

MAURÍCIO BERGAMASCHI

**Validação do modelo de ciclagem de
pH e avaliação da efetividade de
dentifrícios suplementados com
cálcio e fosfato e baixa concentração
de flúor.**

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia do Campus de Araçatuba –
UNESP, para obtenção do Título de
“Doutor em Odontopediatria”

Orientador: Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem

ARAÇATUBA
2003

DADOS CURRICULARES

Nascimento.: 15.06.1970 – LINS/SP

Filiação.....: Edgard Bergamaschi

Inez Pilar da Costa Bergamaschi

1988/1991.....: Curso de Graduação em Odontologia pela Faculdade de Odontologia de Lins

1993/1995.....: Professor auxiliar de ensino das Disciplinas de Odontopediatria I e II da Faculdade de Odontologia de Lins.

1994/1995.....: Curso de Especialização em Odontopediatria, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP

- 1995.....: Curso de Graduação de Professores da Parte de Formação Especial do Currículo do Ensino do 2º Grau, nas Disciplinas de Anatomia e Escultura Dental, Prótese Odontológica e Material de Prótese do Instituto Americano de Lins da Igreja Metodista
- 1995/1998....: Professor Assistente das Disciplinas de Dentística Operatória I e II da Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP
- 1995/2003....: Professor assistente das Disciplinas de Odontopediatria I e II da Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP.
- 1999/2000....: Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP
- 2001/2003....: Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria, nível de Doutorado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

À Deus, presente entre nós, por nos ter dado condições de alcançar este momento inesquecível.

Aos meus pais, Edgard e Inez, exemplos do que é um alicerce dentro da família, que tudo fizeram nesta vida para que nunca não nos faltasse nada, com muito amor, respeito, dignidade.

Ao meu irmão, Edgard Júnior, amigo de todas as horas, pelo carinho, elogios, ajuda e incentivo.

Às minhas avós Pilar e Wilma e demais familiares, pelo carinho, torcida e orações pelo meu sucesso.

À minha namorada, Helô, quem eu amo muito, ponto de apoio e de incentivo nos momentos mais difíceis que passei, pela ajuda dispensada em várias situações e pela paciência que teve comigo em muitas ocasiões.

À família da minha namorada, Sr. Luís, D. Maria, Vó Nica, Guto, Luciane, Henrique, Marina, Fernando e Sheilla, pela torcida e incentivo.

DEDICATÓRIA

Nunca esquecerei o que fizeram por mim.....

o meu orientador, **Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem**, responsável por mais esta etapa por mim alcançada, exemplo incontestável de professor, orientador incomparável, pessoa iluminada, inteligente, sempre pronta a ajudar não somente os seus orientados mas também a quem o procura, nunca medindo esforços independentemente das situações existentes, extremamente dedicado ao que faz, pesquisador ímpar, e que daqui somente levo lições e momentos positivos, além é claro de um grande amigo.

a **Prof. Dra. Kikue Takebayashi Sasaki**,
docente responsável pela disciplina de **Bioquímica**, pessoa
extremamente capaz, pela disponibilidade, auxílio, atenção e
paciência a mim dispensada em todos os momentos necessários, e que
não foram poucos.

À Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, nas pessoas do seu Diretor Prof. Dr. Paulo Roberto Botacin e Vice-Diretor Prof. Dr. Célio Percinoto, por proporcionar a realização desta pesquisa e pelos anos de pós-graduação e crescimento profissional que alcancei.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Prof. Dr. Célio Percinoto, Prof. Dr. Robson Frederico Cunha, Profa. Dra. Rosangela Santos Nery, Profa. Dra. Sandra Maria Herondina Coelho Ávila de Aguiar, pela orientação, confiança, incentivo, convivência e amizade.

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, por todos os ensinamentos ministrados e ótima convivência.

Aos amigos do Laboratório, Ana Elisa de Mello
Vieira, Carlos Eduardo Shimabucoro, Edo Hirata, Eliana Rodrigues,
Fernanda Lourenção Brighenti, Gilberto Carlos Tiano, Kélio Garcia Silva,
muito obrigado pela amizade, companheirismo, apoio e ajuda fundamental em
vários momentos dentro do laboratório.

*À Profa. Dra. Denise Pedrini, pela orientação,
apoio e rica convivência .*

Às colegas da minha turma do Curso de Doutorado,
Alessandra Maia de Castro, Cíntia Megid Barbieri, Fabíola Lemos
Melhado, Karina Silva Moreira Macari, e Leila Maria Cesario Pereira
Pinto, pela amizade e apoio nesta caminhada em comum.

Aos alunos do atual Curso de Doutorado em
Odontopediatria, Daniela Maria Carvalho Pugliesi, Edo Hirata, Fátima
Ioko Mochidome e Sueli Satomi Murata, pelo relacionamento durante o curso.

Aos alunos do atual Curso de Mestrado em Odontopediatria, Fernanda Lourenção Brighenti, Kélio Garcia Silva, Karina Gerhardt Bianco, Karine Takahashi, Mariana Machado Teixeira de Moraes Costa e Rebeca Lima Afonso, pelo relacionamento durante o curso.

Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Cleide Silva de Oliveira, Maria Bertolina Mesquita de Oliveira, Maria dos Santos Ferreira Fernandes e Mário Luis da Silva, pelo profissionalismo, colaboração e amizade.

A todos os funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Alexandra Bento, Ana Cláudia Grieger Manzatti, Cláudia de Souza Frare, Cláudio Hideo Matsumoto, Helena Sumika Sanomiya Otsuki, Isabel Pereira de Matos, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luzia Anderlini, Maria Cláudia de

Castro Benez, Marina Alves dos Santos, pela atenção e eficiência com que sempre me atenderam.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Francisco Inácio Pinheiro, Adélia Barreto Claro da Silva e Marina Midori Sakamoto Hawagoe, pelo excelente profissionalismo, atenção dispensada e ótimo relacionamento.

A todos os demais professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, pela ajuda e atenção que me dispensaram.

Ao Prof. Dr. José Roberto Monteiro de Moraes, professor da Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP, pelo incentivo, respeito e confiança em mim depositada.

Aos docentes da Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP, Profa. Dra. Kátia Cristina Salvi de Abreu e Prof. Dr. Paulo César Pereira Perin, pelo incentivo e ajuda.

Ao Prof. Dr. Carlos Wagner de Araújo Werner, Diretor da Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP, pelo apoio e incentivo.

Ao Prof. Dr. Marco Polo Marchese, Coordenador da Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP, pelo apoio e incentivo.

Aos demais docentes e funcionários da Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP, pelo incentivo e ajuda.

À Faculdade de Odontologia de Lins - UNIMEP, responsável pela minha formação superior.

Ao Frigorífico Bertin, na pessoa do médico-veterinário, Sr. Paulo Lopes, sempre pronto a colaborar, pela cessão dos dentes bovinos, sem os quais não realizaria este importante trabalho e que me ajudou durante toda a pós-graduação.

À Prefeita Municipal de Lins, Profa. Valderez Vegiato Moia, pelo apoio e incentivo recebido.

Aos Cirurgiões Dentistas, Adriana Moia Martelli e Luís Eduardo Silva de Almeida, à Diretora da UBS CAIC “João Alves da Costa” Sra. Rosana Maria do Vale Barreira Penques, e demais Funcionários desta UBS e da Secretaria Municipal de Saúde pelo apoio e companheirismo.

Ao amigo Leandro Grangel, pelo incentivo e ajuda na preparação de materiais utilizados no laboratório.

Às colegas da turma anterior do curso de Doutorado em Odontopediatria, Dione Dias Torriane, Farli Aparecida Carrilho Boer, Kátia Cristina Salvi de Abreu, Maria Librada Godoy Silveira, Silvana Fiche da Mata Gonçalves e Wanda Terezinha Garbeline Frossard, pelo relacionamento e conselhos.

Aos colegas da turma anterior do curso de Mestrado em Odontopediatria, Ana Elisa de Mello Vieira, Daniela Maria Carvalho Pugliesi, Eduardo Antonio de Souza, Fabiano Bassalobre Valera, Leandra Dias Garcia e Sueli Satomi Murata, pelo relacionamento durante o curso.

Aos ex-alunos Ellen Martins Alves e Paulo Henrique Gomes Ferreira, pela ajuda durante a fase experimental.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), do Ministério da Educação e Cultura, pela concessão de Bolsa de Estudo.

Aos meus amigos de Lins, pela torcida, incentivo e presença durante o transcorrer do curso.

Àqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho,

Meu muito obrigado

ΕΠΙΓΡΑΦΕ

“É melhor lançar-se à luta em busca do triunfo,
mesmo expondo-se ao insucesso, que formar na fila com
os pobres de espírito, que nem gozam muito e nem sofrem muito;
e vivem nessa penumbra cinzenta sem conhecer vitória nem derrota.”

(Theodore Roosevelt)

SUMÁRIO

SUMÁRIO

Introdução Geral	24
 Capítulo 1 - Validação do modelo de ciclagem de pH para teste de dentifrícios que contenham fontes de cálcio e fosfato.....	 28
1.1 Introdução	28
1.2 Proposição	30
1.3 Material e Método	31
1.3.1 Delineamento Experimental.....	31
1.3.2 Ciclagem de pH (Des>Re).....	32
1.3.3 Determinação da Microdureza do Esmalte.....	33
1.3.4 Determinação de Flúor no Esmalte.....	33
1.3.5 Análise Estatística.....	34
1.4 Resultados.....	36
1.5 Discussão.....	40
1.6 Conclusão.....	43
 Capítulo 2 - Efetividade de dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e baixa concentração de flúor utilizando modelo de ciclagem de Ph.....	 45
2.1 Introdução.....	45
2.2 Proposição.....	48
2.3 Material e Método.....	49
2.3.1 Delineamento Experimental.....	49
2.3.2 Ciclagem de pH (Des>Re).....	50

2.3.3	Determinação da Microdureza do Esmalte.....	51
2.3.4	Determinação de Flúor no Esmalte.....	52
2.3.5	Análise Estatística.....	53
2.4	Resultados.....	54
2.5	Discussão.....	57
2.6	Conclusão.....	61
Referências Bibliográficas		63
Anexos.....		77
Resumo.....		104
Abstract.....		107

INTRODUÇÃO GERAL

INTRODUÇÃO GERAL

Os dentifrícios são considerados os maiores responsáveis pelo controle da cárie dentária,^{41,42} seja em nível individual ou de saúde pública,⁵⁰ devido à adição de flúor (década de 60) e a expansão de seu uso durante a década de 70.

Um requisito básico para que um dentifrício seja eficaz como agente anti-cárie é apresentar flúor solúvel, na forma iônica ou ionizável, sendo que a vantagem do dentifrício fluoretado, seja na prevenção ou tratamento de lesões incipientes, é que este procedimento combina a remoção da placa cariogênica, o polimento da superfície desmineralizada e o fornecimento apropriado de flúor ao ambiente bucal.⁵²

Entretanto uma preocupação surgida nesta última década é o aumento da prevalência da fluorose dental. O aumento da fluorose e a redução da cárie dentária têm sido atribuídos ao uso terapêutico de fluoretos, sendo necessário o desenvolvimento de novas diretrizes para a promoção da saúde bucal e o reparo de lesões cariosas, aumentando a eficácia do flúor com pequenas doses ou administrações mais freqüentes.⁵³

O flúor não é o único agente que promove a remineralização, pois este efeito pode ser limitado pela disponibilidade de cálcio e fosfato no local da lesão²² ou na saliva.⁴⁶ Se uma concentração suplementar de íons cálcio e fosfato pudesse ser fornecida à saliva sem insolubilizar o flúor, a eficiência deste poderia ser aumentada.^{13,51,59} Assim, o crescimento mineral pode também ser estimulado por aumento da concentração de cálcio e fosfato na lesão para níveis acima daqueles que existem no fluído do ambiente oral.⁴⁷

Dentre os agentes que têm o propósito de remineralizar ou minimizar formação de lesões de cárie podem-se incluir: íons cálcio e fosfato da saliva ou de outras fontes (dentifrícios, goma de mascar, bebidas, soluções remineralizantes); e/ou liberação/introdução de flúor de fonte sistêmica (fluoretação da água, comprimidos) ou tópica (dentifrícios, vernizes, géis, goma de mascar, materiais restauradores).²⁹ Portanto, o dentifrício contendo cálcio como abrasivo ou suplementado (cálcio e fosfato) torna-se uma importante alternativa e fonte disponível de íons flúor, cálcio e fosfato.^{3,19,23,35}

O objetivo do presente trabalho foi validar o modelo de ciclagem de pH para teste de dentifrícios que contenham fontes de cálcio e fosfato em sua composição; além de avaliar a efetividade de dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e concentração baixa de flúor, utilizando dente bovino e modelo de cárie *in vitro*. Sendo assim, este

trabalho desenvolveu-se em dois manuscritos, nos quais foram abordados os parâmetros acima mencionados.

No primeiro capítulo “Validação do modelo de ciclagem de pH para teste de dentifrícios que contenham fontes de cálcio e fosfato”, tem como proposta validar a metodologia utilizada para comparação entre dentifrícios experimentais e dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato.

Já o segundo capítulo “Efetividade de dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e baixa concentração de flúor utilizando modelo de ciclagem de pH” , avaliou a capacidade destes produtos em inibir a desmineralização.

CAPÍTULO 1

**Validação do modelo de ciclagem de
pH para teste de dentifrícios que
contenham fontes de cálcio e fosfato**

Validação do modelo de ciclagem de pH para teste de dentifrícios que contenham fontes de cálcio e fosfato

1.1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de métodos adequados para a avaliação da eficácia anti-cárie de produtos fluoretados proporciona inúmeros benefícios à comunidade científica, desde a identificação de novas formulações até a regulamentação das variações dos produtos já comercializados.⁵⁷ A função dos modelos de cárie *in vitro* é facilitar a geração de dados quantitativos suficientes para que se possam desenvolver pesquisas clínicas com segurança.¹¹ A literatura mundial vem tentando definir um perfil apropriado para os modelos de cárie *in vitro*, recomendando-se introduzir modificações nos modelos existentes com o objetivo de aprimorar a sensibilidade dos métodos.^{11,15}

Por outro lado, os dentifrícios fluoretados com fontes de cálcio e fosfato, surgiram como alternativa entre os métodos “emergentes” na prevenção e reparo de tecidos cariados, sendo que vários estudos vêm demonstrando a atuação na desmineralização e remineralização, e incorporação de flúor.^{10,58}

Nos estudos *in vitro* utilizando os dentifrícios com fontes de cálcio e fosfato, estes apresentaram melhor desempenho quando comparados a outros produtos, visto que os dentifrícios são diluídos em água.^{22,33,45} Porém, nos estudos *in situ* e *in vivo* ambos materiais terão disponíveis cálcio e fosfato advindos da saliva, reduzindo a diferença entre os dentifrícios.⁶

Portanto, seria interessante avaliar e validar o modelo *in vitro* para os testes de dentifrícios contendo fontes de cálcio e fosfato. Assim, em experimento *in vitro* os produtos deveriam ser diluídos em saliva artificial com o objetivo de simular o que ocorre na cavidade bucal.

1.2 PROPOSIÇÃO

A proposta do presente trabalho foi verificar o efeito da saliva artificial como meio de diluição dos dentifrícios em ciclagem de pH, para validar a comparação entre dentifrícios experimentais e dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato, que permitam avaliar a capacidade dos produtos em inibir a desmineralização utilizando dentes bovinos *in vitro*.

1.3 MATERIAL E MÉTODO

1.3.1 Delineamento Experimental

O estudo verificou o efeito da saliva artificial como meio de diluição dos dentifrícios em ciclagem de pH, para validar a comparação entre dentifrícios experimentais e dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato. Blocos de esmalte (4x4 mm) foram obtidos de dentes incisivos bovinos (Anexo A) estocados em solução de formol a 2% neutra durante 30 dias em temperatura ambiente.⁵⁶ Esses blocos tiveram sua superfície de esmalte polida seqüencialmente (Anexo B) permitindo a seleção de blocos através da determinação da microdureza de superfície (SMH inicial).(Anexo C) O delineamento experimental foi casualizado e os blocos divididos em cinco grupos experimentais de dez espécimes cada um, de acordo com a média de dureza da população total de blocos e seu intervalo de confiança ($p < 0,05$). Blocos de esmalte bovino ($n=100$) foram divididos em dois grupos (50 blocos cada), de acordo com o meio de diluição dos dentifrícios (Tabela 1), e submetidos durante sete dias a cinco ciclagens e ao tratamento duas vezes ao dia com os dentifrícios experimentais. Ao término, determinou-se novamente a SMH para cálculo da percentagem de variação da microdureza de superfície (%SMHC) e, após, analisou-se a concentração de flúor presente no esmalte.

Tabela 1 – Distribuição dos grupos de acordo com concentração de flúor e diluição dos dentifrícios experimentais*

GRUPO (n=12)^λ	ppm F (NaF)^ψ	
	Água destilada/deionizada	Saliva artificial
Placebo	17.4 ±3.3	17.4 ±3.3
D275	235.9 ±12.2	235.9 ±12.2
D550	557.9 ±21.3	557.9 ±21.3
D450-S[§]	449.9 ±36.8	449.9 ±36.8
D1100	1109.6 ±31.4	1109.6 ±31.4

* Composição: Dióxido de titânio, goma de celulose, metil-p-hidroxibenzoato de sódio, fosfato trissódio, aroma, sacarinato de sódio, óleo de menta, propilenoglicol, glicerina, sorbitol, sílica hidratada.

§ Suplementação: citrato tricálcio e trimetafosfato de sódio

^λ Número de blocos de esmalte em cada grupo.

^ψ Dosagem de flúor total baseado no trabalho de Delbem et al.(2002)¹⁴.

1.3.2 Ciclagem de pH (Des>Re)

Os blocos foram submetidos individualmente durante sete dias a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37° C, permanecendo os últimos dois dias em solução remineralizante.⁵⁴ O tratamento foi realizado com dentifrícios (placebo, D275, D550, D450-S, D1100) diluídos (1:3 – peso:peso) em água destilada/deionizada (água) e em saliva artificial⁷ (Ca 1,5 mmol/L, P 3,0 mmol/L e NaHCO₃ 7,5 mmol/L, 0,05 ppm F, pH 7,0) (saliva), ambos durante um minuto. Os blocos foram imersos sob agitação constante, duas vezes ao dia durante

um minuto, quando removidos das soluções desmineralizante (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 remineralizante (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). Os blocos foram sempre lavados com jatos de água destilada/deionizada por 30 segundos, após remoção das soluções Des-Re e dentifício/saliva.

1.3.3 Determinação da Microdureza do Esmalte

A microdureza de superfície foi determinada (SMH Final) utilizando-se o microdurômetro Shimadzu HMV-2000, sob carga de 50 gramas por dez segundos. Realizaram-se cinco impressões equidistantes entre si e, em relação à SMH inicial, 100 µm, sendo a percentagem de variação de microdureza de superfície (% SMHC) calculada [$\%SMHC = ((SMH \text{ final} - SMH \text{ inicial}) / SMH \text{ inicial}) \times 100$].

1.3.4 Determinação de Flúor no Esmalte

Removeram-se duas camadas de esmalte pela imersão de cada bloco em 0,5 mL de HCl 0,5 mol/L durante 45 segundos sob agitação constante. Imediatamente após, foi adicionado 0,5 mL de TISAB II (pH 5.0), modificado com 20,0 g de NaOH/L a cada solução contendo a camada de esmalte dissolvido. As leituras da concentração de

íons flúor presentes na solução foram realizadas utilizando eletrodo específico para íon flúor (ORION 9609 BN) e analisador de íons (ORION 720 A⁺), previamente calibrados com padrões contendo de 0,125 a 2,0 µg F/mL e 0,250 a 4,0 µg F/mL. Os resultados das duas camadas de esmalte foram reunidos e expressos em µg F/cm². A quantidade de esmalte removida de cada bloco de esmalte foi estimada através da determinação de concentrações de fósforo inorgânico.¹⁸ A soma das duas biópsias totalizou uma camada de 101,8 ±12,9 µm (média ±dp) de esmalte removido dos blocos.

1.3.5 Análise Estatística

Os dados obtidos da microdureza de superfície final (SMH final - água e saliva) e de percentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMHC - água) mostraram-se heterogêneos, sendo avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis. Os dados de microdureza de superfície inicial (SMH inicial - água e saliva), de percentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMHC - saliva) e concentração de flúor (µg F/cm² - água e saliva), após comprovação de sua homogeneidade, foram submetidos à Análise de Variância seguida do teste de Tukey. A diferença entre a SMH final e inicial foi avaliada pelo teste *t* emparelhado e, entre os grupos diluídos com água e saliva, para

concentração de flúor e %SMHC, foi avaliada pelo teste *t* não-emparelhado. Os dados de concentração de flúor no esmalte ($\mu\text{g F/cm}^2$) e percentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMHC) foram submetidos à análise de regressão e ajustados de acordo com a tendência. As análises foram feitas utilizando o software GMC versão 2002* e o nível e significância estabelecido foi de 5%.

*CAMPOS, G. M. GMC 2002. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia, s. d. Disponível em: <http://www.forp.usp.br/restauradora/gmc/gmc.html#gmc>. Acessado em 21 fev. 2003.

1.4 RESULTADOS

Os grupos placebo, D275, D550, D450-S e D1100 apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) entre si na concentração de flúor presente no esmalte (água), com maior valor para o grupo D1100. Na diluição com saliva artificial, os grupos placebo e D275; D550 e D450-S, não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre si na concentração de flúor presente no esmalte, e estes apresentaram diferença significativa para o grupo D1100, com maior valor (Tabela 2). Na comparação entre diluição com água ou saliva artificial, os grupos placebo, D275 e D450-S, apresentaram diferença ($p < 0,05$), obtendo maiores valores na saliva artificial, enquanto os grupos D550 e D1100 não apresentaram diferença significativa. (Anexos D,E,F,G,H,I,J,L,M,N) As Figuras 1A (água) e 1B (saliva) mostram que os dados se ajustam a uma regressão linear ($r^2 = 0,9853$ e $r^2 = 0,9746$, respectivamente), havendo uma relação direta entre a concentração de flúor nos dentífricos (placebo, D275, D550 e D1100) e a concentração de flúor no esmalte.

Tabela 2 - Flúor presente ($\mu\text{g F/cm}^2$) no esmalte submetido à ciclagem de pH (média $\pm$ dp, n=10)

GRUPO	mg F/cm ² (água)	mg F/cm ² (saliva artificial)
Placebo	^A 7,3 $\pm$ 0,4 ^a	^B 10,5 $\pm$ 1,1 ^a
D275	^A 9,8 $\pm$ 1,2 ^b	^B 11,6 $\pm$ 1,4 ^a
D550	^A 16,7 $\pm$ 3,3 ^c	^A 18,1 $\pm$ 3,4 ^b
D450-S	^A 13,9 $\pm$ 2,6 ^d	^B 16,9 $\pm$ 1,3 ^b
D1100	^A 22,9 $\pm$ 2,8 ^e	^A 23,3 $\pm$ 2,9 ^c

Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente (5%). Letras minúsculas mostram diferenças entre grupos e letras maiúsculas entre flúor presente ($\mu\text{g F/cm}^2$), água e saliva, para cada grupo.

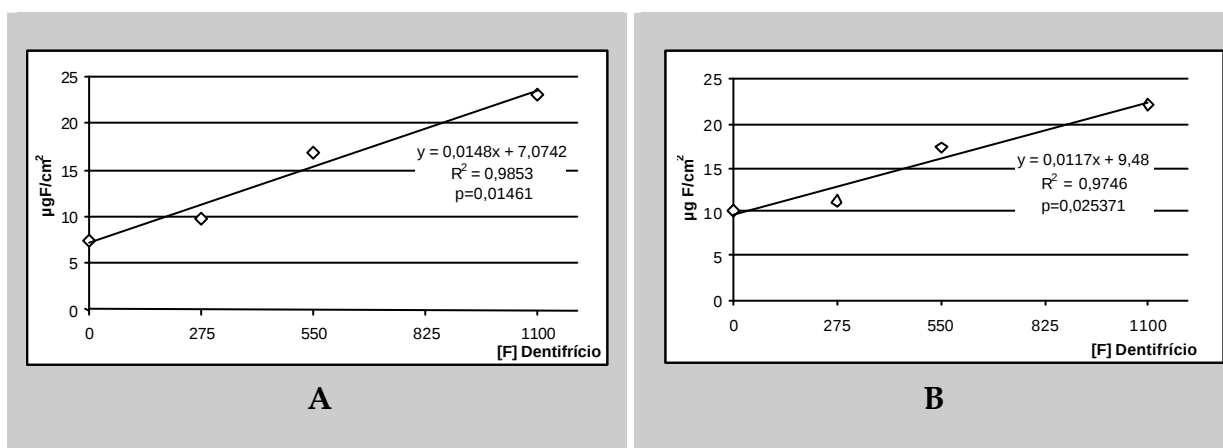


FIGURA 1 - A: Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da concentração de F no esmalte em função da concentração de F nos dentifrícios, na ciclagem de pH (água).
 B: Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da concentração de F no esmalte em função da concentração de F nos dentifrícios, na ciclagem de pH (saliva artificial).

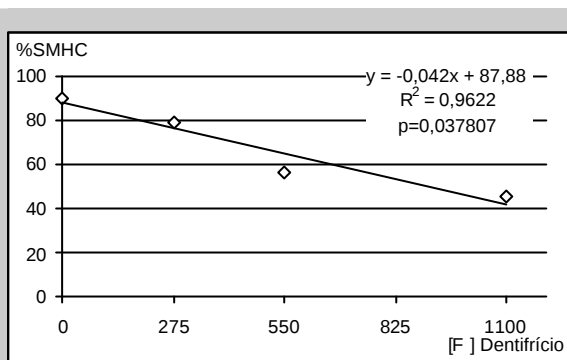
SMH inicial dos blocos de esmalte não apresentou diferença significativa entre os tratamentos, tanto na diluição dos dentifrícios com água como também na saliva artificial. Todos os grupos apresentaram diminuição significativa na SMH após ciclagem de pH e os

respectivos tratamentos.(Anexo O,P) Os grupos apresentaram diminuição da %SMHC, maior no grupo placebo e menor nos grupos D275, D550, D450-S e D1100, sendo que não houve diferença significativa entre os grupos D450-S e D1100 na água. Na saliva artificial, todos os grupos apresentaram diferença entre si ($p<0,05$). Quando da comparação entre a ciclagem que utilizou a água, como diluente dos dentifrícios, e, a que utilizou a saliva artificial, apenas o grupo D450-S não mostrou diferença significativa (Tabela 3). As Figuras 2A (água) e 2B (saliva) mostram que os dados se ajustam a uma regressão linear ($r^2=0,9622$ e $r^2=0,9748$ respectivamente), havendo uma relação inversa entre a concentração de flúor nos dentifrícios e a %SMHC.

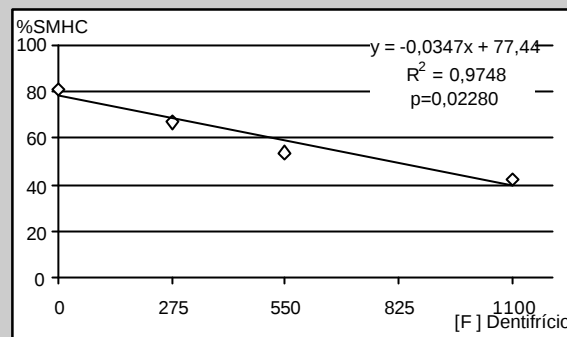
Tabela 3 - Microdureza de superfície no esmalte (SMH) submetido à ciclagem de pH (média $\pm$ dp, n=10) na água e saliva artificial

GRUPO	SMH – água			SMH – saliva artificial		
	Inicial	Final	% SMHC	Inicial	Final	% SMHC
Placebo	^A 331,6 $\pm$ 4,9 ^a	^B 32,5 $\pm$ 15,3 ^a	(^A)-90,2 $\pm$ 4,6 ^a	^A 334,6 $\pm$ 5,2 ^a	^B 64,3 $\pm$ 20,0 ^a	(^B)-80,8 $\pm$ 5,9 ^a
D275	^A 331,3 $\pm$ 4,0 ^a	^B 70,1 $\pm$ 19,7 ^b	(^A)-78,8 $\pm$ 6,1 ^b	^A 334,0 $\pm$ 6,9 ^a	^B 112,0 $\pm$ 21,5 ^b	(^B)-66,5 $\pm$ 4,8 ^b
D550	^A 329,9 $\pm$ 2,5 ^a	^B 143,8 $\pm$ 3,1 ^c	(^A)-56,4 $\pm$ 1,1 ^c	^A 332,7 $\pm$ 5,8 ^a	^B 154,2 $\pm$ 6,3 ^c	(^B)-53,7 $\pm$ 1,8 ^c
D450-S	^A 330,4 $\pm$ 3,0 ^a	^B 175,8 $\pm$ 5,7 ^d	(^A)-46,7 $\pm$ 1,6 ^d	^A 336,4 $\pm$ 5,6 ^a	^B 180,9 $\pm$ 15,9 ^d	(^A)-46,3 $\pm$ 3,8 ^d
D1100	^A 330,6 $\pm$ 2,8 ^a	^B 180,9 $\pm$ 8,5 ^d	(^A)-45,3 $\pm$ 2,7 ^d	^A 333,1 $\pm$ 4,8 ^a	^B 192,3 $\pm$ 2,9 ^e	(^B)-41,9 $\pm$ 1,1 ^e

Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente (5%). Letras minúsculas mostram diferenças entre grupos e maiúsculas entre SMH, inicial e final, para cada grupo. Letras maiúsculas entre parênteses mostram diferenças entre %SMHC, água e saliva artificial, para cada grupo.



A



B

FIGURA 2 - A: Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da relação entre %SMHC em função da concentração de F nos dentifrícios, na ciclagem de pH (água).
B: Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da relação entre %SMHC em função da concentração de F nos dentifrícios, na ciclagem de pH (saliva).

1.5 DISCUSSÃO

Nos trabalhos *in vitro*, o modelo de ciclagem deve permitir a determinação da relação dose-resposta dos produtos testados para validação dos resultados.⁵⁴ Analisando a concentração de flúor presente no esmalte e a %SMHC (Tabelas 2 e 3 – Figuras 1 e 2) verificou-se que o modelo propiciou a determinação da relação dose-resposta. Além disso, o tratamento dos blocos de esmalte com os dentifrícios, durante a ciclagem de pH, torna-se necessário a diluição destes em água deionizada, saliva humana ou artificial, aproximando o máximo possível do que ocorre durante o ato da escovação. Verifica-se a importância deste detalhe metodológico quando se comparam os trabalhos *in vitro* com os *in situ* apresentando resultados diferentes quando se testam dentifrícios convencionais e suplementados.^{16,24,34,37,55}

A saliva apresenta um conteúdo mineral ou inorgânico, considerada uma fonte natural de íons cálcio e fosfato para remineralização.^{45,46} Entretanto, a propriedade defensiva da saliva depende de variações do pH, que determinará o limite de sua capacidade de proteção dos dentes (concentração de cálcio e fosfato no meio), sendo que na ausência de flúor a ação da saliva ficará limitada.¹²

Os resultados da concentração de flúor presente no esmalte (Tabela 2) mostram que a saliva artificial, utilizada para diluição

dos dentifrícios, proporcionou uma maior incorporação de flúor quando comparada à água. Os trabalhos *in vitro* mostram que os íons cálcio e fosfato, aumentam a presença de flúor no esmalte, para o interior da lesão de cárie.^{34,22,45} Estes resultados foram significativos para os dentifrícios de menor concentração de flúor. Os resultados semelhantes ($p>0,05$) no grupo D550 e D1100, podem ser explicados pela maior concentração de flúor, suplantando o efeito dos minerais da saliva.^{12,27} Entretanto, a suplementação do dentifrício com 450 ppm F não favoreceu uma maior incorporação de flúor quando diluído em água.

A análise da SMH mostra que a diluição com saliva artificial promoveu uma menor perda mineral, independente da concentração do dentifrício, exceto para o grupo D450-S (Tabela 3). A SMH é aceita para avaliar a perda ou o ganho mineral pelo esmalte, pois há correlação entre o conteúdo mineral da superfície do esmalte e o comprimento da indentação.²⁵ Em termos de conteúdo mineral a saliva apresenta uma propriedade, na presença do flúor, de precipitar fosfato de cálcio menos solúvel e mais duro.^{27,45} Estes resultados são confirmados pelo grupo D450-S que apresentou resultados semelhantes ($p>0,05$) independente da solução de diluição.^{21,45} A suplementação foi capaz de manter um grau de mineralização do esmalte semelhante a aquele que foi diluído com saliva artificial, comprovando a capacidade da saliva artificial

em fornecer componentes minerais que minimizem uma desmineralização.^{35,45,46}

Com a ciclagem que utilizou a saliva artificial como diluente foi possível observar diferença entre os dentifrícios fluoretados com ou sem suplementação. Estes resultados mimetizam os achados *in situ* e *in vivo*, comprovando a capacidade do estudo *in vitro* em simular o que ocorre *in vivo*. Trabalhos *in situ* e *in vivo* não mostraram efeito significativo para um destes dentifrícios.^{6,20,24,55} Entretanto, na diluição com a água o grupo D450-S apresentou resultados semelhantes ao grupo D1100. Trabalhos *in vitro*, com diluição dos dentifrícios pela água, apresentaram resultados significativos em favor dos suplementados.^{16,34,37,45,46} Isto indica que é possível comparar um dentifrício convencional com um suplementado utilizando ciclagem de pH desde que diluídos com saliva artificial. Amaechi & Higham (2001)¹ comprovaram que esta apresenta as mesmas propriedades e capacidades remineralizantes que a saliva humana.

1.6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados apresentados, conclui-se que a utilização da saliva artificial como meio de diluição dos dentifrícios em ciclagem de pH é válido para a comparação entre dentifrícios experimentais e dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato, permitindo avaliar a capacidade dos produtos em inibir a desmineralização *in vitro*.

CAPÍTULO 2

**Efetividade de dentifrícios
suplementados com cálcio e fosfato e
baixa concentração de flúor utilizando
modelo de ciclagem de pH**

Efetividade de dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e baixa concentração de flúor utilizando modelo de ciclagem de pH

2.1 INTRODUÇÃO

Os dentifrícios fluoretados são consumidos na atualidade por grande parte da população mundial, sendo que pesquisas científicas realizadas nas últimas décadas comprovam a eficácia desses produtos na prevenção, agindo localmente no processo de desmineralização e remineralização dentária.^{9,42}

Entretanto o benefício cariostático do flúor é mediado via íons cálcio e fosfato, supridos pela secreção salivar.⁴⁶ Se apenas cálcio e fosfato salivar estiverem disponíveis, essa remineralização ocorrerá somente na parte mais superficial da lesão, ficando o restante apenas paralisado,²² pois não é suficiente para atingir a proporção ideal entre Ca:F, para proporcionar um máximo de remineralização do esmalte.²⁹

Uma nova modalidade de dentifrício tem se destacado, ganhando espaço como produto com potencial para

remineralizar ou minimizar a formação da cárie. Trata-se do dentifrício suplementado que contém, além do flúor, cálcio e fosfato como agente ativo. Na literatura científica, os estudos comparando os dentifrícios suplementados e os não-suplementados, vem mostrando vantagens na associação com o cálcio e fosfato. Em teste *in vitro*, os dentifrícios com cálcio solúvel (MFP/DCPD) mostram um potencial remineralizador maior quando comparado aos convencionais.^{28,36} Os dentifrícios que utilizam outros complexos de cálcio e fosfato, para promover uma suplementação, mostram-se mais efetivos em prevenir a desmineralização,^{8,21,22,29,44} melhoram a capacidade remineralizadora^{21,26} e a incorporação de flúor^{32,45} e aumentam a biodisponibilidade do flúor quando comparado a um dentifrício padrão testado clinicamente (NaF/sílica).^{44,46}

Entretanto, o uso de dentifrícios fluoretados por crianças durante o período de desenvolvimento dentário, do nascimento aos 6 anos de idade, tem sido sugerido como um fator de risco para a fluorose dentária.³¹ Crianças menores de 6 anos podem ingerir em média 57% (variando de 17 a 98%) de dentifrício colocada na escova,³⁰ na faixa etária de 20 a 30 meses considerada a fase crítica para o desenvolvimento da fluorose dental.^{40,30} Assim, seria interessante a utilização de dentifrícios com menor concentração de flúor, porém mantendo a efetividade de um dentifrício padrão de mercado (1100 ppm F) com eficácia comprovada. A formulação de um dentifrício com menor concentração de flúor

suplementado com cálcio e fosfato poderia manter a eficácia de um dentífrico padrão e diminuir a ingestão de flúor em crianças reduzindo a prevalência da fluorose dental.

2.2 PROPOSIÇÃO

A proposta do presente trabalho foi avaliar a efetividade de dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e com concentração baixa de flúor em inibir a desmineralização utilizando modelo de ciclagens de pH.

2.3 MATERIAL E MÉTODO

2.3.1 Delineamento Experimental

Blocos de esmalte (4x4 mm) foram obtidos de dentes incisivos bovinos (Anexo A) estocados em solução de formol a 2% neutra durante 30 dias em temperatura ambiente.⁵⁶ Esses blocos tiveram sua superfície de esmalte polida seqüencialmente (Anexo B) permitindo a seleção de blocos através da determinação da microdureza de superfície (SMH inicial).(Anexo C) O delineamento experimental foi casualizado e os blocos divididos em sete grupos experimentais de doze espécimes cada um, de acordo com a média de dureza da população total de blocos e seu intervalo de confiança ($p < 0,05$). Blocos de esmalte bovino ($n=84$) foram submetidos, durante sete dias, a cinco ciclagens e ao tratamento duas vezes ao dia com dentifrício (Tabela 1). Ao término, determinou-se novamente a SMH para cálculo da percentagem de variação da microdureza de superfície (%SMHC). Após secção dos blocos, em uma das metades determinou-se a dureza do esmalte em secção longitudinal (Anexo Q,R) para o cálculo da percentagem de volume mineral (% vol. min.) em diferentes distâncias da superfície do esmalte; na outra metade, analisou-se a concentração de flúor presente no esmalte.

Tabela 1 – Distribuição dos grupos de acordo com concentração de flúor nos dentifrícios e composição dos dentifrícios experimentais

GRUPO (n=12)	ppm F (NaF)**		Composição	
	Flúor Iônico	Flúor Total		
Placebo	17.2 ±1.4	17.4 ±3.3	—	Dióxido de titânio, goma de celulose, metil-p-hidroxibenzoato de sódio, fosfato trissódico, aroma, sacarinato de sódio, óleo de menta, propilenoglicol, glicerina, sorbitol, sílica hidratada
D275	235.8 ±9.6	235.9 ±12.2	—	
D550	558.2 ±5.9	557.9 ±21.3	—	
D450-S*	411.9 ±12.8	449.9 ±36.8	* Citrato tricálcio e	
D1000-S*	888.4 ±20.9	972.2 ±79.7	trimetafosfato de sódio	
D1100	1105.8 ±11.1	1109.6 ±31.4	—	
Crest®	1109.4 ±29.2	1115.1 ±71.2	Dentifrício padrão – “Gold Standard”	

* Suplementação: fontes de cálcio e fosfato.

** Dosagem de flúor baseado no trabalho de Delbem et al.(2002)¹⁴.

2.3.2 Ciclagem de pH (Des>Re)

Os blocos foram submetidos individualmente durante sete dias a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37° C, permanecendo os últimos dois dias em solução remineralizante.⁵⁴ O tratamento foi realizado com dentifrícios (placebo, D275, D550, D450-S, D1000-S, D1100 e Crest®) diluídos (1:3 – peso:peso) em saliva artificial⁷ (Ca 1,5 mmol/L, P 3,0 mmol/L e NaHCO₃ 7,5 mmol/L, 0,05 ppm F, pH 7,0) durante um minuto. Os blocos foram imersos sob agitação constante, duas vezes ao dia durante um minuto, quando removidos das soluções desmineralizante (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 remineralizante (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). Os blocos foram sempre lavados com jatos de água destilada/deionizada por 30 segundos, após remoção das soluções Des-Re e dentifrício/saliva.

2.3.3 Determinação da Microdureza do Esmalte

A microdureza de superfície foi determinada (SMH final) utilizando-se o microdurômetro Shimadzu HMV-2000, sob carga de 50 gramas por dez segundos. Realizaram-se cinco impressões equidistantes entre si e, em relação à SMH inicial, 100 µm, sendo a percentagem de variação de microdureza de superfície (% SMHC) calculada [$\%SMHC = ((SMH \text{ final} - SMH \text{ inicial}) / SMH \text{ inicial}) \times 100$]. Após análise da SMH, secções longitudinais foram feitas no centro dos blocos e uma das metades incluída em resina acrílica e polida. Uma seqüência de oito impressões a distâncias de 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 e 330 µm da superfície externa do esmalte foi realizada na região central dos blocos, e outras duas 100 µm acima e abaixo, sob carga de 25 gramas por dez segundos. As médias foram calculadas em cada distância e os valores convertidos em conteúdo mineral (% vol. min.), de acordo com Featherstone et al. (1983).¹⁷ O cálculo da área integrada sob a curva (área formada entre os eixos “y”, “x” e curva do perfil de volume mineral), em

percentagem de volume mineral $\times \mu\text{m}$, foi obtido através da regra trapezoidal para os blocos tratados. A perda mineral (ΔZ – Figura 2), em % vol min $\times \mu\text{m}$, foi obtida pela subtração da área integrada obtida para o bloco tratado daquela área integrada da projeção para o esmalte normal.^{4,39,49}

2.3.4 Determinação de Flúor no Esmalte

Removeram-se duas camadas de esmalte pela imersão de cada bloco em 0,5 mL de HCl 0,5 mol/L durante 45 segundos sob agitação constante. Imediatamente após, foi adicionado 0,5 mL de TISAB II (pH 5.0), modificado com 20,0 g de NaOH/L a cada solução contendo a camada de esmalte dissolvido. As leituras da concentração de íons flúor presentes na solução foram realizadas utilizando eletrodo específico para íon flúor (ORION 9609 BN) e analisador de íons (ORION 720 A⁺), previamente calibrados com padrões contendo de 0,125 a 2,0 $\mu\text{g F/mL}$ e 0,250 a 4,0 $\mu\text{g F/mL}$. Os resultados das duas camadas de esmalte foram reunidos e expressos em $\mu\text{g F/cm}^2$. A quantidade de esmalte removida de cada bloco de esmalte foi estimada através da determinação de concentrações de fósforo inorgânico.¹⁸ A soma das duas biópsias totalizou uma camada de $108,5 \pm 13,2 \mu\text{m}$ (média $\pm dp$) de esmalte removido dos blocos.

2.3.5 Análise Estatística

Os dados obtidos da microdureza de superfície final (SMH final), mostraram-se heterogêneos, sendo avaliados pelo teste de Kruskal-Wallis. Os dados de microdureza de superfície inicial (SMH inicial), de percentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMHC), conteúdo de volume mineral (% vol. min.xµm) e concentração de flúor (µg F/cm²), após comprovação de sua homogeneidade, foram submetidos à Análise de Variância seguida do teste de Tukey. A diferença entre a SMH final e inicial foi avaliada pelo teste *t* emparelhado. Os dados de percentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMHC) e perda mineral (ΔZ) foram submetidos à análise de regressão e ajustados de acordo com a tendência. As análises foram feitas utilizando o software GMC versão 2002* e o nível de significância estabelecido foi de 5%.

*CAMPOS, G. M. GMC 2002. Ribeirão Preto: Faculdade de Odontologia, s. d. Disponível em: <http://www.forp.usp.br/restauradora/gmc/gmc.html#gmc>. Acessado em 21 fev. 2003.

2.4 RESULTADOS

O grupo placebo apresentou menor concentração de flúor presente no esmalte diferindo estatisticamente dos demais grupos (Tabela 2), exceto do D275. Os grupos D1100 e Crest[®] mostraram valores semelhantes ($p>0,05$), porém o D1100 não diferiu do grupo D1000-S. O grupo D450-S foi semelhante ao D550 ($p>0,05$) e diferiu dos demais grupos ($p<0,05$). (Anexos H,I,J,L,M,N)

Tabela 1 – Resultados (média $\pm$ dp, n=12) das análises de flúor presente ($\mu\text{g F/cm}^2$), microdureza de superfície no esmalte (SMH) e perda mineral (ΔZ)

GRUPO	mg F/cm^2	SMH			DZ
		Inicial	Final	% SMHC	
Placebo	10,0 $\pm$ 1,5 ^a	^A 333,8 $\pm$ 4,5 ^a	^B 60,5 $\pm$ 20,1 ^a	-81,9 $\pm$ 5,9 ^a	3077,5 $\pm$ 293,0 ^a
D275	11,1 $\pm$ 1,7 ^a	^A 333,1 $\pm$ 6,6 ^a	^B 107,4 $\pm$ 18,2 ^b	-67,8 $\pm$ 5,3 ^b	2144,1 $\pm$ 214,9 ^b
D550	17,3 $\pm$ 3,7 ^{b,c}	^A 332,8 $\pm$ 6,6 ^a	^B 152,8 $\pm$ 6,8 ^c	-54,1 $\pm$ 1,9 ^c	1571,8 $\pm$ 369,7 ^c
D450-S	16,2 $\pm$ 1,9 ^b	^A 336,7 $\pm$ 5,6 ^a	^B 178,9 $\pm$ 15,2 ^d	-46,9 $\pm$ 3,8 ^d	1082,0 $\pm$ 305,5 ^d
D1000-S	20,1 $\pm$ 3,3 ^{c,d}	^A 334,8 $\pm$ 4,5 ^a	^B 215,0 $\pm$ 10,4 ^f	-35,8 $\pm$ 3,1 ^e	494,5 $\pm$ 238,2 ^e
D1100	22,1 $\pm$ 3,9 ^{d,e}	^A 334,0 $\pm$ 4,7 ^a	^B 191,4 $\pm$ 4,8 ^e	-42,7 $\pm$ 1,5 ^{d,f}	766,1 $\pm$ 181,7 ^{d,e}
Crest ^â	23,3 $\pm$ 2,7 ^e	^A 336,2 $\pm$ 7,3 ^a	^B 200,9 $\pm$ 14,1 ^g	-40,3 $\pm$ 3,5 ^f	819,3 $\pm$ 198,5 ^{d,e}

Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente (5%). Letras minúsculas mostram diferenças entre grupos e maiúsculas entre SMH, inicial e final, para cada grupo.

A SMH inicial dos blocos de esmalte não apresentou diferença significativa entre os tratamentos. Todos os grupos apresentaram diminuição significativa na SMH após ciclagem de pH e os respectivos tratamentos. (Anexo S) Os valores de %SMHC e perda mineral (ΔZ) foram maiores no grupo placebo e menores nos grupos D275, D550, D450-S, D1100, Crest[®] e D1000-S, sendo que não houve diferença ($p < 0,05$) entre os grupos D450-S e D1100 e os grupos D1100 e Crest[®] (Tabela 1). (Anexos T,U) A Figura 1 mostra que os dados de %SMHC (Figura 1A) e ΔZ (Figura 1B) se ajustam a uma regressão linear ($r^2 = 0,9727$ e $r^2 = 0,9785$, respectivamente), havendo uma relação inversa entre a concentração de flúor nos dentífrícios (placebo, D275, D550 e D1100) e a %SMHC e ΔZ

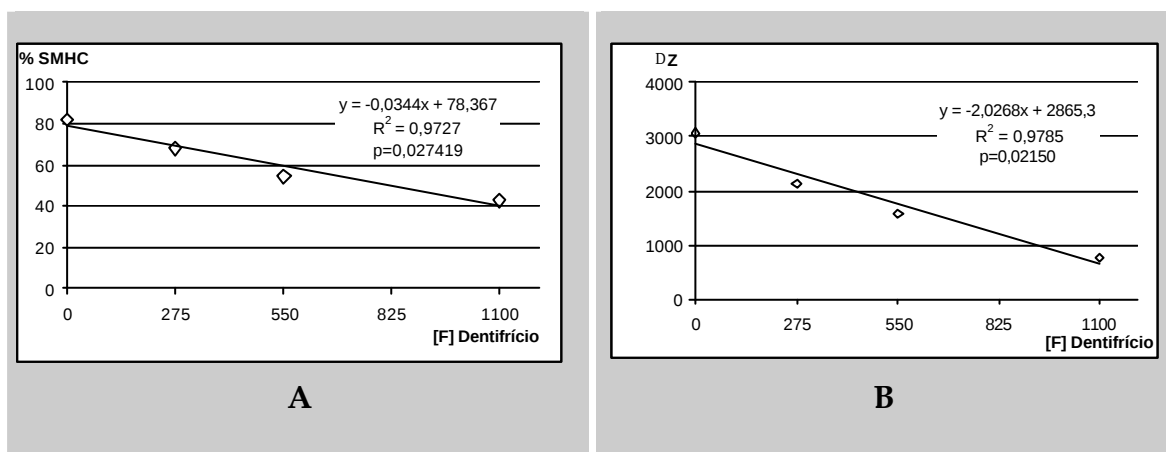


FIGURA 1 - A: Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da relação entre %SMHC em função da concentração de F nos dentífrícios, na ciclagem de pH.
B: Gráfico de dispersão e equação de regressão ajustada aos dados da relação entre ΔZ em função da concentração de F nos dentífrícios, na ciclagem de pH.

A seguir, os valores de % volume mineral são apresentados em função dos tratamentos e distância da superfície do esmalte na Figura 2 com a indicação das diferenças entre os grupos em cada profundidade.

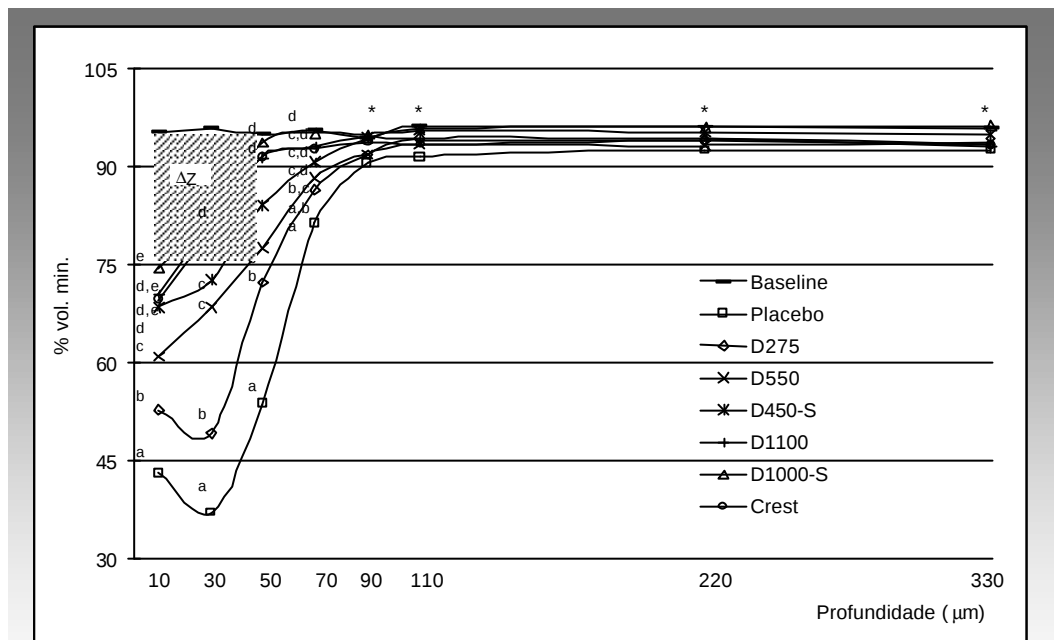


FIGURA 2- Médias de % vol. min. (n=12) em função dos tratamentos e da distância da superfície do esmalte. Letras distintas mostram diferença ($p<0,05$) entre os grupos em cada profundidade e asterisco mostra igualdade entre médias ($p>0,05$).

2.5 DISCUSSÃO

A atual preocupação em reduzir a ingestão de flúor em crianças, com objetivo de prevenir a fluorose dental, tem motivado o desenvolvimento e teste de dentifrícios fluoretados com menor concentração de flúor.^{2,5,16,38,61} Porém, o modelo de ciclagem deve permitir a determinação da relação dose-resposta dos produtos testados para validação dos resultados.⁵⁴ Analisando a %SMHC e ΔZ , a Tabela 2 mostra que foi possível verificar diferença estatística entre os grupos experimentais e, a Figura 1, mostra que os dados se ajustaram a uma regressão linear ($r^2=0,9727$ e $r^2=0,9785$, respectivamente). Assim, neste estudo, foram analisadas as capacidades de dois dentifrícios com menor concentração de flúor em interferirem no processo de cárie *in vitro*.

Os resultados do presente estudo (Tabela 2) mostram que os dentifrícios suplementados reduziram a perda mineral superficial (SMH), como também, a área de lesão de cárie (ΔZ). A SMH é considerada um método apropriado para avaliar cárie dental inicial,⁶⁰ havendo uma correlação entre o conteúdo mineral da superfície do esmalte e o comprimento da indentação.²⁵ No presente estudo, a lesão de cárie artificial foi considerada em fase inicial, pois a profundidade da lesão foi de 20-50 μm (Figura 2). O grupo D450-S apresentou resultado semelhante ao grupo D1100, considerando a SMH e a perda mineral (ΔZ)

e, ao Crest[®], considerando o ΔZ . Já o grupo D1000-S não apresentou melhor desempenho que o D1100 e o Crest[®], analisando o ΔZ , mas a SMH mostrou que este obteve melhores resultados. Estes achados podem ser explicados pela presença do cálcio e fosfato na formulação destes dentifrícios, pois o grupo D550 apresentou maior perda mineral (SMH e ΔZ) quando comparado ao D450-S, D1100 e Crest[®]. A suplementação origina uma solução supersaturada com relação aos íons cálcio, fosfato e flúor. Nessas condições ocorre uma rápida difusão de íons e a precipitação, em maior nível, de fluorapatita, fluoreto de cálcio e/ou hidroxiapatita carbonatada que são a fase cristalina mais estável que contém cálcio, fosfato e flúor.^{22,26,44,48} Assim, a presença destes íons no meio pode retardar a desmineralização do esmalte ou produzir remineralização, dependendo do grau de saturação dos íons na solução e do pH do meio. Os resultados da presença de flúor no esmalte, após a ciclagem de pH, comprovam este efeito; pois não ocorreu um aumento na concentração de flúor que justificasse o resultado obtido com os dentifrícios suplementados. Os trabalhos *in vitro* mostram que a suplementação com cálcio e fosfato aumentaram a presença de flúor no esmalte, considerando estes íons como “transportador” de flúor para o interior da lesão de cárie.^{33,34,22,45} Deve-se ressaltar que os dentifrícios, nestes trabalhos, foram diluídos em água destilada/deionizada o que pode ter promovido esta maior presença de flúor no esmalte com a

suplementação enquanto que, no presente estudo, todos os dentifrícios foram diluídos em saliva artificial, simulando a saliva humana.¹ Os estudos *in situ* demonstram uma maior presença de flúor, porém não significativa, no interior da lesão de cárie artificial.^{24,43}

Apesar dos dentifrícios suplementados não promoverem uma maior incorporação de flúor, ocorreu uma redução da área da lesão de cárie (ΔZ) significativa para o D450-S em relação ao D550, porém no D1000-S ocorreu uma menor perda, mas não significativa em relação ao D1100 e o Crest[®] (Tabela 2). Segundo Featherstone et al. (1983),¹⁷ há correlação entre dureza Knoop e percentagem de mineral na lesão de cárie. Os achados da % volume mineral em função da profundidade demonstram um efeito mais superficial dos dentifrícios suplementados, pois na distância de 30 μ m os grupos D450-S e D1000-S não diferem do D550 e D1100 e Crest[®], respectivamente (Figura 2). É possível que para o grupo D450-S o fosfato de cálcio depositado no interior da lesão tenha sido na forma de uma hidroxiapatita carbonatada do que fluorapatita, ou uma forma de apatita com menor quantidade de flúor.^{22,26,44,48} Isto pode ser apoiado pelos resultados da presença de flúor no esmalte após a ciclagem de pH (Tabela 2), indicando que a fase mineral que é depositada não apresenta um padrão de mineralização tão alto.¹⁶ Entretanto os trabalhos que mostram, durante a formação e progressão da

lesão de cárie, uma maior redução na profundidade das lesões, os dentífrícios são diluídos em água, não simulando as condições bucais.^{21,37}

2.6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que os dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e concentração baixa de flúor foram efetivos em reduzir a perda mineral em esmalte bovino *in vitro*. O dentifrício com 450 ppm F suplementado apresentou resultados semelhantes aos dentifrícios com 1100 ppm F podendo trazer benefícios quando utilizados por crianças. Entretanto, deve-se verificar a efetividade do produto em promover a remineralização e, após, os dados devem ser confirmados através de estudos *in situ* e clínico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 AMAECHI, B. T., HIGHAM, S. M. In vitro remineralization of eroded enamel lesions by saliva. *J. Dent.*, v.29, n.5, p.371-6, 2001.
- 2 AMMARI, A. B., BLOCH-ZUPAN, A., ASHLEY, P. F. Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above. *Caries Res.* v.37, n.2, p.85-92, 2003.
- 3 APONTE-MERCED, L. et al. Uptake of Ca^{45} from a topically-applied monofluorophosphate, sodium fluoride calcium hydroxide dentifrice by rat enamel. *Arch. Oral. Biol.*, v.32, n.1, p.17-20, 1987.

* Universidade Estadual Paulista. Coordenadoria Geral de Bibliotecas, Editora UNESP. *Normas para publicações da UNESP*. São Paulo: Editora UNESP, 1994. v.1. Referência bibliográficas.

- 4 ARENDS, J., TEN BOSCH, J. J. Demineralization and remineralization evaluation techniques. *J. Dent. Res.*, v.71, Spec. Iss., p.924-8, 1992.
- 5 BIESBROCK, A. R. et al. Effect of three concentrations of sodium fluoride dentifrices on clinical caries. *Am. J. Dent.*, v.16, n.2, p.99-104, 2003.
- 6 BIESBROCK, A. R. et al. Reversal of incipient and radiographic caries through the use of sodium and stannous fluoride dentifrices in a clinical trial. *J. Clin. Dent.*, v.9, n.1, p.5-10, 1998.
- 7 BIRKELAND, J M. The effect of pH on the interaction of fluoride and salivary ions. *Caries Res*, v. 7, p. 11-8, 1973.
- 8 BLAKE-HASKINS, J. C., MELLBERG, J. R., SNYDER, C. Effect of calcium in model plaque on the anticaries activity of fluoride in vitro. *J. Dent. Res.*, v.71, n.8, p.1482-6, 1992.

- 9 CARDOSO, L. M. *Dentifrícios fluoretados em saúde bucal coletiva*. 1999. Monografia (Centro de Ciências da Saúde), Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1999.
- 10 CLARKSON, B. H., RAFTER, M. E. Emerging methods used in the prevention and repair of carious tissues. *J. Dent. Educ.*, v.65, n.10, p.1114-20, 2001.
- 11 CUMMINS, D. Working group report 3: role of models in assessing new agents for caries prevention. *Adv. Dent. Res.*, v.9, n.3, p.338-9, 1995.
- 12 CURY, J. A. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: BARATIERI, L. N. et al. *Odontologia restauradora: fundamentos e possibilidades*. São Paulo: Ed. Santos, 2001. p.34-68.
- 13 CURY, J. A. et al. Effect of a calcium carbonate-based dentifrice on enamel demineralization in situ. *Caries Res.*, v.37, n.3, p.194-9, 2003.

- 14 DELBEM, A. C. B., VIEIRA, A. E. M., CURY, J. A. Avaliação do potencial cariostático do dentifrício brasileiro de maior participação no mercado. *Rev. Bras. Odontol.*, v.59, n.1, p.14-8, 2002.
- 15 DUCKWORTH, R. M. Models for evaluating new fluoride-containing systems: reaction paper. *Adv. Dent. Res.*, v.9, n.3, p.300-3, 1995.
- 16 FALLER, R. V., PFARRER, A. M. Effects on remineralization and acid resistance from convencional and “remineralizing” toothpastes. *J. Dent. Res.*, v.77, Sp. Iss., p.188, 1998. (Abstracts)
- 17 FEATHERSTONE, J. D. B. et al. Comparison of artificial caries-like lesions by quantitative microradiography and microhardness profiles. *Caries Res.*, v.17, n.5, p.385-91, 1983.
- 18 FISKE, C. H., SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, v.66, p.375-400, 1925.

- 19 GAFFAR, A., BLAKE-HASKINS, J., MELLBERG, J. In vivo studies with a dicalcium phosphate dihydrate/MFP system for caries prevention. *Int. Dent. J.*, v.43, n.1, suppl.1, p.81-8,1993.
- 20 GRANT, L. P., THOMPSON, A., TANZER, J. M. Caries inhibition in rats by a remineralizing toothpaste. *J. Clin. Dent.*, v.10, p.30-3, 1999.
- 21 HICKS, M. J., FLAITSZ, C. M. Enamel caries formation and lesion progression with a fluoride dentifrice and a calcium phosphate containing fluoride dentifrice: a polarized light microscopic study. *J. Dent. Child.*, v.67, n.1, p.21-8, 2000.
- 22 KARDOS, S., SHI, B., SIPOS, T. The in vitro demineralization potencial of a sodium fluoride, calcium and phosphate ion-containing dentifrice under various experimental conditions. *J Clin. Dent.*, v.10, Spec. No, p.22-5, 1999.

- 23 KOO, H., CURY, J. A. Avaliação in situ de um dentifrício contendo MFP/DCPD na incorporação de flúor e remineralização do esmalte dental humano. *Rev. Odontol. Univ. São Paulo*, v.13, n.3, p.245-9, 1999.
- 24 KOO R.H., CURY, J.A. Soluble calcium/SMFP dentifrice: effect on enamel uptake and remineralization. *Am. J. Dent.*, v.11, p.173-6, 1998.
- 25 KOULOURIDES, T., HOUSCH, T. Hardness testing and microradiography of enamel in relation to intraoral de- and remineralization of the teeth. In: LEACH, S. A, EDGAR, W. M. Demineralization and remineralization of the teeth. Oxford: IRL Press, 1983, p. 255-72.
- 26 JOHNSON, M.F. Comparative efficacy of NaF and SMFP dentifrices in caries prevention: a meta-analytic overview. *Caries Res.*, v. 27, n.4, p. 328-36, 1993.

- 27 LAGERLÖF, F., OLIVEBY, F. Caries-protective factors in saliva.
Adv. Dent. Res., v.8, n.2, p.229-38, 1994.
- 28 LEACH, S. A. et al. Remineralization *in vivo* of human artificial
white spot lesions by toothpastes containing fluorophosphate
an fluoride ions.*Caries Res.*, v. 21, n.2, p.173-4, 1987.(Abstract
42)
- 29 LEGEROS, R. Z. Calcium phosphates in
demineralization/rem mineralization processes. *J. Clin. Dent.*,
v.10, n.2, p.65-73, 1999.
- 30 LIMA, Y. B. O., CURY, J. A. Ingestão de flúor por crianças pela
água e dentifrício. *Rev. Saúde Publica*, v.35, n.6, p.576-81, 2001.
- 31 MASCARENHAS, A. K., BURT, B. A. Fluorosis risk from early
exposure to fluoride toothpaste. *Community Dent. Oral
Epidemiol.*, v.26, n.4, p.241-8, 1998.

- 32 MELLBERG, J. R., CHOMICKI, W. G. Effect of soluble calcium on fluoride uptake by enamel from sodium monofluorophosphate. *J. Dent. Res.*, v. 61, n.12, p.1394-6, 1982.
- 33 MELLBERG, J. R., CHOMICKI, W. G. Fluoride uptake by artificial lesions from fluoride dentifrices in vivo. *J. Dent. Res.*, v.62, n.5, p.540-2, 1983.
- 34 MELLBERG, J. R., MALLON, D. E. Soluble calcium-enhanced remineralization of artificial caries lesions with monofluorophosphate. *Caries Res.*, v.18, n.5, p.416-20, 1984.
- 35 MELLBERG, J. R. et al. Remineralization in vivo of artificial caries lesions by a monofluorophosphate dentifrice. *Caries Res.*, v.19, n.2, p.126-35, 1985.
- 36 MORENO, E. C. Role of Ca-P-F in caries prevention: chemical aspects. *Int. Dent. J.*, v.43, supp.1, p.71-80, 1993.

- 37 MUÑOZ, C. A. et al. Strengthening of tooth enamel by a remineralizing toothpaste after exposure to an acidic soft drink. *J. Clin. Dent.*, v.10, Spec. No., p.17-21, 1999.
- 38 NEGRI, H. M. D., CURY, J. A. Efeito dose-resposta de uma formulação de dentifrício com concentração reduzida de fluoreto. *Pesqui. Odontol. Bras.*, v.16, n.4, 361-5, 2002.
- 39 OGAARD, B., RÖLLA, G., ARENDS, J. In vivo progress of enamel and root surface lesions under plaque as a function of time. *Caries Res.*, v.22, p.302-5, 1988.
- 40 OSUJI, O. D. et al. Risk factors for dental fluorosis in a fluoridated community. *J. Dent. Res.*, v.67, n.12, p.1488-92, 1988.
- 41 RÖLLA, G., SAXEGAARD, E. Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of the calcium fluoride in caries inhibition. *J. Dent. Res.*, v.69, Sp. Iss., p.180, 1990.

- 42 RÖLLA, G., OGAARD, B., CRUZ, R. A. Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review. *Int. Dent. J.*, v.41, n.3, p.171-4, 1991.
- 43 SANCHEZ, M., MELLBERG, J. R. Fluoride uptake in vivo by artificial caries lesions in root surface dentin from sodium monofluorophosphate dentifrices. *Caries Res.*, v.22, n.3, p.150-3, 1988.
- 44 SCHEMEHORN, B.R., WOOD, G.D., WINSTON, A.E. Bio-availability of fluoride in remineralizing toothpaste containing calcium salt. *J. Dent. Res.*, v.77, Sp. Iss., p.657, 1998.
- 45 SCHEMEHORN, B.R., WOOD, G.D., WINSTON, A.E. Laboratory enamel solubility reduction and fluoride uptake from enamel dentifrice. *J. Clin. Dent.*, v.10, Spec. n.1, p. 9-12, 1999.
- 46 SCHEMEHORN, B.R. et al. Remineralization by fluoride enhanced with calcium and phosphate ingredients. *J. Clin. Dent.*, v.10, Spec. No, p.13-6, 1999.

- 47 SKRTIC, D. et al. Quantitative assesment of the efficacy of amorphous calcium phosphate/metacrylate composites in remineralizing caries-like lesions artificially produced in bovine enamel. *J. Dent. Res.*, v.75, n.9, p.1679-96, 1996.
- 48 SULLIVAN, R. J. et al. In vivo detection of calcium from dicalcium phosphate dihydrate dentifrices in demineralized human enamel and plaque. *Adv. Dent. Res.*, v.11, n.4, p.380-7, 1997.
- 49 SULLIVAN, R. J. et al. Intra-oral comparison and evaluation of the ability of fluoride dentifrices to promote the mineralization of caries-like lesions in dentin and enamel. *J. Clin. Dent.*, v.6, n.2, p.135-8, 1995.
- 50 TREASURE, E. T. Methods of stopping or reversing early carious lesions fluoride: a european perspective. *J. Dent. Edu.*, v.65, n.10, p.1073-77, 2001.
- 51 THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. *Cariologia clínica*. 2.ed. São Paulo: Ed. Santos, 1995. 421p.

- 52 THYLSTRUP, A., BRUUN, C., HOLMEN, L. In vivo caries models: mechanisms for caries initiation and arrestment. *Adv. Dent. Res.*, v.8, n.2, p.144-57, 1994.
- 53 TUNG, M.S.; EICHMILLER, F.C. Dental applications of amorphous calcium phosphates. *J. Clin. Dent.*, v.10, Spec. No, p.1-6, 1999.
- 54 VIEIRA, A. E. M. *Metodologia para determinar a relação dose-resposta de produtos fluoretados utilizando esmalte bovino e modelo de ciclagem de pH*. Araçatuba, 2003. 119p. Dissertação (Mestrado em Odontopediatria) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.
- 55 YASKELL, .T, KASHKET, S., WINSTON, A. E. Intraoral remineralization of enamel with a novel dentifrice. *J. Dent. Res.*, v.77, p.188, 1998. (Abstracts)
- 56 WHITE, D. J. Reactivity of fluoride dentifrices with artificial caries. I. Effects on early lesions: F uptake, surface hardening and remineralization. *Caries Res.*, v.21, n.2, p.126-40, 1987.

- 57 WHITE, D. J. The comparative sensitivity of intra-oral, in vitro, and animal models in the 'profile' evaluation of topical fluorides. *J. Dent. Res.*, v.71, Spec. Iss., p.884-94, 1992.
- 58 WINSTON, A. E., BHASKAR, S. N. Caries prevention in the 21st century. *J. Am. Dent. Assoc.*, v.129, n.11, p.1579-87, 1998.
- 59 WINSTON, A. Z. The origins of enamel remineralizing fluoride toothpaste. *J. Clin. Dent.*, v.10, Spec. No, p.7-8, 1999.
- 60 ZERO, D. T. In situ caries models. *Adv. Dent. Res.*, v.9, n.3, p.214-30, 1995.
- 61 ZHANG, Y. P. et al. Intra-oral remineralization of enamel with a MFP/DCPD and MFP/silica dentifrice using surface microhardness. *J Clin Dent*, v.6, p.148-53, 1995.

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO A

PREPARO E SELEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

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



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



2. Coroa dentária fixada em placa de acrílico (4x4 cm e 4 mm de espessura) com cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA) pela sua face proximal.



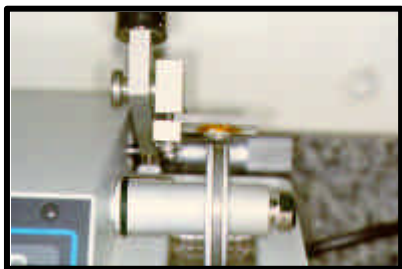
3. Placa montada em cortadeira (Isomet Low Speed Saw - Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA) sob refrigeração com água destilada/deionizada.



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



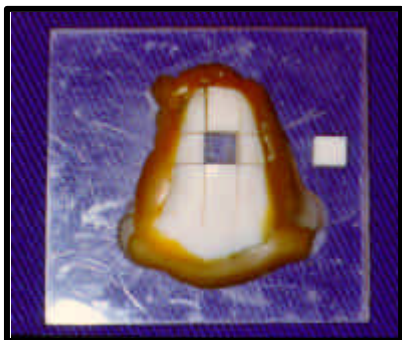
5. Face vestibular fixada na placa de acrílico.



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



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

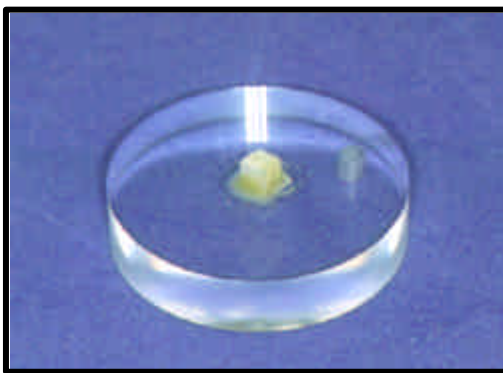


8. Fragmento vestibular do dente bovino, fixado sobre placa de resina. Ao lado, bloco de esmalte dentário.

ANEXO B

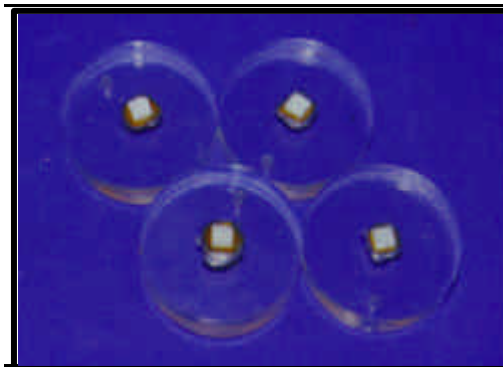
PREPARO E SELEÇÃO DOS BLOCOS DE ESMALTE

Planificação da dentina e polimento do esmalte



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

2. Ajuste da dentina para obtenção de superfícies paralelas entre esmalte e dentina, utilizando Politriz APL-4 AROTEC e lixas de granulação 320 (CARBIMET Paper Discs, 30-5108-320, BUEHLER), 2 pesos, durante 20 segundos sob baixa rotação e refrigeração.



3. Blocos fixados com a superfície do esmalte voltada para cima, a qual será polida.

Seqüência do polimento de esmalte:

1. Pedra-pomes, água deionizada e taça de borracha montada em contra-ângulo em baixa-rotação.
2. Na Politriz APL-4 AROTEC - lixa de granulação 600, 800 e 1200 (30 segundos - 2 pesos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/deionizada por 2 minutos, entre cada lixa;

3. Na Politriz APL-4 AROTEC - acabamento final com disco de papel feltro TEXMET 1000 (Buehler Polishing Cloth) (1 minuto – 2 pesos) e suspensão de diamante 1 micron base-água (Buehler);
4. Limpeza em lavadora ultrassônica utilizando solução detergente (Ultramet Sonic Cleaning Solution - Buehler) diluída 20:1 em água destilada/deionizada (3 minutos);
5. Lavagem durante 30 segundos com jato de água destilada/deionizada.

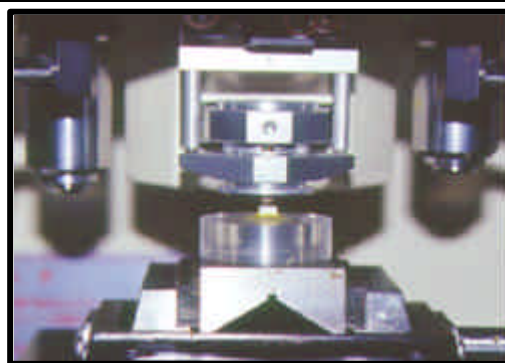
ANEXO C

MICRODUREZA DE SUPERFÍCIE (SMH) DO ESMALTE



1. Microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation - Kyoto-Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem CAMSWIN (NewAge Industries, USA).

2. Bloco de esmalte sendo submetido à leitura no microdurômetro, carga estática de 50 gramas e tempo de 10 segundos, para análise da microdureza de superfície.



3. Fotomicrografia das indentações das análises de microdureza de superfície inicial e final do esmalte (Aumento: 100x).

ANEXO D

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	187,0	189,2	189,3	188,5
0,125	144,4	144,5	144,9	144,6
0,250	127,7	127,8	128,6	128,0
0,50	110,2	110,3	110,6	110,4
1,00	92,7	92,8	93,0	92,8
2,00	75,2	75,6	75,2	75,3
Teste	110,7	110,5	110,2	110,5

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)
TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M

	[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
	0,50	0,25	0,25	0,5	0,125	-0,90309	144,60	-0,896433	0,127	1,54
	1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,60206	128,03	-0,609415	0,246	-1,68
	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,30103	110,37	-0,30334	0,497	-0,53
	4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	92,83	0,0004253	1,001	0,10
	8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,30103	75,33	0,303613	2,012	0,60
	intercepção	1,608764114		inclinação	-0,017325015		Rquad	0,99988	média	0,01
					Slope	-57,7				
	[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %	
Blanck	0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	188,5	-1,657001139	0,022		
Teste	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	110,5	-0,305072499	0,495	-0,93	

Grupo		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm²	Camada µm
D1100	1	83,9	0,155195389	1,430	184,98	0,0010754	1,97	3,77	0,0743	19,24810	48,27
	2	88,9	0,068570316	1,171	164,32	0,0009553	2,00	3,77	0,0754	15,53098	42,23
	3	86,9	0,103220345	1,268	194,84	0,0011328	1,96	3,72	0,0729	17,39488	51,79
	4	80,7	0,210635436	1,624	192,96	0,0011218	2,01	3,69	0,0742	21,89843	50,42
	5	83,1	0,169055401	1,476	217,84	0,0012665	1,97	3,75	0,0739	19,97827	57,15
D550	1	89,3	0,06164031	1,152	167,01	0,0009710	1,65	3,78	0,0624	18,47841	51,89
	2	96,1	-0,056169789	0,879	168,66	0,0009806	1,73	3,80	0,0657	13,36597	49,72
	3	95,2	-0,040577276	0,911	165,83	0,0009641	1,74	3,71	0,0646	14,10911	49,78
	4	86,8	0,104952847	1,273	170,08	0,0009888	1,79	3,70	0,0662	19,22641	49,77
	5	93,7	-0,014589754	0,967	191,57	0,0011138	1,84	3,79	0,0697	13,86606	53,24
D450-S	1	112,8	-0,345497533	0,451	136,54	0,0007938	1,62	3,76	0,0609	7,40968	43,44
	2	98,0	-0,089087317	0,815	166,06	0,0009655	1,78	3,72	0,0662	12,30126	48,60
	3	95,8	-0,050972285	0,889	175,28	0,0010190	1,82	3,74	0,0681	13,06426	49,90
	4	96,5	-0,063099795	0,865	149,06	0,0008666	1,85	3,74	0,0692	12,49847	41,75
	5	106,3	-0,232884938	0,585	141,50	0,0008227	1,69	3,68	0,0622	9,40547	44,09
D275	1	106,9	-0,243279947	0,571	195,50	0,0011366	1,90	3,78	0,0718	7,95197	52,75
	2	106,1	-0,229419935	0,590	183,18	0,0010650	1,92	3,78	0,0726	8,12432	48,91
	3	112,2	-0,335102524	0,462	135,55	0,0007881	1,80	3,71	0,0668	6,92231	39,34
	4	118,6	-0,445982618	0,358	128,20	0,0007453	1,85	3,71	0,0686	5,21761	36,20
	5	109,3	-0,284859982	0,519	140,76	0,0008184	1,76	3,77	0,0664	7,82143	41,11
Placebo	1	119,6	-0,463307632	0,344	151,66	0,0008817	1,81	3,71	0,0672	5,12436	43,77
	2	113,4	-0,355892542	0,441	180,09	0,0010471	1,89	3,83	0,0724	6,08761	48,22
	3	116,1	-0,402670081	0,396	204,74	0,0011903	1,86	3,79	0,0705	5,61278	56,29
	4	116,4	-0,407867586	0,391	169,91	0,0009878	1,80	3,79	0,0682	5,73087	48,27
	5	117,6	-0,428657603	0,373	141,00	0,0008197	1,77	3,79	0,0671	5,55559	40,73

ANEXO E

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blank	187,0	189,2	189,3	188,5
0,125	144,4	144,5	144,9	144,6
0,250	127,7	127,8	128,6	128,0
0,50	110,2	110,3	110,6	110,4
1,00	92,7	92,8	93,0	92,8
2,00	75,2	75,6	75,2	75,3
Teste	110,8	110,4	110,6	110,6

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)
TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M

	[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
	0,50	0,25	0,25	0,5	0,125	-0,90309	144,60	-0,896432997	0,127	1,54
	1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,60206	128,03	-0,609415256	0,246	-1,68
	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,30103	110,37	-0,303339998	0,497	-0,53
	4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	92,83	0,000425258	1,001	0,10
	8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,30103	75,33	0,303613014	2,012	0,60
intercepção		1,608764		inclinação		-0,0173		Rquad	0,99988	
				Slope		-57,7				média
										0,01
	[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %	
Blank	0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	188,5	-1,65700114	0,022		
Teste	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	110,6	-0,3073825	0,493	-1,45	

Grupo											Camada
		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm²	µm
D1100	6	91,4	0,025257779	1,060	158,22	0,0009199	1,70	3,72	0,0632	16,75969	48,49
	7	90,5	0,040850292	1,099	188,03	0,0010932	1,74	3,70	0,0644	17,06473	56,60
	8	94,1	-0,02151976	0,952	150,70	0,0008762	1,63	3,64	0,0593	16,03952	49,23
	9	85,7	0,124010363	1,330	167,14	0,0009717	1,78	3,68	0,0655	20,31153	49,45
	10	93,6	-0,012857253	0,971	135,68	0,0007888	1,80	3,68	0,0662	14,65624	39,70
D550	6	100,2	-0,127202349	0,746	149,76	0,0008707	1,68	3,69	0,0620	12,03544	46,82
	7	98,2	-0,09255232	0,808	141,26	0,0008213	1,74	3,77	0,0656	12,31848	41,73
	8	101,5	-0,149724868	0,708	169,37	0,0009847	1,78	3,78	0,0673	10,52842	48,78
	9	97,0	-0,071762302	0,848	176,46	0,0010259	1,76	3,67	0,0646	13,12378	52,94
	10	94,3	-0,024984763	0,944	192,76	0,0011207	1,85	3,74	0,0692	13,64495	53,99
D450-S	6	102,2	-0,161852378	0,689	168,43	0,0009792	1,74	3,70	0,0644	10,70032	50,70
	7	98,6	-0,099482326	0,795	154,25	0,0008968	1,60	3,73	0,0597	13,32566	50,09
	8	103,4	-0,182642396	0,657	152,13	0,0008845	1,71	3,75	0,0641	10,24071	45,98
	9	107,7	-0,257139959	0,553	173,39	0,0010081	1,81	3,70	0,0670	8,25999	50,17
	10	121,1	-0,489295154	0,324	144,33	0,0008391	1,60	3,71	0,0594	5,46023	47,12
D275	6	113,9	-0,364555049	0,432	131,52	0,0007646	1,72	3,73	0,0642	6,73299	39,73
	7	115,0	-0,383612565	0,413	138,39	0,0008046	1,75	3,72	0,0651	6,35048	41,20
	8	108,1	-0,264069965	0,544	134,12	0,0007798	1,70	3,70	0,0629	8,65525	41,32
	9	110,8	-0,310847504	0,489	147,16	0,0008556	1,70	3,69	0,0627	7,79251	45,46
	10	110,4	-0,303917498	0,497	141,71	0,0008239	1,72	3,70	0,0636	7,80463	43,15
Placebo	6	117,4	-0,4251926	0,376	181,52	0,0010553	1,90	3,80	0,0722	5,20320	48,72
	7	117,6	-0,428657603	0,373	162,32	0,0009437	1,86	3,79	0,0705	5,28677	44,62
	8	119,2	-0,456377627	0,350	182,46	0,0010608	1,81	3,73	0,0675	5,17887	52,38
	9	118,7	-0,447715119	0,357	127,25	0,0007398	1,73	3,78	0,0654	5,45440	37,71
	10	112,7	-0,343765032	0,453	187,68	0,0010911	1,76	3,71	0,0653	6,93982	55,70

ANEXO F
CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	187,0	189,2	189,3	188,5
0,125	144,4	144,5	144,9	144,6
0,250	127,7	127,8	128,6	128,0
0,50	110,2	110,3	110,6	110,4
1,00	92,7	92,8	93,0	92,8
2,00	75,2	75,6	75,2	75,3

Teste	110,3	110,2	110,2	110,2
-------	-------	-------	-------	-------

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)										
TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M										
	[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
	0,50	0,25	0,25	0,5	0,125	-0,90308999	144,60	-0,896432997	0,127	1,54
	1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,60205999	128,03	-0,609415256	0,246	-1,68
	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,30103	110,37	-0,303339998	0,497	-0,53
	4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	92,83	0,000425258	1,001	0,10
	8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,30103	75,33	0,303613014	2,012	0,60
									média	0,01
	intercepção	1,6087641		inclinação	-0,017325		Rquad	0,99988		
				Slope	-57,7					
	[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %	
Blanck	0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	188,5	-1,65700114	0,022		
Teste	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	110,2	-0,30103	0,500	0,00	

Grupo										
		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	Camada
									µgF/cm²	µm
D1100	1	121,6	-0,497957662	0,318	228,17	0,0013266	1,97	3,77	0,0743	59,54
	2	115,4	-0,390542571	0,407	232,16	0,0013498	2,00	3,77	0,0754	59,67
	3	111,4	-0,321242513	0,477	216,43	0,0012583	1,96	3,72	0,0729	57,53
	4	113,2	-0,352427539	0,444	257,75	0,0014985	2,01	3,69	0,0742	67,35
	5	118,2	-0,439052612	0,364	269,01	0,0015640	1,97	3,75	0,0739	70,57
D550	1	127,8	-0,605372752	0,248	167,01	0,0009710	1,65	3,78	0,0624	51,89
	2	140,9	-0,832330443	0,147	128,27	0,0007457	1,73	3,80	0,0657	37,81
	3	142,5	-0,860050467	0,138	153,76	0,0008939	1,74	3,71	0,0646	46,16
	4	128,5	-0,617500262	0,241	153,29	0,0008912	1,79	3,70	0,0662	44,85
	5	138,1	-0,783820403	0,165	172,54	0,0010031	1,84	3,79	0,0697	47,95
D450-S	1	145,9	-0,918955516	0,121	148,82	0,0008652	1,62	3,76	0,0609	47,35
	2	127,0	-0,59151274	0,256	186,38	0,0010836	1,78	3,72	0,0662	54,55
	3	131,5	-0,669475306	0,214	213,78	0,0012429	1,82	3,74	0,0681	60,87
	4	122,7	-0,517015178	0,304	177,40	0,0010314	1,85	3,74	0,0692	49,69
	5	135,6	-0,740507866	0,182	162,52	0,0009449	1,69	3,68	0,0622	50,64
D275	1	142,6	-0,861782968	0,137	217,06	0,0012620	1,90	3,78	0,0718	58,57
	2	135,4	-0,737042863	0,183	179,38	0,0010429	1,92	3,78	0,0726	47,90
	3	136,7	-0,759565382	0,174	160,66	0,0009341	1,80	3,71	0,0668	46,63
	4	134,0	-0,712787843	0,194	188,15	0,0010939	1,85	3,71	0,0686	53,13
	5	134,9	-0,728380356	0,187	144,79	0,0008418	1,76	3,77	0,0664	42,29
Placebo	1	145,3	-0,908560508	0,123	130,57	0,0007591	1,81	3,71	0,0672	37,68
	2	141,6	-0,844457954	0,143	212,56	0,0012358	1,89	3,83	0,0724	56,91
	3	149,6	-0,983058071	0,104	206,87	0,0012027	1,86	3,79	0,0705	56,87
	4	147,5	-0,94667554	0,113	175,12	0,0010181	1,80	3,79	0,0682	49,75
	5	148,7	-0,967465557	0,108	114,22	0,0006641	1,77	3,79	0,0671	33,00

ANEXO G

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	187,0	189,2	189,3	188,5
0,125	144,4	144,5	144,9	144,6
0,250	127,7	127,8	128,6	128,0
0,50	110,2	110,3	110,6	110,4
1,00	92,7	92,8	93,0	92,8
2,00	75,2	75,6	75,2	75,3

Teste	110,4	110,1	110,1	110,2
-------	-------	-------	-------	-------

Curva de calibração para Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)
TISAB II (20g NaOHL) : HCl 0,5 M

[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
0,50	0,25	0,25	0,5	0,125	-0,903089987	144,60	-0,896432997	0,127	1,54
1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,602059991	128,03	-0,609415256	0,246	-1,68
2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,301029996	110,37	-0,303339998	0,497	-0,53
4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0,000	92,83	0,000425258	1,001	0,10
8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,301029996	75,33	0,303613014	2,012	0,60
intercepção		1,608764	inclinação		-0,0173	Rquad	0,99988	média	0,01
			Slope		-57,7				
[padrão] µg/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %	
Blanck	0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	188,5	-1,657001139	0,022	
Teste	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	110,2	-0,300452495	0,501	0,13

Grupo											Camada
		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm²	µm
D1100	6	126,4	-0.581117732	0,262	171,83	0,0009990	1,70	3,72	0,0632	4,14849	52,66
	7	128,1	-0.610570257	0,245	196,24	0,0011410	1,74	3,70	0,0644	3,80784	59,07
	8	132,3	-0.683335318	0,207	166,20	0,0009663	1,63	3,64	0,0593	3,49442	54,29
	9	116,6	-0.411332589	0,388	195,07	0,0011341	1,78	3,68	0,0655	5,92106	57,71
	10	121,2	-0.491027656	0,323	154,23	0,0008967	1,80	3,68	0,0662	4,87362	45,12
D550	6	140,9	-0.832330443	0,147	119,25	0,0006933	1,68	3,69	0,0620	2,37320	37,28
	7	130,3	-0.648685289	0,225	138,26	0,0008039	1,74	3,77	0,0656	3,42314	40,85
	8	138,5	-0.790750408	0,162	149,77	0,0008707	1,78	3,78	0,0673	2,40623	43,14
	9	147,6	-0.948408041	0,113	118,31	0,0006878	1,76	3,67	0,0646	1,74346	35,50
	10	137,8	-0.778622898	0,166	180,05	0,0010468	1,85	3,74	0,0692	2,40621	50,43
D450-S	6	129,1	-0.627895271	0,236	198,66	0,0011550	1,74	3,70	0,0644	3,65893	59,80
	7	134,2	-0.716252846	0,192	194,41	0,0011303	1,60	3,73	0,0597	3,22046	63,13
	8	139,9	-0.815005429	0,153	192,52	0,0011193	1,71	3,75	0,0641	2,38763	58,18
	9	135,7	-0.742240368	0,181	208,11	0,0012099	1,81	3,70	0,0670	2,70321	60,22
	10	151,4	-1.014243097	0,097	153,54	0,0008927	1,60	3,71	0,0594	1,63028	50,13
D275	6	140,4	-0.823667936	0,150	120,85	0,0007026	1,72	3,73	0,0642	2,33935	36,51
	7	147,6	-0.948408041	0,113	143,15	0,0008323	1,75	3,72	0,0651	1,72986	42,61
	8	137,3	-0.769960391	0,170	121,42	0,0007059	1,70	3,70	0,0629	2,70016	37,41
	9	132,4	-0.685067819	0,207	139,13	0,0008089	1,70	3,69	0,0627	3,29198	42,98
	10	144,8	-0.899898	0,126	120,71	0,0007018	1,72	3,70	0,0636	1,97866	36,76
Placebo	6	146,1	-0.922420519	0,120	153,32	0,0008914	1,90	3,80	0,0722	1,65593	41,15
	7	138,8	-0.795947913	0,160	199,29	0,0011587	1,86	3,79	0,0705	2,26934	54,79
	8	146,7	-0.932815528	0,117	178,91	0,0010402	1,81	3,73	0,0675	1,72901	51,36
	9	141,0	-0.834062945	0,147	134,12	0,0007798	1,73	3,78	0,0654	2,24078	39,75
	10	138,4	-0.789017907	0,163	216,59	0,0012592	1,76	3,71	0,0653	2,48940	64,28

ANEXO H

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO

ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	185,8	185,7	185,6	185,7
0,250	130,7	130,8	128,8	130,1
0,500	111,6	111,4	111,5	111,5
1,00	93,7	93,8	93,9	93,8
2,00	76,3	76,0	75,6	76,0
4,00	57,7	57,7	57,6	57,7

Teste	94,0	94,2	93,4	93,9
-------	------	------	------	------

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)

TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M

		[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
		1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,60206	130,10	-0,60558089	0,248	-0,81
		2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,30103	111,50	-0,29522625	0,507	1,35
		4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	93,80	0,00011124	1,000	0,03
		8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,30103	75,97	0,29767349	1,985	-0,77
		16,00	0,25	0,25	0,5	4,000	0,60206	57,67	0,60302241	4,009	0,22
										média	0,00
		intercepção	1,56523305		inclinação	-0,016685734		Rquad	0,99994		
					Slope	-59,9					
		[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %	
Blanck		0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	185,7	-1,5333077	0,029		
Teste		4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	93,9	-0,0010011	0,998	-0,23	

Grupo		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada µm
Crest	1	81,0	0,213688628	1,636	207,55	0,0012067	2,07	3,71	0,0768	21,29827	52,37
	2	84,5	0,155288561	1,430	185,85	0,0010805	1,97	3,72	0,0733	19,51099	49,15
	3	84,5	0,155288561	1,430	206,13	0,0011984	2,02	3,76	0,0760	18,82562	52,60
	4	85,4	0,1402714	1,381	162,50	0,0009448	1,91	3,71	0,0709	19,49235	44,44
D1100	1	88,7	0,085208479	1,217	167,83	0,0009757	1,79	3,71	0,0664	18,32237	48,98
	2	157,6	-1,064438564	0,086	73,45	0,0004271	1,68	3,69	0,0620	1,39068	22,96
	3	89,6	0,070191319	1,175	151,66	0,0008818	1,60	3,75	0,0600	19,59025	48,99
	4	86,7	0,118579947	1,314	188,51	0,0010960	1,80	3,78	0,0680	19,31148	53,69
D1000-S	1	95,6	-0,029923082	0,933	232,01	0,0013489	1,76	3,71	0,0653	14,29520	68,86
	2	99,3	-0,091660296	0,810	144,53	0,0008403	1,77	3,75	0,0664	12,19931	42,20
	3	93,0	0,013459825	1,031	135,26	0,0007864	1,75	3,74	0,0655	15,75978	40,05
	4	89,3	0,075197039	1,189	150,71	0,0008762	1,81	3,74	0,0677	17,56495	43,15
D550	1	95,9	-0,034928802	0,923	156,66	0,0009108	1,91	3,75	0,0716	12,88269	42,39
	2	94,3	-0,008231629	0,981	162,12	0,0009426	1,90	3,79	0,0720	13,62623	43,63
	3	95,4	-0,026585936	0,941	164,74	0,0009578	1,87	3,73	0,0698	13,48539	45,77
	4	92,5	0,021802692	1,051	168,78	0,0009813	1,81	3,73	0,0675	15,57454	48,45
D450-S	1	101,6	-0,130037484	0,741	125,12	0,0007274	1,69	3,71	0,0627	11,82230	38,67
	2	106,2	-0,206791858	0,621	110,77	0,0006440	1,66	3,75	0,0623	9,97858	34,48
	3	103,0	-0,153397511	0,702	120,57	0,0007010	1,59	3,76	0,0598	11,74945	39,09
	4	106,7	-0,215134725	0,609	107,42	0,0006245	1,56	3,70	0,0577	10,55696	36,07
D275	1	114,8	-0,350289167	0,446	121,05	0,0007038	1,81	3,77	0,0682	6,54170	34,38
	2	108,0	-0,236826179	0,580	130,62	0,0007594	1,83	3,80	0,0695	8,33564	36,40
	3	107,8	-0,233489032	0,584	172,01	0,0010001	1,73	3,80	0,0657	8,88549	50,71
	4	111,5	-0,295226246	0,507	137,08	0,0007970	1,69	3,80	0,0642	7,89048	41,37
Placebo	1	104,3	-0,175088964	0,668	249,76	0,0014521	2,08	3,77	0,0784	8,52131	61,73
	2	103,7	-0,165077524	0,684	210,05	0,0012212	1,91	3,80	0,0726	9,42118	56,09
	3	111,9	-0,30190054	0,499	183,73	0,0010682	1,90	3,79	0,0720	6,92958	49,45
	4	108,6	-0,246837619	0,566	218,42	0,0012699	1,77	3,79	0,0671	8,44403	63,10

ANEXO I

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO

ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanc	185,1	184,9	186,7	185,6
0,250	130,5	129,5	130,0	130,0
0,500	111,1	111,2	111,8	111,4
1,00	93,6	94,2	94,5	94,1
2,00	75,8	76,4	76,3	76,2
4,00	57,8	58,0	58,2	58,0

Teste	94,8	94,1	93,8	94,2
-------	------	------	------	------

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)
TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M

	[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
	1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,60206	130,00	-0,60591399	0,248	-0,88
	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,30103	111,37	-0,29293495	0,509	1,88
	4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	94,10	-0,00291143	0,993	-0,67
	8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,30103	76,17	0,2983099	1,988	-0,62
	16,00	0,25	0,25	0,5	4,000	0,60206	58,00	0,603450471	4,013	0,32
									média	0,01
	intercepção	1,5776607		inclinação	-0,016796729		Rquad	0,99989		
				Slope	-59,5					
	[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.		C.V. %
Blanc	0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	185,6	-1,539252	0,029		
Teste	4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	94,2	-0,005151	0,988	-1,18	

Grupo		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada µm
Crest	5	87,2	0,112985995	1,297	174,53	0,0010147	1,84	3,74	0,0688	18,8494	49,15
	6	89,4	0,076033192	1,191	149,53	0,0008694	1,82	3,78	0,0688	17,3169	42,12
	7	90,8	0,052517772	1,129	212,03	0,0012327	1,85	3,74	0,0692	16,3108	59,39
	8	88,5	0,091150247	1,234	125,71	0,0007309	1,66	3,76	0,0624	19,7631	39,03
D1100	5	92,6	0,02228366	1,053	164,26	0,0009550	1,67	3,74	0,0625	16,8537	50,97
	6	91,1	0,047478753	1,116	160,22	0,0009315	1,78	3,71	0,0660	16,8921	47,02
	7	93,0	0,015564969	1,036	194,69	0,0011319	1,73	3,69	0,0638	16,2365	59,10
	8	82,5	0,191930619	1,556	173,53	0,0010089	1,63	3,70	0,0603	25,7953	55,76
D1000-S	5	102,8	-0,14904297	0,710	110,54	0,0006427	1,61	3,74	0,0602	11,7831	35,58
	6	83,5	0,17513389	1,497	203,01	0,0011803	1,81	3,72	0,0673	22,2286	58,43
	7	88,1	0,097868939	1,253	184,71	0,0010739	1,78	3,72	0,0662	18,9193	54,06
	8	96,0	-0,03482522	0,923	177,58	0,0010324	1,79	3,79	0,0678	13,6045	50,73
D550	5	96,7	-0,04658293	0,898	213,47	0,0012411	1,89	3,77	0,0713	12,6071	58,06
	6	93,9	0,000447913	1,001	176,62	0,0010269	2,09	3,85	0,0805	12,4406	42,54
	7	94,1	-0,00291143	0,993	174,48	0,0010144	1,96	3,78	0,0741	13,4073	45,64
	8	94,0	-0,00123176	0,997	157,13	0,0009136	1,87	3,79	0,0709	14,0698	42,97
D450-S	5	105,1	-0,18767545	0,649	165,07	0,0009597	1,74	3,87	0,0673	9,6397	47,51
	6	100,7	-0,11376984	0,770	186,36	0,0010835	1,80	3,76	0,0677	11,3702	53,36
	7	108,8	-0,24982334	0,563	124,64	0,0007247	1,72	3,68	0,0633	8,8879	38,16
	8	100,5	-0,1104105	0,776	136,36	0,0007928	1,84	3,72	0,0684	11,3300	38,61
D275	5	113,5	-0,32876797	0,469	176,56	0,0010265	1,77	3,85	0,0681	6,8833	50,21
	6	109,3	-0,25822171	0,552	194,50	0,0011308	1,82	3,78	0,0688	8,0208	54,79
	7	111,4	-0,29349484	0,509	147,13	0,0008554	1,78	3,79	0,0675	7,5413	42,27
	8	120,0	-0,4379467	0,365	131,34	0,0007636	1,78	3,71	0,0660	5,5241	38,54
Placebo	5	109,2	-0,25654204	0,554	209,09	0,0012156	1,84	3,79	0,0697	7,9433	58,11
	6	115,3	-0,35900208	0,438	143,30	0,0008331	1,99	3,80	0,0756	5,7858	36,73
	7	110,5	-0,27837778	0,527	172,73	0,0010042	1,82	3,84	0,0699	7,5374	47,90
	8	115,4	-0,36068175	0,436	148,80	0,0008651	1,81	3,80	0,0688	6,3366	41,93

ANEXO J

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	185,1	184,0	185,8	185,0
0,250	130,2	130,8	131,0	130,7
0,500	112,7	112,0	111,8	112,2
1,00	94,7	94,0	94,2	94,3
2,00	76,2	76,0	76,4	76,2
4,00	58,3	58,3	58,1	58,2

Teste	112,2	111,8	111,7	111,9
-------	-------	-------	-------	-------

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)

TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M

[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %		
1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,60206	130,67	-0,6051496	0,248	-0,71		
2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,30103	112,17	-0,2971925	0,504	0,89		
4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	94,30	0,000222	1,001	0,05		
8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,30103	76,20	0,3015205	2,002	0,11		
16,00	0,25	0,25	0,5	4,000	0,60206	58,23	0,6005996	3,987	-0,34		
intercepção		1,56997084		inclinação		-0,01664633		Rquad	0,99997	média	0,00
Slope				-60,1							
[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %			
0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	185,0	-1,509045	0,031				
Teste	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	111,9	-0,292753	0,510	1,92		

Grupo		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada
Crest	9	100,1	-0,096326761	0,801	125,00	0,0007267	1,66	3,69	0,0613	13,0779	µm
	10	99,9	-0,092997495	0,807	128,07	0,0007446	1,66	3,67	0,0609	13,2504	39,55
	11	99,1	-0,079680431	0,832	132,08	0,0007679	1,65	3,71	0,0612	13,5976	40,74
	12	93,5	0,013539015	1,032	132,31	0,0007693	1,66	3,74	0,0621	16,6173	41,81
D1100	9	89,7	0,076795067	1,193	163,07	0,0009481	1,70	3,71	0,0631	18,9222	41,30
	10	97,7	-0,05637557	0,878	148,10	0,0008610	1,71	3,73	0,0638	13,7695	50,11
	11	104,1	-0,16291208	0,687	123,85	0,0007201	1,65	3,81	0,0629	10,9315	45,00
	12	88,2	0,101764562	1,264	199,21	0,0011582	1,83	3,69	0,0675	18,7192	38,18
D1000-S	9	97,7	-0,05637557	0,878	161,17	0,0009371	1,67	3,74	0,0625	14,0617	57,17
	10	97,6	-0,054710937	0,882	177,58	0,0010324	1,67	3,79	0,0633	13,9294	50,01
	11	89,8	0,075130434	1,189	192,08	0,0011167	1,61	3,74	0,0602	19,7439	54,37
	12	97,6	-0,054710937	0,882	167,35	0,0009730	1,59	3,75	0,0596	14,7863	61,82
D550	9	89,6	0,0784597	1,198	137,16	0,0007975	1,73	3,77	0,0652	18,3684	54,39
	10	95,8	-0,024747543	0,945	150,00	0,0008721	1,83	3,72	0,0681	13,8758	40,76
	11	101,6	-0,121296255	0,756	123,61	0,0007187	1,84	3,77	0,0694	10,9030	42,70
	12	112,7	-0,306070515	0,494	118,86	0,0006910	1,68	3,73	0,0627	7,8870	34,53
D450-S	9	104,4	-0,167905978	0,679	121,77	0,0007080	1,77	3,72	0,0658	10,3176	36,76
	10	101,0	-0,111308458	0,774	129,19	0,0007511	1,77	3,73	0,0660	11,7222	35,84
	11	103,8	-0,157918181	0,695	123,92	0,0007205	1,73	3,68	0,0637	10,9191	37,92
	12	99,6	-0,088003596	0,817	144,02	0,0008373	1,93	3,71	0,0716	11,4042	37,72
D275	9	119,8	-0,424259455	0,376	114,11	0,0006635	1,58	3,66	0,0578	6,5103	38,98
	10	121,8	-0,457552114	0,349	107,42	0,0006245	1,68	3,82	0,0642	5,4334	38,24
	11	120,1	-0,429253354	0,372	113,16	0,0006579	1,79	3,82	0,0684	5,4429	32,44
	12	120,8	-0,440905785	0,362	141,87	0,0008248	1,77	3,74	0,0662	5,4733	32,07
Placebo	9	106,1	-0,196204739	0,636	177,27	0,0010307	1,79	3,80	0,0680	9,3575	41,53
	10	88,9	0,090112131	1,231	155,26	0,0009027	1,73	3,76	0,0650	18,9181	50,51
	11	121,8	-0,457552114	0,349	177,27	0,0010307	1,69	3,70	0,0625	5,5765	46,26
	12	121,5	-0,452558215	0,353	188,04	0,0010932	1,68	3,68	0,0618	5,7054	54,94

ANEXO L

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	182,9	181,5	182,9	182,4
0,125	146,0	146,3	146,1	146,1
0,250	129,6	130,1	130,6	130,1
0,50	111,8	111,5	111,6	111,6
1,00	93,7	94,3	94,3	94,1
2,00	75,8	76,4	76,6	76,3

Teste	111,0	111,9	111,5	111,5
-------	-------	-------	-------	-------

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)
TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M

	[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%	
	0,50	0,25	0,25	0,5	0,125	-0,9031	146,13	-0,8915423	0,128	2,69	
	1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,6021	130,10	-0,6170049	0,242	-3,38	
	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,301	111,63	-0,3008017	0,500	0,05	
	4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	94,10	-0,0005799	0,999	-0,13	
	8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,30103	76,27	0,30477876	2,017	0,87	
intercepção	1,6107		inclinação		-0,017123		Rquad	0,99959		média	0,02
					Slope		-58,4				
	[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %		
Blanck	0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	182,4	-1,5131041	0,031			
Teste	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	111,5	-0,2979479	0,504	0,71		

Grupo		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada µm
Crest	1	119,8	-0,440639	0,363	216,85	0,0012607	2,07	3,71	0,0768	4,72081	54,72
	2	133,8	-0,68036	0,209	223,60	0,0013000	1,97	3,72	0,0733	2,84860	59,13
	3	111,5	-0,298519	0,503	237,81	0,0013826	2,02	3,76	0,0760	6,62128	60,68
	4	130,5	-0,623854	0,238	214,05	0,0012445	1,91	3,71	0,0709	3,35536	58,54
D1100	1	128,2	-0,584471	0,260	222,73	0,0012950	1,79	3,71	0,0664	3,92014	65,00
	2	158,2	-1,098159	0,080	56,04	0,0003258	1,68	3,69	0,0620	1,28678	17,52
	3	123,8	-0,50913	0,310	202,46	0,0011771	1,60	3,75	0,0600	5,16081	65,40
	4	118,1	-0,41153	0,388	242,77	0,0014114	1,80	3,78	0,0680	5,69778	69,15
D1000-S	1	138,2	-0,7557	0,176	200,79	0,0011674	1,76	3,71	0,0653	2,68790	59,60
	2	132,4	-0,656388	0,221	185,53	0,0010787	1,77	3,75	0,0664	3,32359	54,17
	3	122,9	-0,49372	0,321	230,60	0,0013407	1,75	3,74	0,0655	4,90197	68,28
	4	114,0	-0,341326	0,456	235,37	0,0013685	1,81	3,74	0,0677	6,73169	67,38
D550	1	132,9	-0,664949	0,216	175,52	0,0010204	1,91	3,75	0,0716	3,01986	47,49
	2	115,1	-0,360161	0,436	179,57	0,0010440	1,90	3,79	0,0720	6,05963	48,33
	3	124,7	-0,524541	0,299	204,13	0,0011868	1,87	3,73	0,0698	4,28458	56,72
	4	135,3	-0,706044	0,197	215,34	0,0012520	1,81	3,73	0,0675	2,91453	61,81
D450-S	1	122,4	-0,485158	0,327	215,33	0,0012519	1,69	3,71	0,0627	5,21892	66,56
	2	120,1	-0,445776	0,358	192,82	0,0011211	1,66	3,75	0,0623	5,75552	60,03
	3	124,3	-0,517692	0,304	216,07	0,0012562	1,59	3,76	0,0598	5,07836	70,04
	4	119,9	-0,442351	0,361	221,94	0,0012904	1,56	3,70	0,0577	6,25637	74,52
D275	1	129,2	-0,601594	0,250	179,85	0,0010457	1,81	3,77	0,0682	3,66763	51,08
	2	125,9	-0,545089	0,285	175,69	0,0010215	1,83	3,80	0,0695	4,09899	48,96
	3	140,0	-0,786522	0,163	210,93	0,0012263	1,73	3,80	0,0657	2,48684	62,18
	4	126,4	-0,55365	0,279	221,94	0,0012904	1,69	3,80	0,0642	4,35191	66,98
Placebo	1	136,1	-0,719742	0,191	127,00	0,0007384	2,08	3,77	0,0784	2,43138	31,39
	2	123,1	-0,497144	0,318	117,21	0,0006815	1,91	3,80	0,0726	4,38570	31,30
	3	135,4	-0,707756	0,196	96,66	0,0005620	1,90	3,79	0,0720	2,72177	26,01
	4	144,6	-0,865287	0,136	118,92	0,0006914	1,77	3,79	0,0671	2,03283	34,36

ANEXO M

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	182,9	181,5	182,9	182,4
0,125	146,0	146,3	146,1	146,1
0,250	129,6	130,1	130,6	130,1
0,50	111,8	111,5	111,6	111,6
1,00	93,7	94,3	94,3	94,1
2,00	75,8	76,4	76,6	76,3

Teste	111,0	111,9	111,5	111,5
-------	-------	-------	-------	-------

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)
TISAB II (20g NaOHL) : HCl 0,5 M

	[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
	0,50	0,25	0,25	0,5	0,125	-0,9031	146,13	-0,89154	0,128	2,69
	1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,6021	130,10	-0,617	0,242	-3,38
	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,301	111,63	-0,3008	0,500	0,05
	4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	94,10	-0,00058	0,999	-0,13
	8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,301	76,27	0,304779	2,017	0,87
									média	0,02
intercepção		1,61069		inclinação	-0,01712		Rquad	0,99959		
				Slope	-58,4					
	[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %	
Blanck	0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	182,4	-1,5131	0,031		
Teste	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	111,5	-0,2979	0,504	0,71	

Grupo		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada µm
Crest	5	124,5	-0,52111654	0,301	203,80	0,0011849	1,84	3,74	0,0688	4,37718	57,40
	6	104,8	-0,1837951	0,655	207,53	0,0012066	1,82	3,78	0,0688	9,52010	58,46
	7	123,4	-0,50228133	0,315	230,36	0,0013393	1,85	3,74	0,0692	4,54648	64,52
	8	114,1	-0,34303822	0,454	220,81	0,0012838	1,66	3,76	0,0624	7,27220	68,56
D1100	5	135,1	-0,70261945	0,198	194,12	0,0011286	1,67	3,74	0,0625	3,17536	60,23
	6	115,3	-0,36358571	0,433	202,70	0,0011785	1,78	3,71	0,0660	6,55572	59,49
	7	133,5	-0,67522278	0,211	192,45	0,0011189	1,73	3,69	0,0638	3,30906	58,42
	8	129,1	-0,59988195	0,251	205,09	0,0011924	1,63	3,70	0,0603	4,16609	65,90
D1000-S	5	118,6	-0,42009134	0,380	170,51	0,0009913	1,61	3,74	0,0602	6,31264	54,88
	6	128,0	-0,58104674	0,262	200,79	0,0011674	1,81	3,72	0,0673	3,89701	57,79
	7	129,0	-0,59816966	0,252	236,33	0,0013740	1,78	3,72	0,0662	3,80949	69,17
	8	131,6	-0,64268924	0,228	170,75	0,0009927	1,79	3,79	0,0678	3,35597	48,78
D550	5	130,6	-0,62556632	0,237	228,93	0,0013310	1,89	3,77	0,0713	3,32377	62,27
	6	128,4	-0,58789591	0,258	223,45	0,0012991	2,09	3,85	0,0805	3,20994	53,82
	7	121,1	-0,46289863	0,344	222,73	0,0012950	1,96	3,78	0,0741	4,64894	58,26
	8	124,1	-0,51426737	0,306	197,69	0,0011494	1,87	3,79	0,0709	4,31769	54,06
D450-S	5	132,3	-0,65467528	0,221	203,34	0,0011822	1,74	3,87	0,0673	3,28900	58,52
	6	127,9	-0,57933445	0,263	235,89	0,0013714	1,80	3,76	0,0677	3,89229	67,55
	7	128,0	-0,58104674	0,262	207,26	0,0012050	1,72	3,68	0,0633	4,14550	63,46
	8	121,0	-0,46118633	0,346	223,16	0,0012975	1,84	3,72	0,0684	5,05188	63,19
D275	5	129,5	-0,60673112	0,247	229,28	0,0013330	1,77	3,85	0,0681	3,62940	65,21
	6	136,1	-0,71974236	0,191	243,23	0,0014141	1,82	3,78	0,0688	2,77137	68,52
	7	131,0	-0,63241549	0,233	178,14	0,0010357	1,78	3,79	0,0675	3,45561	51,17
	8	135,0	-0,70090715	0,199	190,86	0,0011097	1,78	3,71	0,0660	3,01508	56,01
Placebo	5	137,5	-0,74371444	0,180	117,94	0,0006857	1,84	3,79	0,0697	2,58719	32,78
	6	141,5	-0,81220611	0,154	81,00	0,0004709	1,99	3,80	0,0756	2,03778	20,76
	7	140,7	-0,79850777	0,159	108,16	0,0006288	1,82	3,84	0,0699	2,27557	29,99
	8	139,1	-0,77111111	0,169	99,59	0,0005790	1,81	3,80	0,0688	2,46279	28,06

ANEXO N

CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA ANÁLISE DE FLÚOR NO ESMALTE (BIÓPSIA)

Curva de calibração				
Padrão	Primeira	Segunda	Terceira	Média
Blanck	182,9	181,0	184,3	182,7
0,125	146,0	146,3	146,0	146,1
0,250	129,4	129,4	128,9	129,2
0,50	111,7	112,1	111,7	111,8
1,00	93,9	94,6	94,1	94,2
2,00	77,0	76,7	76,3	76,7

Teste	112,7	111,9	111,6	112,1
-------	-------	-------	-------	-------

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biópsia)									
TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M									
[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
0,50	0,25	0,25	0,5	0,125	-0,90309	146,10	-0,8980851	0,126	1,16
1,00	0,25	0,25	0,5	0,250	-0,60206	129,23	-0,60613508	0,248	-0,93
2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	-0,30103	111,83	-0,30495343	0,496	-0,90
4,00	0,25	0,25	0,5	1,000	0	94,20	0,00026704	1,001	0,06
8,00	0,25	0,25	0,5	2,000	0,30103	76,67	0,30375659	2,013	0,63
								média	0,00
intercepção	1,63080215		inclinação		-0,01730929		Rquad	0,99993	
			Slope		-57,8				
[padrão] = g/mL	mL do padrão	mL HCl M	mL de TISAB II	[Mistura] = g/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %	
Blanck	0,00	0,0	0,5	0,5	0,000	182,7	-1,532182	0,029	
Teste	2,00	0,25	0,25	0,5	0,500	112,1	-0,308992	0,491	-1,82

Grupo										Camada	
		mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	µm
Crest	9	118,2	-0.415155914	0,384	182,84	0,0010630	1,66	3,69	0,0613	6,27639	57,85
	10	112,5	-0.316492961	0,483	196,35	0,0011416	1,66	3,67	0,0609	7,92014	62,46
	11	119,7	-0.441119849	0,362	194,95	0,0011335	1,65	3,71	0,0612	5,91592	61,72
	12	111,4	-0.297452742	0,504	187,03	0,0010874	1,66	3,74	0,0621	8,12022	58,38
D1100	9	124,7	-0.527666298	0,297	205,80	0,0011965	1,70	3,71	0,0631	4,70447	63,24
	10	128,3	-0.589979742	0,257	181,24	0,0010537	1,71	3,73	0,0638	4,03010	55,07
	11	131,3	-0.641907611	0,228	142,61	0,0008291	1,65	3,81	0,0629	3,62814	43,96
	12	127,9	-0.583056026	0,261	187,20	0,0010884	1,83	3,69	0,0675	3,86782	53,73
D1000-S	9	127,9	-0.583056026	0,261	203,42	0,0011827	1,67	3,74	0,0625	4,18173	63,12
	10	121,1	-0.465352854	0,342	202,46	0,0011771	1,67	3,79	0,0633	5,41117	61,99
	11	133,4	-0.67825712	0,210	216,06	0,0012561	1,61	3,74	0,0602	3,48374	69,54
	12	131,1	-0.638445753	0,230	170,03	0,0009886	1,59	3,75	0,0596	3,85590	55,27
D550	9	109,3	-0.261103234	0,548	227,74	0,0013241	1,73	3,77	0,0652	8,40445	67,67
	10	122,2	-0.484393073	0,328	205,33	0,0011938	1,83	3,72	0,0681	4,81518	58,45
	11	121,2	-0.467083783	0,341	222,02	0,0012908	1,84	3,77	0,0694	4,91764	62,03
	12	129,2	-0.605558102	0,248	135,45	0,0007875	1,68	3,73	0,0627	3,95753	41,89
D450-S	9	118,5	-0.420348701	0,380	197,96	0,0011509	1,77	3,72	0,0658	5,76946	58,27
	10	109,8	-0.269757879	0,537	225,37	0,0013103	1,77	3,73	0,0660	8,13879	66,15
	11	119,2	-0.432465204	0,369	220,47	0,0012818	1,73	3,68	0,0637	5,80284	67,11
	12	113,3	-0.330340393	0,467	200,16	0,0011637	1,93	3,71	0,0716	6,52722	54,18
D275	9	142,0	-0.827117013	0,149	139,23	0,0008095	1,58	3,66	0,0578	2,57481	46,66
	10	136,7	-0.735377777	0,184	175,69	0,0010215	1,68	3,82	0,0642	2,86582	53,06
	11	138,2	-0.761341712	0,173	162,23	0,0009432	1,79	3,82	0,0684	2,53362	45,98
	12	143,4	-0.851350019	0,141	148,53	0,0008636	1,77	3,74	0,0662	2,12718	43,48
Placebo	9	134,5	-0.697297339	0,201	105,46	0,0006132	1,79	3,80	0,0680	2,95166	30,05
	10	122,0	-0.480931215	0,330	78,30	0,0004553	1,73	3,76	0,0650	5,07966	23,33
	11	158,5	-1.112720296	0,077	104,73	0,0006089	1,69	3,70	0,0625	1,23365	32,46
	12	155,3	-1.057330569	0,088	111,09	0,0006459	1,68	3,68	0,0618	1,41746	34,82

ANEXO O

MICRODUREZA SUPERFICIAL (SMH) INICIAL E FINAL – água

Placebo													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
1	336	330	328	327	325	329,2	1	75	73	77	66	75	73,2
2	325	328	331	325	327	327,2	2	16	20	20	19	17	18,4
3	327	336	328	327	337	331,0	3	28	21	24	21	23	23,4
4	331	331	325	328	328	328,6	4	23	24	30	37	34	29,6
5	325	327	330	331	336	329,8	5	30	28	27	25	25	27,0
6	337	337	343	331	342	338,0	6	35	24	24	29	38	30,0
7	347	337	339	343	345	342,2	7	22	28	32	30	25	27,4
8	325	331	334	337	328	331,0	8	35	32	31	40	47	37,0
9	325	328	337	327	328	329,0	9	25	33	30	25	22	27,0
10	325	325	325	330	333	327,6	10	35	29	26	32	38	32,0
						Média							média
						331,6							32,5
D275													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
11	331	333	340	331	331	333,2	11	66	74	63	60	57	64,0
12	325	327	328	327	328	327,0	12	89	88	85	72	73	81,4
13	333	327	330	334	327	330,2	13	70	66	62	68	65	66,2
14	325	331	328	325	330	327,8	14	123	128	118	110	115	118,8
15	325	330	325	330	328	327,6	15	59	64	62	59	55	59,8
16	334	337	340	336	330	335,4	16	63	64	61	61	54	60,6
17	327	325	334	333	328	329,4	17	45	40	45	51	47	45,6
18	325	336	339	339	334	334,6	18	55	64	75	72	70	67,2
19	325	328	331	331	331	329,2	19	72	76	75	78	84	77,0
20	333	340	339	342	340	338,8	20	55	50	68	69	60	60,4
						média							média
						331,3							70,1
D550													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
21	325	331	331	337	330	330,8	21	143	144	141	143	144	143,0
22	327	325	334	327	328	328,2	22	150	144	150	144	144	146,4
23	331	334	333	328	327	330,6	23	143	147	150	144	150	146,8
24	325	325	331	328	330	327,8	24	152	145	134	132	151	142,8
25	328	334	331	328	328	329,8	25	146	144	140	110	149	137,8
26	327	330	334	328	330	329,8	26	145	144	148	145	148	146,0
27	325	330	327	331	331	328,8	27	149	141	144	143	149	145,2
28	334	337	339	340	331	336,2	28	145	141	135	139	140	140,0
29	325	331	331	325	325	327,4	29	145	149	136	139	143	142,4
30	331	327	330	330	328	329,2	30	149	142	154	152	140	147,4
						média							média
						329,9							143,8
D450-S													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
31	325	328	325	331	333	328,4	31	177	170	173	173	187	176,0
32	325	333	334	327	328	329,4	32	172	169	172	175	176	172,8
33	333	331	331	334	336	333,0	33	184	183	180	192	191	186,0
34	328	325	327	331	328	327,8	34	173	178	168	171	173	172,6
35	331	331	337	331	337	333,4	35	195	185	182	184	180	185,2
36	328	331	325	327	325	327,2	36	168	170	173	175	183	173,8
37	328	325	327	325	328	326,6	37	184	170	185	175	179	178,6
38	334	337	327	339	334	334,2	38	169	157	176	173	177	170,4
39	328	331	334	342	331	333,2	39	170	173	163	183	167	171,2
40	328	330	328	325	325	327,2	40	179	165	167	173	175	171,8
						média							média
						330,4							175,8
D1100													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
41	337	330	334	328	330	331,8	41	190	194	187	190	187	189,6
42	327	330	328	328	327	328,0	42	191	198	189	180	197	191,0
43	325	327	331	334	330	329,4	43	164	176	170	168	175	170,6
44	334	337	336	343	339	337,8	44	168	178	169	172	179	173,2
45	325	331	331	327	325	327,8	45	173	172	183	184	182	178,8
46	325	328	337	328	331	329,8	46	195	186	191	185	190	189,4
47	333	331	327	328	336	331,0	47	161	176	166	177	164	168,8
48	328	337	328	331	328	330,4	48	190	196	189	182	191	189,6
49	325	325	337	334	331	330,4	49	184	182	170	179	185	180,0
50	334	330	330	325	328	329,4	50	183	184	170	172	183	178,4
						média							média
						330,6							180,9

ANEXO P

MICRODUREZA SUPERFICIAL (SMH) INICIAL E FINAL - saliva

Placebo													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
1	339	348	343	339	345	342,8	1	93	99	84	79	91	89,2
2	339	342	336	333	340	338,0	2	48	55	46	53	57	51,8
3	334	343	334	333	339	336,6	3	43	52	41	40	41	43,4
4	328	325	327	325	334	327,8	4	44	49	59	62	48	52,4
5	337	330	336	340	336	335,8	5	107	99	91	106	86	97,8
6	328	328	331	327	336	330,0	6	79	73	70	66	87	75,0
7	325	333	334	334	331	331,4	7	46	41	40	52	60	47,8
8	341	338	345	339	330	338,6	8	46	56	69	55	63	57,8
9	339	338	329	330	328	332,8	9	85	87	73	93	74	82,4
10	330	330	328	333	330	330,2	10	46	41	43	62	35	45,4
					média	334,6					média		64,3

D275													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
11	337	331	334	325	333	332,0	11	107	113	100	97	101	103,6
12	348	348	350	347	354	349,4	12	104	102	100	111	113	106,0
13	342	336	330	340	330	335,6	13	138	135	131	131	123	131,6
14	328	330	330	325	325	327,6	14	108	107	112	110	114	110,2
15	327	337	328	327	331	330,0	15	101	105	104	107	110	105,4
16	327	333	336	339	339	334,8	16	131	129	144	142	149	139,0
17	339	339	337	343	342	340,0	17	83	84	95	100	101	92,6
18	330	325	328	327	334	328,8	18	90	95	93	91	103	94,4
19	325	328	325	325	328	326,2	19	115	95	113	110	95	105,6
20	339	337	334	337	331	335,6	20	124	133	134	131	134	131,2
					média	334,0					média		112,0

D550													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
21	331	327	331	327	328	328,8	21	142	141	146	146	151	145,2
22	327	333	330	327	327	328,8	22	150	149	149	149	151	149,6
23	325	327	328	328	330	327,6	23	145	148	140	149	149	146,2
24	334	327	330	334	339	332,8	24	149	140	144	151	153	147,4
25	340	337	339	339	334	337,8	25	162	158	159	160	148	157,4
26	330	339	334	325	327	331,0	26	162	164	162	156	161	161,0
27	325	331	334	330	330	330,0	27	160	163	161	163	163	162,0
28	348	348	344	347	348	347,0	28	159	165	159	161	162	161,2
29	334	334	325	328	331	330,4	29	156	154	147	154	154	153,0
30	328	337	339	331	330	333,0	30	159	160	157	158	162	159,2
					média	332,7					média		154,2

D450-S													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
31	328	340	340	337	331	335,2	31	186,0	178,0	179,0	170,0	175,0	177,6
32	354	357	357	334	351	350,6	32	216,0	225,0	228,0	226,0	221,0	223,2
33	346	338	329	328	331	334,4	33	171,0	182,0	170,0	172,0	166,0	172,2
34	326	331	338	335	346	335,2	34	170,0	170,0	169,0	170,0	178,0	171,4
35	331	335	343	335	332	335,2	35	180,0	164,0	171,0	175,0	177,0	173,4
36	340	337	343	329	341	338,0	36	187,0	191,0	190,0	182,0	196,0	189,2
37	325	331	329	332	346	332,6	37	178,0	186,0	186,0	174,0	176,0	180,0
38	337	328	343	329	340	335,4	38	178,0	176,0	180,0	172,0	170,0	175,2
39	335	341	343	340	332	338,2	39	170,0	182,0	170,0	170,0	169,0	172,2
40	329	334	325	329	331	329,6	40	183,0	178,0	171,0	173,0	168,0	174,6
					média	336,4					média		180,9

D1100													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
41	332	328	325	326	344	331,0	41	190,0	209,0	201,0	197,0	191,0	197,6
42	327	325	325	325	325	325,4	42	194,0	187,0	189,0	195,0	191,0	191,2
43	326	335	333	330	336	332,0	43	190,0	191,0	189,0	196,0	195,0	192,2
44	328	330	328	332	336	330,8	44	188,0	191,0	188,0	198,0	194,0	191,8
45	338	339	330	332	329	333,6	45	199,0	196,0	189,0	198,0	199,0	196,2
46	345	345	341	348	345	344,8	46	194,0	198,0	194,0	186,0	191,0	192,6
47	330	329	335	333	339	333,2	47	187,0	190,0	189,0	192,0	196,0	190,8
48	326	335	336	325	339	332,2	48	196,0	180,0	191,0	191,0	187,0	189,0
49	329	335	344	329	328	333,0	49	176,0	196,0	192,0	185,0	192,0	188,2
50	329	328	337	344	335	334,6	50	190,0	203,0	192,0	190,0	194,0	193,8
					média	333,1					média		192,3

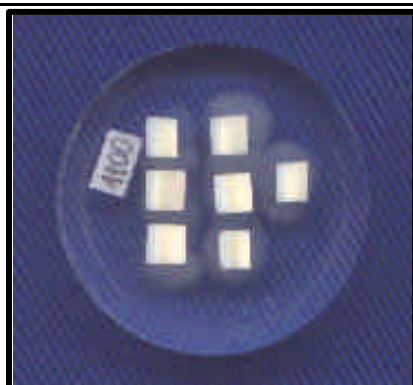
ANEXO Q

AVALIAÇÃO DA MICRODUREZA EM SECCÃO LONGITUDINAL



1. Blocos de esmalte fixados em lamínula de vidro com cera pegajosa (Kota Ind. e Com. LTDA) para secção no sentido longitudinal no centro da área exposta, utilizando disco diamantado (série 15 HC Diamond - n. 11-4243 Buehler) montado em cortadeira sob refrigeração com água destilada/deionizada.

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



3. Corpo de prova - plano longitudinal voltado para a superfície da resina acrílica.

Seqüência do polimento do corpo de prova:

1. Na Politriz APL-4 AROTEC - lixa de granulação 320 (1 minuto - 2 pesos), 600, 800 e 1200 (2 minutos - 2 pesos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/deionizada por dois minutos, entre cada lixa;
2. Na Politriz APL-4 AROTEC - acabamento final com disco de papel feltro MICROCLOTH SUPREME PSA (Buehler Polishing Cloth) e suspensão de diamante 1/4 micron base-água (Buehler) (2 minutos);
3. Limpeza em lavadora ultrassônica utilizando solução detergente (Ultramet Sonic Cleaning Buehler) diluída 20:1 em água destilada/deionizada (3 minutos);
4. Lavagem durante 30 segundos com jato de água destilada/deionizada.

ANEXO R

MICRODUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL



1. Microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation - Kyoto-Japan), com penetrador tipo Knoop, acoplado ao Software para análise de imagem CAMS-WIN (NewAge Industries, USA). Para análise da microdureza em secção longitudinal, utilizou-se carga estática de 25 gramas, tempo de 10 segundos.



2. Fotomicrografia das indentações da análise de microdureza em secção longitudinal do esmalte. (Aumento: 100x)

ANEXO S

MICRODUREZA SUPERFICIAL (SMH) INICIAL E FINAL

Placebo													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
1	339	348	343	339	345	342,8	1	93,0	99,0	84,0	79,0	91,0	89,2
2	339	342	336	333	340	338,0	2	48,0	55,0	46,0	53,0	57,0	51,8
3	334	343	334	333	339	336,6	3	43,0	52,0	41,0	40,0	41,0	43,4
4	331	334	331	327	325	329,6	4	40,0	40,0	43,0	43,0	40,0	41,2
5	328	325	327	325	334	327,8	5	44,0	49,0	59,0	62,0	48,0	52,4
6	337	330	336	340	336	335,8	6	107,0	99,0	91,0	106,0	86,0	97,8
7	328	328	331	327	336	330,0	7	79,0	73,0	70,0	66,0	87,0	75,0
8	325	333	334	334	331	331,4	8	46,0	41,0	40,0	52,0	60,0	47,8
9	327	334	342	325	331	331,8	9	40,0	46,0	36,0	42,0	47,0	42,2
10	341	338	345	339	330	338,6	10	46,0	56,0	69,0	55,0	63,0	57,8
11	339	338	329	330	328	332,8	11	85,0	87,0	73,0	93,0	74,0	82,4
12	330	330	328	333	330	330,2	12	46,0	41,0	43,0	62,0	35,0	45,4
					média	333,8					média		60,5

D275													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
13	327	328	328	333	334	330,0	13	84	73	84	79	83	80,6
14	337	331	334	325	333	332,0	14	107	113	100	97	101	103,6
15	348	348	350	347	354	349,4	15	104	102	100	111	113	106,0
16	342	336	330	340	330	335,6	16	138	135	131	131	123	131,6
17	328	330	330	325	325	327,6	17	108	107	112	110	114	110,2
18	327	337	328	327	331	330,0	18	101	105	104	107	110	105,4
19	327	333	336	339	339	334,8	19	131	129	144	142	149	139,0
20	339	339	337	343	342	340,0	20	83	84	95	100	101	92,6
21	330	325	328	327	334	328,8	21	90	95	93	91	103	94,4
22	325	328	325	325	328	326,2	22	115	95	113	110	95	105,6
23	327	325	328	330	328	327,6	23	87	98	82	95	80	88,4
24	339	337	334	337	331	335,6	24	124	133	134	131	134	131,2
					média	333,1					média		107,4

D550													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
25	331	327	331	327	328	328,8	25	142	141	146	146	151	145,2
26	327	333	330	327	327	328,8	26	150	149	149	149	151	149,6
27	327	336	337	330	339	333,8	27	151	141	142	153	148	147,0
28	325	327	328	328	330	327,6	28	145	148	140	149	149	146,2
29	334	327	330	334	339	332,8	29	149	140	144	151	153	147,4
30	340	337	339	339	334	337,8	30	162	158	159	160	148	157,4
31	330	339	334	325	327	331,0	31	162	164	162	156	161	161,0
32	334	343	328	328	327	332,0	32	146	144	148	141	145	144,8
33	325	331	334	330	330	330,0	33	160	163	161	163	163	162,0
34	348	348	344	347	348	347,0	34	159	165	159	161	162	161,2
35	334	334	325	328	331	330,4	35	156	154	147	154	154	153,0
36	328	337	339	331	330	333,0	36	159	160	157	158	162	159,2
					média	332,8					média		152,8

D450-S													
Microdureza superficial inicial							Microdureza superficial final						
blocos						média	blocos						média
37	328	340	340	337	331	335,2	37	186,0	178,0	179,0	170,0	175,0	177,6
38	354	357	357	334	351	350,6	38	216,0	225,0	228,0	226,0	221,0	223,2
39	328	328	341	335	331	332,6	39	162,0	163,0	162,0	164,0	170,0	164,2
40	346	338	329	328	331	334,4	40	171,0	182,0	170,0	172,0	166,0	172,2
41	326	331	338	335	346	335,2	41	170,0	170,0	169,0	170,0	178,0	171,4
42	346	340	344	341	346	343,4	42	175,0	174,0	169,0	171,0	176,0	173,0
43	331	335	343	335	332	335,2	43	180,0	164,0	171,0	175,0	177,0	173,4
44	340	337	343	329	341	338,0	44	187,0	191,0	190,0	182,0	196,0	189,2
45	325	331	329	332	346	332,6	45	178,0	186,0	186,0	174,0	176,0	180,0
46	337	328	343	329	340	335,4	46	178,0	176,0	180,0	172,0	170,0	175,2
47	335	341	343	340	332	338,2	47	170,0	182,0	170,0	170,0	169,0	172,2
48	329	334	325	329	331	329,6	48	183,0	178,0	171,0	173,0	168,0	174,6
					média	336,7					média		178,9

D1100											
Microdureza superficial inicial						Microdureza superficial final					
Blocos					média	blocos					média
49	326	333	344	328	335	49	183,0	182,0	189,0	180,0	187,0
50	332	333	342	339	336	50	187,0	188,0	183,0	184,0	182,0
51	327	325	325	325	325	51	194,0	187,0	189,0	195,0	191,0
52	336	335	336	332	339	52	180,0	178,0	175,0	179,0	183,0
53	326	335	333	330	336	53	190,0	191,0	189,0	196,0	195,0
54	328	330	328	332	336	54	188,0	191,0	188,0	198,0	194,0
55	338	339	330	332	329	55	199,0	196,0	189,0	198,0	199,0
56	345	345	341	348	345	56	194,0	198,0	194,0	186,0	191,0
57	330	329	335	333	339	57	187,0	190,0	189,0	192,0	196,0
58	326	335	336	325	339	58	196,0	180,0	191,0	191,0	187,0
59	329	335	344	329	328	59	176,0	196,0	192,0	185,0	192,0
60	329	328	337	344	335	60	190,0	203,0	192,0	190,0	194,0
					média						média
					334,0						191,4

D1000-S											
Microdureza superficial inicial						Microdureza superficial final					
blocos					média	blocos					média
61	335	341	349	344	344	61	228,0	242,0	234,0	230,0	230,0
62	325	326	340	340	337	62	195,0	200,0	201,0	192,0	191,0
63	331	332	331	326	332	63	217,0	217,0	220,0	223,0	226,0
64	326	331	341	328	334	64	212,0	206,0	209,0	200,0	217,0
65	326	326	325	334	329	65	214,0	226,0	213,0	221,0	224,0
66	343	337	335	332	332	66	195,0	209,0	200,0	201,0	207,0
67	329	337	334	340	334	67	222,0	219,0	219,0	224,0	218,0
68	325	337	331	329	332	68	211,0	217,0	221,0	219,0	220,0
69	344	349	341	332	337	69	219,0	213,0	217,0	224,0	224,0
70	335	340	340	343	338	70	205,0	207,0	200,0	202,0	202,0
71	329	325	334	332	338	71	211,0	220,0	219,0	217,0	219,0
72	344	337	331	346	331	72	222,0	225,0	224,0	220,0	222,0
					média						média
					334,8						215,0

Crest											
Microdureza superficial inicial						Microdureza superficial final					
blocos					média	blocos					média
73	346	355	354	349	344	73	221	213	216	222	213
74	326	325	331	326	335	74	191	189	206	189	180
75	329	331	329	329	332	75	192	203	204	204	190
76	342	342	329	342	332	76	186	194	196	196	192
77	326	330	330	333	330	77	202	196	185	200	204
78	330	330	342	342	336	78	187	200	190	199	190
79	338	348	332	348	344	79	221	222	210	209	211
80	335	336	348	338	344	80	217	227	230	225	222
81	324	321	331	321	328	81	167	160	182	174	175
82	326	330	339	335	338	82	210	199	204	200	216
83	348	348	348	345	339	83	196	190	198	203	195
84	345	330	342	332	332	84	211	204	210	214	203
					média						média
					336,2						200,9

ANEXO T

MICRODUREZA EM SECÇÃO LONGITUDINAL

placebo									D275								
	10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m		10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m
1	65,7	38,0	129,7	289,3	326,3	340,3	350,0	339,3	13	101,3	91,3	189,3	294,3	348,3	333,3	344,7	361,3
2	57,7	36,3	77,7	214,0	318,7	343,3	335,3	339,0	14	89,7	69,7	177,0	260,0	303,0	388,7	359,3	361,7
3	71,3	51,7	139,0	273,7	334,3	326,3	378,0	354,0	15	87,3	44,7	249,3	358,0	363,3	367,3	372,0	352,3
4	66,3	49,3	135,3	287,0	318,0	339,7	353,3	363,0	16	93,3	96,7	247,0	299,7	397,0	372,0	383,3	377,7
5	43,7	22,7	45,7	239,7	331,0	328,7	342,7	357,0	17	91,0	63,3	186,0	247,3	322,3	380,0	361,0	365,7
6	59,3	49,0	126,3	309,0	334,3	340,7	355,3	336,7	18	100,3	61,7	175,3	353,3	306,3	397,3	426,0	360,0
7	68,3	40,3	119,0	249,7	341,7	342,3	345,0	342,3	19	95,7	89,3	184,0	319,7	372,0	359,3	361,0	356,3
8	47,3	19,7	89,7	309,3	374,0	369,3	364,3	386,7	20	86,3	64,3	197,7	312,7	394,0	432,3	404,0	400,0
9	43,3	27,7	62,3	244,7	353,7	370,7	346,3	351,7	21	101,0	110,7	181,7	282,3	338,0	365,7	356,3	362,3
10	42,3	26,0	80,3	262,0	335,7	381,7	356,3	380,0	22	93,7	79,0	205,7	308,7	339,7	347,7	357,3	357,7
11	48,0	31,7	85,3	236,7	345,3	362,3	367,7	355,3	23	76,7	76,3	226,7	336,0	373,3	365,7	365,7	361,3
12	51,3	45,3	106,0	284,7	366,7	347,7	406,3	381,7	24	99,3	104,0	200,0	301,0	362,3	375,7	370,0	376,3
média	55,4	36,5	99,7	266,6	340,0	349,4	358,4	357,2	média	93,0	79,3	201,6	306,1	351,6	373,8	371,7	366,1
dp	10,7	11,0	30,6	30,3	17,5	17,5	19,1	17,5	dp	7,3	19,6	25,9	33,6	31,1	25,1	22,8	13,0

D550									D450-S								
	10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m		10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m
25	127,0	188,7	223,0	346,0	348,7	339,7	356,7	366,7	37	176,7	320,3	316,3	334,3	368,0	364,3	390,0	380,3
26	113,3	155,0	212,0	250,7	297,7	328,7	348,7	358,7	38	210,0	263,3	291,0	365,3	355,3	377,3	373,3	373,3
27	120,7	203,3	253,0	330,3	341,0	386,7	385,3	385,0	39	155,7	194,3	223,7	295,0	401,0	390,7	415,7	411,7
28	129,0	158,3	176,3	224,7	303,3	333,0	344,7	367,7	40	173,3	187,0	216,3	299,3	357,0	360,3	394,0	396,3
29	112,0	162,0	220,0	311,3	369,3	395,3	382,7	377,3	41	189,7	195,7	337,7	368,7	406,3	388,7	361,3	353,3
30	126,7	182,3	269,0	351,3	366,0	377,3	344,7	368,7	42	192,7	221,3	290,3	393,7	427,0	394,0	391,7	376,0
31	155,7	189,7	234,3	393,3	377,0	380,0	376,0	390,0	43	168,3	166,0	323,3	350,0	346,7	363,3	348,7	336,3
32	157,3	191,0	261,0	311,0	370,0	386,3	366,7	383,7	44	152,0	172,3	298,3	356,3	372,0	393,0	367,0	368,3
33	147,0	201,7	246,0	344,7	363,3	386,7	367,0	379,3	45	185,7	183,3	333,7	379,0	372,3	395,7	375,0	369,3
34	138,7	128,7	210,3	308,0	348,0	353,0	356,7	330,7	46	135,3	163,0	231,7	258,0	320,7	392,0	398,7	393,7
35	140,0	179,0	266,0	345,0	361,3	375,3	349,3	361,0	47	204,7	180,7	309,7	359,7	370,0	380,7	381,7	392,0
36	139,3	180,3	283,3	363,3	364,3	347,7	385,0	338,7	48	187,7	218,3	291,0	347,0	388,7	404,7	406,3	400,7
média	133,9	176,7	237,9	323,3	350,8	365,8	363,6	367,3	média	177,6	205,5	288,6	342,2	373,8	383,7	383,6	379,3
dp	15,0	21,8	30,8	47,0	25,7	23,8	15,7	18,1	dp	22,1	45,8	42,3	39,4	28,7	14,5	19,4	21,2

D1100									D1000-S								
	10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m		10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m
49	171,3	313,3	346,0	335,0	342,3	340,3	349,3	339,0	61	217,3	268,3	366,3	391,3	407,7	421,0	449,7	464,0
50	177,3	301,0	336,7	342,0	339,3	375,3	368,3	355,7	62	191,7	269,0	367,7	412,0	421,7	481,0	451,3	437,3
51	174,7	228,3	335,3	339,0	366,0	328,3	347,7	351,7	63	240,0	283,0	356,3	363,7	359,0	346,3	386,3	392,0
52	226,0	258,0	338,7	369,0	347,3	389,0	358,7	345,3	64	226,7	258,7	345,0	381,7	353,7	361,7	361,0	365,7
53	206,0	277,0	353,3	374,0	383,0	386,7	366,3	372,3	65	187,7	289,3	370,0	365,7	399,0	387,7	406,3	388,3
54	210,7	258,3	357,7	338,7	413,7	384,3	362,3	352,7	66	216,7	292,7	364,3	363,7	364,7	357,7	374,3	387,7
55	190,3	282,0	368,7	369,0	435,3	343,0	348,0	348,7	67	220,0	277,0	351,3	379,0	378,0	404,7	374,0	371,3
56	196,7	240,0	373,0	399,3	374,3	354,7	379,0	364,0	68	237,3	272,0	368,7	392,0	350,3	362,7	352,3	364,3
57	189,0	243,0	364,7	360,0	339,0	362,0	353,0	345,0	69	208,0	246,7	361,7	391,3	344,0	363,7	357,7	372,0
58	158,0	253,3	323,0	356,7	392,3	407,0	410,7	397,3	70	225,3	303,7	371,3	376,0	384,7	365,7	375,0	385,0
59	176,3	264,3	331,7	393,7	390,3	374,3	422,3	365,3	71	216,0	299,7	380,3	357,0	386,7	376,7	399,3	392,0
60	189,3	263,0	330,3	374,3	388,7	418,0	404,7	401,7	72	217,0	260,7	403,3	401,3	393,7	412,0	386,7	387,0
média	188,8	265,1	346,6	362,6	376,0	371,9	372,5	361,6	média	217,0	276,7	367,2	381,2	378,6	386,7	389,5	392,2
dp	19,0	24,8	16,5	21,4	30,7	27,2	26,1	20,1	dp	15,7	17,4	14,8	16,9	24,6	37,9	32,7	29,6

Crest								
	10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m
73	179,3	227,3	318,7	342,7	370,0	370,3	356,7	365,3
74	159,3	253,0	347,0	383,0	380,0	356,0	382,3	345,7
75	167,0	229,7	359,0	344,3	330,0	356,7	361,3	380,3
76	175,7	252,3	334,0	362,7	348,0	368,3	364,7	370,7
77	153,0	269,0	347,7	402,3	379,0	361,0	337,7	340,3
78	193,3	301,7	343,3	345,7	415,0	353,3	378,3	355,3
79	208,3	245,7	330,7	353,7	349,0	336,0	355,0	365,3
80	179,3	248,3	354,7	347,3	379,0	345,0	344,7	343,7
81	184,7	284,3	342,3	335,0	352,3	370,7	365,3	361,3
82	209,3	276,3	359,3	382,3	364,0	385,7	414,0	391,0
83	180,0	285,3	373,7	359,0	386,7	410,0	401,7	358,3
84	216,0	252,0	379,0	357,7	373,0	375,0	381,7	376,3
média	183,8	260,4	349,1	359,6	368,8	365,7	370,3	362,8
dp	19,8	23,0	17,3	20,0	22,2	19,5	22,4	15,4

ANEXO U

MICRODUREZA EM SECCÃO LONGITUDINAL conteúdo mineral (% vol. min) e DZ

placebo										D275									
	10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m	?Z		10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m	?Z
1	46,1	37,8	60,3	84,4	89,0	90,6	91,7	90,5	2931,0	13	54,6	52,4	70,5	85,1	91,6	89,8	91,1	93,0	2290,1
2	44,0	37,2	49,2	74,2	88,1	91,0	90,0	90,5	3436,7	14	52,0	47,2	68,5	80,6	86,1	96,1	92,8	93,1	2496,6
3	47,6	42,2	62,0	82,4	89,9	89,0	94,9	92,2	2767,8	15	51,5	40,0	79,2	92,7	93,3	93,7	94,2	92,0	2077,7
4	46,3	41,5	61,3	84,1	88,0	90,5	92,1	93,2	2826,8	16	52,8	53,6	78,9	85,7	97,0	94,2	95,5	94,9	1799,9
5	39,7	31,8	40,4	77,9	89,5	89,3	90,9	92,5	3658,5	17	52,3	45,5	69,9	78,9	88,5	95,1	93,0	93,5	2496,1
6	44,4	41,4	59,6	86,9	89,9	90,7	92,4	90,2	2811,3	18	54,4	45,1	68,2	92,1	86,6	97,0	100,1	92,9	2121,1
7	46,8	38,6	58,2	79,2	90,8	90,9	91,2	90,9	3020,4	19	53,4	51,9	69,6	88,2	94,2	92,8	93,0	92,5	2120,6
8	40,9	30,4	52,0	86,9	94,5	93,9	93,4	95,9	2985,7	20	51,3	45,8	71,8	87,3	96,7	100,7	97,7	97,3	1889,9
9	39,6	33,9	45,2	78,6	92,2	94,1	91,3	91,9	3353,4	21	54,5	56,5	69,3	83,6	90,4	93,5	92,5	93,2	2184,3
10	39,3	33,2	49,8	80,9	90,1	95,3	92,5	95,1	3194,3	22	52,9	49,5	73,0	86,8	90,5	91,5	92,6	92,6	2240,6
11	41,1	35,5	51,0	77,5	91,2	93,2	93,8	92,4	3198,8	23	49,0	48,9	76,0	90,1	94,4	93,5	93,5	93,0	2025,7
12	42,1	40,3	55,6	83,8	93,6	91,5	98,0	95,3	2745,4	24	54,2	55,2	72,1	85,9	93,2	94,6	94,0	94,7	1986,7
média	43,2	37,0	53,7	81,4	90,6	91,7	92,7	92,5	3077,5	média	52,7	49,3	72,2	86,4	91,9	94,4	94,2	93,6	2144,1
dp	3,1	4,0	6,9	4,0	2,0	2,0	2,1	2,0	293,0	dp	1,7	4,8	3,8	4,2	3,6	2,8	2,5	1,4	214,9

D550										D450-S									
	10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m	?Z		10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m	?Z
25	59,8	70,4	75,5	91,3	91,6	90,5	92,5	93,6	1604,7	37	68,5	88,3	87,8	89,9	93,8	93,4	96,2	95,2	751,8
26	57,1	64,8	73,9	79,4	85,5	89,3	91,6	92,7	2187,6	38	73,6	81,1	84,7	93,5	92,4	94,8	94,4	94,4	879,1
27	58,5	72,6	79,7	89,5	90,7	95,9	95,7	95,7	1352,1	39	64,9	71,2	75,6	85,2	97,4	96,3	99,0	98,5	1246,4
28	60,1	65,4	68,4	75,8	86,2	89,8	91,1	93,8	2303,0	40	67,9	70,1	74,5	85,7	92,5	92,9	96,7	96,9	1477,4
29	56,8	66,0	75,1	87,2	93,9	96,8	95,4	94,8	1569,9	41	70,5	71,4	90,3	93,9	98,0	96,1	93,0	92,1	894,1
30	59,7	69,4	81,8	91,9	93,6	94,8	91,1	93,9	1387,1	42	71,0	75,3	84,6	96,6	100,2	96,7	96,4	94,7	724,9
31	64,9	70,5	77,1	96,6	94,8	95,1	94,7	96,2	1186,8	43	67,1	66,7	88,6	91,7	91,4	93,3	91,6	90,2	1336,7
32	65,2	70,7	80,8	87,1	94,0	95,8	93,6	95,5	1325,3	44	64,3	67,7	85,6	92,5	94,2	96,5	93,7	93,8	1188,5
33	63,4	72,4	78,7	91,1	93,3	95,9	93,7	95,0	1289,4	45	69,9	69,5	89,8	95,0	94,3	96,8	94,6	93,9	935,5
34	61,9	60,1	73,7	86,8	91,5	92,1	92,5	89,5	1928,3	46	61,3	66,2	76,7	80,4	88,3	96,4	97,2	96,6	1691,3
35	62,2	68,8	81,4	91,2	93,0	94,6	91,7	93,0	1408,2	47	72,8	69,1	87,0	92,8	94,0	95,2	95,3	96,4	1013,7
36	62,1	69,0	83,7	93,3	93,4	91,5	95,7	90,4	1319,7	48	70,2	74,8	84,7	91,4	96,1	97,8	98,0	97,4	844,2
média	61,0	68,3	77,5	88,4	91,8	93,5	93,3	93,7	1571,8	média	68,5	72,6	84,2	90,7	94,4	95,5	95,5	95,0	1082,0
dp	2,8	3,6	4,4	5,8	3,0	2,7	1,8	2,1	369,7	dp	3,6	6,5	5,5	4,7	3,2	1,6	2,1	2,4	305,5

D1100										D1000-S									
	10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m	?Z		10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m	?Z
49	67,6	87,4	91,3	90,0	90,9	90,6	91,7	90,5	957,1	61	74,7	81,7	93,6	96,4	98,1	99,5	102,5	103,9	152,0
50	68,6	85,9	90,2	90,8	90,5	94,6	93,8	92,4	848,0	62	70,8	81,8	93,8	98,6	99,6	105,6	102,7	101,2	14,0
51	68,1	76,3	90,0	90,5	93,6	89,2	91,5	91,9	1153,3	63	77,9	83,6	92,5	93,3	92,8	91,3	95,8	96,4	644,9
52	75,9	80,4	90,4	93,9	91,4	96,1	92,7	91,2	803,7	64	76,0	80,5	91,2	95,3	92,2	93,1	93,0	93,5	775,7
53	73,0	82,9	92,1	94,5	95,5	95,9	93,6	94,3	614,7	65	70,2	84,4	94,0	93,5	97,2	96,0	98,0	96,0	450,1
54	73,7	80,4	92,6	90,4	98,8	95,6	93,2	92,1	697,7	66	74,6	84,9	93,4	93,3	93,4	92,6	94,5	96,0	627,9
55	70,6	83,5	93,9	93,9	101,0	90,9	91,5	91,6	657,8	67	75,1	82,9	91,9	95,0	94,9	97,8	94,5	94,2	543,7
56	71,6	77,9	94,3	97,2	94,5	92,3	95,0	93,3	699,9	68	77,5	82,2	93,9	96,4	91,8	93,2	92,0	93,4	675,6
57	70,4	78,3	93,4	92,9	90,5	93,1	92,1	91,2	952,9	69	73,3	78,8	93,1	96,4	91,1	93,3	92,6	94,2	794,4
58	65,4	79,7	88,6	92,5	96,5	98,0	98,4	97,0	675,4	70	75,8	86,2	94,2	94,7	95,6	93,5	94,6	95,7	483,6
59	68,4	81,2	89,6	96,6	96,3	94,5	99,7	93,5	598,9	71	74,5	85,7	95,2	92,5	95,9	94,8	97,2	96,4	439,9
60	70,5	81,0	89,5	94,5	96,1	99,2	97,8	97,5	534,0	72	74,6	80,7	97,7	97,4	96,6	98,6	95,9	95,9	332,0
média	70,3	81,2	91,3	93,1	94,6	94,2	94,2	93,0	766,1	média	74,6	82,8	93,7	95,2	94,9	95,8	96,1	96,4	494,5
dp	3,0	3,2	1,9	2,4	3,4	3,0	2,9	2,2	181,7	dp	2,3	2,3	1,6	1,9	2,7	4,0	3,5	3,1	238,2

Crest

	10 m m	30 m m	50 m m	70 m m	90 m m	110 m m	220 m m	330 m m	?Z
73	68,9	76,1	88,1	90,9	94,0	94,0	92,5	93,5	1037,9
74	65,6	79,7	91,4	95,5	95,1	92,4	95,4	91,2	817,0
75	66,9	76,5	92,8	91,1	89,4	92,5	93,0	95,2	1048,8
76	68,3	79,6	89,9	93,2	91,5	93,8	93,4	94,1	922,4
77	64,5	81,8	91,5	97,6	95,0	93,0	90,3	90,6	840,1
78	71,1	86,0	91,0	91,2	98,9	92,1	94,9	92,4	657,0
79	73,4	78,7	89,5	92,2	91,6	90,1	92,3	93,5	1017,8
80	68,9	79,1	92,3	91,4	95,0	91,2	91,1	91,0	974,0
81	69,7	83,8	90,9	90,0	92,0	94,1	93,5	93,0	862,0
82	73,5	82,8	92,8	95,4	93,3	95,7	98,8	96,3	499,5
83	69,0	83,9	94,4	92,8	95,9	98,4	97,5	92,7	501,3
84	74,5	79,6	95,0	92,6	94,3	94,6	95,3	94,7	654,4
média	69,5	80,6	91,6	92,8	93,8	93,5	94,0	93,2	819,3
dp	3,1	3,1	2,0	2,2	2,5	2,2	2,5	1,7	198,5

RESUMO

BERGAMASCHI, M. *Validação do modelo de ciclagem de pH, e avaliação da efetividade de dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e baixa concentração de flúor*. Araçatuba, 2003. 108p. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi verificar o efeito da saliva artificial como meio de diluição dos dentifrícios em ciclagem de pH, para validar a comparação entre dentifrícios experimentais e dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e, em seguida, avaliar a efetividade de dentifrícios suplementados com cálcio e fosfato e com concentração baixa de flúor utilizando um modelo de ciclagem de pH. Na primeira parte do trabalho realizou-se 2 ciclagens de pH: uma onde os dentifrícios foram diluídos em água destilada/deionizada e, na outra, em saliva artificial. Os blocos de esmalte, previamente selecionados através de microdureza de superfície, foram submetidos ao tratamento diário, na segunda parte do trabalho, com dentifrício placebo, 275, 550, 450-S, 1100, 1000-S ppm F e Crest[®], sendo estes diluídos em saliva artificial e submetidos a ciclagem de pH. Em seguida, realizou-se o cálculo da variação da microdureza de superfície, percentagem de volume mineral e flúor presente no esmalte. Testes paramétricos e não-paramétricos e análise de regressão foram utilizados para determinar diferença ($p < 0,05$) e

relação dose-resposta entre os tratamentos. Os dentifrícios diluídos em água apresentaram menor concentração de flúor presente no esmalte quando comparado a saliva ($p < 0,05$). O dentifrício suplementado diluído em saliva apresentou maiores perdas minerais ($p < 0,05$) quando comparado ao 1100 ppm F, porém quando diluído em água os resultados foram semelhantes ($p > 0,05$). Todos os dentifrícios suplementados reduziram em maior grau ($p < 0,05$) a perda mineral que os seus similares em concentração de flúor, sendo que o 450 ppm F suplementado apresentou resultados semelhantes ao dentifrício com 1100 ppm F ($p > 0,05$). Concluiu-se que a diluição com saliva artificial valida a comparação de dentifrícios convencional e suplementado *in vitro* e que os dentifrícios suplementados mostraram-se efetivos tanto quanto um dentifrício padrão (Crest[®]).

Palavras-chaves: Dentifrícios; Esmalte dentário; Flúor; Cálcio; Cárie dentária - prevenção e controle; Odontologia preventiva; Desmineralização.

ABSTRACT

BERGAMASCHI, M. *Validation of the pH cycling model and assessment of the effectiveness of dentifrices supplemented with calcium and phosphate and low fluoride concentration.* Araçatuba, 2003. 108p. Tese (Doutorado em

Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The object of this study was to check the effect of the artificial saliva as a means of diluting the dentifrices in pH cycling, to validate the comparison among the experimental dentifrices and dentifrices supplemented with calcium and phosphate, and then, to assess the effectiveness of dentifrices supplemented with calcium and phosphate and with a low fluoride concentration, using a pH cycling model. In the first part of the study, 2 pH cyclings were performed: one in which the dentifrices were diluted in distilled/deionized water, and in the other, in artificial saliva. The enamel blocks, previously selected through surface microhardness, were submitted to daily treatment in the second part of the study, with dentifrice placebo 275, 550, 450-S, 1100, 1000-S ppm F and Crest, and these were diluted in artificial saliva and submitted to pH cycling. Next, the calculation was made of the variation in surface microhardness, percentage of mineral volume and fluoride present in the enamel. Parametric and non-parametric tests and regression analyses were used to determine the difference ($p < 0.05$) and the dose-response relationship among the treatments. The dentifrices diluted in water

presented a lower concentration of fluoride present in the enamel when compared to saliva ($p < 0.05$). The supplemented dentifrice diluted in saliva presented greater mineral losses ($p < 0.05$) when compared to 1100 ppm F, however, when diluted in water, the results were similar ($p > 0.05$). All the supplemented dentifrices reduces mineral loss to a larger degree ($p < 0.05$) than those similar to them in fluoride concentration, and 450 ppm supplemented with F presented similar results to the dentifrice with 1100 ppm F ($p > 0.05$). It was concluded that dilution with artificial saliva validates the comparison of conventional and supplemented dentifrices *in vitro*, and that the supplemented dentifrices were shown to be as effective as a standard dentifrice (Crest) .

Key Words: Dentifrices; Tooth Enamel; Fluoride; Calcium; Dental Caries - prevention and control; Preventive Dentistry; Demineralization.