



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

Campus de Araçatuba

Departamento de Odontologia Infantil e Social

Leonardo Raniel Figueiredo

**Efeito de soluções suplementadas com
hexametáfosphato de sódio microparticulado
sobre a energia livre de superfície do esmalte
dentário**

Araçatuba-SP

2017

Leonardo Raniel Figueiredo

**Efeito de soluções suplementadas com
hexametáfosfato de sódio microparticulado
sobre a energia livre de superfície do esmalte
dentário**

Trabalho de Conclusão de
Curso como parte dos requisitos
para a obtenção do título de
Bacharel em Odontologia da
Faculdade de Odontologia de
Araçatuba, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Profº. Titular Alberto
Carlos Botazzo Delbem

Araçatuba-SP

2017

Dedicatória

Dedico este trabalho,

Aos meus pais, Valéria Aparecida Raniel Figueiredo e Francisco Carlos Pimentel Figueiredo,

Que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado em todos os momentos da minha jornada acadêmica. Agradeço por acreditarem no meu sonho e por permitir que ele se tornasse realidade, sem vocês nada disso seria possível.

Agradecimentos Especiais

A meu irmão Lucas,

Que sempre foi um exemplo para mim, obrigado por todo cuidado e apoio que tem por mim e por estar presente em todos os momentos da minha vida.

A Afonso Castro, Heitor Cecilio e Matheus Gomes,

Mais que amigos, foram irmãos com quem pude viver muitos momentos que levarei para sempre comigo. Obrigado pela irmandade e por me acolherem. A república Full House sempre será minha segunda casa e ficará para sempre em minha memória.

A meus companheiros de iniciação científica Gabriel Nunes, Francienne Castro, Sara Akabane e Ronaldo Júnior,

Que foram muito importantes para a realização desse trabalho e também para meu crescimento, só tenho a agradecer pela ajuda e companheirismo de vocês, seja no laboratório ou na faculdade, poder dividir essa caminhada com vocês foi uma honra.

A meus amigos Amanda Valente, Anna Clara Mendes, Juliana Nobre, Jéssica Cordeiro, Danielle Almeida, Murilo Oliveira, Murilo Cestari, Rodrigo Cosin, Vitor Shimada, Moacir Rossini Neto, Vinícius Oliveira, Pedro Henrique Chaves, Willian Jacometo, Maurício Akama, Rogério Vidal Júnior, Lucas Amantéa, Thainan Vécio Felipe Yudi, José Carlos Saliba, Cassio Sversut, Ricardo Souza, Amanda Fioravante, Jaqueline Nakao, Geovana Costa, Lohana Lima, Thaynara Araújo, Marília Bérغامo, Mayumi Kato, Leonardo Moraes, Gabriel Maranhã, Letícia Gonçalves, Luana Gonçalves, Lara Mariano, Iana Briggo, Lucas Esgaravati, Lucas Vargas, Ana Beatriz Repizo, Jéssica Galbiati, Arthur Lacerda, Flávio Duarte, Lucas Marcondes, Vinícius Orasmo, Jesse Augusto, Gabriel Minatogawa, e a todos que estiveram comigo nesses anos,

Só tenho a agradecer, ver o tamanho da lista e ainda saber que existem outros mais a serem lembrados me deixa muito feliz por ter construído esses laços. Foram tantos momentos e histórias que seria impossível citar aqui. Mas, deixo meu muito obrigado a todos vocês por terem feito desse meu período na faculdade os melhores anos da minha vida.

A José Guilherme Neves,

Por toda a ajuda que meu deu para o desenvolvimento desse projeto e pela amizade também. Sua paciência, dedicação, organização, e disciplina foram essenciais para esse projeto.

Ao meu professor orientador Alberto Carlos Botazzo Delbem,

Obrigado por confiar em mim, pelos ensinamentos que me foi passado, e pela oportunidade de poder trabalhar e aprender mais sobre a parte de pesquisa científica que nossa faculdade oferece.

A minha professora Marcelle Danelon,

Obrigada pelos ensinamentos, por estar sempre à disposição para me ajudar, pela paciência, pela oportunidade e por toda sua dedicação. Tenho muita admiração por você, tanto no pessoal quanto no profissional você é uma pessoa diferenciada e sou grato por ter tido a honra ter trabalhado com você.

A turma LIX de Odontologia,

Obrigado pelo companheirismo nessa longa jornada acadêmica, pelos amigos que fiz e pela união. Vou levar comigo lembranças de todos vocês que foram como uma segunda família para mim. Vou sentir saudades.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba, na pessoa dos professores Dr. Wilson Roberto Poi, digníssimo Diretor e Dr. João

Eduardo Gomes Filho, digníssimo Vice-Diretor.

Aos Pacientes,

Agradeço por depositarem tanta confiança em meu trabalho mesmo sabendo de nossa inexperiência, sempre dispostos a colaborar e pacientes conosco, graças a vocês adquirimos experiências e sabedoria não só pela parte prática da odontologia, mas também a como lidar com o ser humano. A nossa maior satisfação está quando terminamos um trabalho e olhamos para o paciente e ele apresenta um sorriso aberto e feliz pelo resultado. Vocês foram fundamentais para que hoje tornássemos cirurgiões-dentistas. Muito obrigado.

Ao Frigorífico Friboi, que permitiu a coleta dos dentes bovinos.

A todos os professores pelos ensinamentos que foram ministrados e pela dedicação, contribuindo para minha formação profissional.

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

Minha eterna gratidão.

Epígrafe

“Determinação, coragem e autoconfiança são fatores decisivos para o sucesso. Se estamos possuídos por uma inabalável determinação conseguiremos superá-los. Independentemente das circunstâncias, devemos ser sempre humildes, recatados e despidos de orgulho.”

Dalai Lama

Figueiredo, LR. Efeito de soluções suplementadas com hexametáfosfato de sódio microparticulado sobre a energia livre de superfície do esmalte dentário. 2017. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2017.

RESUMO

Os fosfatos possuem a capacidade de modificar a superfície da hidroxiapatita (HA), através de sua adsorção sobre o esmalte. Sabendo-se dessa propriedade, o objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de adsorção do hexametáfosfato de sódio microparticulado (HMP) associado ou não ao fluoreto (F) e a energia livre de superfície (SFE) sobre o esmalte dentário, através de um estudo *in vitro*. Blocos de esmalte bovino (4 mm x 4 mm, n=96; 12 blocos/grupo) foram obtidos e a seguir imersos em soluções (1 minuto, 1mL/grupo) contendo HMP micrométrico (HMP) nas concentrações 0%; 0,25%; 0,5%; 1%. Estas concentrações de HMP foram associadas ou não ao F na concentração de 1100 ppm F. A energia livre de superfície (mN/m) foi calculada através da medição dos ângulos de contato dos líquidos três sondas: água deionizada, diiodometano e etileno-glicol; determinou-se os componentes polares e não polares da superfície do esmalte. Os dados apresentaram distribuição normal (Kolmogorov-Smirnov) e homogênea (Cochran) e, em seguida, foram submetidos a ANOVA seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls ($p < 0,001$). Os tratamentos

com as soluções contendo apenas HMP, promoveram ângulos de contato mais baixos para os três líquidos sondas, em relação ao grupo não tratado ($p < 0,001$). Os valores do componente apolar (γ_s^{LW}) obtidos a partir da superfície de esmalte foram maiores após o tratamento com HMP ($p = 0,001$), já para o componente polar (γ_s^{AB}), os valores tornaram-se mais negativos com o aumento da % de HMP ($p < 0,017$). A adição de HMP ao F reduziu a SFE do esmalte nas concentrações de 0,25% e 0,5% ($p < 0,003$). Conclui-se que a adsorção de HMP no esmalte aumenta a energia livre de superfície, e quando associado ao F ocorre um aumento nos sítios doadores de elétrons.

Palavras-chave: Esmalte dentário, Fluoreto, Fosfato, Energia livre de superfície.

Figueiredo, LR. Effect of fluoride solutions supplemented microparticulate sodium hexametaphosphate on the surface free energy of tooth enamel 2017. 42 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2017.

ABSTRACT

The phosphates have the ability to modify the surface of the hydroxyapatite (HA), through its adsorption on the enamel. The objective of this study was to evaluate the adsorption capacity of microparticulate sodium hexametaphosphate (HMP) associated with fluoride (F) and surface free energy (SFE) on dental enamel through a study In vitro. Bovine enamel blocks (4 mm x 4 mm, n = 96; 12 blocks/group) were obtained and selected and then immersed in solutions (1 minute, 1mL/group) containing micrometric (HMP) at 0% concentrations; 0.25%; 0.5%; 1%. These concentrations of HMP were associated or not to F at the concentration of 1100 ppm F. The free surface energy (mN/m) was calculated by measuring the contact angles of the three probes liquids: deionized water, diiodomethane and ethylene-glycol; The polar and non-polar components of the enamel surface were determined. The data presented normal distribution (Kolmogorov-Smirnov) and homogeneous (Cochran) and then were submitted to ANOVA followed by Student-Newman-Keuls test ($p < 0.001$). Treatments with solutions containing HMP alone promoted lower contact angles for the three liquid probes compared to the non-treated group ($p < 0.001$). The values of the non-polar component

(γ_s^{LW}) obtained from the enamel surface were higher after treatment with HMP ($p = 0.001$), where as for the polar component (γ_s^{AB}) the values became more negative with % HMP ($p < 0.017$). Addition of HMP to F reduced enamel SFE at concentrations of 0.25% and 0.5% ($p < 0.003$). It is concluded that the adsorption of HMP in the enamel increases the free surface energy, and when associated with F occurs an increase in the electron donor sites facilitating the adsorption of calcium and/or calcium phosphate.

Keywords: Dental enamel, Fluoride, Phosphate, Surface free energy.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Valores de Energia livre de Superfície e componentes nos líquidos teste	25
Tabela 2	Média (DP) dos ângulos de contato (θ°) dos líquidos-sonda e da energia livre de superfície (γ_s) após os tratamentos da superfície do esmalte (n = 12)	26

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1A** Energia Livre de superfície (SFE-mN/m) e componentes (γ_s^{LW} : apolar; γ_s^{AB} : polar) de acordo com os tratamentos. 27
- Figura 1B** Componente polar (γ_s^{AB} : ácido-Lewis (γ_s^+) e base-Lewis (γ_s^-)) da energia livre de superfície de acordo com os tratamentos. 28

Lista de abreviaturas

Ca Cálcio

HCl Ácido Clorídrico

F Fluoreto

HA Hidroxiapatita

HMP Hexametáfosfato de sódio microparticulado

mL Mililitro

mm Milímetro

mm² Milímetro quadrado

mol/L Mol por litro

n Número de amostra

Na⁺ Íon sódio

NaF Fluoreto de sódio

P Fósforo

Pi Fósforo inorgânico

SFE Energia livre de superfície

TISAB Tampão ajustador de força iônica total

µm Micrômetro

Sumário

1. Introdução	17
2. Objetivo	20
3. Metodologia	20
3.1 Delineamento Experimental	20
3.2 Preparação dos Blocos de Esmalte	20
3.3 Formulação das soluções	22
3.4 Análises de fluoreto, fósforo, cálcio e HMP das soluções	22
3.5 Análise da Energia Livre de Superfície	23
3.6 Análise dos Resultados	24
4. Resultados	25
5. Discussão	28
6. Conclusão	30
7. Agradecimentos	31
8. Referências	32
9. Anexos	38

1. Introdução

O declínio da cárie dentária foi observado em muitos países desde a década de 70, sendo alvo de muitas discussões [Brunelle e Carlos, 1990; Nadanovsky e Sheiham, 1995]. O grande responsável por este efeito benéfico foi à adição de fluoreto (F) às águas de abastecimento público, assim como o uso de produtos fluoretados de uso tópico. Não há dúvida que a descoberta das propriedades anticariogênicas do F constitui um dos marcos mais importantes da Odontologia utilizados na prevenção da cárie dentária nas mais variadas formas e diferentes concentrações: pela fluoretação das águas de abastecimento público, prescrição de suplementos, aplicação tópica de géis e soluções, vernizes fluoretados e ainda pela ampla utilização dos dentifrícios fluoretados [van Rijkom et al., 1998].

Os dentifrícios fluoretados têm se destacado dentre as formas de administração tópica mais utilizadas pela população e que contribuem para a redução da cárie dentária [Rølla et al., 1991]. Recentemente, estudos têm demonstrado que é possível aumentar a efetividade de um dentifrício sem aumentar a concentração de F. A adição de fosfatos inorgânicos e orgânicos a dentifrícios com concentração reduzida de F mostrou aumentar o efeito anticárie e contra a erosão dentária [Takeshita et al., 2009; Moretto et al., 2010; do Amaral et al., 2013]. Destes, o trimetafosfato de sódio (TMP) tem sido testado em diferentes concentrações de F e produtos mostrando reduzir a perda mineral e aumentar o processo de remineralização, pois apresentam capacidade de modificar a superfície da hidroxiapatita, através

de sua adsorção [Danelon et al., 2013; Favretto et al., 2013; Moretto et al., 2013; Danelon et al., 2014].

Ainda, um fosfato inorgânico com propriedades similares ao trimetafosfato de sódio, o hexametafosfato de sódio (HMP), é utilizado extensivamente na indústria de cerâmica como defloculante por apresentar capacidade de formar complexos com cátions e se ligar a compostos químicos com sítios catiônicos [Andreola et al., 2004; Castellini et al., 2005]. Devido o HMP apresentar habilidade de reduzir a solubilidade do esmalte [van Dijk et al., 1980] e a associação TMP/F mostrar um grande potencial como tratamento anticárie, um estudo *in vitro* avaliou se haveria um sinergismo entre HMP/F em uma formulação dentifrícia com baixa concentração de F e concentração convencional (1100 ppm F) [da Camara et al., 2014]. O estudo concluiu que a associação de 0,5% HMP e 1% a um dentifrício contendo 250 ppm F e 1100 ppm F promoveu um efeito inibitório na desmineralização do esmalte similar e superior a um dentifrício com 1100 ppm F [da Camara et al., 2014; da Camara et al., 2016]. Os estudos mais recentes mostraram que uma proporção fosfato/fluoreto adequada deve ser objetivada para obter um maior efeito anticárie [Takeshita et al., 2009; Danelon et al., 2013; Danelon et al., 2014]. Como a capacidade de adsorção no esmalte dos fosfatos cíclicos é proporcional ao número de átomos de fósforo [van Wazer e Campanella, 1950], a associação HMP/F pode interferir em maior grau na reatividade do fluoreto ao esmalte. A hipótese seria que o HMP reteria espécies iônicas como CaF^+ e de Ca^{2+} , levando a formação reticular de uma camada de HMP- Ca^{2+} no esmalte, o que aumentaria a disponibilidade de cálcio durante os processos de des- e re-mineralização [da Camara et al., 2014;

da Camara et al., 2015]. No entanto, esta hipótese deve ser comprovada. Assim, o estudo das interações e ligações químicas entre HMP e F/HMP, na superfície do esmalte pode ajudar-nos a compreender o mecanismo de ação desse sal, bem como provar a hipótese acima levantada.

É sabido que a reatividade da superfície é avaliada através da energia livre de superfície (SFE) [O'Brien, 1997] que mede o ângulo de contato formado por diferentes líquidos sobre uma superfície sólida. Entre os diferentes métodos para alcançar estes parâmetros [Owens, 1969], a abordagem descrita por van Oss, Fowkes e Good e Chaudhury fornece a descrição mais completa da SFE. Ela permite calcular partes dos valores de dispersão ácido-base de Lewis, força polar e força de ligação de hidrogênio, determinando a equação de Lifshitz-van der Waals ácido-base (LWAB) [Fowkes, 1987; van Oss, 1987; van Oss, 1988; Good, 1992; Chaudhury, 1996]. A força de dispersão discute os valores de interações de moléculas não polares, a polaridade mostra as interações entre as moléculas de metal e a força de ligação de hidrogênio relata a interação de grupos de água e hidroxila [Comyn, 1992; Ueta, 2016]. Este método tem a mesma base de medição do ângulo de hidrofobicidade, mas hidrofobicidade é medida apenas pelos ângulos feitos com água [Carlen, 2001; Sipahi, 2001].

Diante dos resultados expostos pela literatura e a ausência de estudos que avaliem quais alterações o uso de fosfatos inorgânicos e sua associação com o F pode provocar no esmalte, seria interessante a avaliação do grau de hidrofobicidade da superfície do esmalte, e assim determinar a capacidade de adsorção do F e HMP.

2. Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade de adsorção do hexametáfosfato de sódio microparticulado (HMP) associado ou não ao fluoreto (F) e a energia livre de superfície (SFE) sobre o esmalte dentário, através de um estudo *in vitro*.

A hipótese nula do estudo foi a de que o tratamento com HMP e F/HMP não promoveria modificações na estrutura do esmalte (através da adsorção) e consequentemente não trazendo nenhum efeito protetor contra a desmineralização.

3. Metodologia

3.1 Delineamento Experimental

Foram utilizados dentes incisivos centrais inferiores permanentes obtidos de bovinos com idade entre 2 e 3 anos, os quais foram mantidos em recipientes plásticos com solução de formol a 2% pH 7,0 durante 1 mês. Os blocos (4 mm x 4 mm, n=96; 12 blocos/grupo) tiveram sua superfície polida sequencialmente e, como critérios de inclusão, foram selecionados aqueles planos, sem riscos, fissuras ou hipoplasia. O tratamento dos blocos de esmalte foi realizado através da imersão em soluções contendo HMP micrométrico (HMP) (Aldrich Chemistry, CAS 68915-31-1, Reino Unido) nas concentrações 0%; 0,25%; 0,5%; 1% [da Camara et al., 2014; Dalpasquale et al., 2017]. Estas concentrações de HMP foram associadas ou não ao F na concentração de 1100 ppm (NaF, Merck, Alemanha). A seguir determinou-se as concentrações de F e fósforo inorgânico (Pi) antes e após o tratamento nas respectivas soluções para calcular a adsorção destes ao esmalte. Para

analisar o mecanismo de ação do F e F/HMP com a superfície do esmalte, a energia livre de superfície (mN/m) foi calculada pela medida dos ângulos de contato de três líquidos sondas: água deionizada, diiodometano e etileno glicol, determinando os componentes polar e apolar da superfície do esmalte.

3.2 Preparação dos Blocos de Esmalte

Dentes incisivos bovinos foram obtidos e mantidos em recipientes plásticos com solução de formol a 2% pH 7,0 durante 1 mês. A seguir blocos de esmalte bovino (4 mm x 4 mm, n=96) foram obtidos a partir da porção mais plana da vestibular das coroas. Em seguida, a dentina foi ajustada para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina (espessura ± 2 mm). Os blocos foram fixados em discos de resina acrílica pré-fabricada (± 3 cm de diâmetro por ± 8 mm de espessura), com auxílio de cera pegajosa (Cera Bastão Kerr ou Cera em Bastões Horus), com a superfície dentinária voltada para cima, sendo este conjunto levado à politriz BETA – grinder polisher (Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA). Para o desgaste foram utilizadas lixas de granulação 320 (CARBIMET Paper Discs, 30-5108-320, BUEHLER), peso de 2 lbs, durante 30 segundos sob baixa rotação e refrigeração. Em seguida, os blocos foram removidos e fixados novamente com a superfície do esmalte voltada para cima e polidos de acordo com a seguinte sequência: lixa de granulação 600, 4 lbs, tempo de 30 segundos, refrigeração a água; lixa de granulação 1200, 4 lbs, 30 segundos, refrigeração a água. Entre cada polimento, os corpos de provas foram submetidos ao ultra-som (BRANSON 2210), em água deionizada durante 2 minutos. Na sequência o esmalte foi polido com papel feltro para polimento (Polishing Cloth BUEHLER

40-7618) e suspensão de diamante (METADI Diamond Suspension 1 micron Blue Color Polish Spray, Water Base 40-6530), 4 lbs, 1 minuto. A seguir, os corpos de provas foram lavados com jato de água deionizada durante 30 segundos e submetidos ao ultra-som (BRANSON 2210), durante 2 minutos, imersos em solução de limpeza (ULTRAMET Sonic Cleaning Solution, BUEHLER) diluída na proporção 20:1 em água destilada. Durante todos os procedimentos e entre um passo e outro, os blocos foram mantidos em ambiente umedecido com formol 2% pH 7,0 [Vieira et al., 2005] (ANEXO A).

3.3 Formulação das soluções

As soluções foram manipuladas no laboratório de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP/FOA. Soluções contendo HMP microparticulado (Aldrich Chemistry, CAS 68915-31-1, Reino Unido) nas concentrações de 0%, 0,25%, 0,5, e 1% apenas, e as mesmas concentrações com adição de F na concentração de 1100 ppm F sob a forma de NaF (Merck, CAS 7681-49-4, Alemanha), foram preparadas, bem como uma solução contendo apenas 1100 ppm F (sem HMP).

3.4 Análises de fluoreto, fósforo, cálcio e HMP das soluções

Para dosagem de F foi utilizado o eletrodo específico (Orion 9409) e eletrodo de referência (Orion 900100) acoplado a um analisador de íons (Orion 720 A+). Uma alíquota de 500 µL da solução foi utilizada, e a seguir acrescentou-se 500 µL TISAB II. O eletrodo foi previamente calibrado com padrões contendo 0,045 a 0,720 µg F/mL, nas mesmas condições das amostras, e os valores foram expressos em µg F/mm². A análise de Ca foi realizada por

um espectrofotômetro (espectrofotômetro de Microplacas EON, Biotek, EUA), com um comprimento de onda de 650 nm, através de um método colorimétrico de Arsenazo III [Vogel et al., 1983]. Aliquotas de 5 μ L foram retiradas das amostras e foram adicionados 50 μ L de água deionizada e arsenazo. Para a calibração, foram utilizados padrões contendo 40 a 200 μ g Ca/mL. O fósforo foi medido por colorimetria pelo método do molibdato através de uma alíquota de 20 μ g das amostras e, em sequência, a uma mistura de 50 μ g de molibdato e 20 μ g de reativo redutor, tal como descrito por Fiske e Subbarow [1925]. Esta análise foi realizada antes e após os tratamentos e a adsorção do esmalte calculada a partir das concentrações iniciais destes compostos nas soluções e a concentração após o tratamento (Δ , μ g). O fósforo das soluções de HMP foi dosado após hidrólise ácida. Aliquotas de 0,2 mL das soluções de HMP foram adicionados de 0,2 mL de ácido clorídrico (HCl) a 1,0 mol/L e aquecida em água a 100 °C durante 1 hora [Tiveron et al., 2013] (ANEXO B).

3.5 Análise da Energia Livre de Superfície

As propriedades físico-químicas da superfície de esmalte foram caracterizadas por medições do ângulo de contato, utilizando o método de gota sésil para determinar a energia livre de superfície (SFE-mN/m). As medições foram realizadas por um goniômetro automático (DSA 100S, Krüss, Hamburgo, Alemanha), utilizando três líquido contido dentro de sondas: diiodometano, água e etileno glicol (Tabela 1). Os blocos tratados foram expostos durante 45 minutos ao ar, a fim de estabilizar a película formada [van der Mei et al., 2002]. A seguir, 0,5 μ L de cada de líquido foi distribuído sobre a superfície dos blocos, e os ângulos de contato

(θ°) foram medidos usando imagens capturadas por uma câmera CCD. Para cada amostra, 5 medições foram realizadas a 20 °C [van der Mei et al., 2002; Harnett et al., 2007]. Diferentes parâmetros, tais como o ácido (γ^+ , componente receptor), base (γ^- , componente doador) e Lifshitz van der Waals (γ^{LW} , componente apolar) da energia livre de superfície (mJ/m²), foram calculados de acordo com o modelo de van Oss, Chaudhery e Good para determinação da energia livre de interação dos substratos [Van Oss et al., 1990; Della Volpe, 1997] (ANEXO C e D).

3.6 Análise dos Resultados

Os dados apresentaram distribuição normal (Kolmogorov-Smirnov) e homogênea (Cochran) e foram submetidos à análise de variância (two-way), seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico Sigma Plot (versão 12.0) com um nível de significância de 5%. Os valores de ângulo de contato e os parâmetros SFE foram consideradas como medidas de resultados e a% de HMP e presença de F como o fator de variação.

4. Resultados

A tabela 1 mostra os valores de energia livre de superfície e componentes nos líquidos teste, utilizados no presente trabalho.

Tabela 1. Valores de Energia livre de Superfície e componentes nos líquidos teste

Líquido	CAS.	Fabricante	γ_L	γ_L^{LW}	γ_L^{AB}	γ_L^+	γ_L^-
Água deionizada			72,8	21,8	0,00	25,50	25,50
Diiodometano	75116	Sigma-Aldrich	50,80	50,42	0,38	0,00	0,00
Etileno glicol	107211	Sigma-Aldrich	48,0	29,0	18,9	3,0	30,10

γ_L , energia livre de superfície; γ_L^{LW} , componente apolar; γ_L^{AB} , componente polar; γ_L^+ , componente receptor; γ_L^- , componente doador. Os valores são representados em mN/m.

A tabela 2 correlaciona os valores dos ângulos de contato em relação aos tratamentos. Os tratamentos com as soluções contendo apenas HMP, promoveram ângulos de contato mais baixos para os três líquidos-sondas, em relação ao grupo não tratado (0%HMP) ($p < 0,001$) (Tabela 2). Após a associação de F/HMP, os grupo F/0,25%HMP e F/0,5% apresentaram ângulos de contato menores quando comparado ao F e F/1% ($p < 0,001$). A Energia Livre de Superfície (γ_s) só foi maior com 0,25%HMP ($p = 0,002$). A associação de F/HMP reduziu a SFE do esmalte nas

concentrações de 0,25% e 0,5% ($p < 0,003$); Já os tratamentos com F e F/1%HMP promoveram similar SFE ($p > 0,001$).

Tabela 2: Média (DP) dos ângulos de contato (θ°) dos líquidos-sonda e da energia livre de superfície (γ_s) após os tratamentos da superfície do esmalte ($n = 12$)

Tratamentos		Água θ°	Diiodometano θ°	Etileno Glicol θ°	γ_s (mN/m)
Sem F	0%HMP	67,7 ^a (4,1)	52,4 ^a (5,5)	55,4 ^{a*} (4,2)	28,8 ^a (4,6)
	0,25%HMP	48,0 ^b (4,4)	39,0 ^b (5,1)	37,5 ^b (5,7)	33,6 ^{b*} (3,2)
	0,5%HMP	43,1 ^c (3,8)	48,0 ^{c*} (6,4)	40,8 ^b (4,3)	27,5 ^a (3,9)
	1%HMP	40,3 ^c (8,6)	43,6 ^d (5,4)	40,8 ^b (5,1)	25,9 ^{a*} (5,2)
F	1100 ppm F	58,7 ^a (7,5)	53,5 ^{a*} (7,5)	52,8 ^a (5,7)	28,8 ^{a*} (3,3)
	0,25%HMP	45,4 ^{a*} (4,5)	53,4 ^{a*} (8,5)	49,6 ^{b*} (5,9)	22,0 ^{b*} (2,9)
	0,5%HMP	46,4 ^b (6,7)	51,1 ^{b*} (3,7)	45,3 ^c (3,5)	23,5 ^{b*} (2,7)
	1%HMP	52,2 ^{a*} (6,1)	55,7 ^{a*} (4,4)	49,4 ^d (4,8)	25,5 ^{a*} (3,5)

Letras distintas sobrescritas indicam significância estatística entre os grupos em cada análise (ANOVA-two-way de medidas repetidas, teste de Student-Newman-Keuls; $p < 0,05$). Os valores entre parênteses indicam o desvio padrão da média.

A figura 1A correlaciona a Energia Livre de Superfície (SFE-mN/m) e componentes (γ_s^{LW} : apolar; γ_s^{AB} : polar) de acordo com os tratamentos.

Os valores do componente apolar (γ_s^{LW}) obtidos a partir da superfície de esmalte foram maiores após o tratamento com HMP ($p = 0,001$). Após a associação ao F, os valores foram similares entre si ($p > 0,001$). Quando comparado ambos os tratamentos (HMP, F/HMP), os grupos 0,5%HMP, F e F/0,5%HMP, apresentaram valores similares para o componente apolar (γ_s^{LW}). Com o aumento da %HMP, os valores do componente polar (γ_s^{AB} = ácido-base de Lewis) tornaram-se mais negativos ($p < 0,017$) (Figura 1A). Entretanto

para os grupos 0%HMP e F, não houve alteração do componente polar ($p>0,001$) (Figura 1A). A adição de HMP ao F reduziu a SFE do esmalte nas concentrações de 0,25% e 0,5% ($p<0,003$). Os valores mais negativos de γ_s^{AB} nessas duas concentrações ($p<0,008$) foram responsáveis por essa diferença já que o componente γ_s^{LW} não foi diferente entre os grupos ($p=0,225$) (Figura 1A).

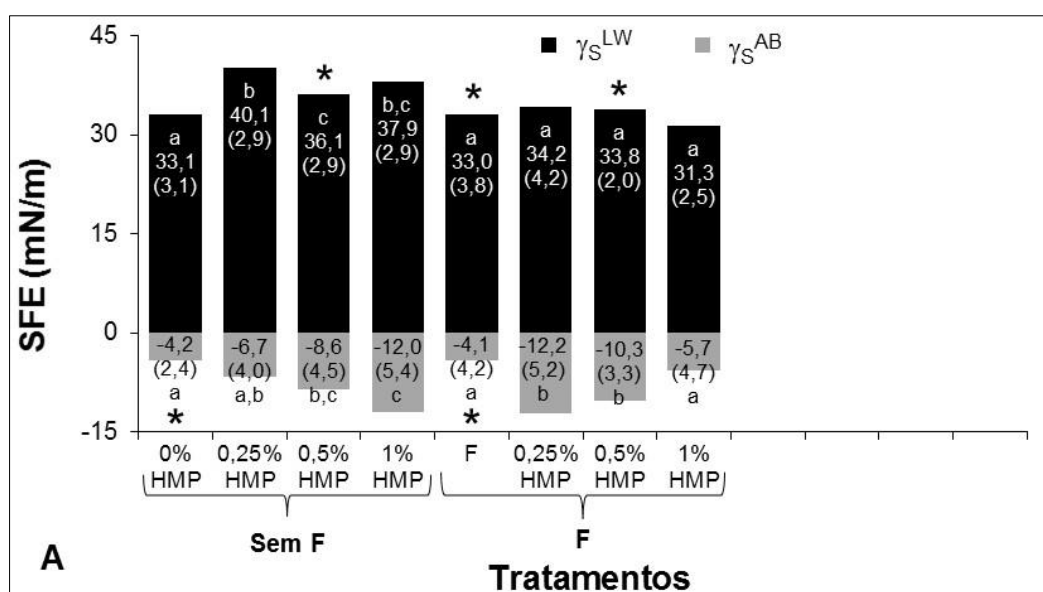


Figura 1A: Energia Livre de superfície (SFE-mN/m) e componentes (γ_s^{LW} : apolar; γ_s^{AB} : polar) de acordo com os tratamentos. Letras distintas mostram diferença entre as médias (DP) dos tratamentos (Student-Newman-Keuls, $p<0,05$).

A figura 1B correlaciona o componente polar (γ_s^{AB} : ácido-Lewis (γ_s^+) e base-Lewis (γ_s^-)) da energia livre de superfície de acordo com os tratamentos.

Entre os parâmetro γ_s^{AB} : γ_s^+ = receptor de elétrons (ácido Lewis) e γ_s^- = doador de elétrons (base Lewis), os valores de γ_s^- foram maiores com o aumento da % de HMP ($p<0,001$). Após o

tratamento com F/HMP (nas concentrações de 0,25% e 0,5%), os valores de γ_s^- foram maiores ($p < 0,05$) (Figura 1B). Houve correlação entre os valores de γ_s^{AB} e os valores de γ_s^- ($r = 0,716$; $p < 0,001$). Quando comparado ambos os tratamentos (HMP, F/HMP), os grupos 0,5%HMP e F/0,5%HMP, apresentaram valores similares para o componente doador (γ_s^-). Do mesmo modo observou-se valores similares para 0%HMP e F, 0,5%HMP e F/0,5%HMP para o componente receptor (γ_s^+).

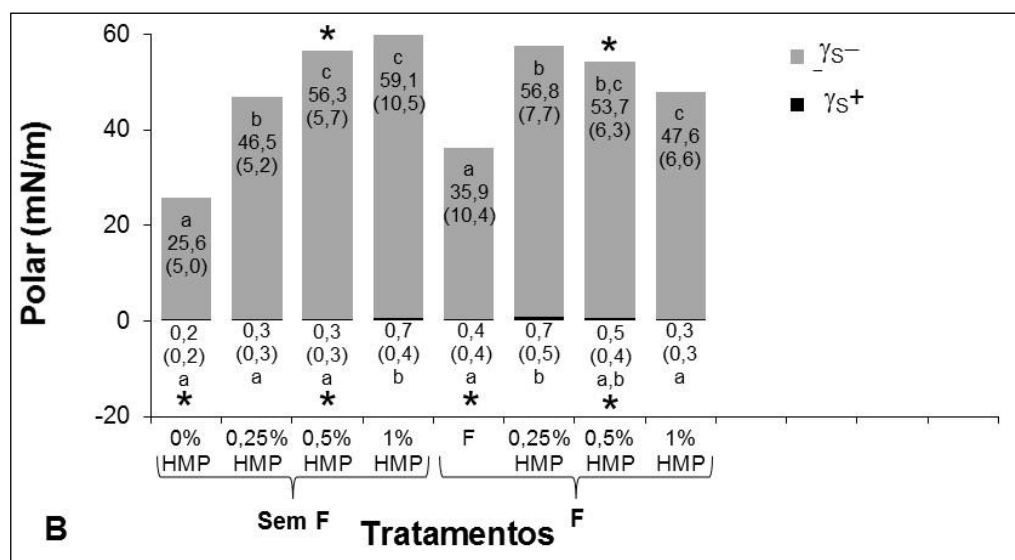


Figura 1B: Componente polar (γ_s^{AB} : ácido-Lewis (γ_s^+) e base-Lewis (γ_s^-)) da energia livre de superfície de acordo com os tratamentos. Letras distintas mostram diferença entre as médias (DP) dos tratamentos (Student-Newman-Keuls, $p < 0,05$).

5. Discussão

Este estudo avaliou a alteração SFE no esmalte após o tratamento com HMP, F e F/HMP. Os resultados mostraram que a adsorção do HMP e F no esmalte aumentam a SFE. Assim, a

hipótese nula foi rejeitada. Foi observada uma relação dose-resposta entre a quantidade de HMP nas soluções e variáveis de adsorção, componente polar (γ_s^{AB} = ácido-base Lewis) e γ_s^- (doador de elétrons= base Lewis).

Os tratamentos apenas com HMP promoveram ângulos de contato mais baixos para os três líquidos sondas, em comparação ao 0%HMP, significando que o HMP afeta de forma eficaz a composição da superfície do esmalte, uma vez que, considerando apenas o ângulo de contato com a água (θ_w), é possível afirmar que o tratamento com HMP aumentou o caráter hidrofílico da superfície do esmalte, tornando-o mais susceptível à umidade, uma vez que os ângulos de contato são inferiores à 65° [Vogler, 1998]. A energia livre de superfície (γ_s), Lifshitz van der Waals (γ^{LW}) e componente ácido-base de Lewis (γ^{AB}) também indicam que a superfície do esmalte tratado com HMP são mais susceptíveis a adesão bacteriana [Rüttermann et al., 2014; Tiznado-Orozco et al., 2015].

O esmalte não tratado com HMP (0%HMP) mostrou um caráter hidrofóbico e menor probabilidade para a aderência bacteriana, uma vez que $\gamma_s < 30$ mN/m [Rüttermann et al., 2014] e γ_s^+ estão próximos a zero, bem como γ_s^- é inferior a 28,5 mN/m [van Oss, 1993; van Oss, 1995]. Neste caso, γ_s é inferior por que os valores baixos de γ_s^{AB} indicam uma superfície menos susceptível a adesão celular [Knorr et al., 2005]. A adsorção do HMP no esmalte, por outro lado, ocorre deixando a superfície carregada negativamente. Apesar dos valores de γ_s^- serem superiores a 28,3 mN/m, que caracteriza uma superfície hidrofílica [van Oss, 1993; van Oss, 1995], a γ_s permaneceu a mesma por que γ_s^{AB} apresentou-se negativo, mesmo com valores mais elevados e

positivos de γ_s^{LW} , devido a adsorção do HMP sobre a superfície do esmalte. Embora γ_s possa sugerir uma superfície hidrofóbica menos susceptível a adesão de células, os dados de θ_w , γ_s^{LW} e γ_s^{AB} (γ_s^+ ; γ_s^-) indicam uma superfície que favorece a aderência de biofilmes [Olsson et al., 1992]. Após o tratamento com HMP, a superfície do esmalte fica carregada negativamente na mesma proporção que os parâmetros γ_s^- , o que pode sugerir que o HMP favorece a formação de sítios de ligação para o Ca^{+2} .

A energia livre de superfície dos componentes apolar e polar foi menor e bem próxima ao do esmalte antes do tratamento com HMP, o que confirma estudos anteriores sobre a redução da desmineralização do esmalte devido a adsorção de HMP e sua ligação ao cálcio na superfície do esmalte [da Camara et al., 2014; da Camara et al., 2015]. Esses estudos demonstraram que a associação de HMP ao F na concentração de 250 ppm F e 1100 ppm F, promoveu um aumento na concentração de cálcio no esmalte, e reduziu com maior eficácia a desmineralização do esmalte quando comparado ao dentifrício contendo apenas 1100 ppm F. Assim, uma especulação dos resultados encontrados até o presente momento, seria que, a formação da camada de HMP cobrindo o esmalte fornece maior número de sítios de fosfatos aumentando a retenção de cálcio. Como consequência, ocorre uma supersaturação desses íons perto da superfície com possibilidade de maior adsorção de íons fosfatos.

Ainda, superfícies carregadas negativamente podem ser parcialmente ou totalmente neutralizadas por cátions, conduzindo à formação de uma superfície hidrofóbica. Assim, essa teoria pode explicar a maior capacidade de reduzir a desmineralização ou melhorar a remineralização do esmalte com a adição de do HMP

em produtos de higiene bucal [da Camara et al., 2014; da Camara et al., 2015]. Embora fosse possível determinar a influência de HMP na adsorção de íons importantes no processo de remineralização do esmalte, o papel desempenhado pelo F durante a associação ainda não está determinado.

Sabendo-se que soluções contendo cálcio e fosfato podem favorecer a formação de espécies iônicas com diferentes cargas e atividades, e ainda a reatividade do esmalte depende da carga elétrica criada na superfície, seria importante a avaliação de um estudos onde se fizesse a associação de tratamentos com HMP, F/HMP e soluções com cálcio e fosfato, o que permitiria um esclarecimento maior sobre o mecanismo de ação do HMP e sua associação ao F.

6. Conclusão

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a adsorção de HMP no esmalte aumenta a energia livre de superfície, e quando associado ao F ocorre um aumento nos sítios doadores de elétrons.

7. Agradecimentos

A **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP (2016/25162-1)** pela concessão de recursos para a realização deste trabalho.

8. Referências Bibliográficas

1. Andreola F, Castellini E, Manfredini T, Romagnoli M. The role of sodium hexametaphosphate in the dissolution process of kaolinite and kaolin. *J Eur Ceramic Soc* 2004;24:2113-2124.
2. Brunelle JA, Carlos JP. Recent trends in dental caries in U.S. children and the effect of water fluoridation. *J Dent Res* 1990;69:723-727.
3. Carlen A, Nikdel K, Wennerberg A, Holmberg K, Olsson J. Surface characteristics and in vitro biofilm formation on glass ionomer and composite resin. *Biomaterials* 2001;22:481-487.
4. Castellini E, Lusvardi G, Malavasi G, Menabue L. Thermodynamic aspects of the adsorption of hexametaphosphate on kaolinite. *J Coll Int Sci* 2005;292:322-329.
5. Chaudhury MK. Interfacial interaction between low energy surfaces. *Mater Sci Engng* 1996;16:97-59.
6. Comyn J. Contact angles and adhesive bonding. *Int J Adhes Adhesives* 1992; 12:145-149
7. da Camara DM, Miyasaki ML, Danelon M, Sasaki KT, Delbem ACB. Effect of low-fluoride toothpastes combined with hexametaphosphate on in vitro enamel demineralization. *J Dent* 2014;42:256-262.
8. da Camara DM, Pessan JP, Francati TM, Santos Souza JA, Danelon M, Delbem AC. Synergistic effect of fluoride and sodium hexametaphosphate in toothpaste on enamel demineralization in situ. *J Dent* 2015;43:1249-1254.

9. da Camara DM, Pessan JP, Francati TM, Souza JA, Danelon M, Delbem AC. Fluoride toothpaste supplemented with sodium hexametaphosphate reduces enamel demineralization in vitro. *Clin Oral Investig* 2016;20:1981-1985.
10. Dalpasquale G, Delbem ACB, Pessan JP, Nunes GP, Gorup LF, Neto FNS, de Camargo ER, Danelon M. Effect of the addition of nano-sized sodium hexametaphosphate to fluoride toothpastes on tooth demineralization: an in vitro study. *Clin Oral Investig* 2017;21:1821-1827.
11. Danelon M, Takeshita EM, Peixoto LC, Sassaki KT, Delbem AC. Effect of fluoride gels supplemented with sodium trimetaphosphate in reducing demineralization. *Clin Oral Investig* 2014;18:1119-27.
12. Danelon, M, Takeshita, EM, Sassaki, KT, Delbem, ACB. In situ evaluation of a low fluoride concentration gel with sodium trimetaphosphate in enamel re-mineralization. *Am J Dent* 2013;26:15-20.
13. Della Volpe C, Siboni S. Some Reflections on Acid–Base Solid Surface Free Energy Theories. *J Colloid Interf Science* 1997;195:121-136.
14. do Amaral JG, Sassaki KT, Martinhon CC, Delbem AC. Effect of low-fluoride dentifrices supplemented with calcium glycerophosphate on enamel desmineralization in situ. *Am J Dent* 2013;26:75-80.
15. Favretto CO, Danelon M, Castilho FC, Vieira AE, Delbem AC. In vitro evaluation of the effect of mouth rinse with trimetaphosphate on enamel demineralization. *Caries Res* 2013;47:532-538.

16. Fiske CH, Subbarow Y. The colorimetric determination of phosphorus J. Biol. Chem 1925; 66:375-400.
17. Fowkes FM. Wetting, SCI monograph. London. Society of Chemical Industry; 1967.
18. Good RJ. Contact angle, wetting, and adhesion: a critical review. J Adhes Sci Technol 1992;6:1269-302.
19. Harnett EM, Alderman J, Wood T. The surface energy of various biomaterials coated with adhesion molecules used in cell culture. Coll Surf B: Biointerfaces 2007;55:90-97.
20. Knorr SD, Combe EC, Wolff LF, Hodges JS. The surface free energy of dental gold-based materials. Dental Materials 2005;21:272-277.
21. Moretto MJ, Delbem ACB, Manarelli MM, Pessan JP, Martinhon CCR. Effect of fluoride varnish supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion: An in situ/ex vivo study. J Dent 2013;41:1302-1306.
22. Moretto MJ, Magalhães AC, Sasaki KT, Delbem ACB, Martinhon CCR. Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. Caries Res 2010;44:135-140.
23. Nadanovsky P, Sheiham A. relative contribution of dental services to the changes in caries levels of 12-year-old children in 18 industrialized countries in the 1970s and early 1980s. Community Dent Oral Epidemiol 1995;23:331-339.
24. O'Brien WJ. Dental materials and their selection, 2nd ed. Chicago. Quintessence Publishing Co; 1997.
25. Olsson J, van der Heijde Y, Holmberg K. Plaque formation in vivo and bacterial attachment in vitro on permanently

- hydrophobic and hydrophilic surfaces. *Caries Res* 1992;26:428-433.
26. Owens DK, Wendt RC. Estimation of the surface free energy of polymers. *J Appl Polym Sci* 1969;13:1741-1747.
 27. Rølla G, Ogaard B, Cruz RA. Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review. *Int Dent J* 1991;41:171-174.
 28. Rüterman S, Beickler T, Janda R. Contact angle and surface free energy of experimental resin-based dental restorative materials after chewing simulation. *Dental Materials* 2014;30:702-707.
 29. Sipahi C, Anil N, Bayramli E. The effect of acquired salivary pellicle on the surface free energy and wettability of different denture base materials. *J Dent* 2001;29:197-204.
 30. Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem, ACB. In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. *Caries Res* 2009;43:50-56.
 31. Takeshita EM, Exterkate RA, Delbem AC, ten Cate JM. Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel de- and remineralization in vitro. *Caries Res* 2011;45:494-497.
 32. Tiveron AC, Delbem AC, Gaban G, Sasaki KT, Pedrini D. Effect of resin composites with sodium trimetaphosphate with or without fluoride on hardness, ion release and enamel desmineralization. *Am J Dent* 2013;26:201-206.
 33. Tiznado-Orozco GE, Reys-Gasga J, Elefterie F, Beyens C, Maschke U, Brès EF. Wettability modification of human tooth

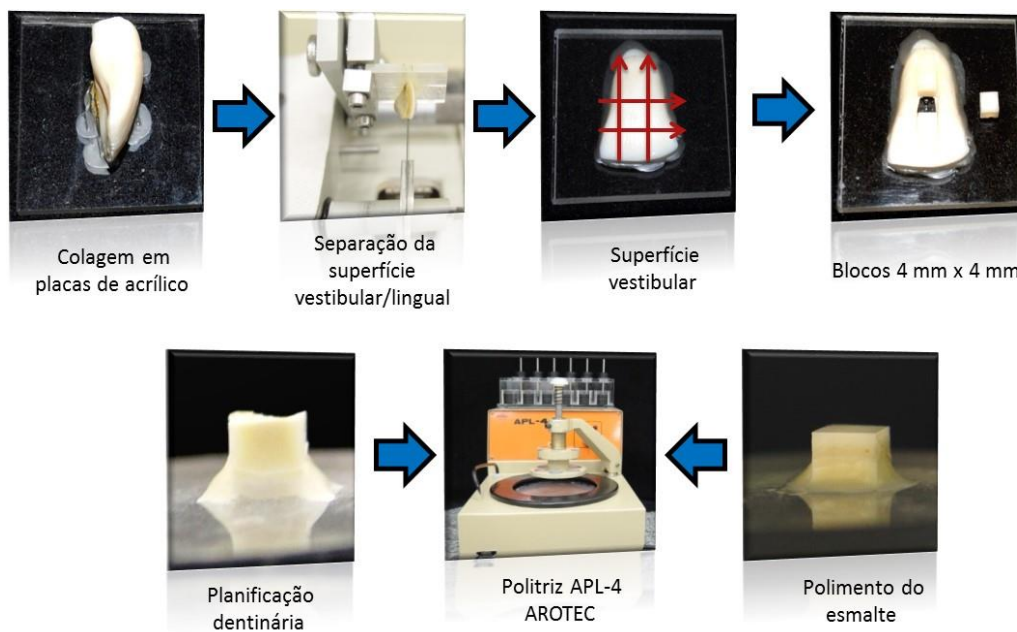
- surface by water and UV nad électron-beam radiation. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 2015;57:133-146.
34. Ueta H, Tsujimoto A, Barkmeier WW, Oouchi H, Sai K, Takamizawa T, Latta MA, Miyazaki M. Influence of an oxygen-inhibited layer on enamel bonding of dental adhesive systems: surface free-energy perspectives. *Eur J Oral Sci* 2016; 124:82-88.
 35. van der Mei HC, White DJ, Kamminga-Rasker HJ, Knight J, Baig AA, Smit J, Busscher HJ. Influence of dentifrices and dietary components in saliva on wettability of pellicle-coated enamel in vitro and in vivo. *Eur J Oral Sci* 2002;110:434-438.
 36. van Dijk JW, Borggreven JM, Driessens FC. The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel. *Arch Oral Biol* 1980;25:591-595.
 37. van Oss CJ, Chaudhury MK, Good RJ. Monopolar surfaces. *Adv Colloid Interf Sci* 1987;28:35-64.
 38. van Oss CJ, Good RJ, Chaudhury MK. Additive and nonadditive surface tension components and the interpretation of contact angles. *Langmuir* 1988; 4:884-891.
 39. van Oss CJ. Acid-base interfacial interactions in aqueous media. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 1993;78:1-49.
 40. van Oss CJ. Aspecific and specific intermolecular interactions in aqueous media. *J Mol Recognit* 1990;3:128-136.
 41. van Oss CJ. Hydrophobicity of biosurfaces – origin, quantitative determination and interaction energies. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 1995;5:91-110.
 42. van Rijkom HM, Truin GJ, van't Hof MA. A meta-analisy of clinical studies on caries-inhibiting effect of fluoride gel treatment. *Caries Res* 1998;32:83-92.

43. van Wazer JR, Campanella DA. Structure and properties of the condensed phosphates. IV. Complex ion formation in polyphosphate solutions. *J Am Chem Soc* 1950;72:655-663.
44. 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;39:514-520.
45. Vogel GL, Chow LC, Brow WL. A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples *Caries Res* 1983;17:23-31
46. Vogler EA. Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Adv Colloid Interface Sci* 1998;74:69-117.

8. Anexos

ANEXO A

PREPARO DOS BLOCOS DE ESMALTE



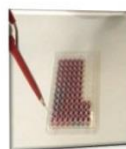
ANEXO B

DOSAGEM DE FLUORETO, CÁLCIO, FÓSFORO E HMP NAS SOLUÇÕES EXPERIMENTAIS



Fluoreto

- Eletrodo específico para F⁻; Orion 9409-BN
- Microeletrodo de referência
- Analisador de íons



5 µL da amostra,
50 µL de Água
deionizada,
50 µL de
Arsenazo III



Espectrofotômetro
de microplaca
EON, Biotek, USA



Cálcio

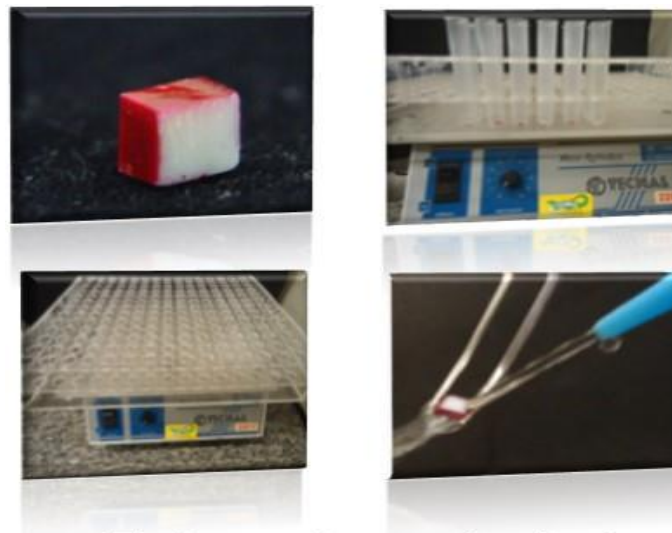


Fósforo



ANEXO C

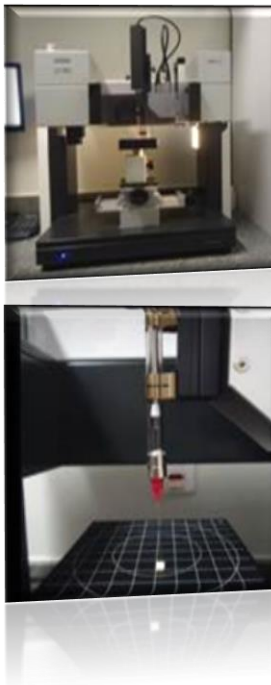
TRATAMENTO DOS BLOCOS DE ESMALTE COM SOLUÇÕES EXPERIMENTAIS



**Tratamento por 1 minuto
(1 mL/Bloco)**

ANEXO D

ANÁLISE DA ENERGIA LIVRE DE SUPERFÍCIE DO ESMALTE DENTÁRIO



Goniômetro
Automático
DAS110S, Kruse,
Germany

ANEXO E

SUBMISSÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO

You have been listed as a Co-Author of the following submission:

Journal: Surface and Coatings Technology

Corresponding Author: Alberto Delbem

Co-Authors: José Neves, Graduated; Marcelle Danelon, PhD; Juliano P Pessan, PhD; Leonardo R Figueiredo, Graduated; Emerson R Camargo, PhD;

Title: Surface free energy of enamel treated with sodium hexametaphosphate, calcium and phosphate

If you did not co-author this submission, please contact the Corresponding Author of this submission at adelbem@foa.unesp.br; adelbem@pq.cnpq.br; do not follow the link below.

An Open Researcher and Contributor ID (ORCID) is a unique digital identifier to which you can link your published articles and other professional activities, providing a single record of all your research.