



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

VINICIUS RODRIGUES DOS SANTOS

**ESTUDO *IN VITRO* DE DENTIFRÍCIOS
FLUORETADOS E SUPLEMENTADOS COM
TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO NANOPARTICULADO
SOBRE A EROÇÃO DENTÁRIA**

Araçatuba- 2015



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

VINICIUS RODRIGUES DOS SANTOS

**ESTUDO *IN VITRO* DE DENTIFRÍCIOS
FLUORETADOS E SUPLEMENTADOS COM
TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO NANOPARTICULADO
SOBRE A EROÇÃO DENTÁRIA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Faculdade de Odontologia
de Araçatuba da Universidade Estadual
Paulista "Júlio Mesquita Filho" – UNESP,
como parte dos requisitos para a obtenção
do título de Bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Titular Alberto Carlos
Botazzo Delbem

Araçatuba- 2015

DEDICATÓRIA

A José Guilherme dos Santos e Claudete Aparecida Rodrigues dos Santos, meus pais, que guiaram meus passos até aqui com todo amor, admiração, carinho, gratidão e apoio durante toda a minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de toda minha vida, minha eterna gratidão por tudo que fez e ainda fará por mim.

A Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho” – UNESP, incluindo todos os docentes e funcionários pelo conhecimento, acolhimento e dedicação oferecidos a mim durante esses anos como graduando.

Ao Prof. Titular Carlos Alberto Botazzo Delbem, pela atenção e imenso apoio durante o processo de definição e orientação deste trabalho.

A Prof. Dra. Marcelle Danelon pela ajuda e apoio na realização deste trabalho. Obrigado por tudo.

A minha namorada Kamila Miranda Prado por todo amor, carinho, compreensão, paciência e atenção em todos os momentos da minha vida.

Aos meus amigos Hiram, Vitor, Sinval, Gino, Hideki, Luis Otávio, Paulo e Renato pela amizade que adquirimos durante esse tempo como universitários. Com certeza nos tornamos muito mais do que amigos e sim irmãos, obrigado por tudo meus parceiros.

Ao Frigorífico JBS por permitir a coleta dos dentes bovinos para realização deste projeto.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (2013/05298-8) pela concessão de recursos para a realização deste trabalho.

A todos meus familiares que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação.

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos”

Eleanor Roosevelt

SANTOS, VR. **Estudo *in vitro* de dentifrícios fluoretados e suplementados com trimetafosfato de sódio nanoparticulado sobre a erosão dentária.** 2015. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2015.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação de dentifrícios fluoretados e suplementados com trimetafosfato de sódio nanoparticulado, na erosão dentária *in vitro*. Blocos de esmalte bovino (4 mm x 4 mm, n = 60) foram selecionados através da dureza de superfície inicial (SHi) e a seguir divididos em 5 grupos, de acordo com os dentifrícios experimentais (n = 12): Sem F/TMP/TMPnano (Placebo); 1100 ppm de F (1100 ppm F); 1100 ppm F + 3% de TMP micrométrico (1100 TMP); 1100 ppm de F + 3% de TMP nanoparticulado (1100 TMPnano) e 5000 ppm F (5000 ppm F). O desafio erosivo foi produzido pelo ácido cítrico, por 5min (4x/dia), durante 5 dias. Após os desafios, foram determinadas a dureza de superfície pós-erosão (SHf), desgaste do esmalte (μm) e dureza em secção longitudinal (ΔKHN). Os dados foram submetidos à análise de variância (1 critério) seguido pelo teste Student-Newman-Keuls ($p < 0,001$). Os valores de SHf foram significativamente maiores nos grupos tratados com os dentifrícios suplementados com TMP, TMPnano e 5000 ppm F, quando comparado ao Placebo e 1100 ppm F ($p < 0,001$); não foi observada diferença significativa entre 1100 TMPnano e 5000 ppm F ($p = 0,202$) para as três análises (SHf; desgaste e ΔKHN). Os dentifrícios 1100 TMPnano e 5000 ppm F tiveram um efeito protetor maior quando comparado com o controle positivo (1100 ppm F) para as variáveis desgaste, SHf e ΔKHN ($p < 0,001$). Mediante os resultados, conclui-se que a adição de 3% TMPnano em dentifrícios convencionais (1100 ppm F) promoveu um efeito protetor sinérgico contra o desgaste erosivo do esmalte quando comparado com os seus homólogos, atingindo níveis de proteção semelhantes aos observados para o dentifrício 5000 ppm F.

Palavras-chave: Esmalte dentário, Flúor, Fosfato, Erosão dentária, Dentifrícios.

SANTOS, VR. ***In vitro* study of conventional toothpastes supplemented with sodium trimetaphosphate nano-sized on dental erosion.** 2015. 39 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2015.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of conventional toothpaste and supplemented with nano-sized sodium trimetaphosphate in dental erosion *in vitro*. Bovine enamel blocks (4 mm x 4 mm, n = 60) were selected from the initial surface hardness (SHi) and then divided into 5 groups of experimental dentifrices (n = 12): No F/TMP/TMPnano (Placebo); 1100 ppm F (1100 ppm F); 1100 ppm F associated with 3% TMP micrometric (1100 TMP); 1100 ppm F associated with 3% TMP nano-sized (1100 TMPnano) and 5000 ppm F (5000 ppm F). The erosive challenge was produced by the citric acid, for 5 minutes (4x / day) for 5 days. After the challenges, were determined the final surface hardness (SHF), enamel wear (uM) and toughness in longitudinal section (Δ KHN). Data were subjected to analysis of variance (one option) followed by Student-Newman-Keuls test ($p < 0.001$). SHF values were significantly higher in the groups treated with the toothpaste supplemented with TMP, TMPnano and 5000 ppm F, when compared to placebo and 1100 ppm F ($p < 0.001$); there was no significant difference between 1100 and 5000 ppm TMPnano F ($p = 0.202$) for the three analyzes (SHF; wear and Δ KHN). The toothpastes 1100 TMPnano and 5000 ppm F had a greater protective effect when compared to the conventional toothpastes (1100 ppm F) for wear, SHf and Δ KHN variables ($p < 0.001$). From the results, it is concluded that the addition of 3% TMP nano-sized in conventional toothpaste (1100 ppm F) promoted a synergistic protective effect against erosive wear of the enamel when compared to their counterparts, reaching protection levels similar to those observed for toothpaste 5000 ppm F.

Keywords: Dental enamel, Fluoride, Phosphate, Dental erosion, Toothpastes

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Gráfico dos padrões de raios-x para o TMP micrométrico e TMP manométrico 26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores de fluoreto iônico e fluoreto total nos grupos 27

Tabela 2: Valores de pH nos grupos 28

Tabela 3: Valores médios de dureza de superfície final (SHf), desgaste (μm) e dureza em secção longitudinal (ΔKHN), entre os grupos

29

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP= Fosfato de cálcio amorfo
°C= Graus Celsius
 Ca^{2+} = Íon cálcio
 CaF^+ = Íon Fluoreto de cálcio
 CaF_2 = Fluoreto de cálcio
 CaHPO_4° = Hidrogênio fosfato de cálcio neutro
dp= Desvio padrão
DRX= Difração de raio-x
F= Fluoreto
FI = Fluoreto iônico
FT= Fluoreto total
g= Gramas
 HF^0 = Fluoreto de hidrogênio neutro
 kgf/mm^2 = Quilograma-força por milímetro quadrado
KHN= Unidade de dureza Knoop
 ΔKHN = Perda integrada de dureza de subsuperfície
mL= Mililitro
mm= Milímetro
 μm = Micrômetro
n= Número de amostra
NaF= Fluoreto de sódio
Nano = Nanoparticulado
nm= Nanômetros
pH= Potencial de Hidrogênio
 PO_4^- = Íon fosfato
s= Segundo
SH= Saliva humana
SHi= Dureza de superfície inicial
SHf= Dureza de superfície final
TMP= Trimetafosfato de sódio
TMPnano= Trimetafosfato de sódio nanoparticulado
 μm = Micrômetro

SUMÁRIO

1. Introdução	13
2. Objetivo da pesquisa	14
3. Materiais e métodos	14
3.1. Delineamento experimental	14
3.2. Moagem e caracterização do trimetafosfato de sódio	15
3.3. Formulação, determinação do pH e concentração de F nos dentifrícios experimentais	16
3.4. Coleta de saliva	16
3.5. Obtenção e preparo dos blocos de esmalte	17
3.6. Tratamento e desafio erosivo	18
3.7. Determinação da dureza do esmalte	19
3.8. Determinação do desgaste superficial	19
3.9. Determinação da dureza em secção longitudinal	20
3.10. Análise estatística	20
4. Resultados	21
5. Discussão	22
6. Conclusão	23
Referências	24
Anexos	30

1. INTRODUÇÃO

A erosão dentária tornou-se um problema presente nas sociedades modernas devido ao consumo excessivo de alimentos e bebidas ácidas, que por apresentarem um pH ácido, têm um elevado potencial para provocar a desmineralização dentária (Souza et al., 2010). Segundo Buratto et al. (2002) e Lussi et al. (2004), a erosão é manifestada pela dissolução química (desmineralização) parcial dos tecidos dentais mineralizados sem o envolvimento bacteriano e mais susceptível à ação de distúrbios mecânicos (Jaeggi e Lussi, 1999; Attin et al., 2000 e 2001). Esta dissolução química é um processo irreversível quando em estágio avançado, por isso deve ter seus fatores etiológicos identificados e controlados o quanto antes e, quando preciso, associá-lo ao uso de medidas preventivas visando minimizar a perda mineral (Hove et al., 2007).

A fim de minimizar o efeito desse processo, além do fluoreto (F), vários estudos têm sido realizados, tentando melhorar o efeito tópico de produto fluoretado contra a erosão, entre os quais o uso de fosfatos inorgânicos mostrou produzir efeitos protetores adicionais (Takeshita et al., 2009; Takeshita et al., 2011; Moretto et al., 2010; Manarelli et al., 2011; Danelon et al., 2013a; Danelon et al., 2013b; Manarelli et al., 2014; Pancote et al., 2014). A adição de sais de fosfato, principalmente o trimetafosfato de sódio (TMP) para dentifrícios fluoretados foram estudados nos últimos anos mostrando ser eficaz contra a desmineralização e erosão dentária (Takeshita et al., 2009; Moretto et al., 2010). Quando adicionado em dentifrícios com reduzida concentração de F ou enxaguatórios bucais fluoretados mostram um efeito positivo minimizando o processo erosivo (Moretto et al., 2010; Manarelli et al., 2011) cujo mecanismo da ação está relacionado a sua adsorção ao esmalte reduzindo a penetração do ácido no interior do esmalte (McGaughey e Stowell, 1977; van Dijk et al., 1980; Takeshita et al., 2011; Souza et al., 2013).

Com o objetivo de otimizar o efeito de dentifrícios fluoretados sobre o processo de desmineralização e remineralização dentária, estudos tem analisados o impacto de fosfatos nanoparticulados no processo de remineralização do esmalte

(Karlinsey e Zero, 2006; Danelon et al., 2015). A adição de nanopartículas de fosfato tri-cálcio em dentifrícios fluoretados reduziram o processo de desmineralização em esmalte em comparação a um dentifrício convencional (Karlinsey et al., 2007), porém os benefícios mencionados acima não foram avaliados contra o desgaste erosivo. Segundo Xu et al. (2010) compósitos contendo nanopartículas possuem certas vantagens em impedir a erosão dentária, por apresentarem melhores propriedades físicas e mecânicas quando comparadas a compósitos tradicionais. Ainda, nanocompósitos de ACP, CaF_2 e clorexidina, tem mostrado ação na atividade metabólica do biofilme e consequentemente redução da produção ácida (Cheng et al., 2012).

Estudo utilizando modelo de cárie em esmalte *in vitro* e *in situ* (Danelon et al., 2013b; Danelon et al., 2015), observaram que uma formulação dentifrícia contendo 1100 ppm F associado à 3% de TMP nanoparticulado apresentou melhores resultados em inibir a desmineralização e promover a remineralização do esmalte dentário quando comparado às formulações contendo 1100 ppm F e 1100 ppm F associado a 3% de TMP micrométrico. Como o processo de perda mineral da cárie dentária ocorre de modo diferente que o da erosão dentária, é estratégico verificar se nanopartículas de TMP associada ao fluoreto apresentaria efeito protetor. A utilização de um produto com maior potencial em reduzir a erosão dentária teria um importante impacto na odontologia.

2. OBJETIVO DA PESQUISA

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação de dentifrícios fluoretados e suplementados com trimetafosfato de sódio nanoparticulado, na erosão dentária *in vitro* utilizando esmalte bovino.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Delineamento experimental

Blocos de esmalte bovinos foram previamente polidos e selecionados através da análise de dureza de superfície inicial (SHi: valores entre 320,0 a 380,0 kgf/mm^2). Os

blocos foram divididos em 5 grupos ($n = 12$) de acordo com os dentifrícios experimentais: 1) Sem F/TMP/TMPnano (Placebo), 2) 1100 ppm F (1100 ppm F), 3) 1100 ppm F + 3% de TMP micrométrico (1100 TMP), 4) 1100 ppm F + 3% de TMP nanoparticulado (1100 TMPnano) e 5) 5000 ppm F (5000 ppm F). Uma das metades dos blocos foi isolada com esmalte cosmético, sendo desta forma apenas metade de sua superfície exposta ao desafio ácido e ao tratamento. O desafio erosivo foi produzido pelo ácido cítrico 4x/dia (5 minutos cada, 3 mL/bloco), permanecendo em saliva humana nos demais períodos. Após 5 dias, foram determinadas a dureza de superfície pós-erosão (SHf), desgaste (μm) sofrido pelo esmalte após os desafios, através da perfilometria e dureza em secção longitudinal (ΔKHN). Foi considerado como fator de variação o tipo de dentifrício e como variáveis de análise SHf, desgaste do esmalte e ΔKHN .

3.2 Moagem e caracterização do trimetafosfato de sódio

A moagem do trimetafosfato de sódio (TMP) foi realizada no Instituto de Química da Universidade Federal de São Carlos (UFSCar). O TMP foi primeiramente pesado na quantidade necessária para o estudo, e a seguir, armazenado em frascos de polietileno. Bolas de zircônia foram adicionadas ao pó em associação com isopropanol até recobrir as bolas. Os frascos foram vedados com veda rosca, na rosca da tampa do frasco de polietileno.

Em seguidas os frascos foram levados ao moinho de bolas sendo submetidos à moagem por 48 horas. Após o processo de moagem, o mesmo foi submetido à filtração em peneiras granulométricas para a sua separação das bolas de zircônia. O frasco de polietileno contendo o TMP foi lavado com isopropanol e o material filtrado foi vedado com papel alumínio e submetido à secagem em estufa a temperatura de 85°C para evaporação do solvente (Isopropanol). Após a secagem do TMP, o mesmo foi triturado até atingir partículas com diâmetro médio de 22,7 nm, em almofariz de ágata, pesado e armazenado em frasco de polietileno.

A difração de raios-X (DRX) foi utilizada para a identificação da estrutura cristalina e para estimativa do tamanho médio de TMP micrométrico e TMP moído por 48 horas (Danelon et al., 2015).

3.3 Formulação, determinação do pH e concentração de F nos dentifrícios experimentais (ANEXO A)

Os dentifrícios foram preparados com os seguintes componentes: dióxido de titânio, carboximetil celulose, metil-p-hidroxibenzoato de sódio, sacarina, óleo de menta, glicerina, sílica abrasiva, lauril sulfato de sódio e água deionizada. TMP (Aldrich Química, CAS 7785-84-4, China) foi adicionado a uma concentração de 3%, para as duas partículas micrométricas e nanométricas. Para estes dentifrícios, NaF (Merck, CAS 7681-49-4, Alemanha) foi adicionado para atingir uma concentração de 1100 ppm de F. Dentifrício sem TMP, TMPnano e F (Placebo), bem como com 1100 ppm F e 5000 ppm de F (sem TMP) também foram preparados. As concentrações de FI e FT (Delbem et al., 2009), e o pH dos dentifrícios (Moretto et al., 2010) foram verificados antes do início do experimento.

3.4 Coleta da saliva

Após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisas Humana (Protocolo: 15018213.8.0000.5420) (ANEXO B), foi coletada saliva humana (SH) de 6 voluntários saudáveis, 1 hora após o café da manhã, os quais apresentaram boa saúde bucal (Wetton et al., 2007), ou seja, sem lesões de cárie, disfunção salivar ou fazendo uso de qualquer medicamento. A saliva foi estimulada com auxílio de parafina, sendo expectorada em frascos contidos em gelo (Nekrashevych et al., 2003).

A saliva foi centrifugada (Marca Hanil, modelo-514R, Cotia-SP, Brasil) por 10 minutos à 4°C, e rotação de 2000g e a seguir filtrada. O sobrenadante foi coletado para a formação da película adquirida, segundo Hanning et al. (1998), onde os blocos de esmalte formam imersos a 37°C por 24 horas (3mL por amostra) (Nekrashevych et al., 2003). O restante do sobrenadante foi dividido em alíquotas de 13 mL, sendo armazenadas a -80°C (Schipper et al., 2007).

3.5 Obtenção e preparo dos blocos de esmalte (ANEXO C)

Para realização deste estudo foram utilizados incisivos bovinos que após a extração permaneceram armazenados em recipientes, contendo solução tamponada de formol a 2%, em pH 7,0 sob temperatura ambiente por 30 dias. Os dentes passaram por uma seleção prévia, eliminando aqueles que apresentassem trincas ou manchas hipoplásicas.

Após a remoção de todo resíduo de tecido gengival aderido à superfície dos dentes, estes foram preparados para secção. Para isso os dentes foram fixados com cera pegajosa (Kota Ind. e Com. Ltda, São Paulo – Brasil) em uma placa de acrílico, parafusada em um aparelho de corte e precisão ISOMET Low Speed Saw (Buehler Ltda., Lake Bluff, IL, USA). Os cortes foram realizados com auxílio de dois discos diamantados dupla face – XL 12205 (Extec Corporation, Enfield, CT, USA) e um espaçador de aço inoxidável entre os discos, refrigerado com água deionizada. Foi obtido de cada porção mais plana da coroa um bloco de dente (4 mm x 4 mm), por meio da secção dupla no sentido cervico-incisal e outro no sentido mesio-distal.

A seguir, realizou-se a planificação da dentina dos blocos e, para isto, foram fixados em discos acrílicos com cera pegajosa (Kota Ind. e Com. Ltda, São Paulo – Brasil), com a face de esmalte voltada para o disco, com intuito de primeiramente planificar a dentina. O conjunto disco/dente foi adaptado em uma politriz metalográfica (APL 4, Arotec, Cotia, São Paulo – Brasil) com refrigeração de água em baixa velocidade e foi desgastado utilizando lixa metalográfica de granulação 320 (Buehler, Ltda., Lake Bluff, IL, USA) até a espessura aproximada de 3 mm.

Após a inversão da posição do bloco de esmalte no disco de acrílico e fixação com cera pegajosa, o esmalte foi planificado e polido utilizando sequencialmente as lixas de granulação 600, 800 e 1200 (Carbimet Paper Discs, Buehler Ltda.). Para finalização do preparo o esmalte foi polido com disco de feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618) umedecido com solução de diamante de 1 µm (extec corp. 16587). Para impedir que os grãos das lixas interfiram na qualidade do polimento das seguintes, entre cada etapa de polimento, o conjunto dente/disco foi levado a um aparelho de ultra-som (Branson 2210, Branson Ultrasonic Corporation, Danbury, CT,

USA), com água destilada/deionizada e, por último, com uma solução detergente (Ultramet Sonic Cleaning Solution, Buehler) diluída em água destilada/deionizada (20:1) durante 2 minutos.

Os blocos foram selecionados através da dureza de superfície inicial (SHi) com o auxílio do microdurômetro (Micromet 5114 dureza Buehler, Lake Bluff, EUA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japão) e um software (Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, EUA) para análise de imagens; também utilizou-se um penetrador diamantado sob uma carga de 25 g por 10 s. Foram obtidos 60 blocos com dureza de superfície inicial (SHi), variando de 320,0 a 380,0 kgf/mm² ($p = 0,610$). Os blocos de esmalte foram selecionados e distribuídos aleatoriamente em cinco grupos de 12 blocos cada.

A seguir, uma fita adesiva (Scotch, 3M do Brasil Ltda, Sumaré, SP) foi posicionada na vertical da superfície do bloco, promovendo a proteção de uma porção e expondo a área a ser pintada com esmalte cosmético para unha (Risqué - .Niasi & Cia, Taboão da Serra, SP, Brasil) que foi utilizado para proteger uma área do bloco necessária para realização dos testes de perfilometria.

3.6 Tratamento e desafio erosivo (ANEXO D)

Após 24 horas, os blocos foram removidos da saliva humana (SH) e durante o período de 5 dias (Magalhães et al., 2012) submetidos ao desafio erosivo (Ácido cítrico 0,05M, pH= 3,2; Labsynth, Diadema, SP, Brasil), 4x/dia (5 minutos cada, 2mL/bloco) (Moretto et al., 2010). Imediatamente após o desafio erosivo, os blocos foram imersos em *slurry* de dentifrício (1:3 diluídos peso:peso em água deionizada, 4mL/bloco) durante 1 minuto em todos os grupos (Moretto et al., 2010). Após o tratamento os blocos foram submetidos à remineralização, por um período de 2 horas à temperatura de 37° C, sem agitação, em uma nova SH (3 mL/bloco), entre um desafio erosivo e outro sendo trocada diariamente. Após a última troca, os blocos de esmalte foram novamente submetidos à nova SH por 24 horas (3 mL/bloco).

3.7 Determinação da dureza do esmalte (ANEXO E)

A dureza de superfície inicial (SHi), para seleção dos blocos de esmalte, foi determinada utilizando-se um microdurômetro (HMV-2000/ Shimadzu Corporation, Japan) acoplado a um microcomputador e um software específico para análise das imagens (Cams-Win_new Age Industries/USA). Utilizou-se um penetrador diamantado piramidal tipo KNOOP, com carga estática de 25 gramas, por 10 segundos. Foram realizadas cinco impressões equidistantes entre si 100 μm . A seguir os blocos foram isolados com esmalte para unha, como descrito anteriormente.

Ao final do experimento, realizou-se a dureza de superfície pós-erosão (SHf) dos blocos de esmalte. Na área exposta ao desafio erosivo, foram realizadas 5 impressões utilizando o mesmo microdurômetro com as mesmas especificações (25g por 10s).

3.8 Determinação do desgaste superficial

Para determinação do desgaste superficial utilizou-se o Rugosímetro SurfTest SJ 401 – Mitutoyo (Mitutoyo American Corporation), com uma ponta apalpadora esférica, acoplada a uma unidade que tem como função processar e interagir as informações quantitativamente, fornecendo os resultados.

O rugosímetro foi conectado a um microcomputador que processou e armazenou as informações pertinentes aos ensaios. Com o auxílio de um software específico do equipamento (SurfTest) além dos dados específicos de rugosidade, foram obtidos também os perfis das superfícies testadas, sendo estes importantes para a ilustração e quantificação do desgaste.

Para determinação da rugosidade superficial dos espécimes o rugosímetro foi ajustado para que a ponta apalpadora do aparelho realize um determinado percurso (L_t = limite de tracejamento). Utilizou-se o parâmetro de filtragem ou minimização das ondas de superfície [ponto de corte (cut off)- $L_c = 1,5 \text{ mm}$]. O parâmetro R_a (μm) utilizado para obtenção foi a rugosidade aritmética que traduz o valor de todas as distâncias absolutas do perfil de rugosidade. A ponta do rugosímetro percorreu as

superfícies dos espécimes passando por regiões de esmalte hígido (protegido) ao afetado. Após a determinação do perfil, a medida do desgaste foi obtida pela distância em micrômetros entre a linha média do gráfico correspondente à área protegida do espécime (superfície de referência) e o pico de desgaste. Para cada bloco foram feitas cinco impressões em diferentes áreas.

3.9 Determinação da dureza em secção longitudinal (ANEXO F)

Para realizar os testes de dureza em secção longitudinal, foram feitas secções longitudinais no centro dos blocos e uma das metades incluídas em resina acrílica e polidas. Será utilizado o microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) e o software Buehler OmniMet (Buehler, Lake Bluff, USA). Uma sequência de 10 impressões foi realizada a diferentes distâncias de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70 μm da superfície externa do esmalte sob carga de 5-g por 10s (1000x). Os valores médios das 10 impressões em cada distância foram calculados. A área de dureza integrada ($\text{KHN} \times \mu\text{m}$) para a lesão dentro do esmalte hígido foi calculada pela regra trapezoidal (Prism, versão 3.02) e subtraída da dureza integrada do esmalte hígido para obter a perda integrada de dureza de subsuperfície (ΔKHN).

3.10 Análise estatística

Foi utilizado o programa estatístico Sigmaplot® para Windows versão 12.0, com significância ao nível de 5%. Os valores de SHf, desgaste (μm) e ΔKHN foram considerados como medidas de resultados e os dentifrícios experimentais como fator de variação. Os dados apresentaram distribuição normal (Teste Shapiro-Wilk) e homogênea (Teste Cochran) e foram submetidos à análise de variância (1 critério) seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls.

4. RESULTADOS

As concentrações de FT, FI e pH (média (dp); ppm F; n = 3) nos dentifrícios foram respectivamente de 9,5 [1,1] e 9,7 [0,4] para o Placebo; 1162,0 [44,1] e 1157,2 [16,8] para os 1100 ppm F (variando de 1111,0 e 1183,9 ppm F); e 5387,0 [26,3] e 5028,8 [24,8] para o dentifrício de 5000 ppm F (Tabela 1). A média de pH dos dentifrícios foi de 7,44 [0,3], variando 7,1-7,7 (Tabela 1).

O processamento de moagem reduziu o tamanho das partículas dos pós de TMP, sem afetar a estrutura cristalina do material. A difração de raios-X (DRX), mostra os padrões de TMPnano após 48 h de moagem (Figura 1) identificando picos mais largos devido aos cristais menores, que poderiam ser utilizados para estimar um tamanho de partícula médio de 22,7 nm.

A adição de TMP ao dentifrício reduziu o desgaste do esmalte em ~ 48% quando comparado com o 1100 ($p < 0,001$). As partículas de TMPnano aumentaram o efeito contra a erosão em ~ 30% em relação a 1100 TMP ($p = 0,002$). Além disso, os dentifrícios 1100 TMPnano e 5000 ppm F apresentaram desgaste do esmalte semelhante ($p = 0,955$) (Tabela 3).

Após os desafios erosivos, a dureza pós-erosão (SHf) foi significativamente mais elevada para os grupos tratados com dentifrícios fluoretados em comparação com o grupo placebo ($p < 0,001$). A adição de TMP para o dentifrício 1100 ppm de F resultou em um menor amolecimento do esmalte (84%) quando comparado com o homólogo sem TMP ($p < 0,001$). As nanopartículas de TMP melhoraram este efeito em 50% ($p < 0,001$), atingindo dureza semelhante a obtida após a utilização do dentifrício 5000 ppm F ($p = 0,202$) (Tabela 3).

A área de desmineralização (Δ KHN) foi significativamente mais baixa para o grupo placebo ($p < 0,001$). Os grupos 1100 TMPnano e 5000 ppm F apresentaram valores de Δ KHN semelhantes ($p = 0,212$).

5. DISCUSSÃO

O presente estudo *in vitro* confirma dados anteriores de que o aumento da concentração de F no dentifrício leva a melhores efeitos protetores contra o desgaste erosivo do esmalte (Moretto et al., 2010). O esmalte restante, menos amolecido, (Tabela 3; SHf e Δ KHN) foi observado para o grupo 1100 TMPnano e 5000 ppm F estando relacionado com a maior formação de fluoreto de cálcio bem como espécies neutras e conseqüentemente minimizando a desmineralização em um desafio erosivo posterior (Magalhães et al., 2009; Moretto et al., 2010; Danelon et al., 2013a; Danelon et al., 2014; Lussi et al., 2014; Pancote et al., 2014). Foi também sugerido que a elevada concentração de NaF pode causar alguma precipitação de fluorapatita dentro da superfície do esmalte previamente amolecida e isto pode resultar em um aumento da dureza e reduzir a susceptibilidade a uma subsequente dissolução (Abdullah et al., 2012). Como os blocos de esmalte foram armazenados em saliva humana após o último processo erosivo/tratamento, seria mais correto afirmar que o teste de dureza (superficial) analisa a capacidade remineralizadora das formulações sobre o esmalte erodido. Isto explica a maior capacidade de remineralização do dentifrício 5000 ppm de F observado no presente estudo, bem como no estudo *in vitro* de Moretto et al. (2010). No entanto, este é um modelo químico e os dados obtidos com este modelo (ou qualquer outro protocolo *in vitro*) deve ser considerado com cuidado devido às limitações na reprodução do ambiente oral com todas as variações biológicas conhecidas por influenciar a erosão (West et al., 2011). Estudos *in situ* (Magalhães et al., 2009; Rios et al., 2008) mostraram que o aumento da concentração de F não tem benefícios, ou seja, havendo um limite para que ele possa atuar contra a erosão dentária.

A presença da película adquirida, e a própria saliva podem desempenhar um papel importante durante o desafio erosivo e influenciar a interação entre o F e o conteúdo mineral dentário (Rios et al., 2006; Rios et al., 2008; Buzalaf et al., 2012). Na presença de F e TMP não foi observado nenhuma influência utilizando saliva humana durante o experimento *in vitro*. As diferenças observadas em F, quando comparados estudos *in vitro* e estudos *in situ* podem ser relacionadas com a depuração salivar de F no meio oral (Buzalaf et al., 2012), uma vez que a diluição dos dentifrícios foi a mesma.

Além do fator anteriormente mencionado, a razão molar de F / TMP tem uma forte influência na desmineralização do esmalte (Takeshita et al., 2009; Manarelli et al., 2011; Takeshita et al., 2011; Danelon et al., 2013a; Danelon et al., 2014; Favretto et al., 2013; Manarelli et al., 2014).

De acordo com Danelon et al., 2013b, o aumento da concentração de TMPnano até 3% em um dentífrico convencional (1100 ppm F), otimizou o efeito contra a desmineralização em um modelo de cárie *in vitro*. O presente estudo mostrou que a adição de nanopartículas de TMP na concentração de 3% também foi eficaz no desgaste erosivo, obtendo resultado semelhante ao dentífrico 5000 ppm F. Estes resultados podem ser explicados devido às propriedades das nanopartículas, tal como a sua elevada proporção de área de superfície para o volume, bem como uma elevada porcentagem de átomos na superfície, em comparação com as partículas de maior dimensão, o que os torna mais reativo. No entanto, uma vez que estes dados são baseados em protocolos *in vitro* e *in situ* (Moretto et al., 2010; Moretto et al., 2014) estudos clínicos devem ser realizados para confirmar estes resultados.

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos conclui-se que a adição de 3% TMPnano em dentífricos convencionais (1100 ppm F) promoveu um efeito protetor sinérgico contra o desgaste erosivo do esmalte quando comparado com os seus homólogos, atingindo níveis de proteção semelhantes aos observados para o dentífrico 5000 ppm F.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAH, A. Z. et al. A Nanomechanical investigation of three putative anti-erosion agents: Remineralisation and protection against demineralisation. **Int. J. Dent.**, aug. 2012.

ATTIN, T. et al. Use of variable remineralization periods to improve the abrasion resistance of previously eroded enamel. **Car. Res.**, v. 34 p. 48-52 m. jan-feb a. 2000.

ATTIN, T. et al. In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. **Car. Res.**, v. 35 p. 216-222 m. may-jun a. 2001.

BURATTO, E.M. Avaliação do potencial erosivo aos tecidos duros dentais de bebidas esportivas nacionais. **Rev. ABO. Nac.**, v. 10, p. 109-112, a. 2002.

BUZALAF, M. A.; HANNAS, A. R.; KATO, M. T.; Saliva and dental erosion. **J. Appl. Oral. Sci.**, v. 20, p. 493-502, m. sep-oct, a. 2012.

CHENG, L. et al. Antibacterial and physical properties of calcium–phosphate and calcium–fluoride nanocomposites with Chlorhexidine. **Dent. Mater.**, v. 28, n. 5, p. 573-583, m. may, a. 2012.

COCHRANE, H. J. et al. Enamel subsurface lesion remineralisation with casein phosphopeptide stabilised solutions of calcium, phosphate and fluoride. **Car. Res.**, v. 42, n. 2 p. 88-97, m. jan, a. 2008.

DANELON, M. et al. In situ evaluation of a low fluoride concentration gel with sodium trimetaphosphate in enamel re-mineralization. **Am. J. Dent.**, v. 26, n. 1, p. 15-20, m. feb, a. 2013a.

DANELON, M. et al. Avaliação in vitro de dentifrícios suplementados com nanopartículas de trimetafosfato de sódio sobre a desmineralização dentária. **Braz. Or. Res.**, v.2, p. 234-266, a. 2013b.

DANELON, M. Effect of fluoride gels supplemented with sodium trimetaphosphate in reducing demineralization. **Clin. Or. Investig.**, v. 18, n. 4, p. 1119-1127, m. may, a. 2014.

DANELON, M et al. Effect of toothpaste with nano-sized trimetaphosphate on dental caries: In situ study. **J. Dent.**, v. 43, n. 7, p. 806-813, m. jul, a. 2015.

DELBEM, A.. C. B. et al. Comparison of methods for evaluating mineral loss: hardness versus synchrotron microcomputed tomography. **Car. Res.**, v. 43, n. 5, p. 359-365, m. aug, a. 2009.

FAVRETTO, C. O. et al. In vitro Evaluation of the Effect of Mouth Rinse with Trimetaphosphate on Enamel Demineralization. **Car. Res.**, v. 47, n. 5, p. 532-538, m. jun, a. 2013.

HANNIG, M. Die protektive Wirkung der Pellikel bei der Schmelzerosion durch verschiedene Säuren. **ZWR.**, v. 107, p. 421-426, a. 1998.

HOVE, L.H.; YOUNG, A.; TVEIT, A. B. An in vitro study on the effect of TiF₄ treatment against erosion by hydrochloric acid on pellicle covered enamel. **Car. Res.**, v.4, n. 1, p. 80-84, a. 2007.

JAEGGI, T.; LUSSI, A. Toothbrush abrasion of erosively altered enamel after intraoral exposure to saliva: an in situ study. **Car. Res.**, v. 33, n. 6, p. 455-461, m. nov-dec, a. 1999.

KARLINSEY, R. L.; ZERO, D. T. Application of a nanocomposite formulation for remineralization of lesioned enamel. a. 2006. Disponível em: http://iadr.confex.com/iadr/2006Brisb/techprogram/abstract_82052.htm

KARLINSEY, R. L. et al. Antimicrobial and Anticariogenic Effect of a Unique Nanomaterial on Human Enamel. **Car. Res.**, v. 41, p. 330, a. 2007.

LUSSI, A.; JAEGGI, T.; ZERO, D. The role of diet in the aetiology of dental erosion. **Car. Res.**, v.38, p. 34-44, a. 2004.

LUSSI, A.; HELLWIG, E. Risk assessment and preventive measures. **Monogr. Or. Sci.**, v. 25, p. 220-229, m. jun, a. 2014.

MCGAUGHEY, C.; STOWELL, E. C. Effects of Polyphosphates on the solubility and mineral of HA: relevance of a rationale for anticarie activity. **J. Dent. Res.**, v.56, n. 6, p. 579-587, m. jun, a. 1977.

MAGALHÃES, A. C. et al Insights into preventive measures for dental erosion. **J. Appl. Or. Sci.**, v. 17, n. 2, p. 75-86, m. mar-apr, a. 2009.

MAGALHÃES, A. C. et al. Effect of NaF and TiF(4) varnish and solution on bovine dentin erosion plus abrasion in vitro. **Ac. Odontol. Scand.**, v. 70, n.2, p. 160-164, m. mar, a. 2012.

MANARELLI, M. M. et al. Effect of mouth rinses with fluoride and trimetaphosphate on enamel erosion. an in vitro study. **Car. Res.**, v. 45, n. 6, p. 506-509, m. sep, a. 2011.

MANARELLI, M. M. et al. In vitro remineralizing effect of fluoride varnishes containing sodium trimetaphosphate. **Car. Res.**, v. 48, n. 4, p. 299-305, a. 2014.

MORETTO, M. J. et al. Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. **Car. Res.**, v. 44, n. 2, p. 135-140, m. apr, a. 2010.

MORETTO, M. J. et al. Effect of fluoride varnish supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion: an in situ/ex vivo study. **J. Dent.**, v.41, n. 12, p. 1302-1306, m. dec, a. 2013.

NEKRASHEVYCH, Y.; STÖSSER, L. Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study. **Car. Res.**, v. 37, n. 3, p. 225-231, m. may, a. 2003.

PANCOTE, L. P. et al. Effect of fluoride gels supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion. In vitro study. **Arch. Or. Biol.**, v. 59, n. 3, p. 336-340, m. mar, a. 2014.

RIOS, D. et al. Effect of salivary stimulation on erosion of human and bovine enamel subjected or not to subsequent abrasion: An in situ/ex vivo study. **Car. Res.**, v. 40, n. 3, p. 218-223, a. 2006.

RIOS, D. et al. The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 139, n. 12, p. 1652-1656, m. dec, a. 2008.

SCHIPPER, R. et al. SELDI-TOFMS of saliva: methodology and pre-treatment effects. **J. Chromatogr. B.**, v. 847, n. 1, p. 45-53, m. feb, a. 2007.

SOUZA, J. G. et al. Effects of experimental xylitol varnishes and solutions on bovine enamel erosion in vitro . **J. Oral Sci.**, v. 52, n. 4, p. 553-559, m. dec, a. 2010.

SOUZA, J. A. et al. Effect of sodium trimetaphosphate on hydroxyapatite solubility: an in vitro study. **Braz. Dent. J.**, v. 24, n. 3, p. 235-240, a. 2013.

TAKESHITA, E. M. et al. In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. **Car. Res.**, v. 43, n. 1, p. 50-56, m. jan, a. 2009.

TAKESHITA, E. M. et al. Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel de- and remineralization in vitro. **Car. Res.**, v. 45, n. 5, p. 494-497, m. sep, a. 2011.

VAN DIJK, J. W.; BORGGREVEN, J. M.; DRIESSENS, F. C. The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel. **Arch. Oral Biol.**, v. 25, n. 8-9, p. 591-595, a. 1980.

WEST, N. X.; DAVIES, M.; AMAECHI, B.T. In vitro and in situ Erosion Models for Evaluating Tooth Substance Loss. **Car. Res.**, v. 45, p. 43-52, m. may, a. 2011.

WETTON, S. et al. The effect of saliva derived from different individuals on the erosion of enamel and dentine. A study in vitro. **Car. Res.**, v. 41, n. 5, p. 423-426, a. 2007.

XU, H. H. et al. Strong nanocomposites with Ca, PO₄ and F release for caries inhibition. **J. Dent. Res.**, v. 89, n. 1, p. 19-28, m. jan, a. 2010.

FIGURAS E TABELAS

Figura 1: Gráfico dos padrões de raios-x para o TMP micrométrico e TMP manométrico após moagem de 48 horas.

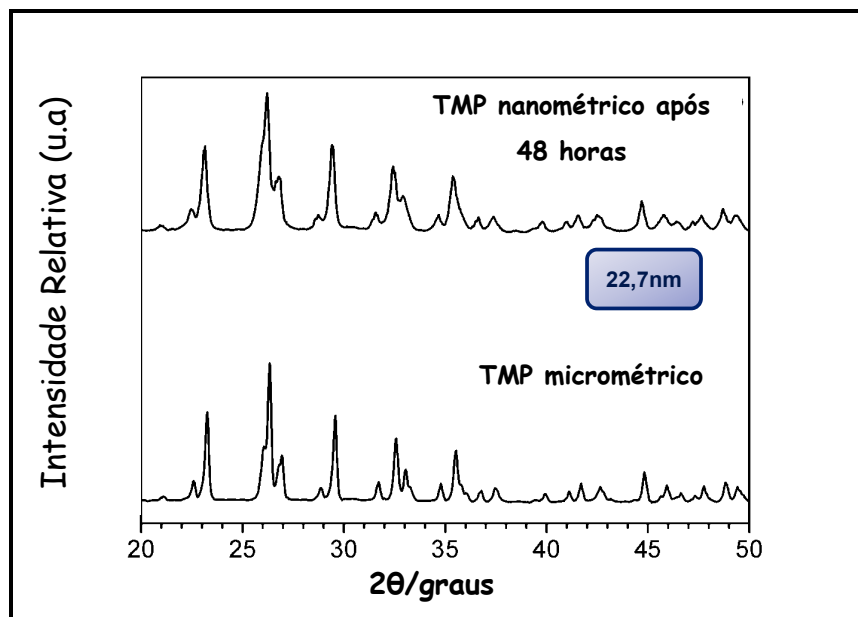


Tabela 1. Valores de fluoreto (FI) e (FT) (média \pm dp, n = 3) nos grupos analisados.

Grupos	FI (ppm F)	FT (ppm F)
Placebo	9,7 \pm 0,41 (3)	9,5 \pm 1,06 (3)
1100 ppm F	1102,9 \pm 4,49 (3)	1106,5 \pm 8,82 (3)
1100 TMP	1110,3 \pm 17,66 (3)	1112,6 \pm 13,22 (3)
1100 TMPnano	1135,3 \pm 4,87 (3)	1103,8 \pm 5,15 (3)
5000 ppm F	5028,8 \pm 24,73 (3)	5387,0 \pm 26,27 (3)

Tabela 2. Valores de pH (média \pm dp, n = 2) nos grupos

Grupos	pH
Placebo	7,5 \pm 0,1 (2)
1100 ppm F	7,7 \pm 0,1 (2)
1100 TMP	7,4 \pm 0,1 (2)
1100 TMPnano	7,1 \pm 0,3 (2)
5000 ppm F	7,5 \pm 0,2 (2)

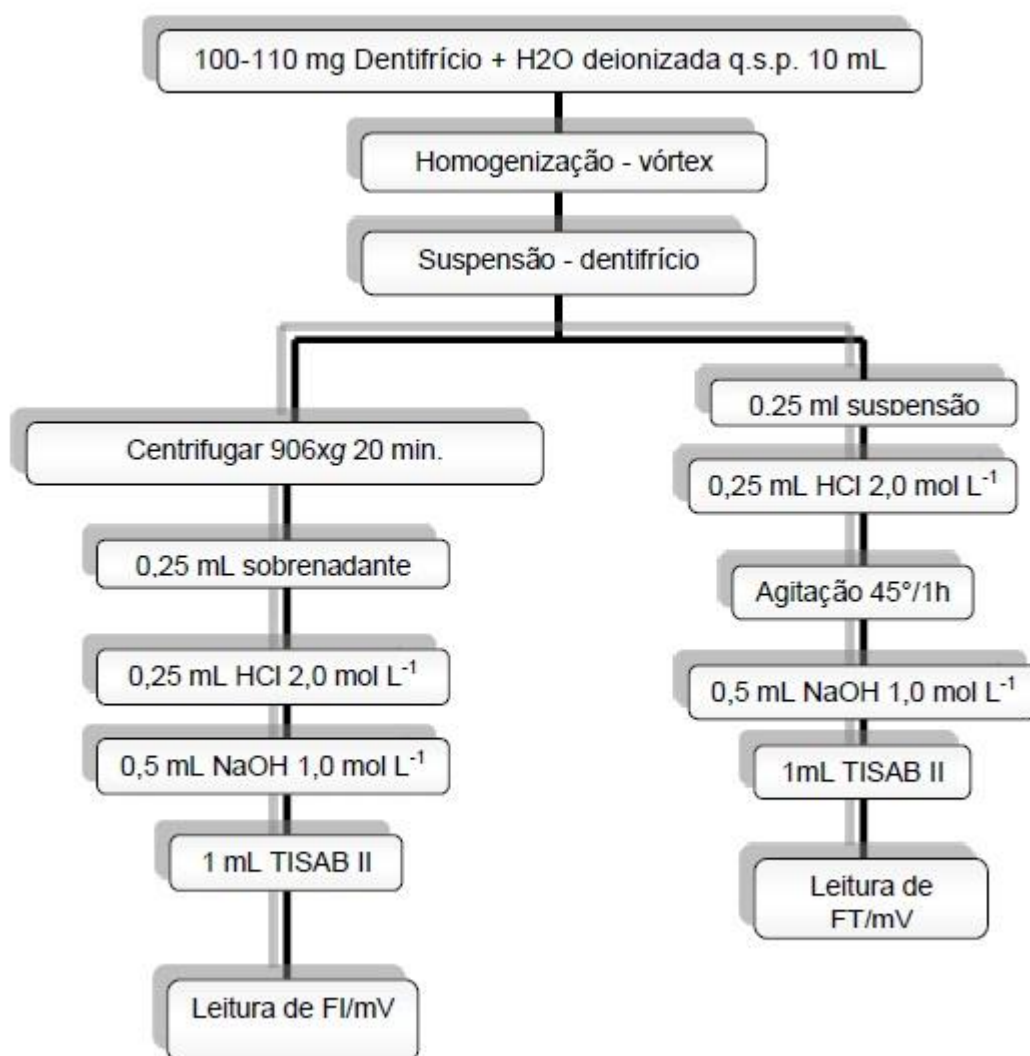
Tabela 3: Valores médios (média \pm dp, n = 12) de dureza de superfície final (SHf), desgaste (μ m) e dureza em secção longitudinal (Δ KHN) entre os grupos

Grupos	SHf	Desgaste	Δ KHN
Placebo	39,7 ^a (4,4)	4,25 ^a (0,33)	2.858,9 ^a (427,1)
1100 ppm F	76,9 ^b (8,3)	1,19 ^b (0,27)	2.337,8 ^b (259,4)
1100 TMP	141,0 ^c (7,4)	0,67 ^c (0,20)	1.247,1 ^c (396,5)
1100 TMPnano	213,9 ^d (4,1)	0,49 ^d (0,08)	1.075,5 ^d (218,4)
5000 ppm F	210,3 ^d (6,5)	0,47 ^d (0,10)	836,0 ^d (166,2)

Letras minúsculas distintas mostram diferença significativa. (ANOVA, Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$).

ANEXO A

Esquema representativo da dosagem de fluoreto dos dentifrícios



ANEXO B

APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

FACULDADE DE
ODONTOLOGIA - CÂMPUS DE
ARAÇATUBA - JÚLIO DE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO IN VITRO DE DENTIFRÍCIOS FLUORETADOS E SUPLEMENTADOS COM TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO NANOPARTICULADO SOBRE A EROÇÃO

Pesquisador: Alberto Carlos Botazzo Delbem

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 15018213.8.0000.5420

Instituição Proponente: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

Patrocinador Principal: Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 285.149

Data da Relatoria: 17/05/2013

Apresentação do Projeto:

O projeto foi muito bem elaborado e perfeitamente estruturado para ser realizado adequadamente.

Objetivo da Pesquisa:

Comparar a eficácia do dentifrício 1100 ppm F associado à 3% TMP com o dentifrício 5000 ppm F, na erosão dentária, através da dureza de superfície e desgaste (perilometria). Visando verificar a melhor eficácia dos dentifrícios suplementados com TMP quando comparado ao dentifrício 5000 ppm F.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Mínimo

Benefícios: Caso comprove-se que o dentifrício 1100 ppm F associado à 3% de TMP nanoparticulado apresente melhores resultados em inibir a erosão dentária, quando comparado ao dentifrício 5000 ppm F, este poderá ser utilizado também por crianças de tenra idade minimizando os riscos de intoxicação crônica.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A realização desta pesquisa será de grande valia para a odontologia, pois visa a pesquisa de uma produto que contribuirá para a redução da erosão dentária.

Endereço: JOSE BONIFACIO 1193
Bairro: VILA MENDONÇA **CEP:** 16.015-050
UF: SP **Município:** ARACATUBA
Telefone: (18)3636-3200 **Fax:** (18)3636-3332 **E-mail:** anacmsn@foe.unesp.br

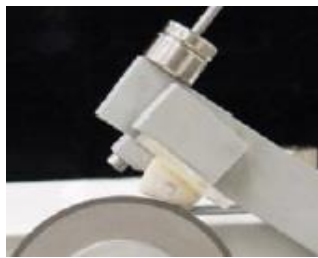
ANEXO C

OBTENÇÃO E PREPARO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Confeção dos blocos de esmalte bovino (4 mm x 4 mm)



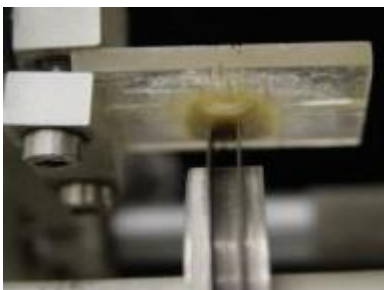
1. Coroa do dente bovino incisivo central inferior, separada da raiz através de disco diamantado de duas faces (KG Sorensen D 91), montado em motor de bancada (Nevoni), mantido sob refrigeração (água



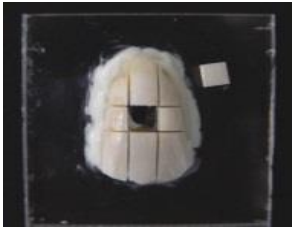
2. Secção da coroa utilizando disco diamantado (série 15 HC Diamond - n. 11-4244 Buehler) separando a superfície vestibular da lingual.



3. Face vestibular fixada na placa de acrílico.

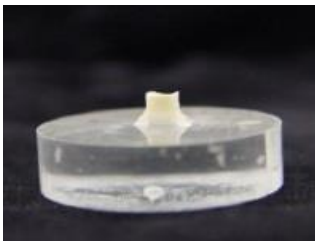


4. Secção da face vestibular no sentido longitudinal, na porção mais plana, utilizando-se 2 discos diamantados (série 15 HC Diamond –n. 11-4243 Buehler), montados em cortadeira sob refrigeração com água destilada/deionizada e separados por um disco espaçador de alumínio com 4 mm de espessura. Em seguida, foi realizado o corte no sentido transversal.



5. Fragmento vestibular do dente bovino, fixado sobre placa de resina. Ao lado, bloco de esmalte dentário.

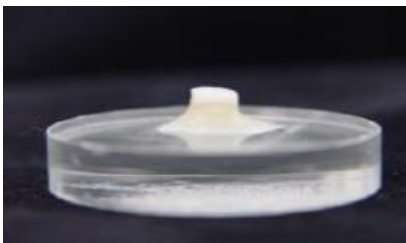
Planificação da dentina e polimento do esmalte



6. Bloco de esmalte fixado em disco de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 8 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA), com a superfície dentinária voltada para cima.



7. Ajuste da dentina para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina, utilizando Politriz Beta – Grinder – Polisher e Vector Power Head (Buehler, Lake Bluff, IL, USA) e lixas de granulação



8. Blocos fixados com a superfície do esmalte voltada para cima, a qual foi polida para análise de dureza.

Sequência do polimento de esmalte

- 1- Profilaxia com pedra-pomes, água deionizada e taça de borracha montada em contra-ângulo em baixa-rotação;
- 2- Polimento empregando lixas de granulação 600 (20 segundos), 800 (30 segundos) e 1200 (30 segundos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/ deionizada por 2 minutos, entre cada lixa;
- 3- Acabamento final com disco de papel feltro TEXMET 1000 (Buehler Polishing Cloth) durante 1 minuto com suspensão de diamante 1 micron base-água (Buehler);
- 4- Lavagem durante 30 segundos com jato de água deionizada;
- 5- Limpeza em lavadora ultrassônica Modelo 2110 (Branson, Danbury CT,USA) com água destilada/ deionizada (2minutos);
- 6- Lavagem durante 30 segundos com jato de água destilada/deionizada.

ANEXO D

DESAFIO EROSIVO E TRATAMENTO COM OS DENTIFRÍCIOS EXPERIMENTAIS



1. Agitador Magnético com Aquecimento TE – 081 (Piracicaba, SP - Brasil) utilizado para agitar o dentifrício com velocidade de 50% durante 15 min.



2. Mesa Agitadora TE - 141-Orbital (Tecnal, Piracicaba - SP, Brasil) utilizada para tratamento dos blocos de esmalte, em rotação 7 durante 1 min.



3. Lavagem dos blocos de esmalte antes e após os tratamentos, durante 30 s com água deionizada.



4. Estufa para cultura bacteriológica (Olidex cz Ribeirão Preto – SP, Brasil) utilizada para manter os blocos de esmalte nas soluções de Des e Re em temperatura 37°C, durante o período da ciclagem.

ESQUEMA DO DESAFIO EROSIVO E TRATAMENTO COM OS DENTÍFRÍCIOS EXPERIMENTAIS

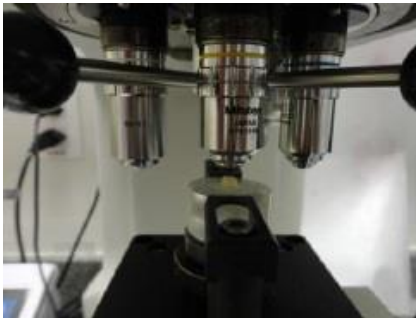


ANEXO E

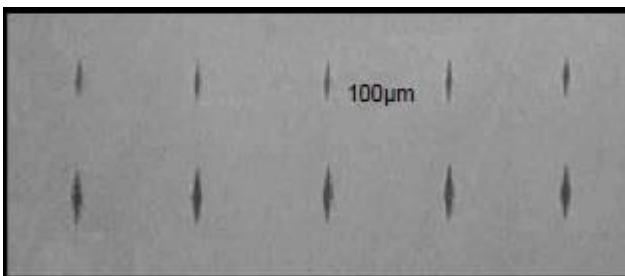
ANÁLISE DE DUREZA SUPERFICIAL



1. Microdurômetro Micromet 5114 Hardness Tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem Buehler OminMet (Buehler, Lake Bluff, USA).



2. Bloco de esmalte sendo submetido à determinação de dureza no microdurômetro, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos, para análise da dureza de superfície.



3. Fotomicrografia das impressões para análise de dureza de superfície inicial e final (SHi, SHf) - (Aumento: 100x).

ANEXO F

ANÁLISE DA DUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL (Δ KHN)



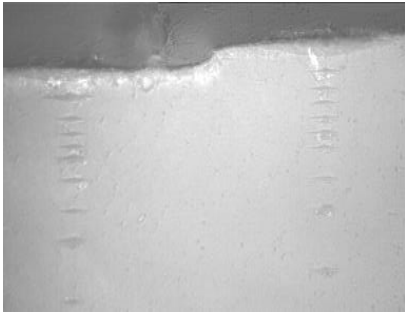
1. Embutidora metalográfica (AROTEC PRE 30S) – utilizada para inclusão dos blocos de esmalte em 5 gramas de resina acrílica (Buehler Transoptic Powder, Lake Bluff, Illinois, USA), pressão de 150 kgf/cm², tempo de aquecimento de 7 minutos e mais 7 minutos de resfriamento. Os blocos foram fixados em posição com cola adesiva (Super Bonder – Loctite).



2. Blocos embutidos – plano longitudinal voltado para a superfície da resina acrílica.



3. Microdurômetro Micromet 5114 Hardness Tester (Buehler, Lake Bluff, USA e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem Buehler OminMet (Buehler, Lake Bluff, USA).



4. Fotomicrografia das impressões. (Aumento: 1000x). Seta: Lesão de subsuperfície.