

Fragilidad y comportamiento mecánico del esmalte dental

Camilo Alberto Rivera Velásquez.¹, Alexander Ossa H.^{1,ψ}, Dwayne Arola^{2,3}

¹ Grupo de investigación en materiales de ingeniería, Escuela de ingeniería, Universidad EAFIT, Medellín, Colombia.

² Mechanical Engineering Department, University of Maryland, Baltimore County, USA.

³ Department of Endodontics, Protodontics and Operative Dentistry, Baltimore College of Dental Surgery, USA.

Recibido 20 de junio de 2012. Aprobado 13 de noviembre de 2012

BRITLNESS AND MECHANICAL BEHAVIOR OF DENTAL ENAMEL

Resumen — El esmalte dental es el tejido duro más mineralizado del cuerpo humano. En este trabajo se estudiaron las propiedades mecánicas fundamentales de este tejido para terceros molares de pacientes jóvenes colombianos. Se establecieron la dureza, la tenacidad a la fractura aparente y la fragilidad del esmalte dental en función de la profundidad a partir de la superficie oclusal mediante técnicas de medición de microindentación. Se encontró que las mediciones de dureza son altamente dependientes de la carga utilizada, hallándose que para valores de carga pequeños las huellas alcanzan a representar la dureza de un solo prisma de hidroxiapatita, mientras que para valores altos de carga las huellas abarcan un número de prismas suficientes para estimar la dureza general del esmalte. En términos generales los valores de las propiedades medidas son semejantes a los encontrados en estudios realizados en pacientes jóvenes norteamericanos, evidenciando que estas propiedades del esmalte son independientes de las características raciales o étnicas para pacientes jóvenes, lo cual no es necesariamente extensible al comportamiento de estos tejidos en pacientes mayores.

Palabras Clave — Esmalte, Fragilidad, Módulo de Elasticidad, Tenacidad a la Fractura.

Abstract — Dental enamel is one of the hardest and most mineralized tissues of the human body. This work studied the main mechanical properties of this hard tissue for third molars obtained from young Colombian patients. The hardness, apparent fracture toughness and brittleness of enamel were measured as a function of distance from the occlusal surface to the Dental Enamel Junction (DEJ) by means of microindentation techniques. It was found that the hardness measurements are highly dependent on the indentation load, with high values of hardness found when low loads were used. This behavior is explained by the size of the indentations which approached the size of single hydroxyapatite prisms for low load values, while for high load values the size of the indents covered several prisms. Overall, the mechanical properties measured on the enamel from young Colombians are close to the properties reported in the literature for young North American patients. Whether these similarities among young patients persist for older patients deserves further investigation.

Keywords — Brittleness, Young's Modulus, Enamel, Fracture Toughness.

I. INTRODUCCIÓN

Los dientes son tejidos altamente mineralizados presentes en un gran número de vertebrados y cumplen la función básica de trituración de los alimentos. Una de las características más importantes de los dientes es su capacidad de soportar un amplio rango de cargas, que llegan hasta 1000 N en un área crítica de contacto entre 0,45 y 2,5 mm² sin presentar falla [1]. El esmalte dental es el tejido más duro y altamente mineralizado del cuerpo humano. Gracias a su elevada dureza, comportamiento mecánico y ubicación más externa en el diente, permite la protección contra daños externos de la dentina y la pulpa que se encuentran en su interior. El esmalte está compuesto por aproximadamente 96% de mineral (principalmente Hidroxiapatita (HA) carbonatada) y 4% de material orgánico (1% de proteína y 3% agua) [2]. La porción mineral está fundamentalmente conformada por ejes de HA de tamaño nanométrico (~25 nm de espesor y ~100 nm de ancho) que se combinan sistemáticamente para formar estructuras alargadas (similar a fibras) de unos 4-8 mm de diámetro llamadas prismas, que se extienden desde la unión amelodentinaria (DEJ, del inglés *Dentine Enamel Junction*) hasta la superficie oclusal [3,4], como se observa en la Fig. 1. Los prismas se encuentran unidos por una capa delgada (<< 1 mm) de material orgánico basado en proteína [5-7].

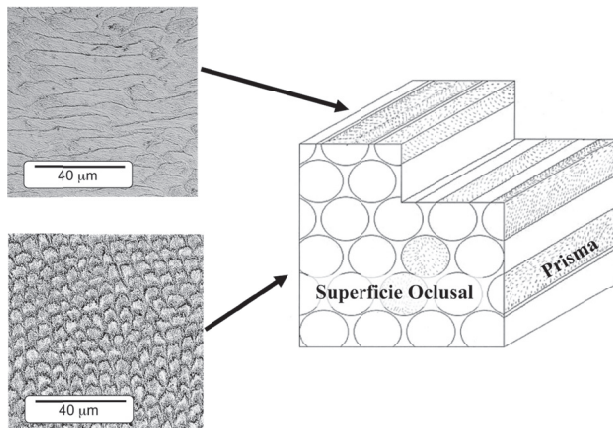


Fig. 1: Organización jerárquica del diente. Se observan los prismas de hidroxiapatita (cilindros).

Las propiedades mecánicas del esmalte dental en humanos, como el módulo de elasticidad (resistencia a la deformación elástica de un material), la dureza (resistencia a la deformación permanente o a la penetración), tenacidad a la fractura (resistencia a la propagación de una grieta existente bajo la acción de un estado particular de esfuerzos) y la fragilidad han sido estudiadas desde hace algún tiempo, con el objetivo de identificar su estructura y comportamiento mecánico [8-12].

Estos estudios han reportado valores para el módulo de elasticidad en el esmalte dental humano en un rango entre 70 y 120 GPa [8,11,12], siendo este el mismo rango en el que se encuentran los módulos de elasticidad de materiales como el circonio (95 GPa), el oro (77 GPa) y la Plata (76 GPa). La dureza varía entre 3 GPa y 6 GPa dependiendo de la edad del paciente y la localización en el diente [2,11,12]. La tenacidad a la fractura reportada para el esmalte dental varía entre 0,4 y 1,5 MPa m^{1/2}, donde los valores inferiores corresponden a mediciones en grietas orientadas en dirección paralela al eje de los prismas [2,13]. Estos valores de tenacidad a la fractura son semejantes a los encontrados para materiales como el vidrio de Borosilicato y algunas resinas epóxicas, lo cual permite deducir que el esmalte dental posee características mecánicas relativamente altas, a pesar de estar compuesto por un alto porcentaje de material inorgánico. Cabe destacar que la diferencia entre los valores reportados por uno u otro estudio dependen en parte de las características anisotrópicas del material, pues dependiendo del sentido en el que se encuentren los prismas de hidroxiapatita, el comportamiento mecánico cambia y sus propiedades varían. La Fig. 2 muestra el cambio de orientación de los prismas de hidroxiapatita en una muestra de esmalte dental observada en dirección oclusal. Algunos autores han diferenciado estas orientaciones, denominando los prismas perpendiculares al observador como *Diazona*, y los que se encuentran paralelos al observador como *Parazona*. Allí se diferencian ambas zonas, y los cambios en el sentido de los prismas infieren en las propiedades mecánicas del esmalte.

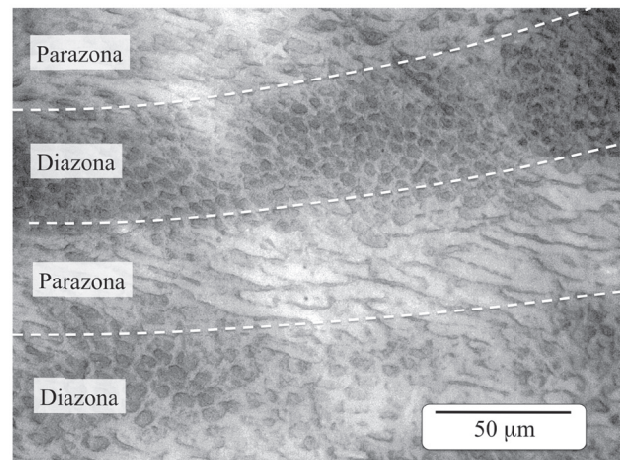


Fig. 2: Imagen de microscopía óptica de los prismas de hidroxiapatita (HA) presentes en el esmalte dental. Se distinguen las diferentes orientaciones. La *Parazona* corresponde a prismas paralelos al observador, y la *Diazona* corresponde a prismas perpendiculares al observador.

Algunos investigadores han expresado reservas sobre la posibilidad de extender los resultados de las propiedades mecánicas medidas en pacientes con

diferencias étnicas, pues argumentan que las diferencias dietarias, genéticas e incluso las capacidades económicas podrían llevar a modificar los contenidos de material orgánico de los dientes, generando cambios significativos en las características mecánicas que podrían afectar los tratamientos de reconstrucción dental y los materiales sintéticos dentales a utilizar según la procedencia de los pacientes.

El objetivo de este trabajo es estudiar experimentalmente, mediante técnicas de microindentación, las propiedades mecánicas (dureza, tenacidad a la fractura aparente y fragilidad) del esmalte dental de pacientes masculinos y femeninos jóvenes colombianos, para evidenciar si estas propiedades se desvían o no de las medidas para estudios similares realizados en pacientes de Norte América.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Terceros molares (N=38) de pacientes seleccionados, con edades entre 18-28 años, fueron obtenidos con su respectivo consentimiento y siguiendo los protocolos establecidos para tal fin por la Universidad EAFIT y la Universidad Cooperativa de Colombia. Los dientes fueron colectados por donación de los pacientes sometidos a procedimientos de extracción dental como parte de su tratamiento de ortodoncia o rehabilitación en la Facultad de Odontología de la Universidad Cooperativa de Colombia. Se obtuvo el consentimiento informado de los sujetos siguiendo los lineamientos de la Declaración de Helsinki y las resoluciones número 8430 de 1993 y 2378 de 2008 del Ministerio de la Protección Social. Los dientes utilizados habrían sido descartados después de los procedimientos de extracción. Todas las muestras se encontraban libres de caries, no habían sido sometidas a tratamientos reconstructivos previos y no presentaban signos de desgaste cuspal significativo. De estos especímenes, N=19 fueron seleccionados de pacientes masculinos, y los restantes (N=19) fueron de pacientes femeninos, para posibilitar así el estudio de diferencias de género en las propiedades mecánicas del esmalte dental. Se utilizaron terceros molares (cordales) para minimizar el efecto de desgaste cuspal en el espesor del esmalte y el daño acumulado en las cúspides presente en los primeros y segundos molares como consecuencia de contacto cíclico [8].

Inmediatamente después de la extracción los especímenes fueron mantenidos en solución salina balanceada de Hank (HBSS) a una temperatura de 2 °C para prevenir la deshidratación previa a la realización de las pruebas [8,14]. Los especímenes fueron ensayados en un período de tiempo inferior a dos semanas posterior a su extracción para evitar así la posible pérdida de material orgánico.

Los molares fueron seccionados axialmente para exponer sus superficies oclusales mediante la utilización de un equipo de corte con disco abrasivo impregnado de diamante continuamente enfriado por agua. De esta manera se aseguró que las pruebas fueran realizadas de una manera axial a la dirección de los prismas (dirección oclusal), como se muestra de manera esquemática en la Fig. 3. Los especímenes fueron luego embebidos en resina epóxica de curado frío y pulidos usando papeles abrasivos con partículas de Carburo de Silicio sucesivamente más pequeñas (600, 800 y 1200 granos por pulgada cuadrada) y continuando mediante el uso de pasta de diamante de 6 mm, 3 mm, 1 mm, 0,25 mm y 0,05 mm de tamaño de partícula en un paño de pulido convencional hasta alcanzar una superficie plana y pulida del esmalte expuesto. Los especímenes pulidos fueron mantenidos en solución HBSS previo a la realización de las pruebas. Es importante mencionar que durante la realización de las pruebas el diente es retirado de la solución HBSS y luego de la prueba fueron nuevamente rehidratados en esta solución, lo cual no afecta la condición de los especímenes por ser pruebas de corta duración (aproximadamente 30 segundos por indentación).

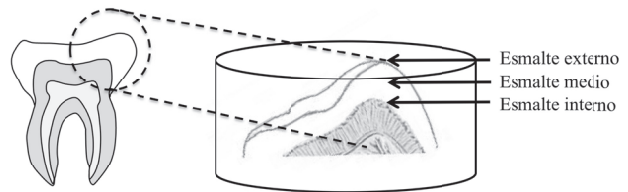


Fig. 3: Diagrama esquemático de la preparación de las muestras. Mediante un corte transversal a la muestra dental se asegura que los prismas del esmalte queden en dirección perpendicular a la superficie, y luego la muestra es embebida en resina epóxica. Se indican las diferentes profundidades del esmalte dental que se analizaron (esmalte externo, medio e interno).

Diez (N=10) especímenes de ensayo fueron utilizados para estudiar la dureza Vickers y el efecto de la carga de indentación en la dureza del esmalte dental. Se utilizó un análisis de varianza ANOVA, con una confianza del 95% ($\alpha = 0,05$), para el análisis estadístico de las pruebas.

La dureza es definida como la habilidad que posee un material a resistir la indentación permanente o deformación cuando está en contacto con un indentador bajo carga [15]. Para la aplicación de cargas controladas sobre diferentes materiales y evaluar su dureza se utilizan ensayos estándar mediante el uso de durómetros. El durómetro consta de un indentador, cuya forma puede variar desde esférico (Brinell, Rockwell), piramidal (Vickers, Knoop y Berkovich) o cónico-esférico (Rockwell). El cálculo de la dureza depende fundamentalmente de la geometría del indentador utilizado, pues dependiendo de la huella impresa en

el material se le asigna un valor con el cual se puede comparar entre diferentes materiales. Para materiales cerámicos, se suelen utilizar indentadores piramidales Berkovich, Vickers y Knoop, debido a que sus geometrías permiten el cálculo de la dureza de materiales duros de una manera adecuada. En este estudio se utilizó la técnica de micro-dureza Vickers, en la que las cargas aplicadas van entre $F=0,1$ N y $F=100$ N, ya que es el tipo de dureza y niveles de carga más comúnmente utilizados para materiales cerámicos en los que los valores de dureza son altos. También se consideró que la gran mayoría de estudios realizados sobre la dureza del esmalte dental han reportado mediciones en esta misma escala de dureza [2,8,11,12].

Las pruebas de microdureza Vickers fueron realizadas utilizando un microdurometro *Wilson Instruments*. Los especímenes fueron hidratados frecuentemente con HBSS durante las pruebas. En todos los especímenes se realizaron al menos 10 indentaciones por cada nivel de carga utilizado ($F= 0,1; 0,25; 1; 2; 3$ y 5 N), teniendo especial cuidado en no ubicar indentaciones cercanas a una longitud de 10 diagonales una de la otra o a 10 diagonales de longitud de la DEJ o la superficie oclusal. La dureza Vickers fue determinada según la norma ASTM C1327 [16] como se muestra en (1), en donde F es la carga de indentación (N) y L es la diagonal de la indentación (mm) (Fig. 4).

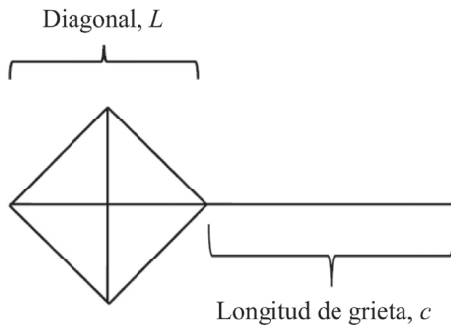


Fig. 4. Esquema de la huella dejada por el indentador Vickers sobre el esmalte dental ensayado, indicando las longitudes medidas utilizadas para calcular el valor de dureza y la tenacidad a la fractura aparente.

$$HV = \frac{0.1891F}{L^2} \quad (1)$$

La tenacidad a la fractura (K_{Ic}) es una propiedad que describe la habilidad de un material para contener la propagación de una grieta bajo un estado de esfuerzos específico [8]. Mediante la técnica de indentación Vickers es posible generar grietas que se extienden a partir de las aristas de las huellas (Fig. 5). Mediante la medición de la extensión promedio de estas grietas es posible determinar la llamada tenacidad a la fractura “aparente” ($K_{c(ap)}$). El término “aparente” se emplea debido a que

existen algunas reservas sobre la utilización de técnicas de indentación para la medición de la tenacidad a la fractura de materiales [17]. Sin embargo, esta técnica permite la determinación de valores de tenacidad a la fractura en materiales que se encuentran en volúmenes pequeños y de los cuales es difícil la obtención de especímenes estándar para la realización de pruebas normalizadas de tenacidad a la fractura [8].

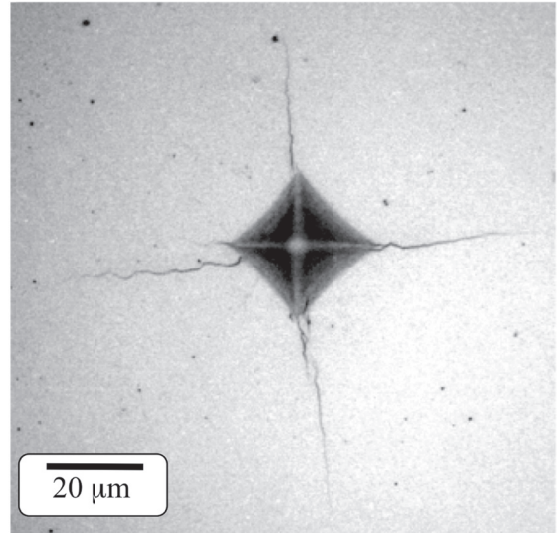


Fig. 5: Indentación Vickers en una muestra dental. Se aprecian las diferentes grietas formadas desde las aristas de la indentación hasta su finalización.

La tenacidad a la fractura aparente ($K_{c(ap)}$) fue medida en 28 especímenes siguiendo el procedimiento descrito por Park et al. [8]. Las indentaciones fueron realizadas utilizando una carga de indentación de 3 N, que excede el valor de carga crítica correspondiente al punto de transición de dureza, determinado del análisis de efectos de tamaño de indentaciones en la dureza. La longitud de las diagonales de las indentaciones (L) y la longitud promedio de las grietas extendiéndose desde las aristas de las indentaciones (c) fueron medidas para cada indentación (Fig. 4 y Fig. 5). Diez indentaciones fueron realizadas en el espécimen, iniciando en la superficie oclusal. Luego se procedió a realizar un proceso de pulido removiendo aproximadamente 400 μ m de material para proceder nuevamente a realizar otras 10 indentaciones. Este procedimiento continuó hasta alcanzar la DEJ. De esta manera fue posible estudiar el cambio en la tenacidad a la fractura aparente como una función de la profundidad con respecto a la superficie oclusal del esmalte. La tenacidad a la fractura aparente para cada indentación fue entonces calculada según (2) [18], donde E es el módulo de elasticidad del esmalte (GPa), HV es la dureza Vickers (GPa), P es la carga de indentación (kg), L es la longitud promedio de la diagonal (m) y c es la longitud promedio de las grietas (m). Esta ecuación es aplicable a grietas tipo Palmqvist, como es el caso presente en el esmalte dental [8].

$$K_{c(ap)} = 0.0084 \left(\frac{E}{HV} \right)^{2/5} \left(\frac{2P}{L} \right) \frac{1}{c^{1/2}} \quad (2)$$

El módulo de elasticidad (E) fue tomado de la literatura reportada [2,11,12], donde para el esmalte externo su valor es de 87 GPa, para el esmalte medio de 82 GPa, y para el esmalte interno su valor es de 75 GPa.

$$B = \frac{HV * E}{(K_{c(ap)})^2} \quad (3)$$

La fragilidad de un material, calculada según (3) [19], describe qué tan propenso es un material a fracturarse (altos valores de B), o si el material prefiere deformarse plásticamente en lugar de fracturarse (bajos valores de B). Es importante realizar cálculos de fragilidad, especialmente en materiales cerámicos, debido a que con dichos valores se puede inferir la tendencia del material a absorber energía y fallar. Todas las gráficas utilizadas, para un mayor entendimiento de los resultados obtenidos, son realizadas con su eje horizontal igual a distancia normalizada, es decir, el valor de la profundidad a la cual se realiza la indentación en el esmalte, sobre la distancia o grosor total del esmalte.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de la carga de indentación en los valores medidos de dureza se presenta en la Fig. 6. Para valores de carga de indentación bajos ($F=0,1$ N) la dureza alcanza valores de alrededor de 7 GPa, mientras que para cargas de indentación superiores a 3 N la dureza alcanza un valor relativamente estable aproximadamente un 50% menor que el valor máximo medido. Estos resultados son consistentes con los presentados por Park et al. [9], quienes discutieron que el efecto de tamaño era asociado con la aparición de microgrietas en el esmalte debido a cargas excesivas. De hecho, para cargas superiores a $P = 1$ N se evidencia la aparición de microgrietas (indicadas por flechas en la Fig. 6). La dureza aparente también parece ser una función de las dimensiones microestructurales en relación con el tamaño de la indentación. Para cargas de 0,1 N la indentación no es lo suficientemente grande como para cubrir más de un prisma (Fig. 6), mientras que un incremento en la carga aplicada crea indentaciones suficientemente grandes que pueden ser consideradas como medidas del esmalte como un todo (o continuo) y no como medidas discretas de prismas individuales. Por lo tanto la dureza de 7 GPa puede ser considerada como la dureza de un solo prisma, mientras que valores de dureza alrededor de 3 GPa pueden ser considerados como la dureza general del esmalte dental. Estos últimos valores de dureza son consistentes con los

valores de dureza encontrados en previos estudios de la dureza del esmalte dental [2,11,12].

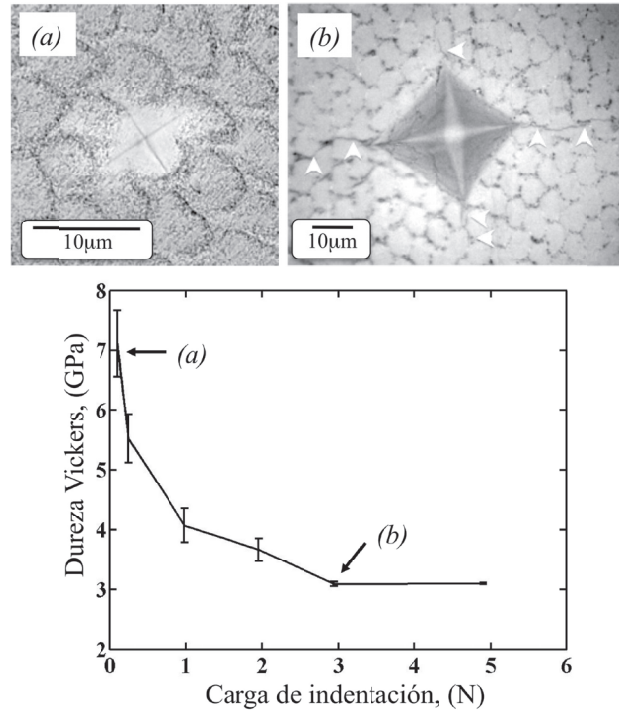


Fig. 6. Variación de la dureza en el esmalte dental según la carga de indentación utilizada. Las barras de error indican los valores de desviación estándar de las mediciones.

La variación de la dureza con respecto a la distancia normalizada desde la superficie oclusal (x/d) es mostrada en la Fig. 7. Esta distancia normalizada es la relación entre la profundidad a la cual se realizan las mediciones con respecto al espesor total del esmalte. La dureza disminuye mientras más cerca se encuentren las mediciones de la DEJ, resultados que son consistentes con los encontrados por Park et al. [8].

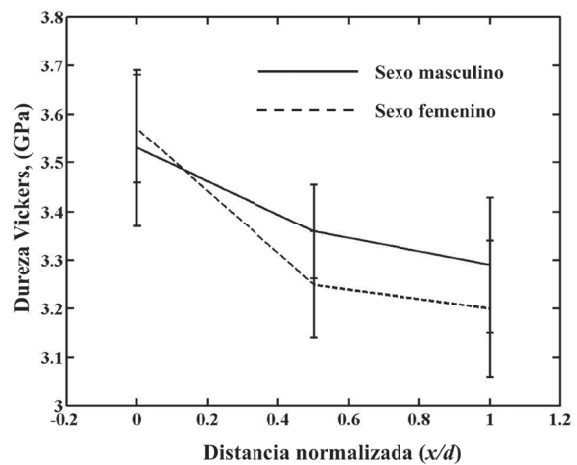


Fig. 7. Variación de la dureza con relación a la profundidad del esmalte dental. Las barras de error indican los valores de desviación estándar de las mediciones.

La variación de la tenacidad a la fractura aparente con respecto a la distancia normalizada desde la superficie oclusal (x/d) es presentada en la Fig. 8. La tenacidad a la fractura presenta un incremento de aproximadamente 10% desde la superficie oclusal hasta la DEJ, indicación esta de una habilidad del esmalte dental a dificultar el crecimiento de grietas a medida que la profundidad aumenta. También es importante notar en esta figura que el comportamiento de los esmaltes masculinos y femeninos no presenta diferencias considerables.

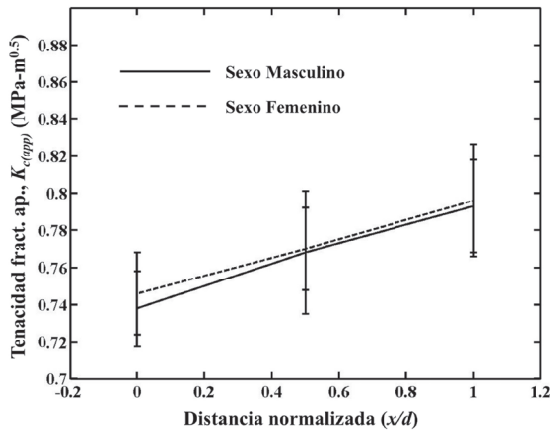


Fig. 8. Tenacidad a la fractura aparente del esmalte dental masculino y femenino. Las barras de error indican los valores de desviación estándar de las mediciones.

La distribución de la fragilidad para el esmalte con respecto a la distancia normalizada (x/d) se muestra en la Fig. 9. Se observa un decrecimiento de la fragilidad desde la superficie oclusal hasta el DEJ. Un alto valor de fragilidad describe un material propenso a la fractura, mientras que bajos valores de fragilidad denotan materiales que prefieren deformarse plásticamente en lugar de fracturarse [19]. Los valores de fragilidad encontrados son cercanos a los reportados por Park et al. [8] en su estudio de terceros molares en pacientes norte americanos.

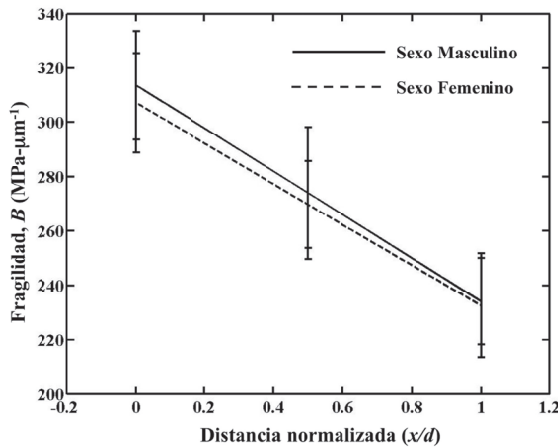


Fig. 9. Fragilidad del esmalte masculino y femenino. Las barras de error indican los valores de desviación estándar de las mediciones.

Los resultados encontrados fueron consistentes con estudios realizados en pacientes de Norteamérica, llevando a reconocer que entre pacientes jóvenes tanto en los Estados Unidos como en Colombia, no existe una diferencia apreciable en cuanto a las propiedades mecánicas del esmalte dental. Algunos investigadores han mostrado algunas reservas sobre las diferencias en el comportamiento mecánico del esmalte dental en pacientes jóvenes de diferentes razas tanto en hombres como en mujeres. Según los valores encontrados en este estudio, tales diferencias no son evidentes en pacientes jóvenes, si bien estudios posteriores con un mayor número de especímenes colombianos serían útiles. Sin embargo, esta conclusión no puede ser extendida a tejidos envejecidos, en donde las condiciones alimenticias y raciales podrían tener un mayor efecto en las características mecánicas del esmalte dental. Este tema requiere mayor análisis y será el tema de futuros estudios. Por otro lado, es importante apreciar que el comportamiento mecánico del esmalte dental, al comparar los sexos masculino y femenino, no muestra diferencias estadísticamente significativas en sus propiedades mecánicas (ver Fig. 8). Se espera, basado en trabajos previos, como los realizados por Park et al. [9] y Bajaj et al. [2], que diferencias en dichas propiedades del esmalte se presenten en pacientes mayores (>50 años) donde son mucho más apreciables los cambios en su comportamiento debido a procesos de pérdida de material orgánico del esmalte.

IV. CONCLUSIÓN

Utilizando técnicas de microindentación fue posible estudiar la dureza, tenacidad a la fractura aparente y fragilidad del esmalte dental de pacientes colombianos jóvenes tanto masculinos como femeninos. Se encontró que las diferentes propiedades mecánicas del esmalte dental presentan un cambio desde la superficie oclusal hasta la DEJ, reduciéndose la dureza y fragilidad e incrementándose la tenacidad a la fractura aparente. Este resultado es explicado por la mayor cantidad de material orgánico presente en este tejido al acercarse a la dentina, lo que le permite detener de una mejor manera el crecimiento de grietas.

Las propiedades mecánicas presentes en el esmalte dental muestran un excepcional comportamiento al impedir que grietas en su interior se propaguen. Estas características pueden ser de gran utilidad para el diseño de nuevos materiales inspirados en comportamientos naturales que permitan, mediante el uso de elementos simples, obtener materiales que impidan la propagación y crecimiento de grietas.

El comportamiento mecánico hallado luego de realizar los experimentos anteriormente mencionados

es válido para dientes de pacientes en edades entre 19 y 28 años. Sería de gran utilidad realizar ensayos similares en dientes de personas mayores (de 50 años en adelante) para comprender mejor los cambios, si los hay, en el comportamiento mecánico del esmalte dental a medida que se da el proceso de envejecimiento.

AGRADECIMIENTO

Este estudio fue apoyado económicamente por un proyecto interno de la Universidad Eafit y el National Institute of Health (NIDCR DE016904; PI: Arola). Los autores también quisieran expresar su agradecimiento al doctor Santiago Arango de la Universidad Cooperativa de Colombia por su colaboración en la consecución de las muestras dentales, al igual que al profesor Mauricio Arroyave de la Universidad Eafit por su colaboración con las mediciones de microscopía electrónica de barrido.

REFERENCIAS

- [1]. White S.N., Luo W., Paine M-L., Fong H., Sarikaya M., M.L. Snead Biological Organization of Hidroxyapatite Cristallites into a Fibrous Continuum Toughness and controls anisotropy in Human Enamel. *J. Dent Res* 80, 1, 321-326, 2001.
- [2]. Bajaj D., Arola D. On the R-curve behaviour of human tooth enamel. *Biomaterials*. 30:4037-4046, 2009.
- [3]. Ten Cate A.R. Oral histology: development, structure and function. Vol. 5. St Louis: Mosby; 1998. 218-221.
- [4]. Robinson C., Kirkham J., Shore R. Dental enamel: Formation to destruction. Boca Raton: CRC press: 1995. 151-152.
- [5]. Park S, Wang D.H., Zhang D., Romberg E., Arola D. Mechanical properties of human enamel as a function of age and location in the tooth. *J Mater Sci: Mater Med*. 19(6):2317-2324, 2008.
- [6]. Weber D.F. Sheath configurations in human cuspal enamel. *Journal of Morphology*. 141 (4), 479-489, 1973.
- [7]. Boyde A., in Handbook of Microscopic Anatomy. Springer Verlag, Berlin, p. 309, 1989.
- [8]. Park S., Quinn J.B., Romberg E., Arola D. On the brittleness of Enamel and Selected Dental Materials. *Dental Materials*, 24, 1477-1485, 2008.
- [9]. Park S., Wang D. H., Zhang D., Romberg E., Arola D. Mechanical Properties of Human Enamel as a Function of age and Location in the Tooth. *J. Mater. Sci*. 2007.
- [10]. He B., Huang S., Zhang C., Jing X., Hao Y., Xiao L. Hydroxyapatite densities and elemental content in different layers of healthy human enamel with varying teeth age. *Archives of Oral Biology*. 2008.
- [11]. Xu H.H.K, Smith D.T., Jahanmir S., et al. Indentation damage and mechanical properties of human enamel and dentine. *J Dental Research*, 77, 472-480, 1998.
- [12]. Habelitz S., Marshall S.J., Marshall G.W, Balooch M. Mechanical properties of human dental enamel on the nanometer scale. *Archives Oral Biology*, 46, 173-183, 2001.
- [13]. White S.N., Luo W., Paine L.L., et al. Biological organization of hidroxiapatite crystallites into a fibrous continuum toughens and controls anisotropy in human enamel. *J Dental Research*, 80, 321-326, 2001.
- [14]. Balooch G., Marshall G.W., Marshall S.J., Warren O.L., Asif S.A.S., Balooch M. Evaluation of new modulus mapping technique to investigate microstructural features of human teeth. *J Biomech*, 37 (8), 1223-1232, 2004.
- [15]. ASM Metals Handbook. Mechanical testing and evaluation. ASM International. Vol 8. 2000. p 416.
- [16]. Standard test method for Vickers indentation hardness of advanced ceramics. ASTM C1327-08. ASTM, 2008.
- [17]. Quinn G.D., Bradt R.C. On the Vickers indentation fracture toughness test. *J American Ceramics Society*, 90 (3), 673-680, 2007.
- [18]. Niihara K., Morena R., Hasselman D. P. H. Evaluation of Kic of brittle solids by the indentation method with low crack-to-indent ratios. *Journal of Material Science Letters*, 1, 13-16, 1982.
- [19]. Quinn J.B., Quinn G.D. Indentation brittleness of ceramics: a fresh approach. *J Materials Science*, 32 (16), 4331-4336, 1997.