	3,10	0,00
XI	6,93	38,21	14,27	38,00	2,60	0,00
XII	6,42	37,98	14,83	38,36	2,40	0,00
XIII	5,74	38,13	15,21	38,50	2,41	0,00
XIV	9,26	38,87	12,92	35,98	2,97	0,00
XV	6,59	37,66	14,58	38,37	2,80	0,00
MW	6,77	38,60	14,39	37,65	2,59	0,00
SD	1,01	0,76	0,61	0,89	0,27	0,00

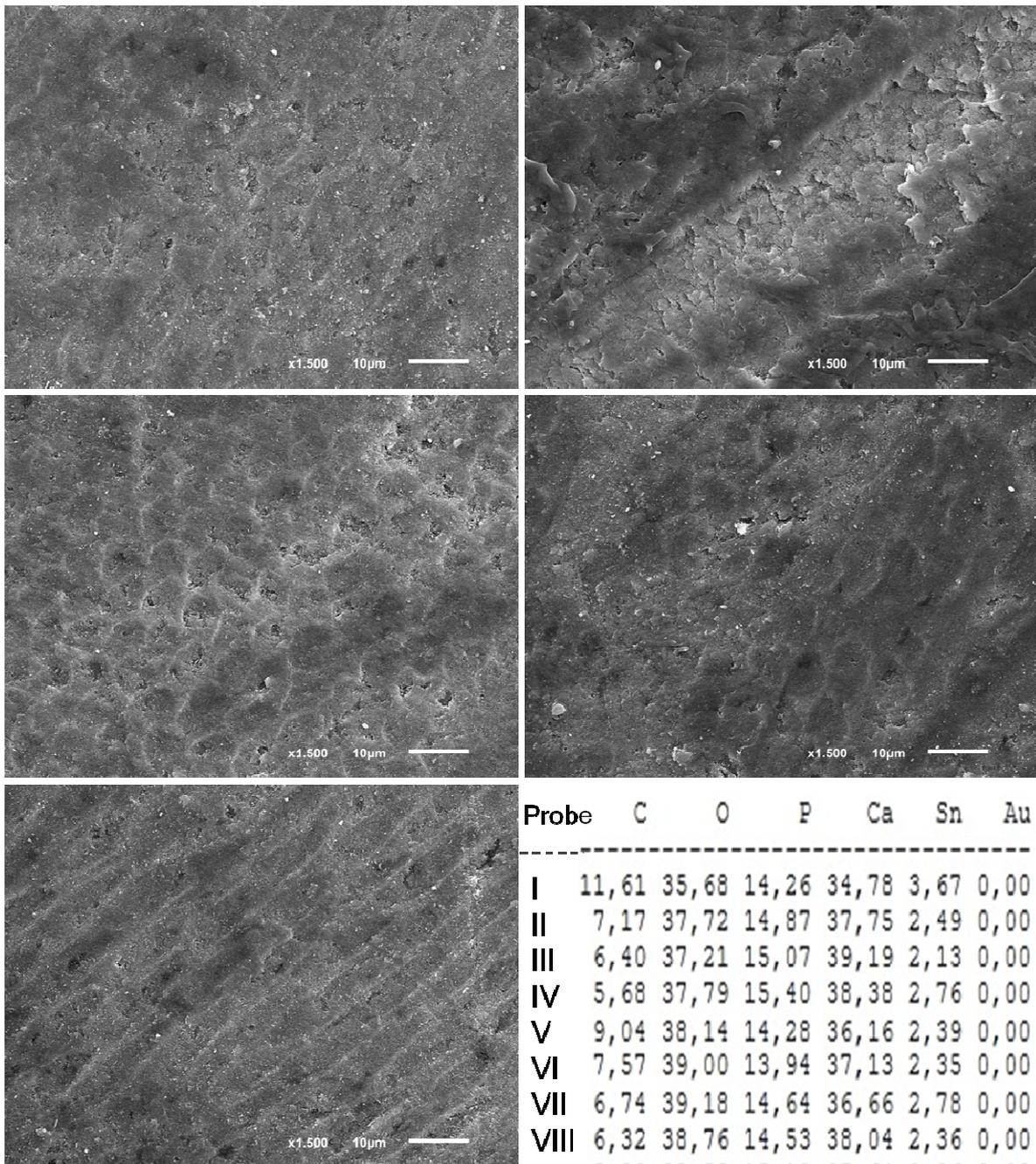


Abb. 9.20: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 15% Silika, mit Bürstbehandlung, mit Chitosan. Probennummern IV, V, VIII, IX, XIV (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	11,61	35,68	14,26	34,78	3,67	0,00
II	7,17	37,72	14,87	37,75	2,49	0,00
III	6,40	37,21	15,07	39,19	2,13	0,00
IV	5,68	37,79	15,40	38,38	2,76	0,00
V	9,04	38,14	14,28	36,16	2,39	0,00
VI	7,57	39,00	13,94	37,13	2,35	0,00
VII	6,74	39,18	14,64	36,66	2,78	0,00
VIII	6,32	38,76	14,53	38,04	2,36	0,00
IX	5,80	38,58	15,12	37,64	2,86	0,00
X	6,72	39,60	13,96	37,24	2,47	0,00
XI	9,15	39,59	13,60	35,31	2,35	0,00
XII	6,32	39,39	14,24	37,19	2,85	0,00
XIII	6,85	39,54	14,46	36,62	2,54	0,00
XIV	8,36	37,39	14,70	36,99	2,56	0,00
XV	6,25	39,26	14,43	37,49	2,57	0,00
MW	7,33	38,45	14,50	37,11	2,61	0,00
SD	1,60	1,12	0,49	1,12	0,36	0,00

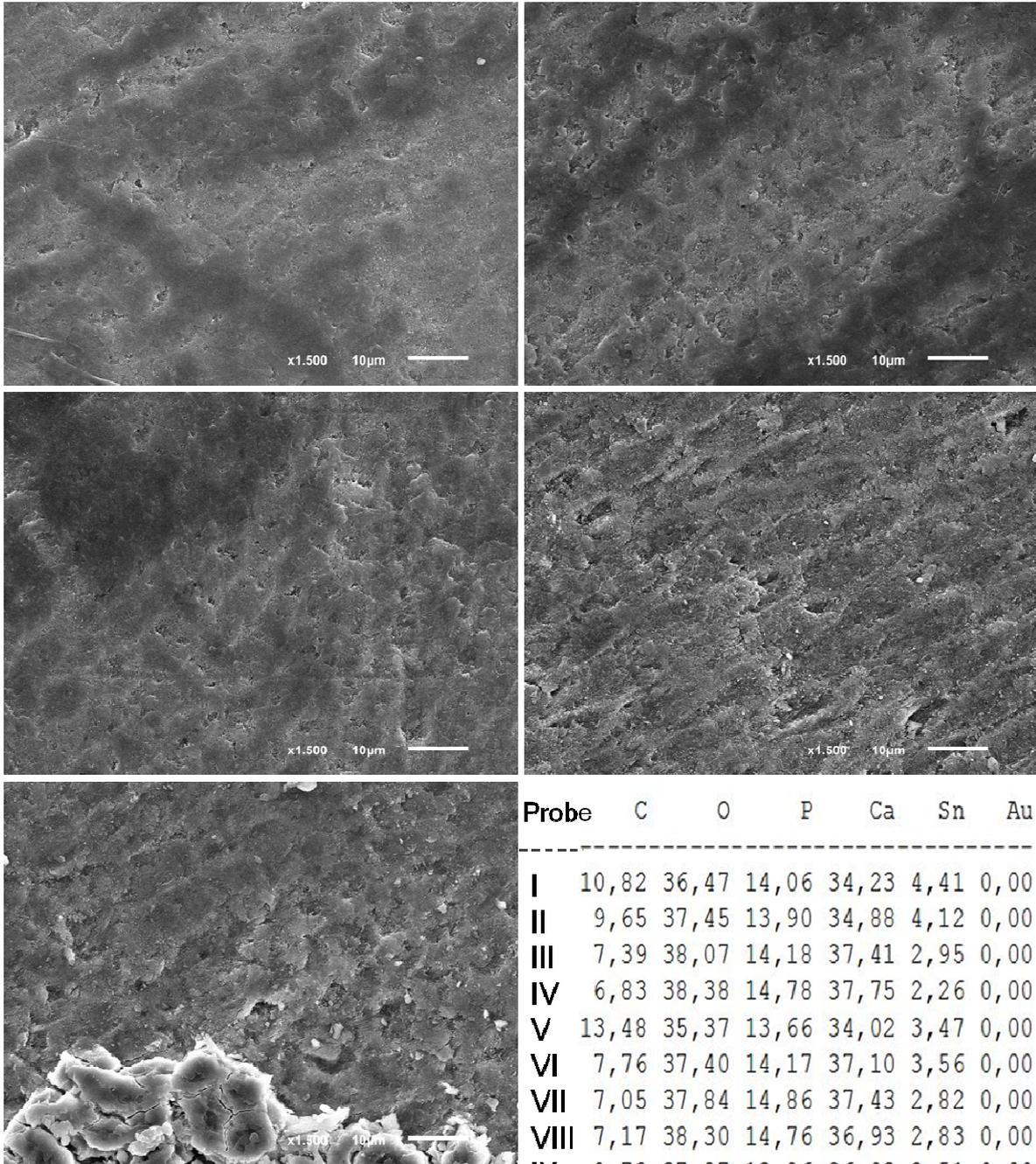


Abb. 9.21: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 20% Silika, mit Bürstbehandlung, mit Chitosan. Probennummern III, VII, VIII, XII, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	10,82	36,47	14,06	34,23	4,41	0,00
II	9,65	37,45	13,90	34,88	4,12	0,00
III	7,39	38,07	14,18	37,41	2,95	0,00
IV	6,83	38,38	14,78	37,75	2,26	0,00
V	13,48	35,37	13,66	34,02	3,47	0,00
VI	7,76	37,40	14,17	37,10	3,56	0,00
VII	7,05	37,84	14,86	37,43	2,82	0,00
VIII	7,17	38,30	14,76	36,93	2,83	0,00
IX	8,73	37,87	13,86	36,03	3,51	0,00
X	6,64	38,66	14,76	36,90	3,05	0,00
XI	8,45	37,69	14,32	35,61	3,93	0,00
XII	7,14	37,85	14,61	37,31	3,08	0,00
XIII	8,27	37,07	13,93	37,24	3,49	0,00
XIV	9,64	36,67	14,12	36,43	3,14	0,00
XV	7,81	36,89	14,64	37,25	3,40	0,00
MW	8,46	37,47	14,31	36,43	3,33	0,00
SD	1,83	0,86	0,40	1,21	0,55	0,00

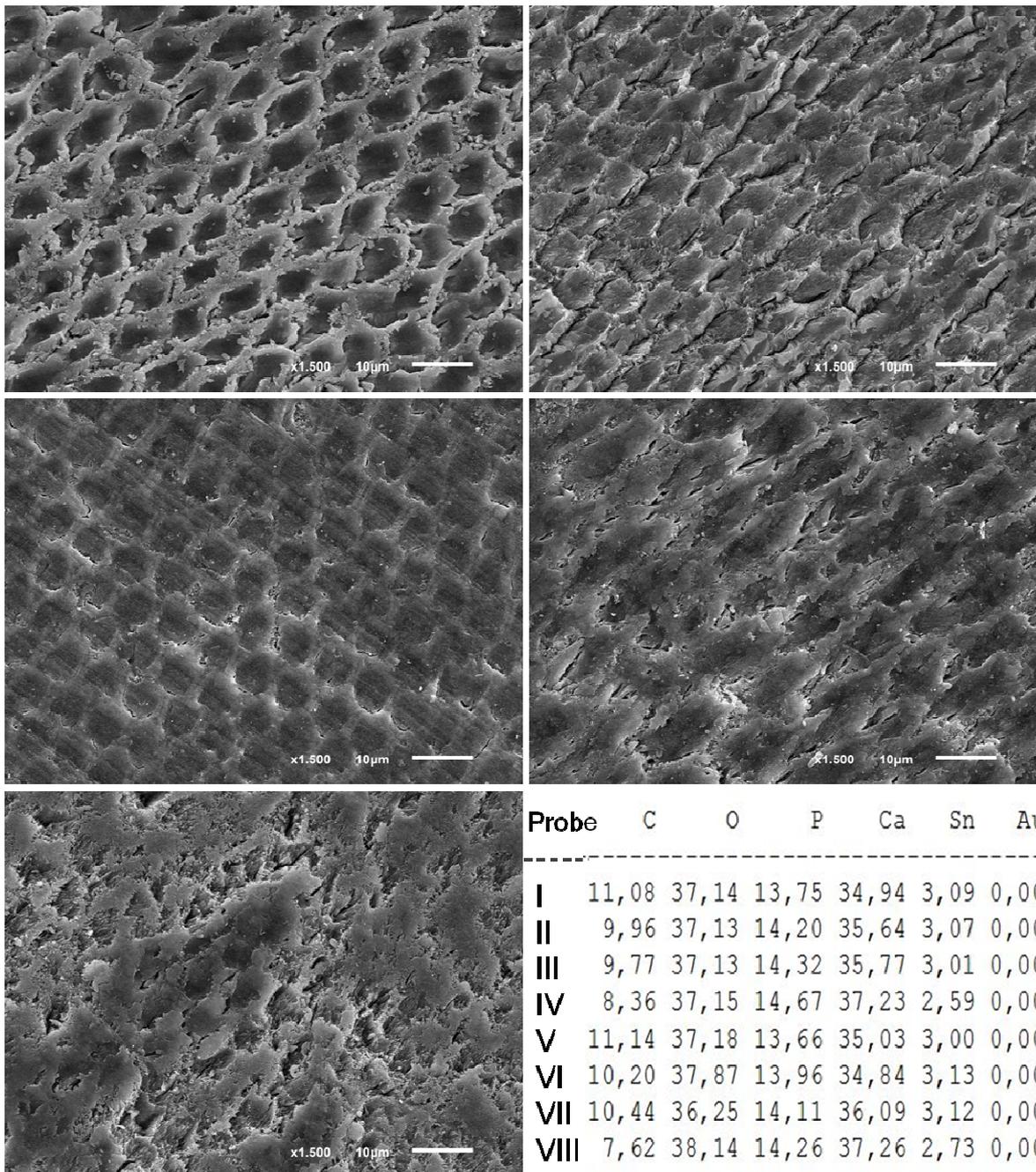


Abb. 9.22: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 20% Polyethylen, mit Bürstbehandlung, mit Chitosan. Probennummern II, III, IV, X, XII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	11,08	37,14	13,75	34,94	3,09	0,00
II	9,96	37,13	14,20	35,64	3,07	0,00
III	9,77	37,13	14,32	35,77	3,01	0,00
IV	8,36	37,15	14,67	37,23	2,59	0,00
V	11,14	37,18	13,66	35,03	3,00	0,00
VI	10,20	37,87	13,96	34,84	3,13	0,00
VII	10,44	36,25	14,11	36,09	3,12	0,00
VIII	7,62	38,14	14,26	37,26	2,73	0,00
IX	10,50	37,57	13,75	34,90	3,28	0,00
X	10,38	37,35	13,87	35,49	2,92	0,00
XI	10,52	36,45	13,52	36,57	2,94	0,00
XII	9,64	36,47	14,83	36,17	2,89	0,00
XIII	13,94	35,74	13,73	33,57	3,02	0,00
XIV	13,23	36,04	13,80	34,09	2,83	0,00
XV	11,61	35,68	14,26	34,78	3,67	0,00
MW	10,56	36,89	14,04	35,49	3,02	0,00
SD	1,60	0,75	0,38	1,06	0,25	0,00

9.1.4 Versuchsgruppen mit Chitosan und mit Slurrybehandlung

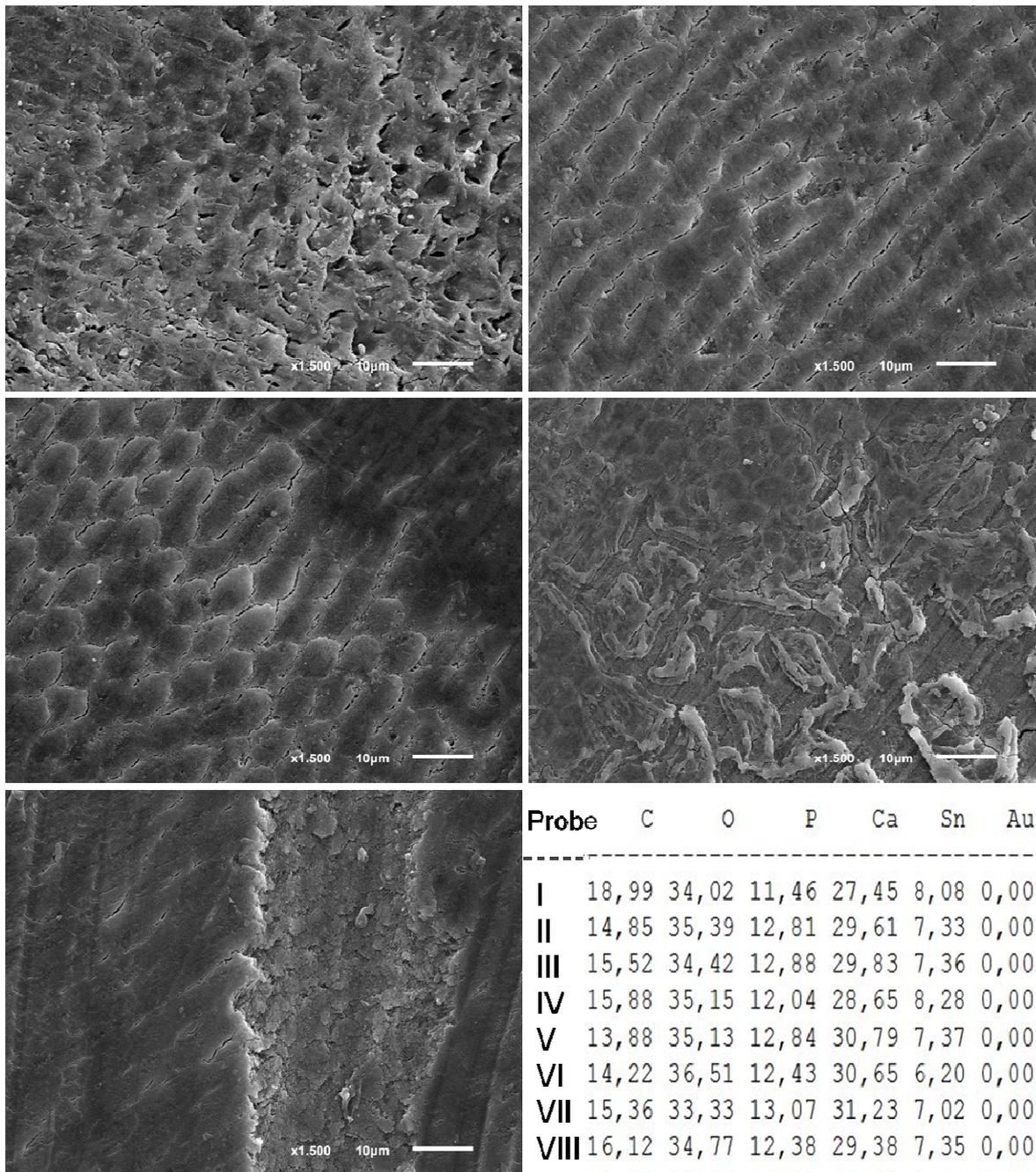


Abb. 9.23: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe Keine Abrasiva, mit Slurrybehandlung, mit Chitosan. Probennummern I, III, IV, X, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	18,99	34,02	11,46	27,45	8,08	0,00
II	14,85	35,39	12,81	29,61	7,33	0,00
III	15,52	34,42	12,88	29,83	7,36	0,00
IV	15,88	35,15	12,04	28,65	8,28	0,00
V	13,88	35,13	12,84	30,79	7,37	0,00
VI	14,22	36,51	12,43	30,65	6,20	0,00
VII	15,36	33,33	13,07	31,23	7,02	0,00
VIII	16,12	34,77	12,38	29,38	7,35	0,00
IX	13,77	35,06	13,07	29,68	8,41	0,00
X	12,02	36,90	12,77	32,50	5,81	0,00
XI	12,20	35,92	13,68	32,36	5,84	0,00
XII	12,89	34,70	13,39	31,15	7,86	0,00
XIII	14,56	33,92	13,04	30,09	8,39	0,00
XIV	16,62	34,59	12,72	28,53	7,54	0,00
XV	13,82	35,25	12,96	30,66	7,31	0,00
MW	14,71	35,00	12,77	30,17	7,34	0,00
SD	1,81	0,95	0,54	1,38	0,85	0,00

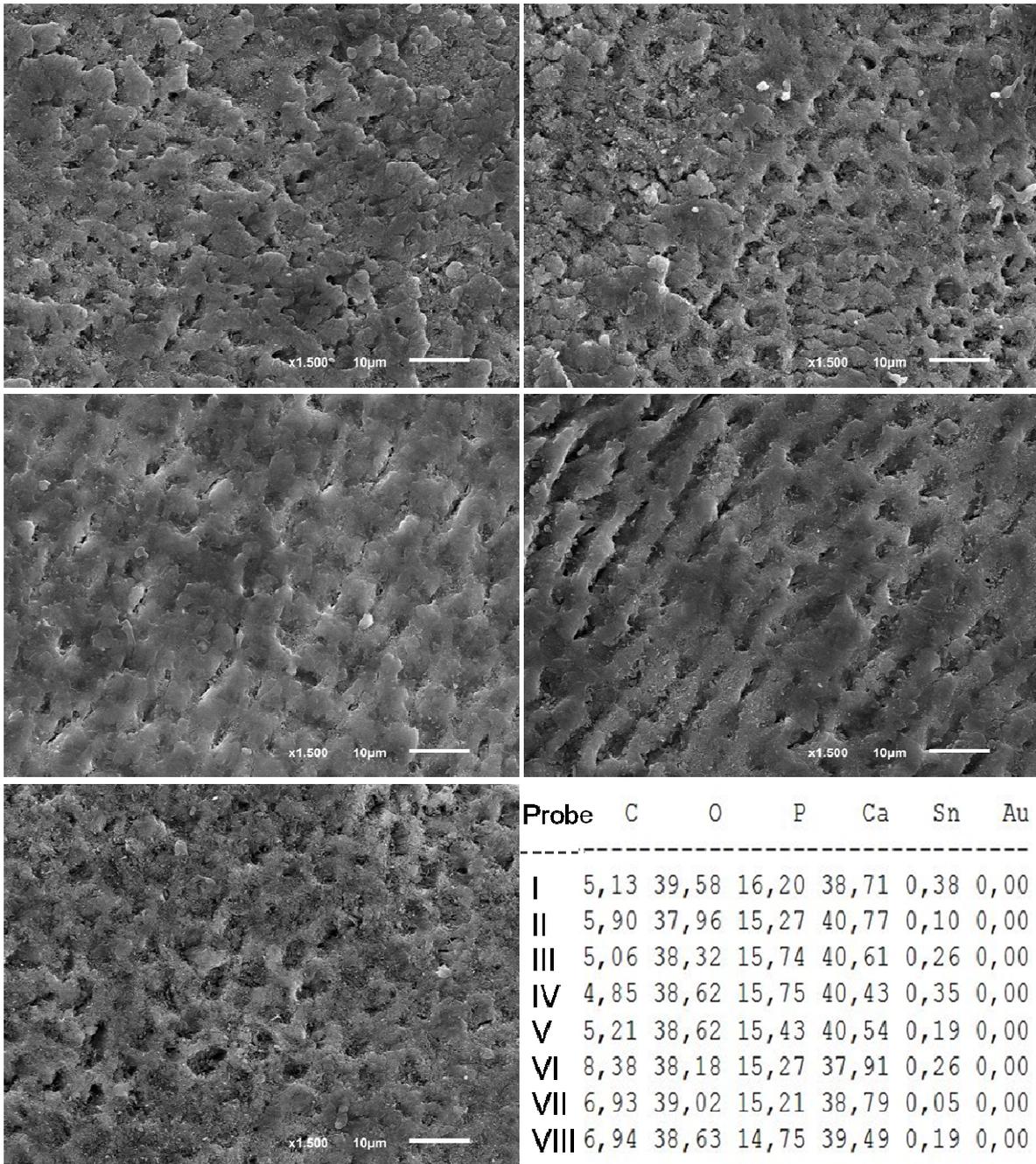


Abb. 9.24: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe Placebo, mit Slurrybehandlung, mit Chitosan. Probennummern III, IV, VI, VII, VIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	5,13	39,58	16,20	38,71	0,38	0,00
II	5,90	37,96	15,27	40,77	0,10	0,00
III	5,06	38,32	15,74	40,61	0,26	0,00
IV	4,85	38,62	15,75	40,43	0,35	0,00
V	5,21	38,62	15,43	40,54	0,19	0,00
VI	8,38	38,18	15,27	37,91	0,26	0,00
VII	6,93	39,02	15,21	38,79	0,05	0,00
VIII	6,94	38,63	14,75	39,49	0,19	0,00
IX	7,05	38,07	14,85	39,99	0,03	0,00
X	5,77	38,13	15,37	40,58	0,15	0,00
XI	5,47	39,25	15,91	39,19	0,17	0,00
XII	4,40	38,07	15,82	41,47	0,25	0,00
XIII	4,33	38,27	16,12	41,23	0,06	0,00
XIV	5,96	38,26	15,51	40,27	0,00	0,00
XV	5,94	38,61	15,35	39,96	0,14	0,00
MW	5,82	38,51	15,50	40,00	0,17	0,00
SD	1,11	0,47	0,42	1,00	0,11	0,00

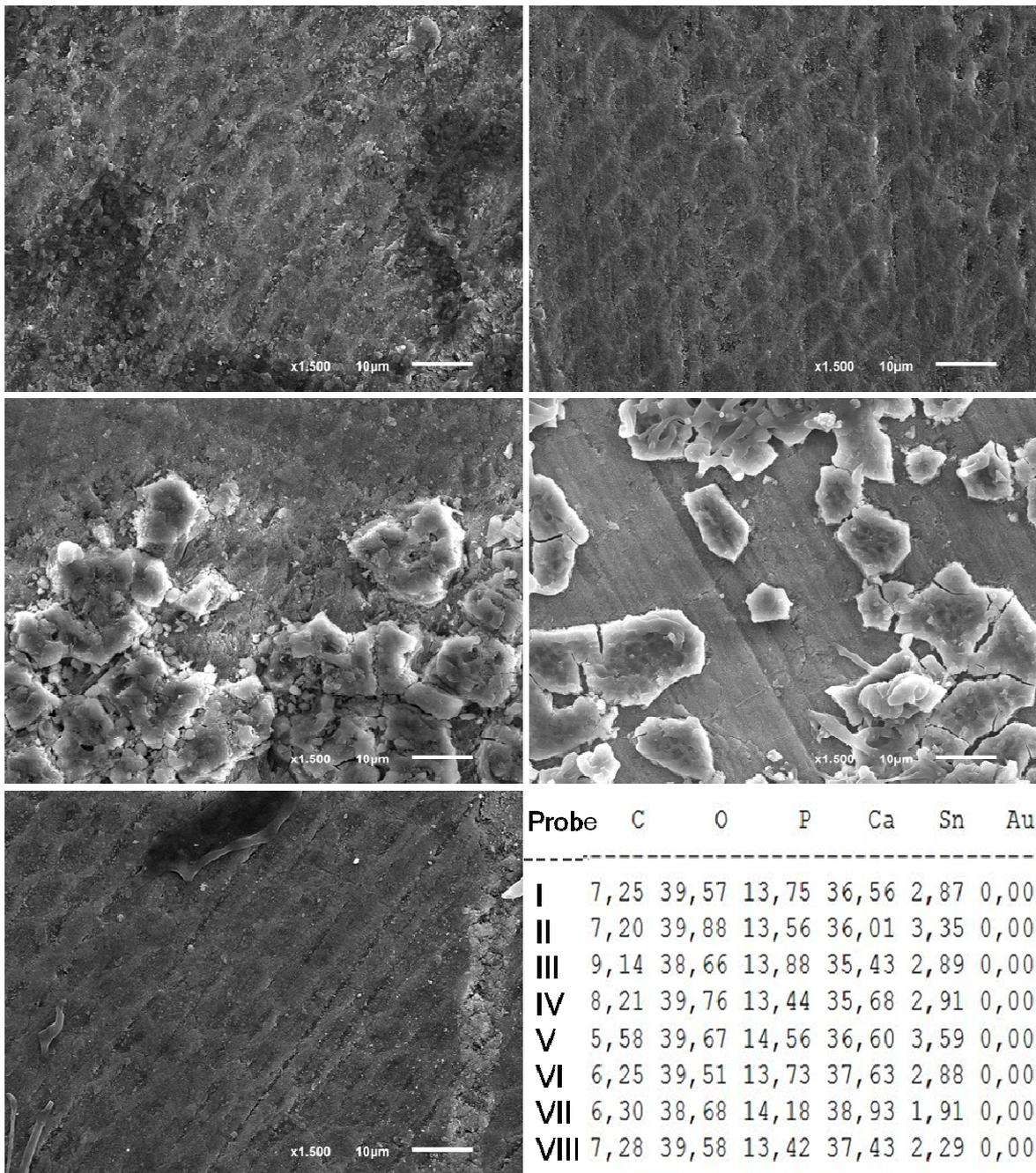


Abb. 9.25: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 5% Silika, mit Slurrybehandlung, mit Chitosan. Probennummern I, VI, VIII, XI, XII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW ± SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	7,25	39,57	13,75	36,56	2,87	0,00
II	7,20	39,88	13,56	36,01	3,35	0,00
III	9,14	38,66	13,88	35,43	2,89	0,00
IV	8,21	39,76	13,44	35,68	2,91	0,00
V	5,58	39,67	14,56	36,60	3,59	0,00
VI	6,25	39,51	13,73	37,63	2,88	0,00
VII	6,30	38,68	14,18	38,93	1,91	0,00
VIII	7,28	39,58	13,42	37,43	2,29	0,00
IX	8,51	38,78	13,24	36,41	3,06	0,00
X	9,60	38,62	13,47	35,56	2,74	0,00
XI	9,01	38,70	13,49	36,19	2,60	0,00
XII	9,01	38,70	13,49	36,19	2,60	0,00
XIII	8,07	37,59	13,90	37,80	2,65	0,00
XIV	6,62	37,55	15,24	38,10	2,49	0,00
XV	7,00	38,88	14,35	37,81	1,96	0,00
MW	7,67	38,94	13,85	36,82	2,72	0,00
SD	1,22	0,73	0,54	1,05	0,45	0,00

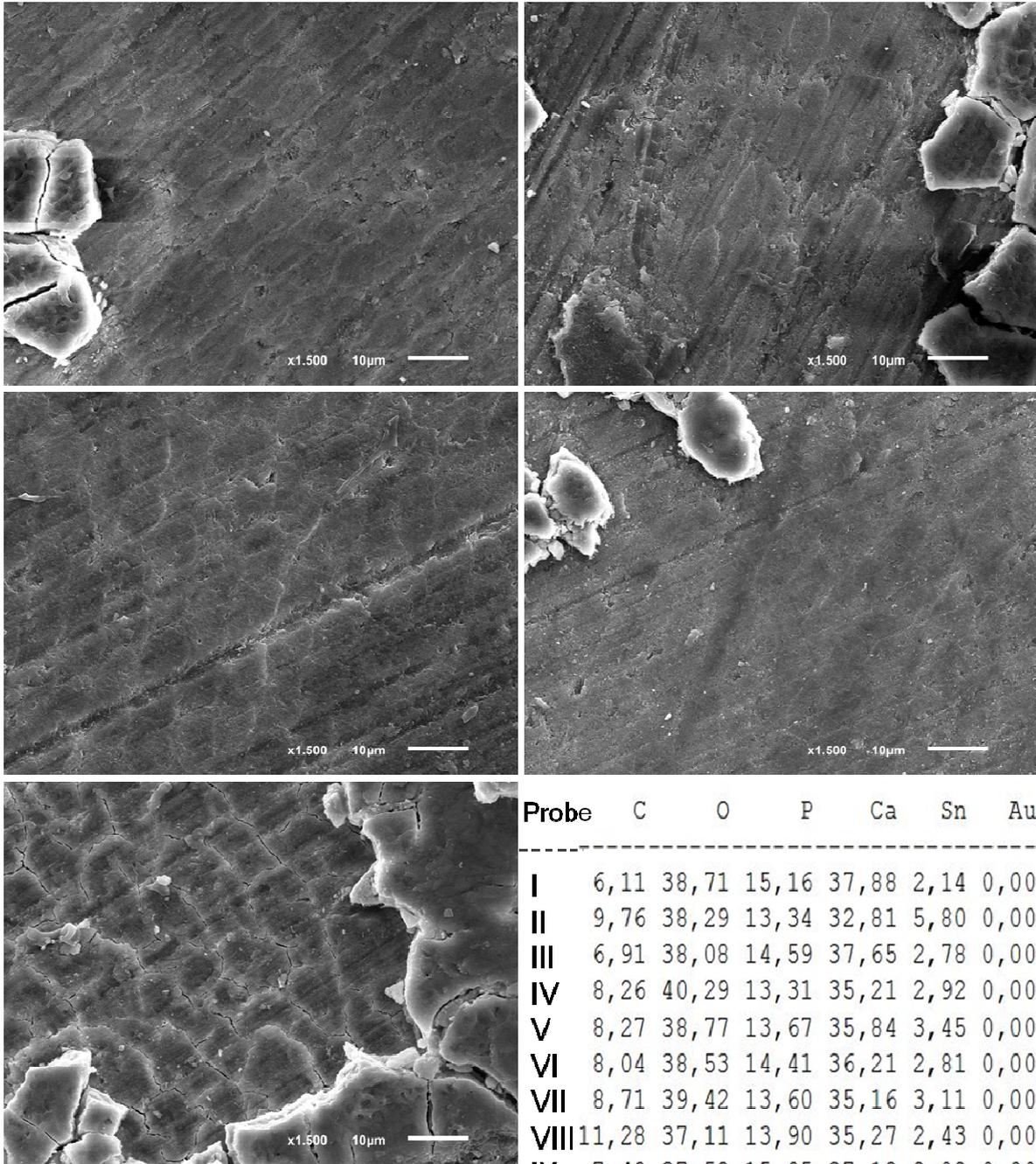


Abb. 9.26: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 10% Silika, mit Slurrybehandlung, mit Chitosan. Probennummern III, IV, VIII, X, XIV (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	6,11	38,71	15,16	37,88	2,14	0,00
II	9,76	38,29	13,34	32,81	5,80	0,00
III	6,91	38,08	14,59	37,65	2,78	0,00
IV	8,26	40,29	13,31	35,21	2,92	0,00
V	8,27	38,77	13,67	35,84	3,45	0,00
VI	8,04	38,53	14,41	36,21	2,81	0,00
VII	8,71	39,42	13,60	35,16	3,11	0,00
VIII	11,28	37,11	13,90	35,27	2,43	0,00
IX	7,49	37,52	15,05	37,12	2,82	0,00
X	7,07	38,77	13,82	37,95	2,38	0,00
XI	9,33	38,11	13,91	34,97	3,67	0,00
XII	8,73	39,10	13,43	35,85	2,90	0,00
XIII	7,30	38,47	14,27	37,18	2,77	0,00
XIV	9,13	37,03	14,15	36,64	3,05	0,00
XV	7,90	36,34	15,15	37,83	2,79	0,00
MW	8,29	38,30	14,12	36,24	3,05	0,00
SD	1,29	1,00	0,64	1,43	0,85	0,00

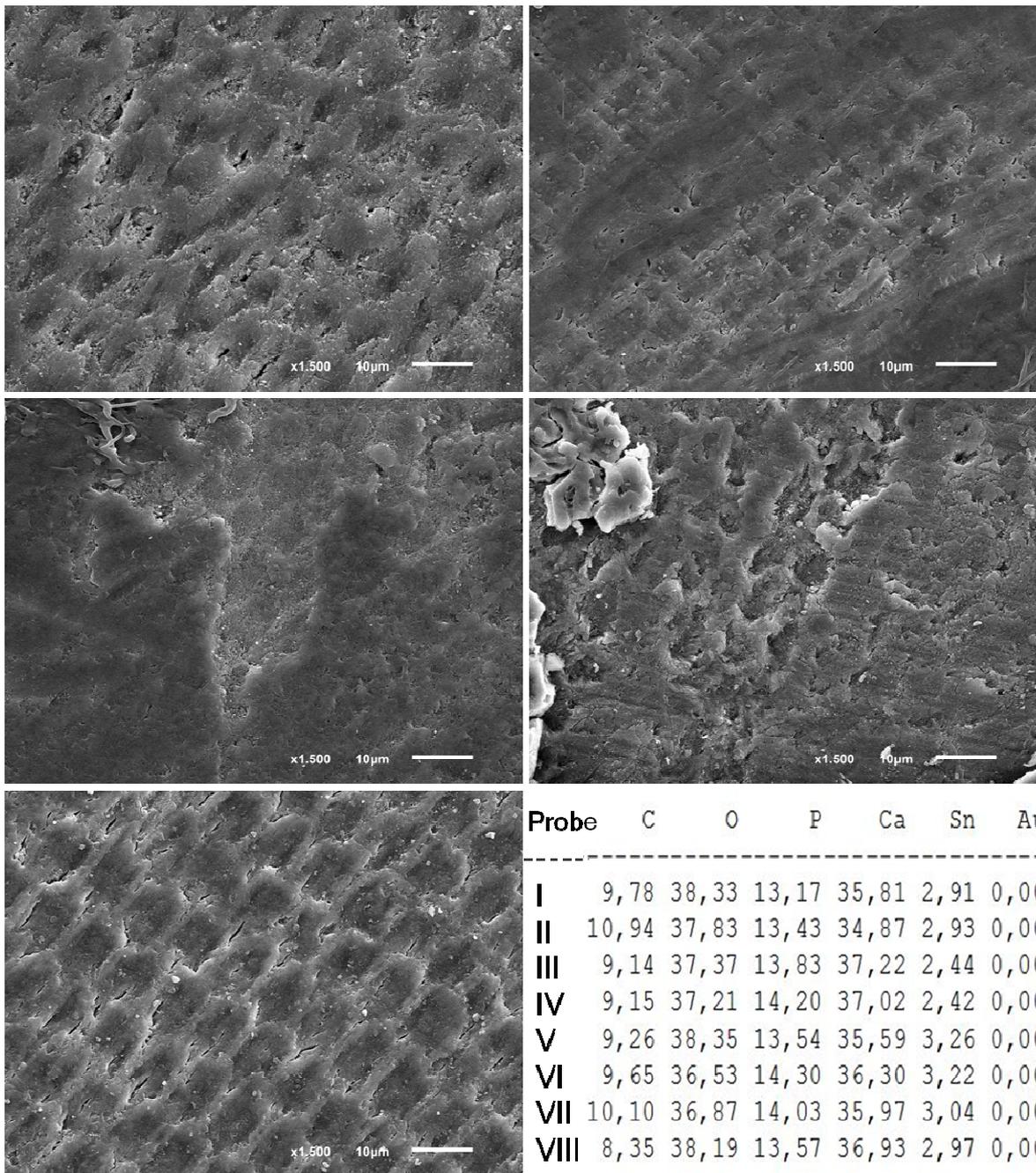


Abb. 9.27: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 15% Silika, mit Slurrybehandlung, mit Chitosan. Probennummern I, III, V, VII, IX (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	9,78	38,33	13,17	35,81	2,91	0,00
II	10,94	37,83	13,43	34,87	2,93	0,00
III	9,14	37,37	13,83	37,22	2,44	0,00
IV	9,15	37,21	14,20	37,02	2,42	0,00
V	9,26	38,35	13,54	35,59	3,26	0,00
VI	9,65	36,53	14,30	36,30	3,22	0,00
VII	10,10	36,87	14,03	35,97	3,04	0,00
VIII	8,35	38,19	13,57	36,93	2,97	0,00
IX	9,87	37,47	14,27	35,78	2,62	0,00
X	9,59	37,85	14,20	35,27	3,08	0,00
XI	11,93	36,90	13,68	34,08	3,41	0,00
XII	11,49	38,20	12,81	34,64	2,86	0,00
XIII	9,76	37,52	14,03	35,49	3,20	0,00
XIV	9,74	37,95	13,96	35,22	3,14	0,00
XV	9,68	36,37	14,42	37,21	2,31	0,00
MW	9,89	37,53	13,83	35,83	2,92	0,00
SD	0,93	0,65	0,46	0,96	0,33	0,00

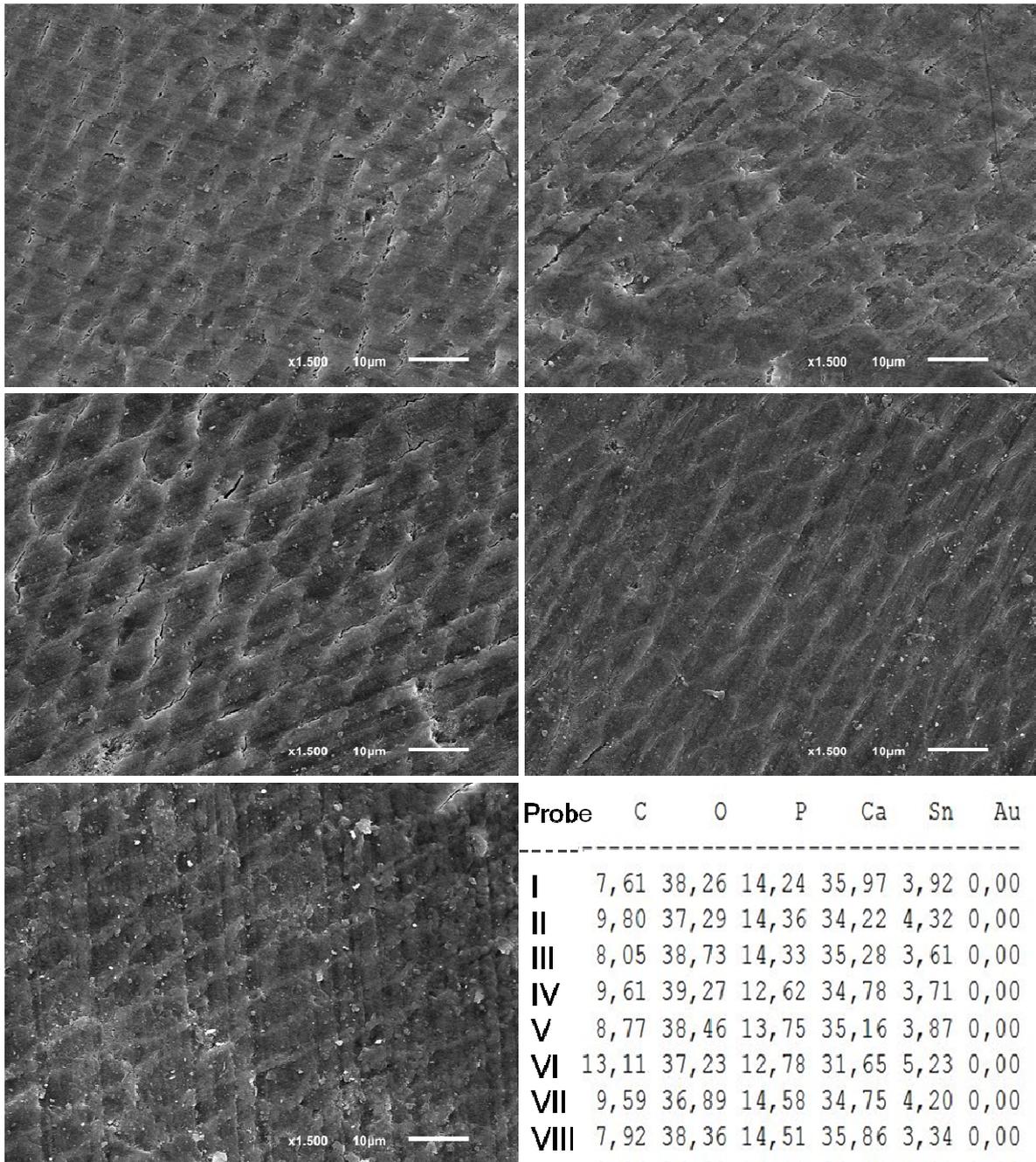


Abb. 9.28: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 20% Silika, mit Slurrybehandlung, mit Chitosan. Probennummern V, VI, X, XII, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	7,61	38,26	14,24	35,97	3,92	0,00
II	9,80	37,29	14,36	34,22	4,32	0,00
III	8,05	38,73	14,33	35,28	3,61	0,00
IV	9,61	39,27	12,62	34,78	3,71	0,00
V	8,77	38,46	13,75	35,16	3,87	0,00
VI	13,11	37,23	12,78	31,65	5,23	0,00
VII	9,59	36,89	14,58	34,75	4,20	0,00
VIII	7,92	38,36	14,51	35,86	3,34	0,00
IX	8,86	36,59	14,11	36,44	4,01	0,00
X	8,68	38,25	14,12	35,85	3,09	0,00
XI	7,85	38,01	14,32	36,67	3,15	0,00
XII	8,77	36,84	14,87	36,33	3,19	0,00
XIII	10,66	36,91	14,11	34,92	3,40	0,00
XIV	8,93	37,88	14,13	36,14	2,91	0,00
XV	11,01	37,05	14,05	33,89	4,00	0,00
MW	9,28	37,74	14,06	35,20	3,73	0,00
SD	1,45	0,82	0,61	1,28	0,60	0,00

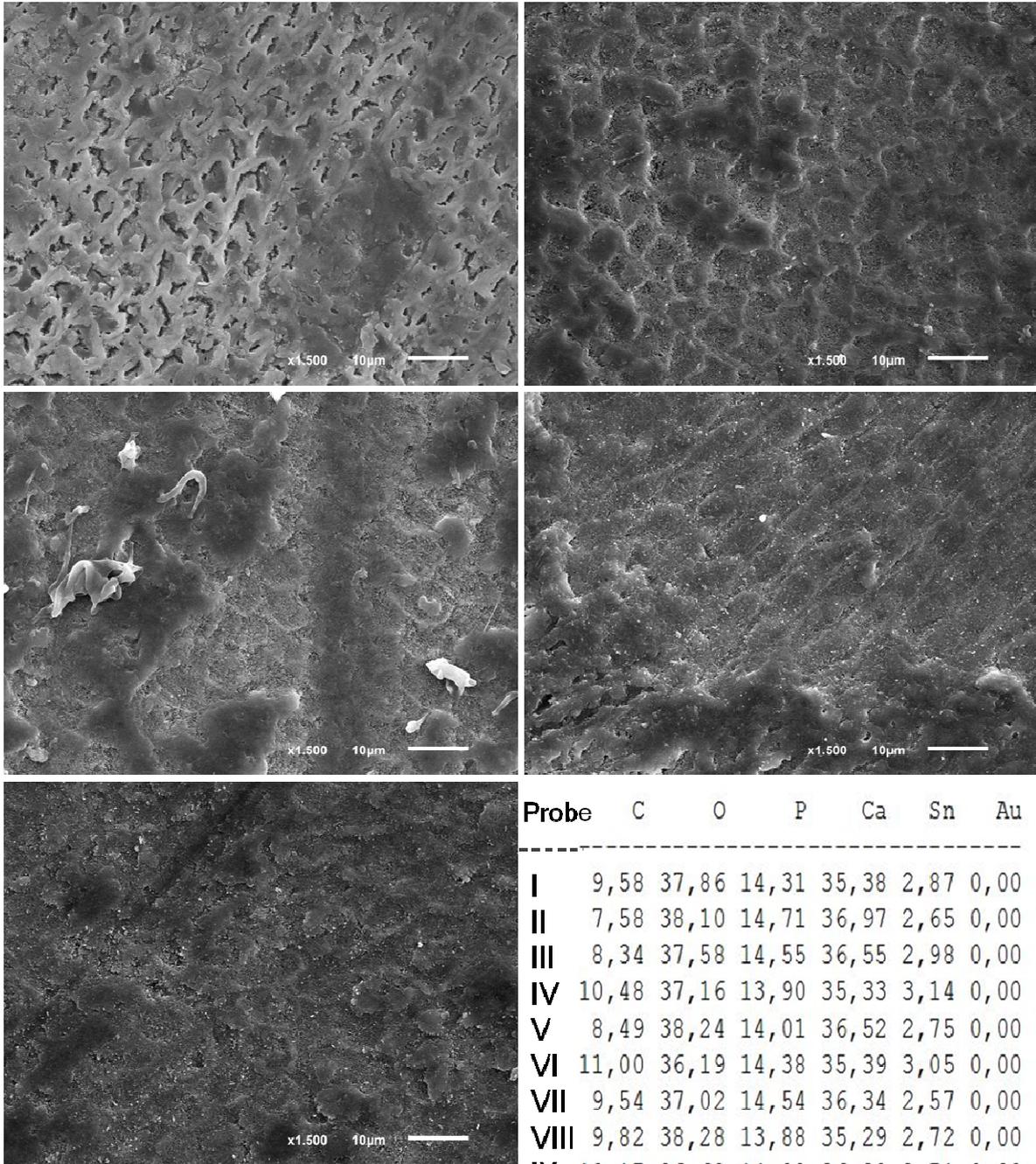


Abb. 9.29: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Versuchsgruppe 20% Polyethylen, mit Slurrybehandlung, mit Chitosan. Probennummern II, VI, VII, X, XII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe sowie MW \pm SD.

Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	9,58	37,86	14,31	35,38	2,87	0,00
II	7,58	38,10	14,71	36,97	2,65	0,00
III	8,34	37,58	14,55	36,55	2,98	0,00
IV	10,48	37,16	13,90	35,33	3,14	0,00
V	8,49	38,24	14,01	36,52	2,75	0,00
VI	11,00	36,19	14,38	35,39	3,05	0,00
VII	9,54	37,02	14,54	36,34	2,57	0,00
VIII	9,82	38,28	13,88	35,29	2,72	0,00
IX	10,17	36,68	14,22	36,22	2,71	0,00
X	9,58	37,88	13,65	35,69	3,20	0,00
XI	12,04	34,93	14,02	35,95	3,06	0,00
XII	13,07	36,15	13,38	34,37	3,03	0,00
XIII	8,47	35,94	15,43	37,46	2,70	0,00
XIV	10,11	38,18	13,35	35,68	2,67	0,00
XV	9,80	37,50	13,95	36,09	2,66	0,00
MW	9,87	37,18	14,15	35,95	2,85	0,00
SD	1,43	1,01	0,54	0,77	0,21	0,00

9.1.5 Negativ-Kontrolle (nur erodiert)

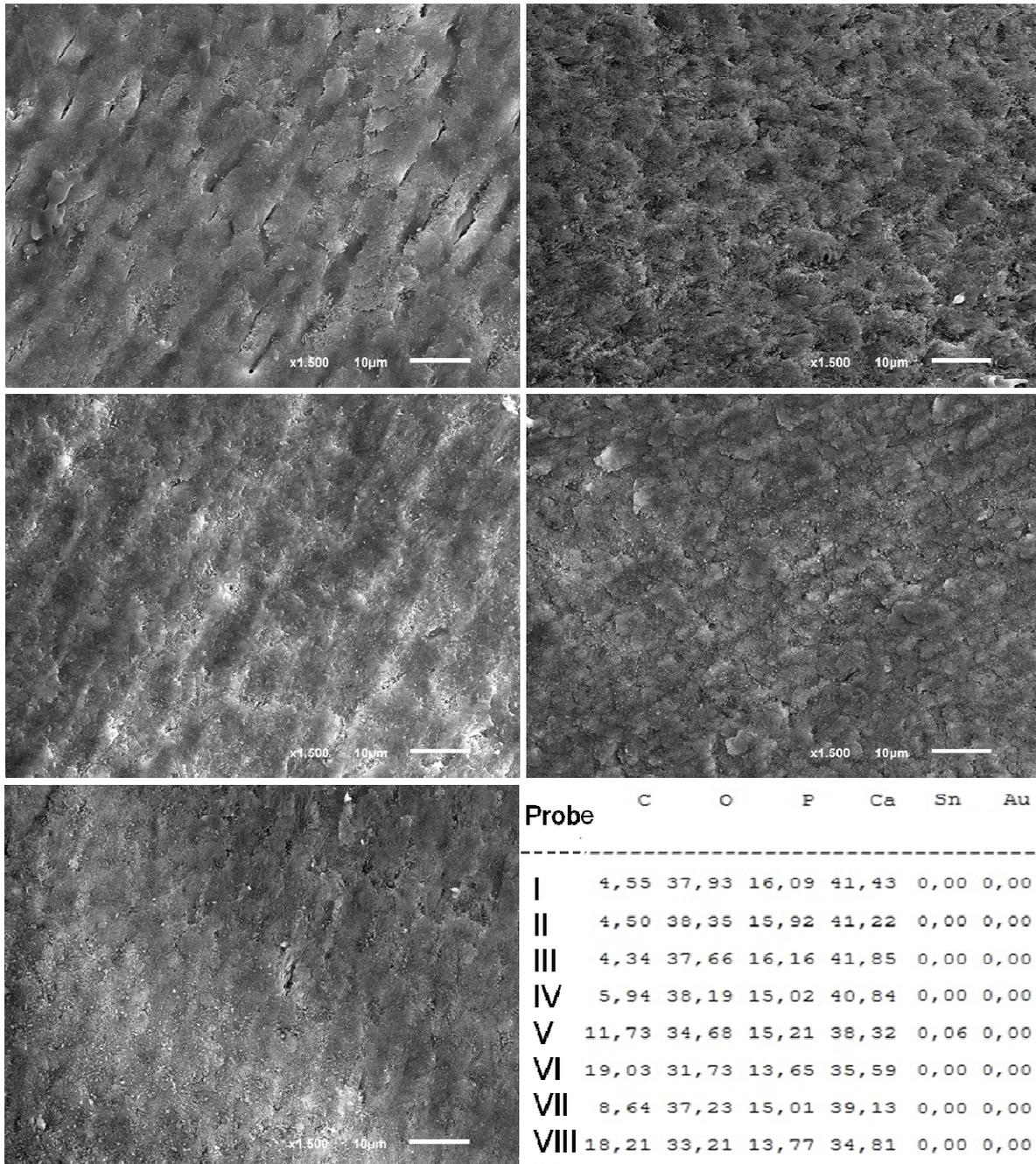
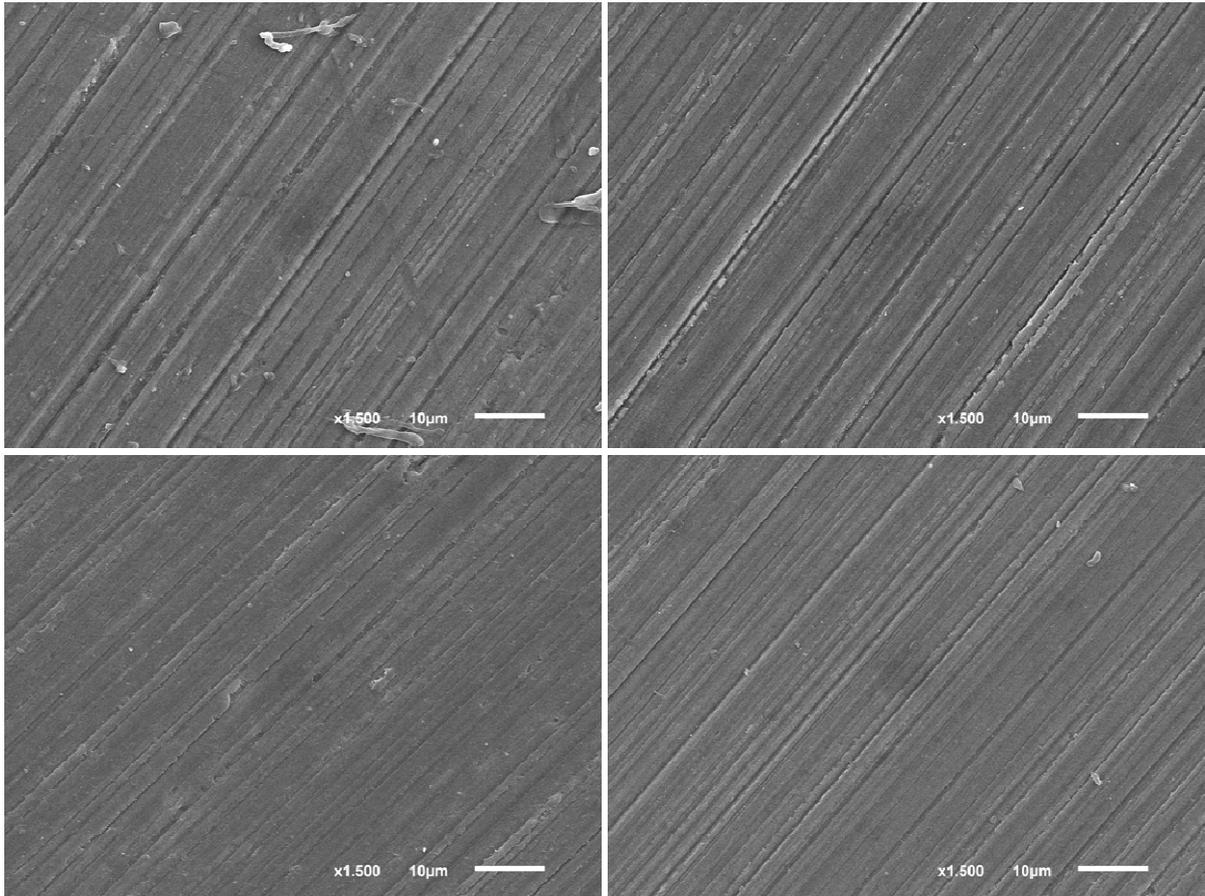


Abb. 9.30: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) aus der Gruppe der Negativ-Kontrolle, nur erodiert. Probennummern I, III, IV, X, XIII (von links nach rechts und von oben nach unten). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für alle einzelnen Proben aus dieser Gruppe.

9.2 REM-Strukturaufnahmen von Referenzflächen



Probe	C	O	P	Ca	Sn	Au
I	3,66	38,75	16,08	41,42	0,10	0,00
II	4,63	38,45	15,71	40,88	0,32	0,00
III	5,74	39,03	15,89	39,22	0,12	0,00
IV	5,53	37,45	16,03	40,94	0,05	0,00

Abb. 9.31: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen (Originalvergrößerung x 1500) von in den Versuchen unbehandelten und geschützten Referenzoberflächen der Schmelzproben. Sichtbar sind die Schleifspuren von der Probenpräparation.

Proben (von links nach rechts und von oben nach unten): Keine Abrasiva und Slurrybehandlung, ohne Chitosan (I); 15% Silika und Slurrybehandlung, ohne Chitosan (II); Placebo und Bürstbehandlung, mit Chitosan (III); 20% Polyethylen und Slurrybehandlung, mit Chitosan (V). Rechts die Messergebnisse (Gew%) der EDX-Analyse für die Referenzoberflächen.

9.3 REM-Strukturaufnahmen verschiedener Putzkörpertypen

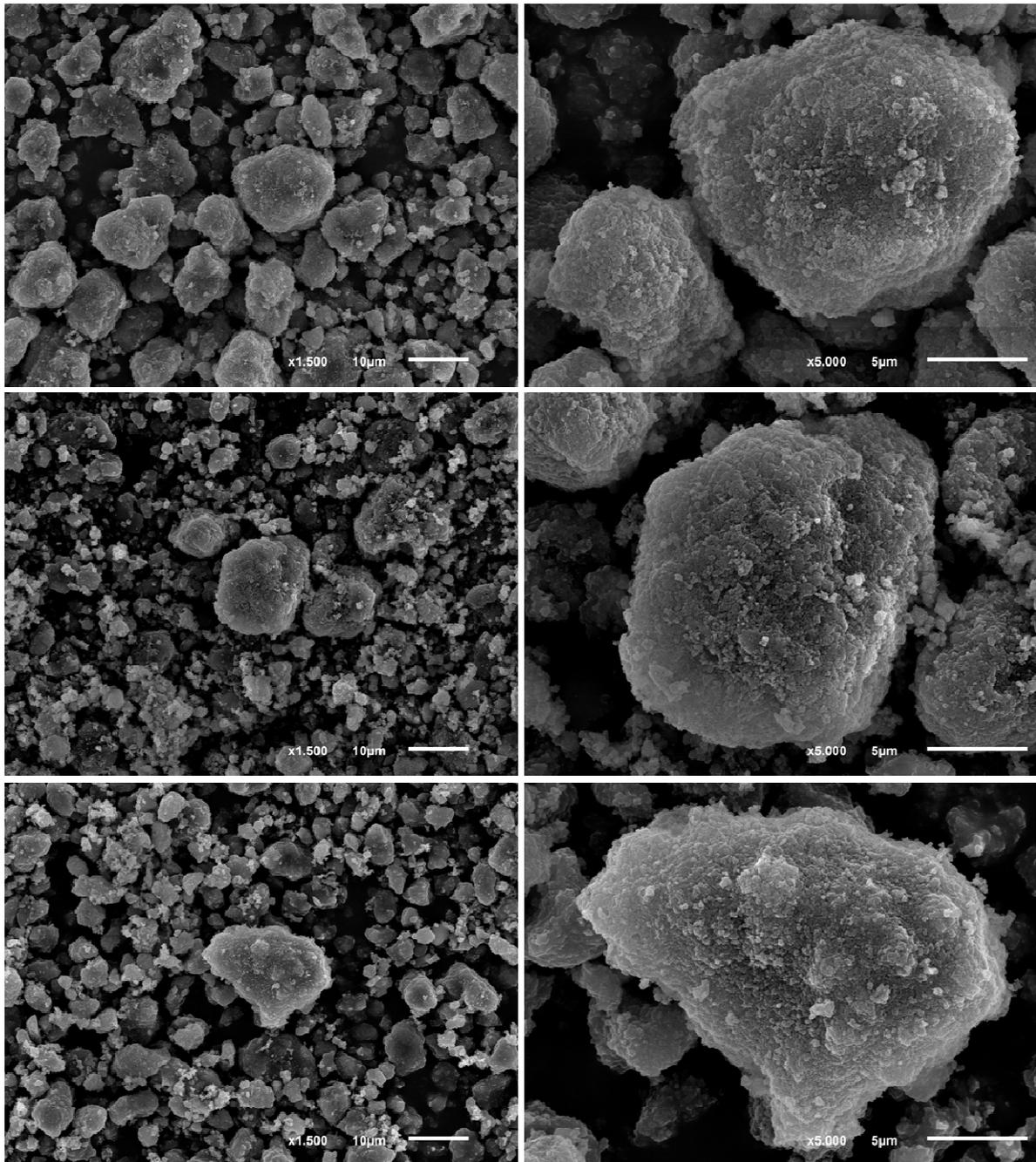


Abb. 9.32: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen von Silika-Abrasiva, jeweils in 1500-facher und 5000-facher Vergrößerung.

Darstellungen von Putzkörpern aus den Zahnpastensuspensionen 20% Silika, ohne Chitosan (obere Reihe; Probe vom Grund des Sediments); 20% Silika, mit Chitosan (mittlere Reihe; Probe von der Oberfläche des Sediments); Placebo, ohne Chitosan (untere Reihe; Probe von der Oberfläche des Sediments).

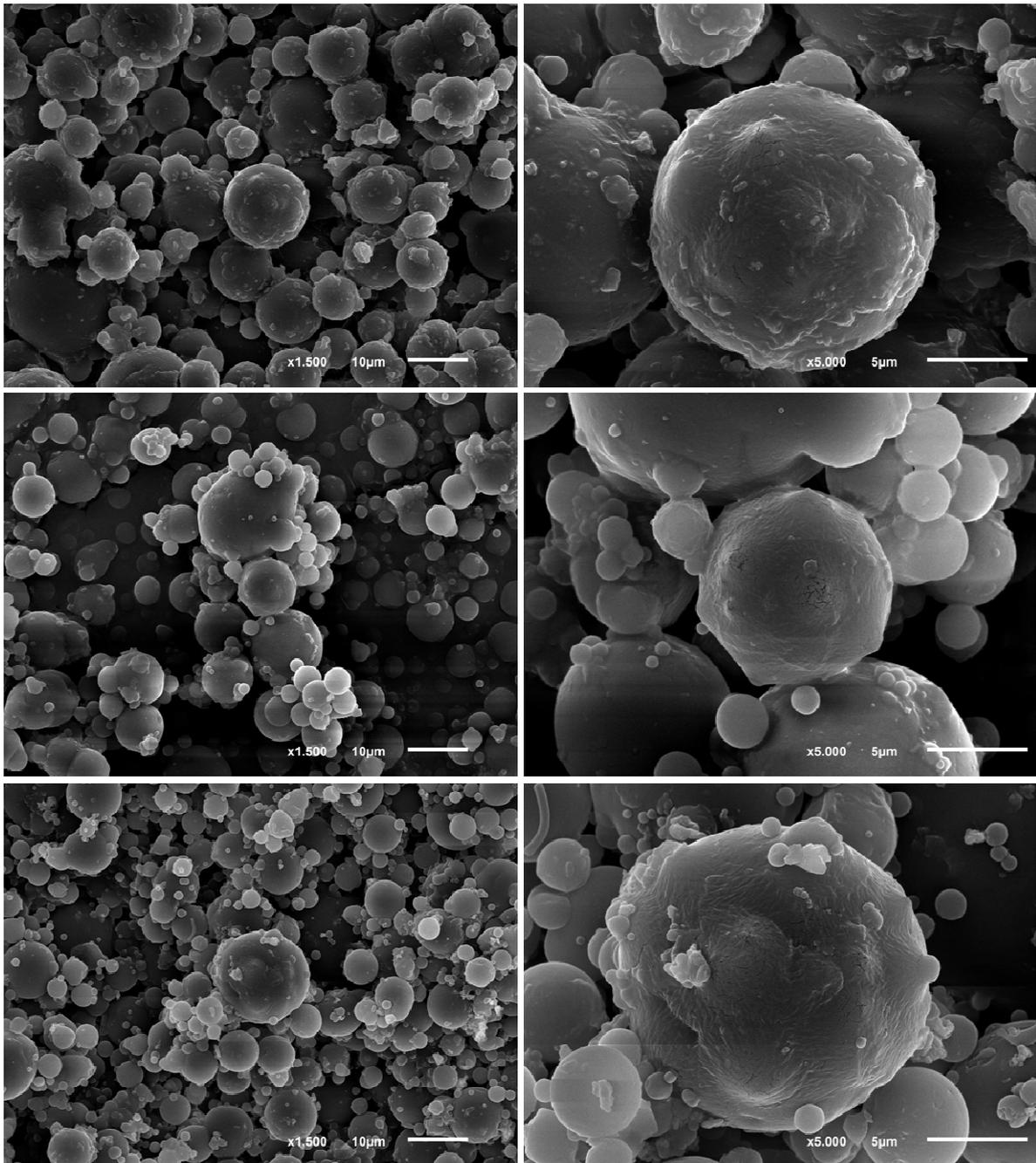


Abb. 9.33: Elektronenmikroskopische Strukturaufnahmen von Polyethylen-Abrasiva, jeweils in 1500-facher und 5000-facher Vergrößerung.

Darstellungen von Putzkörpern aus den Zahnpastensuspensionen 20% Polyethylen, ohne Chitosan (obere Reihe; Probe von der Oberfläche des Sediments); 20% Polyethylen, mit Chitosan (mittlere Reihe; Probe von der Oberfläche des Sediments); 20% Polyethylen, mit Chitosan (untere Reihe; Probe vom Grund des Sediments).

9.4 Publikation

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie wurden auf der 59. Jahrestagung der European Organisation of Caries Research (ORCA) in Cabo Frio/Brasilien vorgestellt und sind als Abstract publiziert.

Role of Abrasives and Chitosan in Experimental F/Sn Toothpastes: Tin-Uptake in Enamel after Erosion/Abrasion in-vitro

K. Schulze, N. Schlueter, M. Jung, J. Klimek, C. Ganss

Caries Res. 2012;46:276-277 (Abstract)

acid were collected using a questionnaire. Poisson regression model was used for data analysis ($p < 0.05$). **Results:** The prevalence of ETW was similar in 2008 (51.6%) and 2010 (53.9%) and most of the lesions found were confined to enamel. There were no significant associations between ETW and dental caries or socio-economic, environmental, and nutritional variables. Risk indicators for ETW were daily soft drink intake ($p < 0.001$), drinking methods causing prolonged contact with the teeth ($p = 0.007$) frequent gastroesophageal reflux ($p = 0.005$), frequent vomiting ($p = 0.011$), and an increase in age ($p = 0.003$). **Conclusions:** In conclusion, a high and similar prevalence of ETW was found in this sample of preschool children in 2008 and 2010 and risk indicators included the frequency and method of soft drink intake, vomiting, reflux and an increase in age.

Funded by National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES).

19

Impact of Abrasives and Chitosan on the Efficacy of Experimental F/Sn-Toothpastes against Erosion/Abrasion in-vitro

O. Grunau*, N. Schlueter, M. Möllers, J. Klimek, C. Ganss

oliver.grunau@dentist.med.uni-giessen.de
Department of Conservative and Preventive Dentistry, Dental Clinic, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany

Tin is a notable anti-erosive agent. In toothpastes tin might interact with abrasives possibly influencing its efficacy. Chitosan is a positively charged biopolymer with anti-erosive properties and able to bind to various surfaces. The effect of varying types and amounts of abrasives and of Chitosan in experimental F/Sn toothpastes on erosive/abrasive tissue loss was investigated. The study was conducted in two experiments. In both experiments (E1+E2; 8 groups each, $n = 15$) human enamel specimens were cyclically demineralised (10 days, 0.5% citric acid, pH 2.6; 6×2 min/day). Specimens were exposed to toothpaste slurries for 2×2 min/day and were brushed for 15 s within the exposure time (2 N, brushing machine). Negative control was erosion only. Substance loss was quantified profilometrically (μm). To a basic formulation (1,400 ppm F, 3,500 ppm Sn) varying amounts (wt%) of abrasives were added (5, 10, 15, 20% silica or 20% polyethylene, range of RDA: 56–81). One formulation contained no abrasives; placebo toothpaste contained 20% abrasives but no F/Sn. To all toothpastes in E2 Chitosan was added. Tissue loss (E1/E2) after erosion only was $11.7 \pm 3.2/11.0 \pm 2.5$. In E1/E2 highest tissue loss was found after brushing with placebo ($13.2 \pm 3.9/14.7 \pm 1.8$). Tissue loss reduction (%) compared to placebo ranged between 2% and 48% in E1 and between 48 and 84% in E2. In both experiments efficacy was not proportional to silica content. The best efficacy in both experiments was found with the formulation without abrasives (E1: 6.1 ± 3.3 ; E2: 3.1 ± 1.5 ; each $p < 0.001$ compared to placebo) and with 20% polyethylene (E1: 6.1 ± 2.8 ; E2: 2.4 ± 1.0 ; each $p < 0.001$ compared to placebo). Type and amount of abrasives may have an impact on efficacy beyond abrasiveness. Chitosan increased efficacy independent of the type and amount of abrasives.

Supported by GABA International, Therwil, Switzerland.

20

Mode of Action of Experimental F/Sn-Preparations: in-vitro and in-situ Tin Retention on Enamel after Erosion/Abrasion

N. Schlueter*, J. Brinker, J. Klimek, C. Ganss

nadine.schlueter@dentist.med.uni-giessen.de
Department of Conservative and Preventive Dentistry, Dental Clinic, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany

Tin anti-erosive properties are based on the incorporation of the ion into the dental hard tissue. This been shown to occur with highly concentrated mouthrinses in-vitro. However, nothing is known about the mode of action of tin under in-situ conditions and for lower Sn concentrations as present in toothpastes. In contrast to mouthrinses, toothpastes have a complex composition, containing a multitude of ingredients including abrasives or efficacy enhancing additives, e.g. the biopolymer Chitosan. Therefore, their mode of action might be different to mouthrinses. The retention of tin on and in human enamel after corresponding in-vitro and in-situ use of three different F/Sn-containing preparations was investigated: one abrasive-free gel (3,000 ppm Sn, 1,000 ppm F), two experimental toothpastes (TP1: 3,500 ppm Sn, 1,400 ppm F; TP2: as TP1 plus Chitosan). All specimens were cyclically eroded (0.5% citric acid; 6×2 min/day) and treated 2×2 min/day with slurries. In-vitro specimens were brushed for 15 s (2 N, brushing-machine) within the exposure time. In-situ specimens were intraorally treated and brushed for 5 s within the 2 min exposure time (2.5 N, powered toothbrush). Tin retention was measured by Electron-Dispersive-X-ray-spectroscopy on surfaces and cross sections. Tin content (wt%) on in-vitro surfaces was (gel, TP1, TP2) 2.7 ± 0.3 , 0.9 ± 0.3 , 2.1 ± 0.4 ($p < 0.001$ between all groups), and on in-situ surfaces 5.6 ± 4.6 , 1.0 ± 1.0 , 1.1 ± 0.9 ($p < 0.01$ between gel and TP1/TP2). Significant differences between in-situ and in-vitro specimens were found for gel and TP2. Tin incorporation was deeper under in-vitro than under in-situ conditions. The use of the gel led to higher tin retention than the toothpastes, both under in-vitro and in-situ conditions, perhaps due to the lack of abrasives. Chitosan had a significant impact on tin retention under in-vitro, but not under in-situ conditions.

Supported by GABA International, Therwil, Switzerland.

21

Role of Abrasives and Chitosan in Experimental F/Sn Toothpastes: Tin-Uptake in Enamel after Erosion/Abrasion in-vitro

K. Schulze*, N. Schlueter, M. Jung, J. Klimek, C. Ganss

katja.schulze@dentist.med.uni-giessen.de
Department of Conservative and Preventive Dentistry, Dental Clinic, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany

Tin and Chitosan have promising anti-erosion properties. In toothpastes, however, tin might interact with abrasives influencing the efficacy of the preparation. Chitosan might adsorb to surfaces with negative zeta-potential, thus influencing the tin-uptake

in enamel. This study investigated the tin retention on eroded enamel surfaces treated with toothpastes having different amounts and types of abrasives with and without Chitosan. Human enamel specimens ($n = 15$ each) were cyclically demineralised (10 days, 0.5% citric acid; 6×2 min/day). Fourteen groups were immersed in toothpaste slurries for 2×2 min/day. Further fourteen groups were additionally brushed for 15 s within immersion time (2 N, brushing machine). Negative control was demineralised only. To the basic toothpaste formulation (3,500 ppm Sn, 1,400 ppm F), with and without Chitosan, varying amounts (wt%) of abrasives were added (5, 10, 15, 20% silica or 20% polyethylene, range of RDA: 56–81). One formulation contained active ingredients only, but no abrasives. Placebo toothpaste contained 20% silica, but no active ingredients. Tin-uptake (wt%) was measured by Energy-Dispersive-X-ray-spectroscopy on surfaces. All specimens treated with Chitosan formulations showed significantly higher tin-uptakes (range in slurry groups: $2.7 \pm 0.5 - 3.7 \pm 0.6$; range in slurry/brushing groups: $2.2 \pm 0.3 - 3.3 \pm 0.6$), than specimens treated without Chitosan (range in slurry groups $1.6 \pm 0.3 - 1.7 \pm 0.2$, range in slurry/brushing groups: $0.9 \pm 0.2 - 1.8 \pm 0.2$). Tin-uptake after polyethylene and after silica was similar. The formulations without abrasives, however, showed highest tin retention reaching up to threefold higher values than the corresponding toothpastes with abrasives (without Chitosan: slurry 3.2 ± 0.7 , slurry/brushing: 3.1 ± 0.7 ; with Chitosan: slurry: 7.3 ± 0.8 , slurry/brushing: 8.6 ± 1.9). Though there are effects from amount and type of abrasives, tin retention on eroded enamel surfaces depends mainly on its presence or absence, and is increased by the addition of Chitosan.

Supported by GABA International, Therwil, Switzerland.

22

Development of an Erosion/Abrasion in-situ Model and First Efficacy Data of Experimental F/Sn/Chitosan Toothpastes

A. Tolle*, C. Ganss, J. von Hinckeldej, J. Klimek, N. Schlueter

alexandra.tolle@dentist.med.uni-giessen.de

Department of Conservative and Preventive Dentistry, Dental Clinic, Justus-Liebig-University, Giessen, Germany

There are only few in-situ models with standardised intraoral brushing. In a pilot study simulating the clinical situation, such an in-situ model was developed. In a main study, including a larger group of test persons, the efficacy of an experimental F/Sn/Chitosan toothpaste was investigated in comparison to other fluoride compounds. Both studies conformed to GCP guidelines, using human enamel specimens worn in the lower jaw ($n = 3$ on both vestibular sides each). The enamel specimens were extra-orally demineralised (7 days, 0.5% citric acid, pH 2.6; 6×2 min/day) and intraorally exposed to toothpaste slurries (2×2 min/day). Within the treatment time with the slurries, the specimens on one side were intraorally brushed with a powered toothbrush for five seconds (2.5 N). After each demineralisation and slurry exposure, specimens were rinsed with tap water. Substance loss was quantified profilometrically (μm). Pilot study ($n = 10$): Four toothpastes were tested (placebo, two experimental toothpastes

(TP1: AmF/NaF/SnCl₂, TP2: AmF/NaF/SnCl₂ plus Chitosan; both 1,400 ppm F, 3,500 ppm Sn), and a SnF₂-containing gel (3,000 ppm Sn, 1,000 ppm F)). In the main study ($n = 27$) experimental TP2 was tested against placebo and an experimental NaF-toothpaste (TP3, 1,400 ppm F). Pilot study: in the placebo-group, tissue loss was $11.2 \pm 4.6/17.7 \pm 4.7$ (slurry/slurry+brushing respectively); treatment with tin-containing slurries reduced tissue loss (TP1 $3.6 \pm 1.9/12.8 \pm 6.4$, TP2 $2.7 \pm 2.8/9.6 \pm 5.6$, gel $2.0 \pm 1.3/5.4 \pm 5.5$, each $p < 0.05$ compared to placebo). Main study: in the placebo-group, tissue loss was $12.5 \pm 5.9/20.2 \pm 7.8$. After NaF, tissue loss was $9.3 \pm 5.6/15.4 \pm 6.1$ and after TP2 $4.9 \pm 2.9/10.0 \pm 7.4$ (each $p < 0.05$ compared to placebo; TP2 vs. TP3 $p < 0.05$). The study model was able to differentiate effects of active agents and physical impacts and showed excellent reproducibility. F/Sn/Chitosan was superior to NaF.

Supported by GABA International, Therwil, Switzerland.

23

Interplay between Salivary Pellicle Proteins and Stannous-Containing Toothpaste on Dental Erosion-Abrasion

A.T. Hara*, F. Lippert, D.T. Zero

ahara@iupui.edu

Indiana University School of Dentistry, Indianapolis, Ind., USA

Stannous-containing products have shown an ability to reduce the development of dental erosion; however, their interaction with salivary pellicle proteins is unclear and was therefore investigated. Ninety-six bovine enamel and root dentin specimens ($n = 8$) were submitted to episodes of demineralization (0.3% citric acid, pH 2.6, 5 min, $4 \times$ /day), remineralization (in between treatments) and toothbrushing ($2 \times$ /day), for a total of 5 days. The remineralizing solutions (S1-S5) contained 1.45 mM Ca, 5.4 mM PO₄, 0.1 M Tris buffer and sodium azide (S1), with the addition of 2.2 g/l of Mucin (S2), 2.2 g/l of Casein (S3), 1.1 g/l of Mucin + 1.1 g/l of Casein (S4) or 2.2 g/l of Albumin (S5). Human saliva (HS) was included as reference. Toothbrushing (2 min, 45 stk, 150 g) was performed using slurries of 1,100 ppm F (NaF) silica-based toothpaste suspended in deionized water (1:3 w/w), with (TP+Sn) and without (TP) the addition of 3,500 ppm Sn (SnCl₂). The pH of both slurries was adjusted to 4.5. Surface loss was determined using optical profilometry. Data were analyzed by ANOVA and Fishers LSD tests, at 5% significance level. When associated to TP, HS showed the highest loss, followed by S2. The other protein-containing solutions (S3-S5) did not differ from each other or from S1. Similar results were observed for dentin. In the presence of TP+Sn, significant surface loss reduction was observed for both substrates. HS still showed the highest dental loss, although no differences were found among groups S1-S4. S5 resulted in the lowest enamel loss, not differing only from S2. Similar trend was observed for S5 on dentin, although not as pronounced. **Conclusion:** The stannous containing slurry provided a strong protective effect against dental erosion-abrasion, which seemed to be enhanced by its association to albumin (S5), especially on enamel.

9.5 Ehrenwörtliche Erklärung

„Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig und ohne unzulässige Hilfe oder Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nichtveröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten sowie ethische, datenschutzrechtliche und tierschutzrechtliche Grundsätze befolgt. Ich versichere, dass Dritte von mir weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen, oder habe diese nachstehend spezifiziert. Die vorgelegte Arbeit wurde weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde zum Zweck einer Promotion oder eines anderen Prüfungsverfahrens vorgelegt. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht. Insbesondere wurden alle Personen genannt, die direkt und indirekt an der Entstehung der vorliegenden Arbeit beteiligt waren. Mit der Überprüfung meiner Arbeit durch eine Plagiatserkennungssoftware bzw. ein internetbasiertes Softwareprogramm erkläre ich mich einverstanden.“

Ort, Datum

Unterschrift

9.6 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Frau Prof. C. Ganß für die freundliche Überlassung des Themas und für die jederzeit angenehme sowie fachlich kompetente Beratung und Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit bedanken. Ein weiterer Dank gilt Frau Prof. N. Schlüter, die ebenfalls stets mit Rat und Tat hilfreich zur Seite stand. Weiterhin danke ich Frau B. Meier für die Zusammenarbeit in labortechnischen Angelegenheiten und den regen Austausch. Außerdem denke ich hier an alle weiteren Personen, die zum Gelingen dieser Arbeit einen Teil beigetragen haben, allerdings nicht namentlich erwähnt werden. Seien dies Freunde, Bekannte, Mitarbeiter oder auf andere Weise Verbundene.

Ich freue mich durch diese Studie die Möglichkeit geboten bekommen zu haben, die Prinzipien naturwissenschaftlicher Methodik näher kennenzulernen. Neben dem interessanten profilometrischen Messverfahren hat mich dabei vor allem die Arbeit mit einem modernen und vielseitigen Rasterelektronenmikroskop und die Anfertigung sowie Auswertung der energiedispersiven Röntgenspektroskopie begeistert.

Im privaten Umfeld gebührt meinen Eltern ein außerordentliches Dankeschön, denn ich habe von Beginn meiner Schulausbildung, über das Studium, bis hin zur Anfertigung dieser Arbeit fortwährend ein überaus großes Engagement und breite allgemeine Unterstützung erfahren dürfen. In diesen Dank beziehe ich auch meinen Bruder und andere Familienangehörige mit ein.

Meiner Frau danke ich ebenso ganz besonders für ihre Unterstützung und Begleitung meiner Person durch die vergangenen ereignisreichen Jahre, unter anderem mit ihrem und meinem erfolgreich abgeschlossenen Studium und den nun folgenden Promotionen.

Ubi libertas, ibi patria – Sapere aude!

9.7 Tabellarischer Lebenslauf

Der tabellarische Lebenslauf wurde aus den Druckexemplaren sowie aus der elektronischen Version entfernt.