

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 02/03/2017.



**Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”**

Sâmia Sass Santos

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DO GLICEROFOSFATO DE CÁLCIO AO
CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-
MECÂNICAS E NA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE

ARAÇATUBA

2016

Sâmia Sass Santos

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DO GLICEROFOSFATO DE CÁLCIO AO
CIMENTO DE IONÔMERO DE VIDRO NAS PROPRIEDADES FÍSICO-
MECÂNICAS E NA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE

*Dissertação apresentada à Faculdade
de Odontologia da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Campus de Araçatuba, para
obtenção do título de Mestre em Ciência
Odontológica - Área de Concentração:
Saúde Bucal da Criança.*

Orientadora: Profa. Adjunto Denise Pedrini

Co-orientador: Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem

ARAÇATUBA

2016

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S237e Santos, Sâmia Sass.
Efeito da incorporação do glicerofosfato de cálcio ao cimento de ionômero de vidro nas propriedades físico-mecânicas e na desmineralização do esmalte / Sâmia Sass Santos. - Araçatuba, 2016
56 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientadora: Profa. Denise Pedrini
Orientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem

1. Cimentos de ionômeros de vidro 2. Desmineralização do dente 3. Polimerização 4. Força compressiva 5. Fosfatos
I. Título

Black D27
CDD 617.645

Dados Curriculares

Sâmia Sass Santos

Nascimento

19.11.1990 - Nova Granada - SP

Filiação

Luiz Amendola dos Santos

Elaine Aparecida Sass Amendola dos Santos

2009/2013

Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.

2014/2014

Curso de Atualização em Endodontia pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.

2014/2016

Curso de Pós-Graduação em Saúde Bucal da Criança, nível de Mestrado, pela Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP.

Associações

CROSP - Conselho Regional de Odontologia de São Paulo

APCD - Associação Paulista dos Cirurgiões Dentistas

Dedicatória

Dedico este trabalho aos grandes Amores da minha vida

Minha mãe Elaine,

O amor da minha vida! Sempre esteve me apoiando, me dando força, coragem, muito amor e carinho. Minha companheira de viagens para Piracicaba, vida noturna no laboratório. Obrigada por existir, por ser a mãe dos meus sonhos. Como você diz: Você é minha vida!

Amo ver seu sorriso. Sua voz que me acalmou todos esses anos.

Obrigada por estar presente na minha vida e nessa etapa de conquista. Te amo sempre!

Meu pai Luiz,

O meu herói! Obrigada por me apoiar e batalhar para a realização dos meus sonhos juntamente com a minha mãe. Pelas loucuras de uma sexta-feira à noite vindo me buscar para passarmos sempre os finais de semana juntos. Obrigada por acreditar em mim.

Te amo incondicionalmente!

Meu irmão José Antônio,

Melhor amigo, essa é com certeza a melhor definição. A melhor parte da minha vida, a parte calma, distraída, descontraída. Tenho um imenso orgulho de dizer que você é o irmão que sempre sonhei. Obrigada por tudo e pelo simples fato de ser você.

Simplesmente Te Amo!

“Saudades é a maneira de amar na ausência. É sentir o invisível.”

Mauro José Ramos

Agradecimentos Especiais

A Deus,

Sempre presente em minha vida.

À querida orientadora, Prof^a. Adj. Denise Pedrini,

Privilégio enorme ter sido sua orientada, obrigada pelo apoio, dedicação, por acreditar em mim. Obrigada por compartilhar seu conhecimento, por me ajudar a desenvolver os experimentos com toda sua calma, me passando segurança.

Tenho grande admiração pela Sra., tanto como pessoa e como orientadora. Sou muito grata por tudo o que fez por mim nessa etapa da minha, a Sra. foi essencial. Obrigada!

Ao co-orientador Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem

Obrigada por toda colaboração e dedicação para me ajudar a desenvolver meu trabalho. Agradeço pelos ensinamentos e pela convivência.

Tenho grande admiração e respeito por sua pessoa!

“Não importa o tamanho da porta. É preciso que existam portas. Não importa quantas...que sejam santas e estejam abertas é o que importa.”

Mauro José Ramos

Agradecimentos

As minhas queridas avós Darcy e Maria e meu avô Antônio, presentes de Deus, bem mais precioso. Obrigada pelas sábias palavras, pelos ensinamentos, por toda ajuda e paciência, por todas as orações, vocês são exemplos de vida. Eu amo muito vocês.

Ao meu namorado Marcelo, obrigada por estar sempre do meu lado, me apoiando, dando força para continuar. Obrigada por me passar segurança, por ter paciência nessa etapa importante da minha vida, pois vencemos juntos! Meu companheiro, tenho grande admiração por você, obrigada por tudo, te amo!

À minha sogra Rosane e meu sogro Francisco, grande conquista. Tenho enorme admiração e sou muito grata por tudo. Obrigada, amo vocês. Tenho muito que agradecer a vocês por todo o carinho, amizade, respeito e acolhimento, me receberam como uma filha e cuidaram de mim. Fizeram me sentir em casa. Obrigada.

À amiga Valéria, obrigada por me ajudar e me ensinar a desenvolver meu trabalho da melhor forma possível, tenho absoluta certeza que sem sua ajuda eu jamais chegaria até aqui, sua participação foi essencial. Obrigada pela companhia, pelas horas descontraídas, você se tornou uma grande amiga. Obrigada.

À amiga Giovana, presente que veio de Campo Grande, obrigada por compartilhar momentos especiais, por se tornar uma amiga e companheira para todas as horas. Obrigada.

Aos amigos Marcelle e José Antônio por toda ajuda que me deram no desenvolvimento deste trabalho, pelos ensinamentos, experiências e sabedoria compartilhadas. A participação de vocês foi essencial. Obrigada.

Aos meus queridos amigos e companheiros de Laboratório Renan, Gabriela, Lais, José Guilherme, Mayra e outros, por todos os momentos especiais, pelas músicas compartilhadas, por alegrarem meus dias de segunda-feira á domingo, com a presença de vocês tudo se tornava mais fácil. Obrigada!

Ao professor da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, Mário Alexandre Coelho Sinhoreti, por ceder a máquina Instron para realização dos ensaios mecânicos.

Ao professor da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Campus de Ilha Solteira, João Carlos Silos Moraes, por ceder o aparelho FTIR para realização do teste de grau de conversão de monômeros. Agradeço toda dedicação, receptividade, o convívio agradável e os ensinamentos.

Às professoras Marcelle Danelon e Adélisa Rodolfo Ferreira Tiveron, por aceitarem prontamente o convite para participar como membro titular da banca da minha defesa de dissertação.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba, nas pessoas dos professores Dr. Wilson Roberto Poi, digníssimo Diretor e Dr. João Eduardo Gomes Filho, digníssimo Vice-Diretor.

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Odontológica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, na pessoa do coordenador Prof. Dr. Luciano Tavares Angelo Cintra.

Aos funcionários do Departamento de Odontologia Infantil e Social da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Mario, Luiz e Ricardo, pela ajuda durante esse período.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Ana Cláudia, Luzia, Ivone, Cláudio, Maria Cláudia, Luiz, Denise e Izamar pela receptividade e atenção.

À Valéria, Cristiane e Lillian da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, pelo profissionalismo e atenção.

A todos aqueles que, de alguma forma contribuíram para a elaboração e conclusão deste trabalho,

Muito obrigada!

“Um amigo é uma parte de você, que Deus já fez separado, justamente para ir repondo aquilo que você vai perdendo.”

Mauro José Ramos

Epígrafe

“Há homens que lutam um dia e são bons.

Há outros que lutam um ano e são melhores.

Há os que lutam muitos anos e são muito bons.

Porém, há os que lutam toda a vida.

Esses são os imprescindíveis.”

(Bertolt Brecht)

Resumo

Santos SS. Efeito da incorporação do glicerofosfato de cálcio ao cimento de ionômero de vidro nas propriedades físico-mecânicas e na desmineralização do esmalte [dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2016.

O objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito da incorporação do glicerofosfato de cálcio (CaGP) ao cimento de ionômero de vidro (CIV) nas propriedades físico-mecânicas e na desmineralização do esmalte. Foram confeccionados corpos-de-prova (n=56) para cada grupo experimental: CIV sem CaGP (CIV), CIV com CaGP 1, 3 e 9%. Seis corpos-de-prova foram utilizados na determinação da liberação de fluoreto (F), cálcio (Ca) e fósforo (P) em soluções de desmineralização e remineralização durante 15 dias. As propriedades físico-mecânicas avaliadas 24 horas e 7 dias após a confecção foram: resistência à compressão (n=12), resistência à tração diametral (n=12), dureza de superfície do material (n=6) e grau de conversão de monômeros (n=8). Para o estudo da desmineralização do esmalte, corpos-de-prova (n=12) foram adaptados a blocos de esmalte selecionados pelo teste de dureza de superfície inicial (DS₁) e submetidos às ciclagens de pH. A seguir, foi analisada a dureza de superfície final (DS₂) e a concentração de F, Ca e P no esmalte. Os dados foram submetidos a análise de variância seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). A adição de CaGP levou a maior média de liberação de F, Ca e P pelos materiais quando comparado ao CIV ($p < 0,001$). As propriedades mecânicas (tração, compressão e dureza) com a adição de 1% e 3% CaGP apresentaram dentro da variação dos cimentos ionoméricos. O grau de conversão não diferiu entre os grupos nos tempos de 24 horas e 7 dias ($p > 0,439$). A adição de 3% e 9% CaGP reduziu a perda mineral e aumentou o F, Ca e P no esmalte

quando comparado ao CIV ($p < 0,05$). Pode-se concluir que a incorporação de 3% CaGP ao CIV aumenta a liberação de F, P e Ca, promove redução na desmineralização do esmalte mantendo as propriedades físico-mecânicas dentro dos parâmetros para este material.

Palavras-chave: Cimentos de ionômeros de vidro, Desmineralização do dente, Polimerização, Força compressiva, Fosfatos.

Abstract

Santos SS. The effect of calcium glycerophosphate added to the glass ionomer cement on the physico-mechanical properties and enamel demineralization [dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2016.

The aim of this study was to evaluate the effect of addition of calcium glycerophosphate (CaGP) to the glass ionomer cement (GIC) on the physico-mechanical properties and demineralization of the enamel. Specimens (n=56) were fabricated from each experimental group: GIC without CaGP (GIC), GIC with 1, 3 and 9% CaGP. To determine the release of fluoride (F), calcium (Ca) and phosphorus (P) were used six specimens immersed into a demineralization and remineralization solutions during 15 days. The physico-mechanical properties evaluated 24 hours and 7 days after fabrication were: compressive strength (n=12), diametral tensile strength (n=12), surface hardness of material (n=6) and the degree of conversion of monomers (n=8). For the study of enamel demineralization, specimens (n=12) were attached to enamel blocks selected by the initial surface hardness test (SH₁) and submitted to the pH-cycling. Following, final surface hardness (SH₂) and the concentration of F, Ca and P in enamel were determined. Data were subjected to analysis of variance followed by Student-Newman-Keuls test (p<0.05). The addition of CaGP led to higher mean release of F, Ca and P by materials compared to the GIC (p<0.001). The mechanical properties (diametral tensile, compressive strength and hardness) were within the range of the ionomeric cements after addition of 1% and 3% CaGP. The degree of conversion was not different between groups at 24 hours and 7 days (p>0.439). The addition of 3% and 9% CaGP reduced mineral loss and increased F, Ca and P in the enamel when compared to the GIC

($p < 0.05$). It can be concluded that the incorporation of 3% CaGP in the GIC increases the release of F, P and Ca, promotes reduction in enamel demineralization maintaining the physico-mechanical properties within the parameters for this material.

Keywords: Glass ionomer cements, Tooth demineralization, Polymerization, Compressive strength, Phosphates.

Lista de Abreviaturas

Abs	Absorbância
ACP-CPP	Fosfato de cálcio amorfo estabilizado por caseino-fosfopeptídeos
APCD	Associação Paulista dos Cirurgiões Dentistas
Ca	Cálcio
Ca ⁺²	Íon cálcio
CaHPO ₄ ⁰	Íon neutro de mono-hidrogeno-fosfato de cálcio
CaGP	Glicerofosfato de cálcio
CAPES	Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior
C = C	Dupla ligação de carbono
CIV	Cimento de ionômero de vidro
Co	Company
COO ⁻	Grupamento carboxílico
CROSP	Conselho Regional de Odontologia de São Paulo
c-d-p	Corpo-de-prova
cm ⁻¹	Por centímetro
d	Diâmetro
DES	Desmineralização
DP	Desvio padrão
%DS	Porcentagem de perda da dureza de superfície
DS ₁	Dureza de superfície inicial
DS ₂	Dureza de superfície final
et al.	E colaboradores
F	Fluoreto

Fr	Força
FTIR	Espectroscopia no infravermelho transformada de Fourier
g	Gramas
GC	Grau de conversão
GIC	Glass ionomer cement
h	Hora
H ⁺	Íon de hidrogênio
HCl	Ácido clorídrico
HF ⁰	Fluoreto de hidrogênio neutro
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
IL	Illinois
Inc.	Incorporation
KBr	Brometo de potássio
KCl	Cloreto de potássio
KHN	Dureza Knoop
kN	Quilo newton
LC	Light-Cured
LTDA	Limitada
MA	Massachusetts
MO	Missouri
MPa	Megapascal
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mL/mm ²	Mililitro por milímetro quadrado
mm	Milímetro

mm/min	Milímetro por minuto
mmol/ L	Milimol por litro
mol /L	Mol por litro
n	Número de amostras
nm	Nanometro
N	Newton
NaOH	Hidróxido de sódio
P	Fósforo
p	Nível de significância
pH	Potencial hidrogeniônico
ppm	Parte por milhão
RE	Remineralização
RJ	Rio de Janeiro
rpm	Rotações por minuto
RTD	Resistência à tração diametral
s	Segundo
S.A.	Sociedade anônima
SH ₁	Dureza de superfície inicial
SH ₂	Dureza de superfície final
SP	São Paulo
St	Saint
t	Altura
TISAB	Tampão ajustador de força iônica total
UNESP	Universidade Estadual Paulista
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas
VT	Vermont

WI	Wisconsin
°C	Grau Celsius
μL	Microlitro
μm	Micrometro
μg/cm ²	Micrograma por centímetro quadrado
μg Ca/cm ²	Micrograma de cálcio por centímetro quadrado
μg F/cm ²	Micrograma de fluoreto por centímetro quadrado
μg P/cm ²	Micrograma de fósforo por centímetro quadrado
μg Ca/mL	Micrograma de cálcio por mililitro
μg F/mL	Micrograma de fluoreto por mililitro
μg P/mL	Micrograma de fósforo por mililitro
μg/mm ³	Micrograma por milímetro cúbico
π	Pi = 3,1416
%	Porcentagem
>	Maior
<	Menor
X	Vezes
+	Mais
-	Menos
±	Mais ou menos
=	Igual
*	Asterisco
/	Dividido por
α	Alfa
β	Beta

Lista de Figuras

- Figura 1 Figura 1: Valores médios de F (A), Ca (B), P (C) e P proveniente do CaGP (D) liberados nas soluções DES e RE em função do tempo (15 dias). Barras verticais mostram o desvio padrão da média. *Valores médios (DP) de F, Ca e P totais liberados nas soluções DES e RE durante 15 dias. Letras distintas mostram diferença estatística entre os grupos (Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$).

Lista de Tabelas

Tabela 1	Valores médios (DP) da resistência à compressão, tração diametral, dureza de superfície e grau de conversão de acordo com os grupos	37
Tabela 2	Valores médios (DP) obtidos das análises nos blocos de esmalte (n=12) após a ciclagem de pH de acordo com os grupos	37

SUMÁRIO

RESUMO	21
INTRODUÇÃO	22
MATERIAL E MÉTODO	23
RESULTADOS	31
DISCUSSÃO	33
CONCLUSÃO	36
AGRADECIMENTO	36
REFERÊNCIAS	38
ANEXOS	44

Efeito da incorporação do glicerofosfato de cálcio ao cimento de ionômero de vidro nas propriedades físico-mecânicas e na desmineralização do esmalte*

Resumo

O objetivo foi avaliar o efeito da incorporação do glicerofosfato de cálcio (CaGP) ao cimento de ionômero de vidro (CIV) nas propriedades físico-mecânicas e na desmineralização do esmalte. Corpos-de-prova foram confeccionados para cada grupo experimental: CIV sem CaGP (CIV), CIV com CaGP 1, 3 e 9%. Foram determinadas as liberações de fluoreto (F), cálcio (Ca) e fósforo (P) e as propriedades físico-mecânicas (compressão, tração diametral, dureza de superfície e grau de conversão de monômeros) dos materiais nos tempos de 24 horas e 7 dias. A ciclagem de pH foi realizada para avaliar a perda mineral (dureza de superfície) e a concentração de F, Ca e P no esmalte. Os dados foram submetidos a análise de variância seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p < 0,05$). A adição de CaGP levou a maior média de liberação de F, Ca e P pelos materiais quando comparado ao CIV ($p < 0,001$). As propriedades mecânicas (tração, compressão e dureza) apresentaram dentro da variação do ionômero com 1% e 3% CaGP. O grau de conversão não diferiu entre os grupos nos tempos de 24 horas e 7 dias ($p > 0,439$). A adição de 3% e 9% CaGP reduziu a perda mineral e aumentou o F, Ca e P no esmalte quando comparado ao CIV ($p < 0,05$). Pode-se concluir que a incorporação de 3% CaGP ao CIV aumenta a liberação de F, P e Ca, promove redução na desmineralização do esmalte mantendo as propriedades físico-mecânicas dentro dos parâmetros para este material.

Descritores: Cimentos de ionômeros de vidro, Desmineralização do dente, Polimerização, Força compressiva, Fosfatos.

*De acordo com as instruções aos autores do periódico *Brazilian Oral Research* (<http://www.scielo.br/revistas/bor/pinstruc.htm>).

INTRODUÇÃO

Na odontologia os materiais restauradores com efeito anticariogênico apresentam e liberam íon fluoreto (F) ou fosfato de cálcio para o meio bucal.²¹ Dentre estes, os cimentos de ionômero de vidro (CIVs) possuem grande liberação de F sendo o material de eleição em pacientes com alta atividade de cárie, porém, apresenta resistência a fratura e estética reduzidas.^{11,18} Como o processo de desmineralização e remineralização é dependente da presença de cálcio (Ca) e fosfato no meio,⁷ a adição de compostos contendo fosfato de cálcio amorfo estabilizado por caseino-fosfopeptídeos (ACP-CPP) aos CIVs melhoram o potencial anticariogênico do material.^{2,15} Estes resultados foram associados à liberação de íons F, Ca e P pelo CIV. No entanto, a incorporação de ACP-CPP nos CIVs diminui a resistência à tração diametral e à compressão do material.²

Outro fosfato de cálcio com ação anticariogênica é o glicerofosfato de cálcio (CaGP). O CaGP é um fosfato orgânico que apresenta afinidade pelo esmalte dentário e fornece íons Ca e P,²⁹ aumentando os níveis destes íons na placa^{13,14} e um efeito tampão de pH.¹³ Estudos tem adicionado o CaGP (50% α e 50% β isômero) em dentifrícios com concentração reduzida de fluoreto verificando uma melhora no efeito anticárie dos produtos.^{3,30,31} Este efeito esteve ligado à sua capacidade de adsorção ao esmalte e ao aumento da atividade iônica de espécies neutras como o CaHPO_4^0 e HF^0 no biofilme dentário.^{3,7} As espécies neutras apresentam coeficiente de difusão no interior do esmalte maior que as espécies carregadas.⁷ Baseado nos estudos acima, a adição do CaGP aos CIVs seria outra alternativa para aumentar sua capacidade anticariogênica.

A adição de novos compostos aos CIVs pode trazer melhoria nas propriedades deste material bem como um maior entendimento dos processos de desmineralização e remineralização na presença de fosfato de cálcio e fluoreto. Nesse sentido, considerou-se importante verificar se a incorporação de CaGP em concentrações de 1%, 3% e 9% a

um cimento de ionômero de vidro, influenciaria as propriedades físico-mecânicas e a desmineralização do esmalte. A hipótese nula do estudo foi que a adição de CaGP ao cimento de ionômero de vidro não altera a liberação de fluoreto, suas propriedades físico-mecânicas e o efeito na desmineralização do esmalte.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a incorporação de 3% CaGP ao CIV aumenta a liberação de F e Ca e promove redução na desmineralização do esmalte mantendo as propriedades físico-mecânicas dentro dos parâmetros para este material.

AGRADECIMENTO

Os autores agradecem o apoio financeiro da bolsa fornecida pela CAPES (Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior).

REFERÊNCIAS

1. Alves KM, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FA, Buzalaf MA et al. In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res.* 2007;41(4):263-7.
2. Al Zraikat H, Palamara JE, Messer HH, Burrow MF, Reynolds EC. The incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass ionomer cement. *Dent Mater.* 2011;27(3):235-43.
3. Amaral JG, Sasaki KT, Martinhom CC, Delbem AC. Effect of low-fluoride dentifrices supplemented with calcium glycerophosphate on enamel demineralization in situ. *Am J Dent.* 2013;26(2):75-80.
4. Anderson W, Dingwall D, Stephen KW. Dissolution of two commercial preparations of calcium glycerophosphate in human saliva. *Arch Oral Biol.* 1977;22:159-62.
5. Argenta RM, Tabchoury CP, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesqui Odontol Bras.* 2003;17(3):241-6.
6. Cefaly DF, Mello LL, Wang L, Lauris JR, D'Alpino PH. Effect of light curing unit on resin-modified glass-ionomer cements: a microhardness assessment. *J Appl Oral Sci.* 2009;17(3):150-4.
7. Cochrane NJ, Saranathan S, Cai F, Cross KJ, Reynolds EC. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. *Caries Res.* 2008;42:88-97.
8. De Gee AJ. Physical properties of glass-ionomer cements: setting shrinkage and wear. In: Davidson CL, Mjor IA (eds). *Advances in glass-ionomer cements.* Illinois: Quintessence; 1999. p. 51-65.

9. Ferreira L, Pedrini D, Okamoto AC, Jardim Júnior EG, Henriques TA, Cannon M et al. Biochemical and microbiological characteristics of in situ biofilm formed on materials containing fluoride or amorphous calcium phosphate. *Am J Dent.* 2013;26(4):207-13.
10. Fiske CH, Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem.* 1925;66(2):375-400.
11. Glasspoole EA, Erickson RL, Davidson CL. A fluoride-releasing composite for dental applications. *Dent Mater.* 2001;17:127-33.
12. Kerby RE, Knobloch L, Thakur A. Strength properties of visible-light-cured resin-modified glass-ionomer cements. *Oper Dent.* 1997;22(2):79-83.
13. Lynch RJ. Calcium glycerophosphate and caries: a review of the literature. *Int Dent J.* 2004;54:310-4.
14. Lynch RJ, Ten Cate JM. Effect of calcium glycerophosphate on demineralization in an in vitro biofilm model. *Caries Res.* 2006;40:142-7.
15. Mazzaoui AS, Burrow MF, Tyas MJ, Daspher SG, Eakins D, Reynolds EC. Incorporation of casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate into a glass-ionomer cement. *J Dent Res.* 2003;82(11):914-8.
16. Mobarak E, Elsayad I, Ibrahim M, El-Badrawy W. Effect of LED light-curing on the relative hardness of tooth-colored restorative materials. *Oper Dent.* 2009;34(1):65-71.
17. Musa A, Pearson GJ, Gelbier M. In vitro investigation of fluoride ion release from four resin-modified glass polyalkenoate cements. *Biomaterials.* 1996;17(10):1019-23.
18. Preston AJ, Mair LH, Agalamanyi EA, Higham SM. Fluoride release from aesthetic dental materials. *J Oral Rehabil.* 1999;26:123-9.

19. Rodrigues E, Delbem AC, Pedrini D, Oliveira MS. pH-cycling model to verify the efficacy of fluoride-releasing materials in enamel demineralization. *Oper Dent*. 2008;33(6):658-65.
20. Silva KG, Pedrini D, Delbem AC, Cannon M. Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials. *Oper Dent*. 2007;32(4):328-35.
21. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Ferreira L, Cannon M. In situ evaluation of the remineralizing capacity of pit and fissure sealants containing amorphous calcium phosphate and/or fluoride. *Acta Odontol Scand*. 2010;68: 11-8.
22. Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem AC. In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res*. 2009;43(1):50-6.
23. Valarelli EP. Effect of time on the diametral tensile strength of resin-modified restorative glass-ionomer cements. *J Dent Res*. 1997;76(Special Issue) Abstract #3274. p.423.
24. Vieira AE, Delbem AC, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Res*. 2005;39(6):514-20.
25. Vogel GL, Chow LC, Brown WE. A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. *Caries Res*. 1983;17:23-31.
26. Xie D, Chung ID, Wu W, Mays J. Synthesis and evaluation of HEMA-free glass-ionomer cements for dental applications. *Dental Mater*. 2004;20(5):470-8.
27. Xie D, Zhao J, Park JG. A novel light-cured glass-ionomer system for improved dental restoratives. *J Mater Sci Mater Med*. 2007;18(10):1907-16.

28. Wang L, D'Alpino PH, Lopes LG, Pereira JC. Mechanical properties of dental restorative materials: relative contribution of laboratory tests. *J Appl Oral Sci.* 2003;11(3):162-7.
29. Whitford GM, Wasdin JL, Schafer TE, Adair SM. Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. *Caries Res.* 2002;36:256-65.
30. Zaze AC, Dias AP, Amaral JG, Miyasaki ML, Sasaki KT, Delbem AC. In situ evaluation of low-fluoride toothpastes associated to calcium glycerophosphate on enamel remineralization. *J Dent.* 2014;42(12):621-5.
31. Zaze AC, Dias AP, Sasaki KT, Delbem AC. The effects of low-fluoride toothpaste supplemented with calcium glycerophosphate on enamel demineralization. *Clin Oral Invest.* 2014;18(6):1619-24.