



**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	<p>Santos, Sâmia Sass.</p> <p>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</p> <p>56 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba</p> <p>Orientadora: Profa. Denise Pedrini</p> <p>Orientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem</p> <p>1. Cimentos de ionômeros de vidro 2. Desmineralização do dente 3. Polimerização 4. Força compressiva 5. Fosfatos</p> <p>I. Título</p> <p>Black D27 CDD 617.645</p>
-------	--

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.

MATERIAL E MÉTODO

Preparo da mistura do CIV com CaGP

O tamanho das partículas do CaGP (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, Estados Unidos da América, dl, 50% α - e 50% β -isômero) foi padronizado em até 53 μ m de diâmetro utilizando uma peneira granulométrica acoplada a um agitador eletromagnético (Bertel Indústria Metalúrgica LTDA, Caieiras, SP, Brasil) (Anexo A). O CIV utilizado neste estudo foi o Fuji II LC (GC Corporation, Tokyo, Japão) ao qual foi adicionado o CaGP nas concentrações de 1, 3 e 9% definidas com base nos resultados obtidos por Zaze *et al.*³¹ A mistura foi homogeneizada em moinho de bolas de ágata (Planetary Micro Mill PULVERISETTE 7 classic line, Fritsch GmbH, Idar-Oberstein, Alemanha), 5 ciclos (normal/reverso) com duração de 1 minuto cada, a uma velocidade de 100 rpm (Anexo B). Para manipulação do material a proporção pó-líquido do CIV recomendada pelo fabricante (3,2 g de pó para 1,0 g de líquido) foi mantida.

Liberação de F, Ca e P dos CIVs

Confecção dos corpos-de-prova

Para cada material testado: CIV sem CaGP (CIV) e CIV com 1, 3 e 9% de CaGP, corpos-de-prova (n=6) foram confeccionados com o auxílio de uma matriz metálica bipartida (5 mm de diâmetro e 2 mm de espessura). A extremidade de um fio de aço

inoxidável de 0,25 mm de diâmetro foi posicionada no interior da matriz, previamente à inserção dos materiais, para facilitar a manipulação dos corpos-de-prova. A fotopolimerização (Blue Star 2, Microdont, Socorro, SP, Brasil) foi realizada por 20 segundos, nas superfícies superior e inferior. Após a fotopolimerização, os excessos do material foram cuidadosamente removidos (Anexo C).

Ciclagem de pH para liberação de F, Ca e P dos CIVs

Corpos-de-prova (n=6) de cada material foram colocados em tubos de ensaio de polipropileno com tampa contendo 2 mL de solução de desmineralização (DES) (Ca e P 2,0 mmol/L em tampão acetato 0,075 mol/L, em pH 4,7) e armazenados por 6 horas. Em seguida, os corpos-de-prova foram transferidos para novos tubos contendo solução de remineralização (RE) (Ca 1,5 mmol/L, P 0,9 mmol/L, KCl 0,15 mol/L em tampão Tris 0,02 mol/L, em pH 7,0) permanecendo por 18 horas.²⁰ Estes procedimentos foram repetidos durante 15 dias. Os tubos foram mantidos sob agitação constante com frequência de 120 rpm em mesa agitadora (TE-420 Orbital - Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), à temperatura de 37°C (Anexo C). Antes de serem imersos em nova solução (DES ou RE), os corpos-de-prova eram lavados com água deionizada e secos com papel absorvente. As soluções foram recolhidas diariamente, identificadas e armazenadas em tubos de ensaio de polipropileno a 4°C para leitura de F, Ca e P liberados.

Análise de F, Ca e P nas soluções DES e RE

Para a análise de F das soluções DES e RE, um eletrodo específico para íon fluoreto (9409-BN, Orion Research, Inc., Beverly, MA, Estados Unidos da América) e um microeletrodo de referência acoplados a um analisador de íons Orion 720 A (Orion Research) foram utilizados. O eletrodo de F foi previamente calibrado com soluções

padrão de 0,125 a 16 µg F/mL. Para as dosagens foram pipetadas 0,5 mL das soluções DES ou RE e acrescido 0,5 mL de TISAB II (tampão ajustador de força iônica total). As leituras foram realizadas sob agitação constante em agitador magnético (TE-081, Tecnal) (Anexo D).

O Ca foi dosado por espectrofotometria em leitor de placa (Microplate Spectrophotometer EON, Biotek, Winooski, VT, Estados Unidos da América) utilizando comprimento de onda de 650 nm, de acordo com o método descrito por Vogel *et al.*²⁵ Foi utilizada uma alíquota de 5 µL, em duplicata, tanto para os padrões como para as amostras, que foi acrescido de 50 µL de água deionizada e 50 µL de arsenazo III. Para calibração foram utilizados padrões contendo 40 a 200 µg Ca/mL (Anexo E).

A dosagem de P foi realizada de acordo com Anderson *et al.*⁴ Para tanto, 40 µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 0,05 mol/L e 40 µL de ácido periódico 1% foram adicionados a 200 µL das soluções DES ou RE. A seguir, a mistura foi mantida em banho-fervente por 1 hora. Após o esfriamento, 160 µL de água deionizada foi adicionada. Uma alíquota de 55 µL foi transferida para uma placa de 96 poços. Na sequência, adicionou-se 10 µL de sulfito de sódio 8% e 5 µL de molibdato de sódio 7%. Após homogeneização dos reagentes, foi adicionado 5 µL de hidroquinona 1%. A placa foi mantida por 30 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, o volume de cada poço foi ajustado para 250 µL com água deionizada. Assim, o P das soluções foi dosado por espectrofotometria em leitor de placa (Microplate Spectrophotometer EON, Biotek) utilizando comprimento de onda de 640 nm (Anexo E). A concentração de P determinada nas soluções DES e RE após hidrólise ácida foi subtraída da quantidade de P existente nas soluções DES (70,4 ±3,2 µg P/mL) e RE (41,3 ±2,2 µg P/mL) e o valor final considerado como a proveniente dos materiais.

Os valores obtidos foram convertidos para $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (F, Ca e P). As concentrações de F, Ca e P das soluções DES e RE foram determinadas separadamente. Posteriormente, os resultados das soluções DES e RE foram somados (DES + RE), completando um período de 24 horas e um ciclo da metodologia utilizada (ciclagem de pH), nos 15 dias analisados.

Determinação das propriedades físico-mecânicas dos CIVs

Avaliação da resistência à compressão

Doze corpos-de-prova foram confeccionados (2 mm de diâmetro x 4 mm de altura)²⁸ em matrizes de silicone de condensação (Speedex, Vigodent S.A. Indústria e Comércio, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e fotopolimerizados por 20 segundos, nas superfícies superior e inferior. Seis corpos-de-prova foram armazenados por 24 horas e outros seis por 7 dias, em estufa a 37°C, em ambiente úmido. Em seguida, foram submetidos ao ensaio de resistência à compressão em máquina de ensaio universal Instron (DL3000, Instron Co., Canton, MA, Estados Unidos da América), com célula de carga de 5 kN a uma velocidade de 1 mm/min, em posição vertical, até que ocorresse a fratura (Anexo F). A força de compressão foi medida em megapascal (MPa).

Avaliação da resistência à tração diametral

Doze corpos-de-prova foram confeccionados (6 mm de diâmetro x 3 mm de altura) em matrizes de silicone de condensação (Speedex) e fotopolimerizados por 20 segundos, nas superfícies superior e inferior. Após os períodos de armazenamento (como descrito anteriormente) foram submetidos ao ensaio de resistência à tração diametral (RTD), com célula de carga de 5 kN a uma velocidade de 1 mm/min, em posição horizontal, até que ocorresse a fratura. Para tanto, foi utilizada uma máquina de

ensaio universal Instron (DL3000, Instron Co., Canton, MA, Estados Unidos da América) (Anexo G). A tensão de tração, medida em MPa, foi calculada usando a equação: $RTD = \frac{2 \times Fr}{\pi \times d \times t}$, onde Fr é a força máxima aplicada em newtons (N), d é o diâmetro e t é a altura do espécime.²⁸

Avaliação da dureza de superfície do material

Foram confeccionados 6 corpos-de-prova com o auxílio de uma matriz metálica bipartida (5 mm de diâmetro x 2 mm de espessura) e fotopolimerizados por 20 segundos, nas superfícies superior e inferior. Após 24 horas, mantidos em recipiente plástico e em ambiente úmido (37°C), foram submetidos ao teste de dureza de superfície. O teste foi determinado utilizando microdurômetro (Micromet 5114 hardness tester, Buehler, Lake Bluff, IL, Estados Unidos da América), sob carga estática (Knoop) de 100 g por um tempo de 10 segundos. Foram realizadas 5 impressões na superfície do material distantes 500 µm entre si.²⁰ A seguir, os corpos-de-prova foram armazenados em estufa a 37°C (em ambiente úmido) e após 7 dias foi repetido o teste da dureza, sendo realizadas 5 impressões a 250 µm das realizadas em 24 horas (Anexo H).

Determinação do grau de conversão (GC) dos monômeros dos CIVs

Os CIVs (n=8) foram manipulados, inseridos entre duas lâminas de vidro, pressionados formando um filme de aproximadamente 0,12 ±0,02 mm, e fotopolimerizados por 20 segundos em cada lado da amostra. Em seguida, foram armazenados durante 24 horas e 7 dias, ao abrigo da luz, em estufa a 37°C. Após estes períodos, os filmes de CIVs foram triturados e misturados com brometo de potássio (KBr), na proporção de 1:35 (mg:mg). As misturas foram colocadas na prensa (Pike Technologies, Madison, WI, Estados Unidos da América), sob uma carga de 3

toneladas, para confecção das pastilhas, as quais foram analisadas imediatamente usando a técnica de espectroscopia no infravermelho transformada de Fourier (FTIR) (Anexo I). Os espectros de absorção no infravermelho foram obtidos pelo método de transmissão em espectrofotômetro (Nexus 670, Nicolet Instrument Corporation, Madison, WI, Estados Unidos da América), na região espectral entre 1.400 e 2.000 cm^{-1} , utilizando 128 varreduras e 4 cm^{-1} de resolução. A determinação do grau de conversão na polimerização dos CIVs foi baseada na medida da diminuição da intensidade da banda de absorção associada ao metacrilato quando o monômero é convertido em polímero. Para o material estudado e as condições de preparação das amostras, foram utilizadas as bandas de absorção associadas a vibrações de estiramento das ligações C = C do monômero e COO^- do ácido carboxílico, localizadas aproximadamente em 1640 e 1540 cm^{-1} , respectivamente. O valor do grau de conversão foi determinado utilizando a seguinte equação: $\text{GC (\%)} = \left(1 - \frac{[\text{Abs}(\text{C}=\text{C})/\text{Abs}(\text{COO}^-)]_{\text{polímero}}}{[\text{Abs}(\text{C}=\text{C})/\text{Abs}(\text{COO}^-)]_{\text{monômero}}}\right) \times 100$.

Ciclagem de desmineralização e remineralização

Preparo dos blocos de esmalte

Blocos de esmalte (4×4×3 mm) foram obtidos de incisivos bovinos e a seguir suas superfícies dentinárias foram planificadas com lixa de granulação 320 e as superfícies de esmalte foram polidas com lixas de granulação 600, 800 e 1200, carga de 4 libras, sob refrigeração a água, e polidas com feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618, Buehler) e suspensão de diamante (Metadi Monocrystalline Diamond Suspension, 1 micron, Blue Color Polish Spray, Water Base 40-6530, Buehler). Após o polimento, secções transversais foram realizadas a uma distância de 1 mm da borda do bloco, em cortadeira sob refrigeração a água deionizada, obtendo-se blocos com 4x3x3 mm. Teste

de dureza de superfície inicial (DS₁) foi realizado para seleção de 60 blocos de esmalte que apresentassem valores entre 320 a 370 KHN (Anexo J).

Ciclagem de pH

Cinco grupos experimentais (n=12), com dureza de superfície média dentro do intervalo de confiança de 338,2 a 342,8 KHN, foram determinados: placebo (sem CIV), CIV sem CaGP (CIV), CIV com 1% de CaGP (1% CaGP), 3% de CaGP (3% CaGP) e 9% de CaGP (9% CaGP). Os corpos-de-prova de cada material (3x2x1 mm) foram justapostos às bordas seccionadas dos blocos de esmalte e fixados com auxílio de cera pegajosa.¹⁹ Os conjuntos blocos/corpos-de-prova foram submetidos a 5 ciclagens de pH,²⁴ a uma temperatura de 37°C, sendo imersos nas soluções de desmineralização (6 horas - Ca e P 2,0 mmol/L em tampão acetato 0,075 mol/L, 0,04 ppm F em pH 4,7 - 2,2 mL/mm²) e remineralização (18 horas - Ca 1,5 mmol/L, P 0,9 mmol/L, KCl 0,15 mol/L em tampão cacodilato 0,02 mol/L, 0,05 ppm F em pH 7,0 - 1,1 mL/mm²). Após remoção das soluções, os conjuntos foram lavados com jatos de água deionizada por 30 segundos e secos com papel absorvente. Decorrido o 5º dia, a solução RE foi trocada, e os conjuntos permaneceram nesta nova solução por 48 horas (Anexo K).

Avaliação da dureza do esmalte

Para o teste de dureza de superfície inicial (DS₁) foi utilizado o microdurômetro, com penetrador tipo Knoop, Micromet 5114 hardness tester (Buehler e Mitutoyo Corporation, Kanagawa, Japan) e o software Buehler OmniMet (Buehler), carga estática de 25 g e tempo de 10 segundos.⁵ Foram realizadas 5 impressões no esmalte a uma distância de 300 µm da borda seccionada e 100 µm distantes entre si¹⁹ (Anexo K). Após o término da ciclagem de pH, os materiais unidos aos blocos de esmalte foram

removidos, e os blocos foram submetidos ao teste de dureza de superfície final (DS₂), utilizando a mesma metodologia do teste de DS₁ (Anexo K). O cálculo da porcentagem de perda da dureza de superfície foi feito utilizando a equação $\%DS = \frac{DS_2 - DS_1}{DS_1} \times 100$.

Análise de F, Ca e P no esmalte

Metade de cada bloco (2x3x3 mm) foi seccionado para obtenção de um bloco 2x1x3 mm e submetido ao procedimento de microabrasão utilizando lixa auto-adesiva (granulação 400, Silicon-Carbide, Buehler) em frasco de poliestireno cristal (J-10, Injeplast, São Paulo, SP, Brasil), baseado na metodologia proposta por Alves *et al.*¹ Após a remoção de uma camada de aproximadamente 50 µm de esmalte de cada bloco foi acrescentado 0,5 mL de HCl 1,0 mol/L no interior dos frascos. Estes foram mantidos sob agitação constante por 1 hora em mesa agitadora (TE-420 Orbital, Tecnal). Para análise de F foi utilizado o eletrodo específico para íon fluoreto Orion 9409-BN (Orion Research, Inc.), e eletrodo de referência 900100 (Orion Research, Inc.), previamente calibrados com soluções padrão (0,16 a 2,56 µg F/mL), acoplados a um analisador de íons Orion 720 A (Orion Research, Inc.) (Anexo L). Para determinação em duplicata do F, uma alíquota de 0,04 mL da amostra foi tamponada com 0,04 mL de TISAB II + NaOH. Para as dosagens de Ca e P, as amostras foram diluídas (1:10) e neutralizadas. O Ca foi determinado pelo método colorimétrico utilizando-se Arsenazo III, como descrito por Vogel *et al.*²⁵ Uma alíquota de 5 µL dos padrões e 10 µL das amostras foram dispostas em placas de 96 poços (Placa para cultura de células de fundo chato - Modelo 92096 – TPP, Switzerland) em duplicata; a seguir, 50 µL de água deionizada e de Arsenazo III foram adicionadas. Na sequência, as placas foram acopladas em leitor de placas (Microplate Spectrophotometer EON, Biotek), utilizando comprimento de onda de 650 nm. Para calibração, foram utilizados padrões contendo 40 a 200 µg Ca/mL

(Anexo L). O P foi determinado de acordo com o método colorimétrico descrito por Fiske & Subbarow,¹⁰ utilizando uma alíquota de 50 µL das amostras e 100 µL dos padrões em duplicata, 50 µL de molibdato e 20 µL de reativo redutor. Padrões contendo 1,5 a 24 µg P/mL foram utilizados. As leituras foram realizadas em duplicatas utilizando leitor de placas (Microplate Spectrophotometer EON, Biotek) no comprimento de onda de 660 nm (Anexo L). Os valores foram expressos em µg/mm³ (F, Ca e P).

Análise estatística

Os dados de liberação de F, Ca e P nas soluções DES e RE foram considerados como variáveis e, para as propriedades físico-mecânicas, foram a tração diametral, compressão, dureza dos materiais e grau de conversão. Nesses ensaios, o material e o tempo foram considerados como fatores de variação. As variáveis de liberação e de propriedades físico-mecânicas apresentaram distribuição normal (Teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Teste de Cochran) e foram submetidas à análise de variância (2-critérios) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Os valores de DS₂, %DS e F, Ca e P no esmalte foram considerados como variáveis da ciclagem de pH e o material como fator de variação. Após confirmação da distribuição homogênea, as variáveis foram submetidas à análise de variância (1-critério) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls. Todas as análises foram realizadas com o programa SigmaPlot versão 12.0 com limite de significância de 5%.

RESULTADOS

Os maiores valores de liberação de F nas soluções de ciclagem foram observados no primeiro dia para todos os grupos (p<0,001). O grupo 9% CaGP apresentou maior

valor total de F liberado ($p < 0,001$), seguido pelo grupo 3% CaGP. A partir do décimo segundo dia todos os grupos apresentaram liberação constante (Figura 1A). Maior liberação de Ca ocorreu no primeiro dia ($p < 0,001$) e diminuiu ao longo do tempo para os CIVs contendo CaGP. Os maiores valores totais foram liberados no grupo de 9% CaGP ($p < 0,001$) seguido do 3% CaGP (Figura 1B). Quanto à liberação de P pelos materiais nas soluções de ciclagem, o grupo 9% CaGP apresentou maior liberação no primeiro dia ($p < 0,001$) quando comparado aos demais grupos. O maior valor total foi apresentado pelo grupo 9% CaGP ($p < 0,003$) seguido dos grupos 1 e 3% CaGP. Todos os grupos mostraram um padrão similar de liberação, com períodos de aumento e diminuição (Figura 1C). Subtraindo os valores de P liberado pelo CIV dos grupos com CaGP observa-se a quantidade de P proveniente do CaGP (Figura 1D) que foi maior no grupo com 9% ($p < 0,042$). Houve correlação positiva entre a liberação de F e de Ca dos materiais (Pearson's $r = 0,890$; $p < 0,001$), porém não houve correlação destes íons com a liberação do P.

A resistência à compressão não alterou entre os períodos (24 horas e 7 dias) em todos os grupos. Os grupos CIV e 1% CaGP apresentaram maiores valores ($p < 0,001$) seguidos dos grupos 3% e 9% CaGP (Tabela 1). Os maiores valores de tração diametral foram observados no período de 7 dias quando comparado a 24 horas ($p < 0,001$), sem diferença entre os grupos ($p > 0,060$). Os grupos CIV e de 1% CaGP apresentaram os maiores valores no tempo de 24 horas ($p < 0,029$) quando comparados com os grupos 3% e 9% CaGP (Tabela 1). Na análise de dureza de superfície dos materiais, os grupos CIV, 1% e 3% CaGP apresentaram valores semelhantes entre si ($p > 0,362$) e maiores quando comparado com grupo de 9% CaGP ($p < 0,001$) no tempo de 24 horas. O grupo 9% CaGP apresentou maior dureza quando comparado aos demais grupos ($p < 0,001$) no

tempo de 7 dias (Tabela 1). O grau de conversão não diferiu entre os grupos nos tempos de 24 horas e 7 dias ($p>0,439$) (Tabela 1).

A avaliação da dureza do esmalte após ciclagem de pH mostrou que o grupo placebo apresentou maior perda mineral (DS_2 e %DS) quando comparado aos demais grupos ($p<0,001$). O CIV apresentou perda mineral similar ao grupo 1% CaGP ($p>0,119$). A adição de 9% CaGP ao CIV levou a menor perda mineral em relação aos demais grupos ($p<0,003$) seguido pelo 3% CaGP ($p<0,003$) (Tabela 2). O F presente no esmalte foi semelhante entre os grupos CIV e 1% CaGP ($p=0,963$). O grupo 3% CaGP apresentou maior valor de F presente no esmalte ($p<0,004$) quando comparado aos demais grupos (Tabela 2). O CIV com 9% CaGP apresentou maiores valores de Ca presente no esmalte quando comparados aos demais grupos ($p<0,017$). Os grupos 3% e 9% CaGP apresentaram valores de P presente no esmalte semelhantes ($p>0,399$) e maiores que os demais grupos ($p<0,022$) (Tabela 2). Os grupos placebo, CIV e 1% CaGP apresentaram resultados similares de Ca ($p>0,096$) e P ($p>0,306$) (Tabela 2).

DISCUSSÃO

O delineamento experimental do presente estudo *in vitro* permitiu verificar que a adição do CaGP ao CIV aumentou a liberação de F, reduziu suas propriedades físico-mecânicas e a perda mineral do esmalte. Estas alterações foram dependentes da concentração de CaGP adicionada ao CIV. Assim, a hipótese nula foi totalmente rejeitada. A adição de 3% CaGP, apesar de reduzir a resistência à compressão, não interferiu nas demais propriedades físico-mecânicas e aumentou a resistência a desmineralização em 47% em relação ao CIV.

A menor perda mineral com a adição de CaGP ao CIV, observada com as concentrações de 3% e 9%, está relacionada a maior liberação de F e Ca a partir destes

materiais. Este fenômeno produz um meio supersaturado em relação a hidroxiapatita e fluorapatita⁹ com ação na perda mineral. Como consequência ocorre um aumento da presença de F, Ca e P no esmalte que explica a menor perda mineral nestes grupos. A maior disponibilidade destes íons no meio leva a maior incorporação no esmalte.^{3,20,22} A maior liberação de F e Ca produzida pelos CIVs com CaGP pode ser explicada pela grande disponibilidade de Ca no interior da matriz a partir do glicerofosfato. Provavelmente, parte do Ca proveniente do CaGP reaja com as cadeias aniônicas dos poliácidos da mesma forma como ocorre com o Ca das partículas de fluoraluminossilicato de cálcio. Poderia-se inferir que durante a reação ácido-base isto reduziria o ataque dos poliácidos às partículas vítreas o que afetaria a liberação do F ou que a grande quantidade de Ca levaria a formação de fluoreto de cálcio na matriz retendo o F. Entretanto, o que se observa é um aumento da liberação de F e Ca com o aumento da concentração de CaGP no CIV. A hipótese é que o Ca se ligue ao F formando íons de CaF^+ que são facilmente liberados para o meio. Esta afirmação é suportada pela correlação forte existente entre a liberação de F e de Ca dos materiais.

A liberação de P não foi correlacionada às liberações de Ca e F, pois apresentou um padrão de liberação diferente destes últimos. O padrão observado foi em função da absorção de P das soluções de DES-RE, pois não há P na composição do ionômero, com períodos de absorção e de liberação de P (Figura 1C e 1D). Este mesmo padrão pode ser observado para o Ca a partir do 7º dia de experimento (Figura 1B), porém não ocorreu com o F, pois as soluções DES-RE não contêm este íon (Figura 1A). Quando se subtrai os valores de P liberados pelo CIV dos grupos com CaGP, observa-se pouca liberação deste íon (Figura 1D) o que comprova que o P liberado provém das soluções DES-RE. Provavelmente, o glicerofosfato fica preso na matriz através das ligações de Ca ao poliácido, como cargas na matriz de gel de polissais. As alterações observadas

nas propriedades físico-químicas, principalmente com a concentração de 9% CaGP, deve-se ao fato do fosfato orgânico interferir na reação ácido-base já que o grau de conversão do monômero não foi alterado com a adição do CaGP.

A adição de CaGP provocou uma diminuição das propriedades mecânicas nas primeiras 24 horas, principalmente na concentração de 9%. De acordo com literatura, os maiores valores analisados para tração (15,7 - 35,9 MPa),^{12,23,26,27} compressão (137,7 - 228,2 MPa)^{12,17,26,27} e dureza (64,7 - 89,4 KHN)^{6,16} foram analisados após 24 horas do preparo da amostra. No presente estudo, os valores obtidos (Tabela 1) para o CIV e CIV com 1% e 3% CaGP apresentam-se próximo da variação para este material, porém com a adição de 9% CaGP apresentaram redução 54% (tração), 54% (compressão) e 26% (dureza), após 24 horas. Os CIVs com o passar do tempo aumentam suas propriedades mecânicas, devido a reação ácido-base tardia que ocorre com o material.⁸ A adição do CaGP retarda a reação entre o ácido poliacrílico e as partículas de vidro, pois o glicerofosfato deverá consumir H⁺ e aumentar a quantidade de Ca²⁺ na reação ácido-base nas primeiras 24 horas. Desta forma, o glicerofosfato age como carga na matriz juntamente com o fluoraluminosilicato de cálcio, já que parte do pó foi substituída pelo fosfato orgânico. Assim, a ação em reduzir a perda mineral é devido a grande liberação de Ca e F no meio sem que ocorra a formação de uma barreira com a adsorção do CaGP ao esmalte que reduziria a difusão de ácidos.^{30,31}

Apesar de apresentar menor capacidade de reduzir a perda mineral que 9% CaGP, a adição de 3% de CaGP produziu resultados melhores que o CIV. Isto é explicado pela maior presença de F no esmalte, bem como, no aumento de Ca e P em 60% em relação ao CIV. No grupo com 9% CaGP, a maior presença de Ca juntamente com o aumento de F e P produziu menor perda mineral devido a maior liberação de Ca e F do material. Entretanto, uma maior disponibilidade de Ca no meio pode levar a menor presença de F

no esmalte³¹ como observado no presente estudo comparando os grupos 3% e 9% CaGP (Tabela 2). Assim, uma adequada quantidade de fosfato orgânico pode ser adicionada ao pó do ionômero de vidro modificado por resina melhorando o efeito contra a desmineralização com mínimas alterações nas suas propriedades físico-mecânicas.

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).

Tabela 1: Valores médios (DP) da resistência à compressão, tração diametral, dureza de superfície e grau de conversão de acordo com os grupos

Grupos	Compressão (MPa)		Tração diametral (MPa)		Dureza de superfície (Knoop)		Grau de conversão (%)	
	24 horas	7 dias	24 horas	7 dias	24 horas	7 dias	24 horas	7 dias
CIV	196,5 ^{a,A} (13,6)	210,3 ^{a,A} (8,7)	16,0 ^{a,A} (5,3)	25,2 ^{a,B} (4,7)	59,7 ^{a,A} (2,5)	69,4 ^{a,B} (6,9)	64,6 ^{a,A} (3,8)	64,7 ^{a,A} (1,6)
1% CaGP	190,6 ^{a,A} (15,9)	197,0 ^{a,A} (12,5)	13,4 ^{a,A} (2,3)	23,1 ^{a,B} (2,7)	60,6 ^{a,A} (4,7)	62,7 ^{a,A} (6,5)	65,7 ^{a,A} (2,8)	71,9 ^{a,A} (4,5)
3% CaGP	156,9 ^{b,A} (7,9)	149,7 ^{b,A} (17,9)	9,5 ^{b,A} (1,8)	22,8 ^{a,B} (1,0)	63,5 ^{a,A} (5,8)	68,7 ^{a,A} (5,4)	61,1 ^{a,A} (6,1)	66,5 ^{a,A} (1,6)
9% CaGP	90,3 ^{c,A} (11,1)	99,9 ^{c,A} (5,7)	7,4 ^{b,A} (0,6)	20,7 ^{a,B} (2,6)	43,9 ^{b,A} (3,2)	110,9 ^{b,B} (6,9)	62,1 ^{a,A} (0,4)	63,4 ^{a,A} (7,5)

Letras minúsculas distintas mostram diferença estatística entre os grupos e letras maiúsculas distintas mostram diferença estatística entre os tempos, em cada análise (Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$).

Tabela 2: Valores médios (DP) obtidos das análises nos blocos de esmalte (n=12) após a ciclagem de pH de acordo com os grupos

Grupos	Análises				
	DS ₂ (KHN)	%DS	F (µg/mm ³)	Ca (µg/mm ³)	P (µg/mm ³)
Placebo	39,6 ^{a*} (14,8)	-88,3 ^a (4,5)	0,07 ^a (0,01)	621,6 ^a (111,1)	466,9 ^a (102,1)
CIV	213,7 ^b (29,9)	-37,1 ^b (8,7)	1,93 ^b (0,63)	606,7 ^a (149,9)	410,6 ^a (77,9)
1% CaGP	201,4 ^b (23,6)	-41,1 ^b (5,8)	1,86 ^b (0,39)	743,5 ^a (188,8)	493,1 ^a (190,8)
3% CaGP	274,7 ^c (16,4)	-19,5 ^c (5,9)	3,37 ^c (0,79)	974,2 ^b (157,8)	645,5 ^b (142,6)
9% CaGP	302,3 ^d (17,4)	-11,1 ^d (5,1)	2,52 ^d (0,93)	1276,3 ^c (413,2)	734,9 ^b (289,3)

*Letras distintas mostram diferença entre os grupos para cada análise (DS₂, %DS, F, Ca e P: Student-Newman-Keuls, $p < 0,001$).

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.

Legenda da Figura:

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, $p < 0,001$).

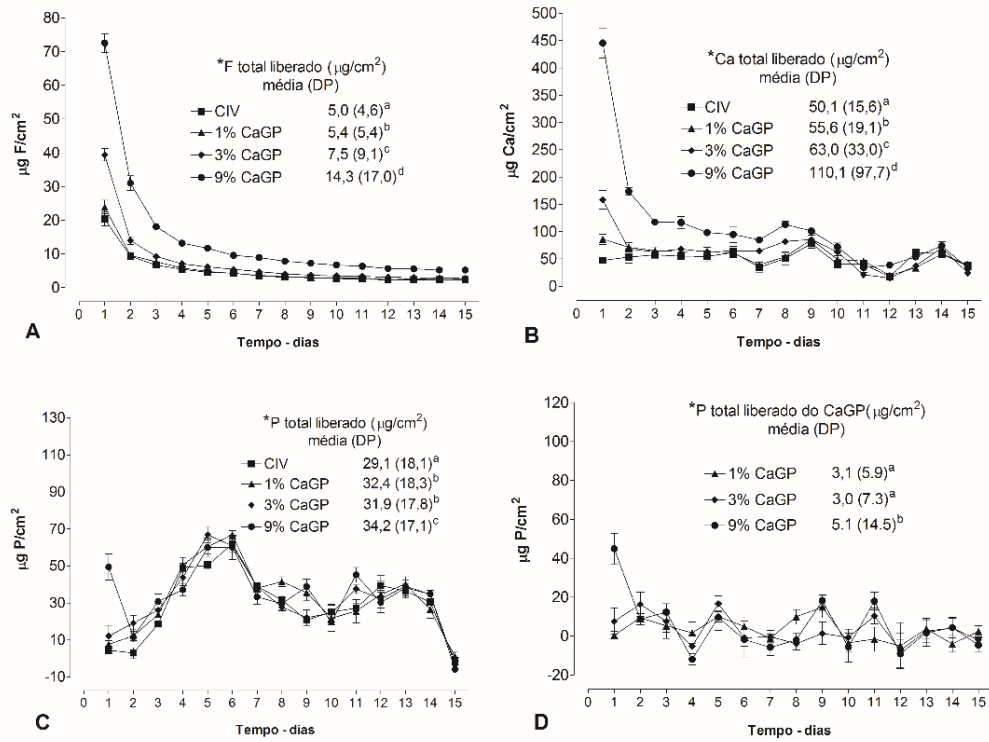


Figura 1

Anexos

Anexo A

Preparo do CaGP



Peneiras granulométricas aclopadas ao agitador eletromagnético para padronização das partículas de CaGP (53 µm)

Anexo B

Preparo da mistura do CIV com o CaGP



CIV – Fuji II LC



CaGP



Pesagem dos materiais

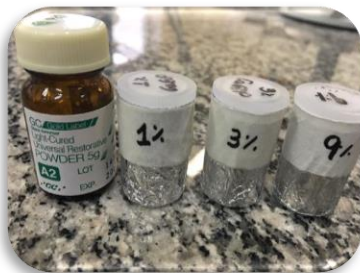
↓ CaGP + CIV



Mistura dos materiais



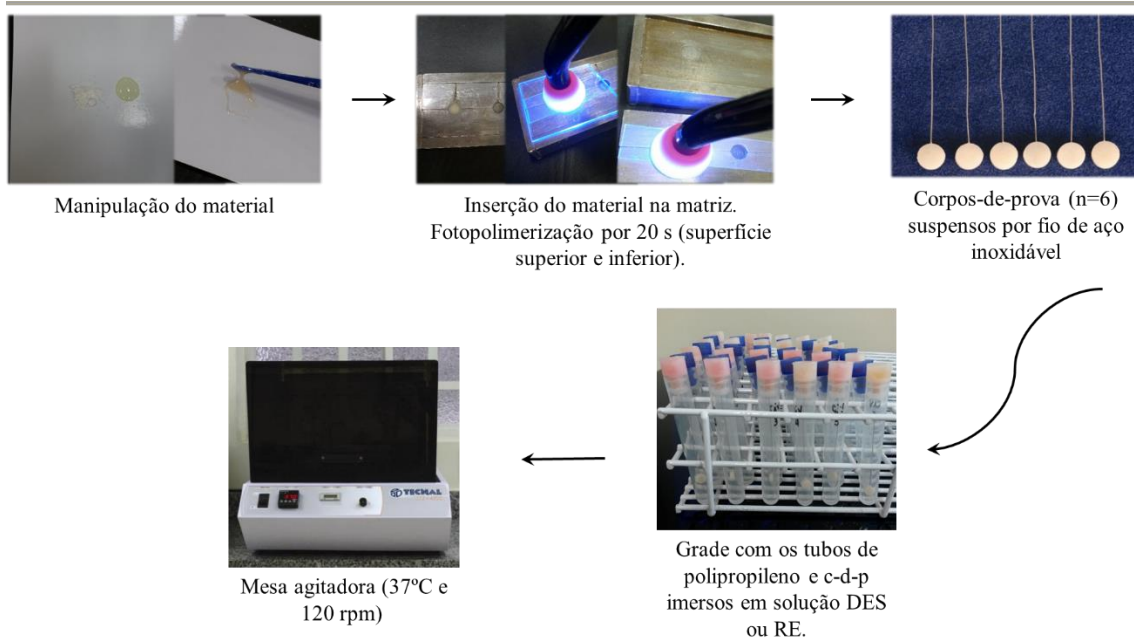
Homogeneização da mistura



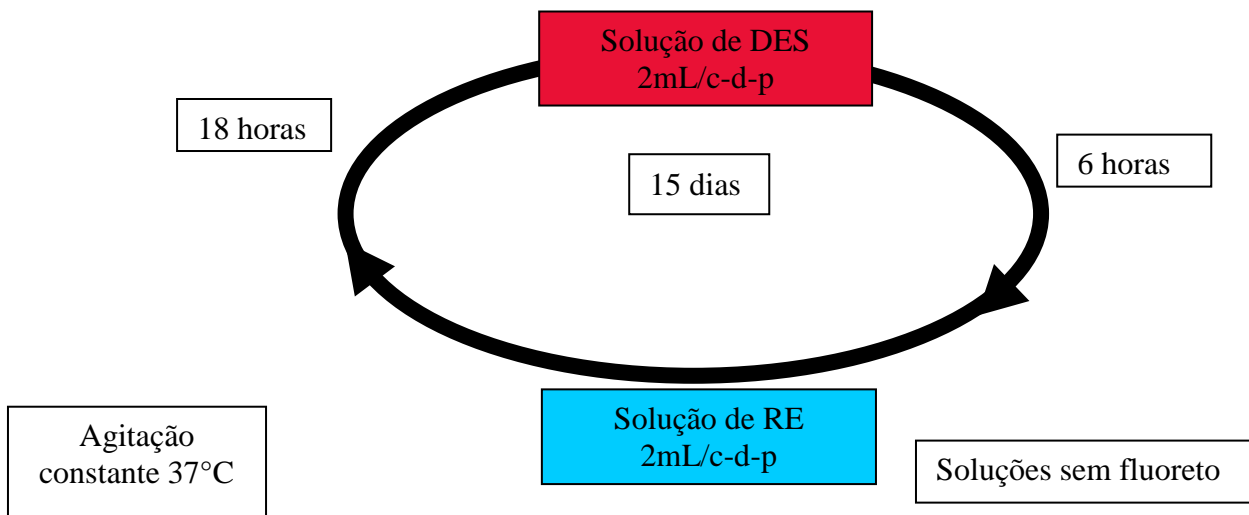
Grupos:
CIV, 1%, 3% e 9% de CaGP

Anexo C

Liberação de F, Ca e P dos materiais



Ciclagem dos materiais para dosar as concentrações de F, Ca e P das soluções DES e RE



Anexo D

Análise da liberação de F dos materiais

Dosagem de F das soluções DES e RE



Soluções padrão para calibração do eletrodo



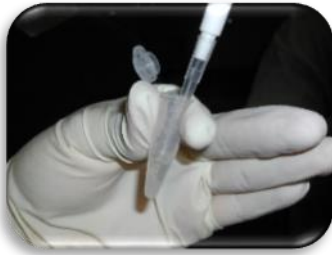
Eletrodo específico para íon F.
Leituras realizadas sob
agitação constante



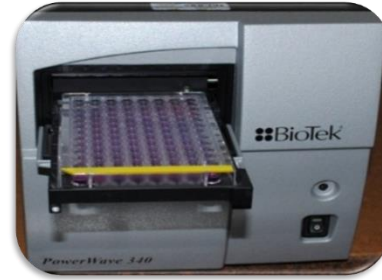
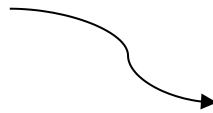
0,5 mL da solução
DES ou RE
+
0,5 mL de TISAB II

Anexo E

Análise da liberação de Ca dos materiais



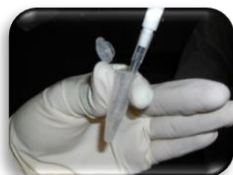
5 µl da solução
+
50 µl de água deionizada
+
50 µl de arsenazo III



Leitor de placas.
Espectrofotometria utilizando
comprimento de onda de 650 nm.
Método descrito por Vogel et al.,
1983.

Análise da liberação de P dos materiais

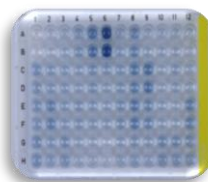
40 µL H₂SO₄
+
40 µL ácido periódico 1%
+
200 µL das soluções DES ou RE



Esfriamento
+
160 µL de água deionizada



Banho fervente por 1 hora



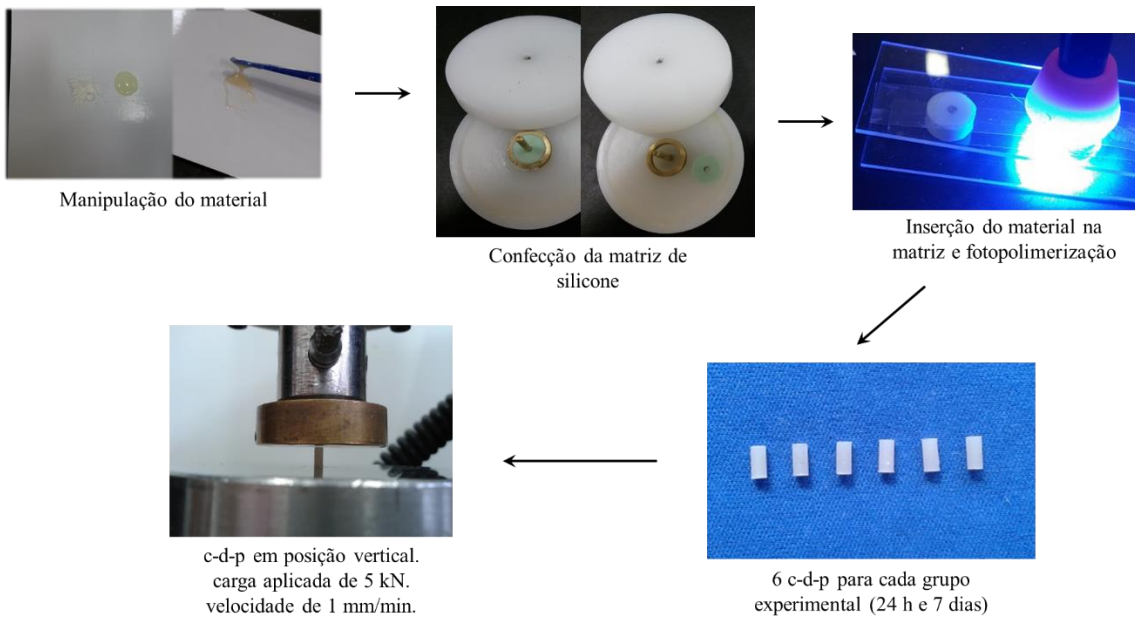
10 µL sulfito de sódio 8%
+
5 µL molibdato de sódio 7%
Homogeneização
+
5 µL hidroquinona 1%
Placa 30 minutos à temperatura
ambiente



Leitor de placas
Comprimento de onda 640 nm

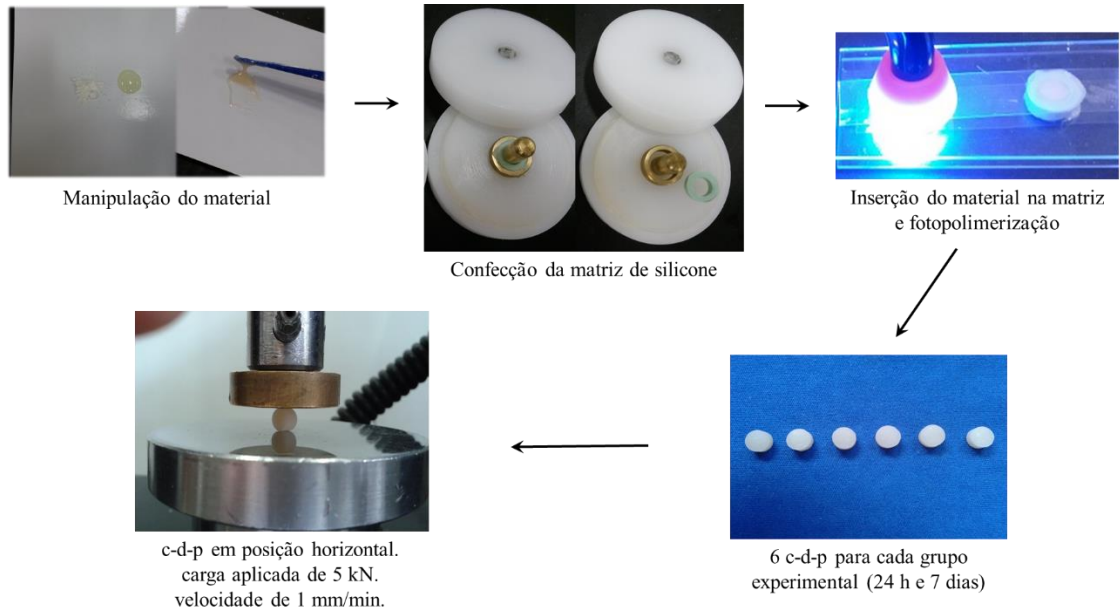
Anexo F

Avaliação da resistência à compressão



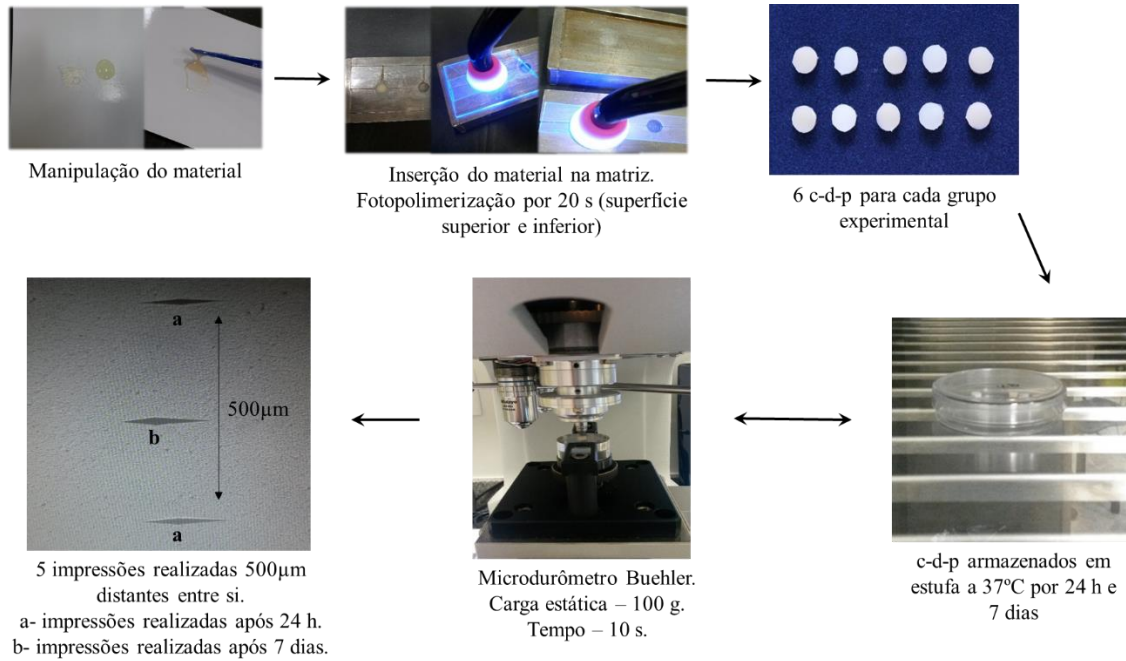
Anexo G

Avaliação da resistência à tração diametral



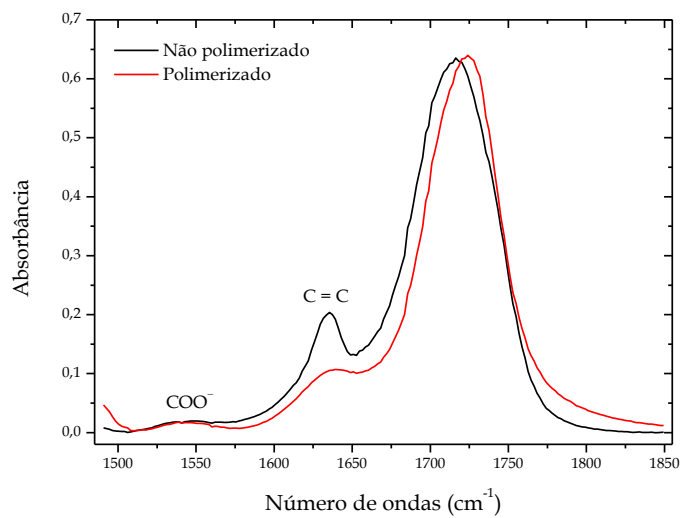
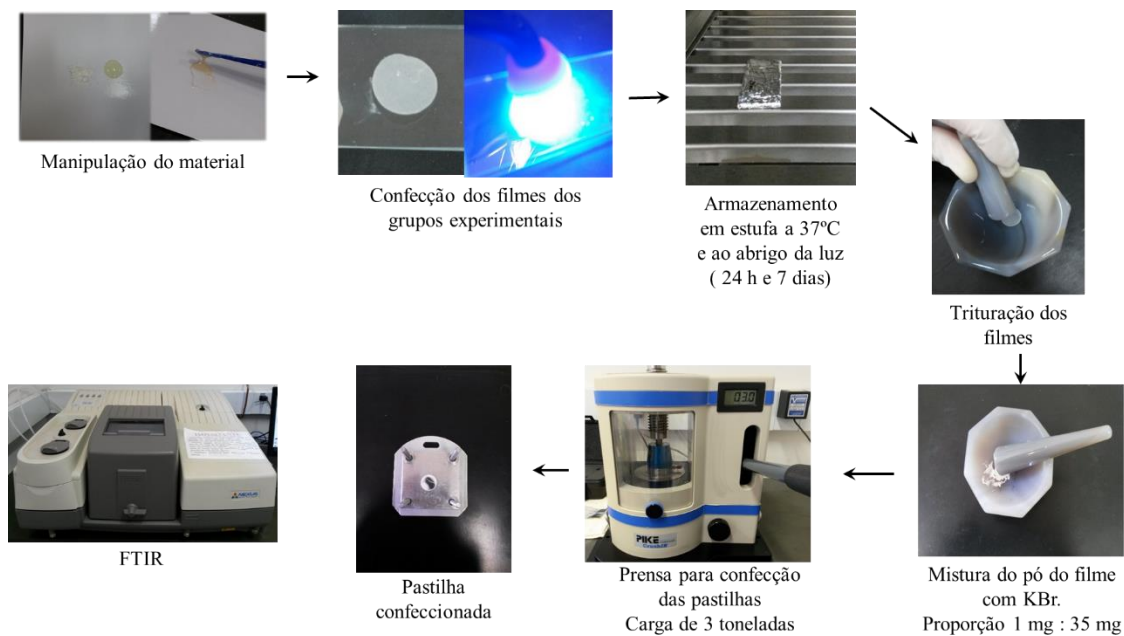
Anexo H

Teste da dureza de superfície dos materiais



Anexo I

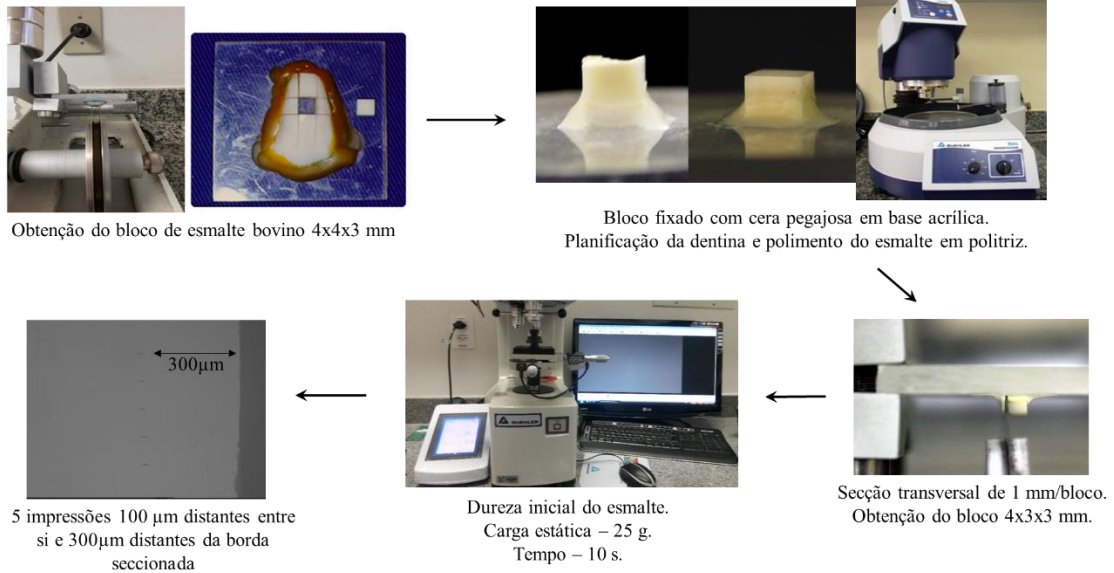
Determinação do grau de conversão dos monômeros dos CIVsug



Região espectral mostrando as duas bandas de absorções utilizadas para estudar o grau de conversão.

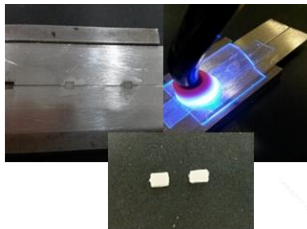
Anexo J

Preparo e seleção dos blocos de esmalte



Anexo K

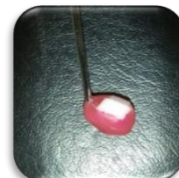
Confecção dos corpos-de-prova, ciclagem de pH (DES>RE) e dureza de superfície



Confecção dos c-d-p



Uniao do bloco de esmalte bovino ao c-d-p com auxílio de cera pegajosa

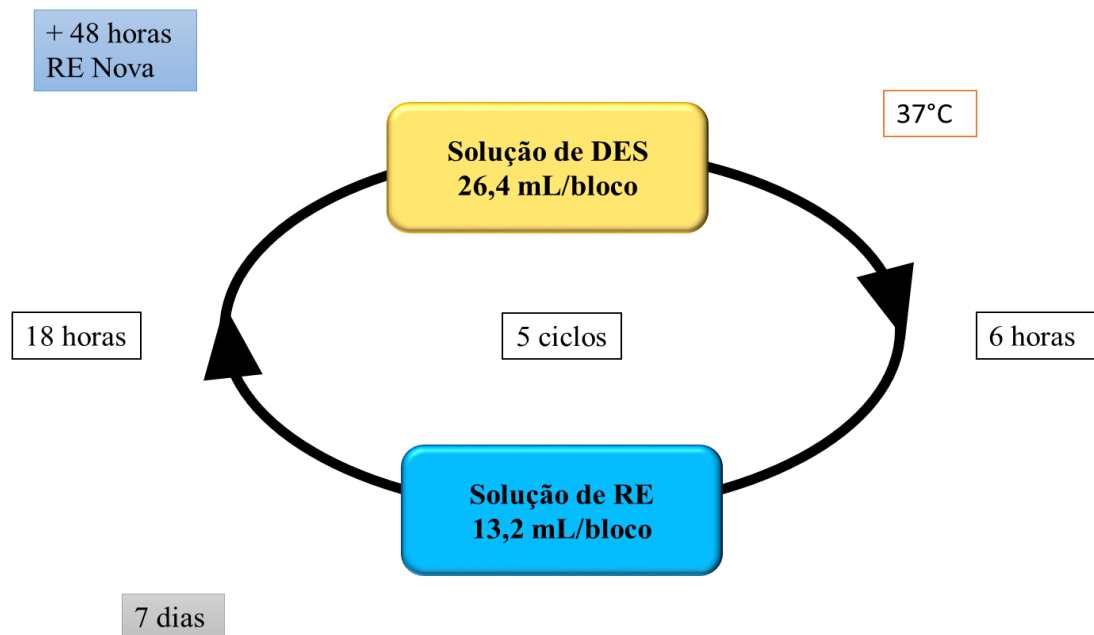


Bloco de esmalte e c-d-p isolados com esmalte de unha e fixados à haste metálica com cera



Blocos imersos em solução DES ou RE em estufa a 37°C

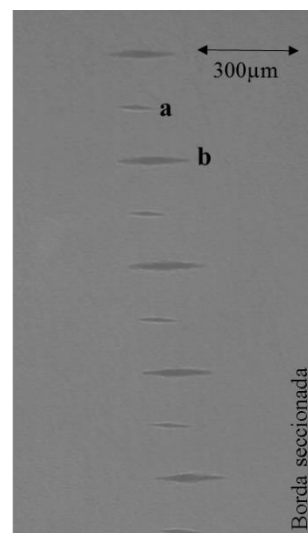
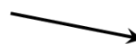
Ciclagem de pH



Vieira et al., 2005



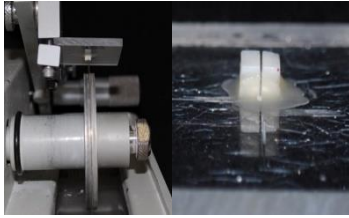
Dureza final.
Carga estática de 25 g
Tempo de 10 s



Impressões realizadas antes
e após ciclagem
a – dureza inicial
b – dureza final

Anexo L

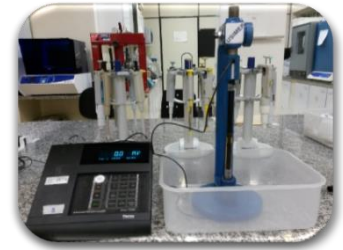
Análise de F, Ca e P do esmalte



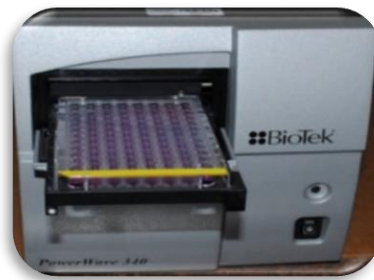
Secção dos blocos longitudinalmente ao meio



Microabrasão.
Remoção de uma camada de 50 μm com lixa adesiva de granulação 400 adaptada ao frasco J-10



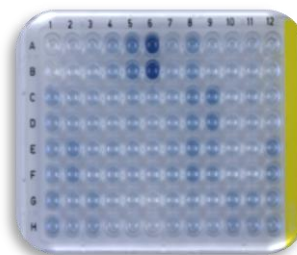
Eletrodo específico Orion 9409-BN e eletrodo de referência, acoplados ao analisador de íons 720A, para a leitura de F presente no esmalte



Leitor de placas.
Método colorimétrico para a dosagem de Ca, utilizando arsenazo III, descrito por Vogel et al., 1983. As leituras em duplicata. No comprimento de onda de 650 nm.



Leitor de placas. Método colorimétrico para dosagem de P, descrito por Fiske & Subbarow, 1925



As leituras em duplicata. No comprimento de onda de 660 nm.