

Eliana Rodrigues

“VALIDAÇÃO DE UM MODELO DE CICLAGEM DE pH
PARA VERIFICAR A RELAÇÃO DOSE-RESPOSTA DE
MATERIAIS QUE LIBERAM FLÚOR NA
DESMINERALIZAÇÃO E REMINERALIZAÇÃO *IN*
VITRO”

*Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia da Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Araçatuba, para obtenção do
título de Doutor em Odontopediatria.*

Orientadora: Prof^ª. Dr^a. Denise Pedrini

Co-orientador: Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem

ARAÇATUBA

2007

Catálogo-na-Publicação

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

R696v	Rodrigues, Eliana Validação de um modelo de ciclagem de pH para verificar a relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na desmineralização e remineralização <i>in vitro</i>/ Eliana Rodrigues. - Araçatuba : [s.n.], 2007 96 f. : il. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2007 Orientador: Profa. Dra. Denise Pedrini Co-orientador: Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem 1. Desmineralização do dente 2. Remineralização dentária 3. Flúor 4. Esmalte dentário – Desmineralização Black D27 CDD 617.645
-------	--



Dedicatória

À Deus

Que esteve e está em todos os momentos de minha vida, guiando meu caminho.
O senhor é minha vida, e tudo se torna possível com a tua presença. Sinto paz,
tranquilidade, alegria e segurança, sei que está comigo e por isso vou em
frente!

Agradeço pela família maravilhosa que tenho e pelos amigos, que estão sempre
torcendo por mim.

Sou infinitamente feliz!

Aos meus pais Cacilda e António,

Este trabalho é de vocês. É o resultado da compreensão, da paciência, do amor
e da confiança que tiveram comigo. Muitas vezes não entendiam o que eu
estava fazendo, mas mesmo assim acreditavam e sabiam que era importante
para mim.

Vocês só me proporcionaram alegrias, espero um dia ter um pouquinho do
caráter, da humildade, da honra, do amor e da força de vontade de vocês.
Todos os dias eu levanto e agradeço a Deus por vocês serem os meus pais, eu
os amo muito!

As minhas queridas irmãs Luciana e Márcia,

Obrigada por todo esforço que dispuseram para que eu pudesse chegar até
aqui. Sei que este sonho também é de vocês, se me formei e hoje estou
finalizando mais esta etapa, pode ter certeza que não teria conseguido sem
vocês.



Quantas vezes recorri a vocês, e sempre estavam prontas para me ajudar, mesmo com compromissos com suas famílias. Eu amo muito vocês, espero retribuir um pouco de tudo o que fazem por mim.

Aos meus cunhados António Carlos e Marcos,

Agradeço a vocês por sempre estarem dispostos a me ajudar, sem medir esforços. Tenho-os como meus irmãos.

Aos meus sobrinhos Pedro, Enzo e Bruna,

Perdoe-me pela ausência em muitas comemorações e brincadeiras, eu os amo, vocês são a alegria da minha vida.

Ao meu amigo Renato José Berro,

Você foi peça fundamental para que eu pudesse estar aqui hoje finalizando mais uma etapa de vida. Obrigada pelo carinho e amizade!

Ao meu namorado Daniel,

Obrigada pelas palavras de carinho, pela compreensão e apoio, principalmente na fase de finalização deste trabalho.

A todos meus familiares e amigos,

Obrigada por se preocuparem e torcerem por mim



Agradecimentos Especiais

A minha querida orientadora Prof^a. Dr^a. Denise Pedrini,

Pela paciência, compreensão e carinho. Sempre atenciosa e dedicada, com muito bom humor, sempre que precisei estava ali pronta para ajudar. Confiou em mim, por isso estive sempre segura de que tudo daria certo e deu, graças a você! Mil vezes obrigada!

*Ao meu querido co-orientador Prof. Dr. Alberto Carlos
Botazzo Delbem ,*

Pela dedicação ao trabalho e a pesquisa. Eu serei eternamente grata pela confiança e por toda colaboração dispensada para que este trabalho pudesse ser realizado. Cada palavra que disse foi de grande importância para mim, é como se eu precisasse dela para acreditar que tudo daria certo e que o objetivo seria alcançado. Admiro-o ainda mais pela inteligência, humildade, acessibilidade e humor.

Obrigada por tudo!

À Prof^a. Dr^a. Kikue Takebayashi Sassaki,

Obrigada pela ajuda, disponibilidade e pela companhia muito agradável em vários momentos.

Ao Prof. Dr. Robson Frederico Cunha,

Sempre prestativo. Obrigada professor pela ótima convivência e pelo exemplo de docente dedicado e competente.



Aos meus amigos Daniel Vieira, Janaina Diz, Francine Nadaleta, Vanessa Irusta, Eduardo Bonfante, Ellen Moreno, Camyla Alle, Ana Paula Ayala e Eloá Luvizuto,

Obrigada por fazerem parte da minha vida e me proporcionarem muitas alegrias.

As minhas amigas Fernanda Brighenti, Débora Barbosa e Eliana Takeshita,

Que passaram a ser meu braço direito quando ingressei na pós-graduação, obrigada pelo incentivo, amor, carinho e companheirismo, sou muito grata a vocês!

As ex-alunas Mary Sílvia Oliveira e Luciana Cavassan,

Muito obrigada pela ajuda no desenvolvimento da parte experimental deste trabalho e pela amizade.



Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba – UNESP, nas pessoas do seu Diretor Prof. Tit. Pedro Felício Estrada Bernabé e Vice-Diretor Prof. Adj. Ana Maria Pires Soubhia.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, na pessoa de seu Coordenador Prof. Dr. Robson Frederico Cunha.

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Dr. Célio Percinoto, Dr. Robson Frederico Cunha, Dr^a Rosângela dos Santos Nery e Dr^a Sandra Maria Herondina Ávila de Aguiar, pelos ensinamentos e convivência agradável.

Aos professores e funcionários da Disciplina de Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Dr^a Denise Pedrini, Dr^a Sônia Regina Panzarini Barioni, Dr^a Daniela Atili Brandini, Dr. Celso Koogi Sonoda, Dr. Wilson Roberto Poi, Dr. José Carlos Monteiro de Castro e Antonia Ferreira Artioli, pela acolhida e atenção dispensada.

Aos amigos Edo Hirata, Maurício Bergamaschi e Ana Elisa Mello Vieira, pelo incentivo, paciência e contribuição para o meu interesse em trabalhos laboratoriais.

Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Maria dos Santos Ferreira Fernandes, Mário Luis da Silva e Maria Bertolina Mesquita de Oliveira, pela disposição, carinho e alegria.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Izamar, Cláudio, Alexandra, Maria Cláudia, Ana Cláudia, Isabel, Fátima, Ivone, Luzia e Marina, pela ótima recepção e trabalho prestado.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Diogo, Marina e Valéria, pela eficiência, simpatia e paciência.



Aos colegas que ingressaram comigo no curso de Mestrado em Odontopediatria e hoje estão no curso de Doutorado da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Alessandra Gomes, Eliana Takeshita, Janaina Silva, Max Faria e Taís Menezes, pelo bom relacionamento e carinho.

A todos os colegas do curso de Mestrado e Doutorado em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, pela convivência agradável e amizade.

Aos alunos da Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Marcelle Danelon, Márcia Espírito Santo, Luciene Castro e Felipe Oliveira, pela ajuda e ótima companhia durante os experimentos.

Aos amigos do Laboratório, Fernanda Brighenti, Eliana Takeshita, Ana Carolina Zaze, Kélio Silva e Gilberto Tiano, por tornarem os dias de trabalho mais alegres e prazerosos.

Aos amigos Cleide Cristina Martinhon, Mariângela Almeida Prado, Amélia Moscardo, Palmyra e Laurindo Rosseli, pela torcida e amizade.

A todos os colegas da 47ª turma do curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pelos momentos inesquecíveis.

Ao Carlos Rodrigues - frigorífico Friordogue / Bariri - SP, pela atenção e por permitir a realização da coleta dos dentes quantas vezes fosse necessária.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado e doutorado, respectivamente.



“Bom mesmo é ir a luta com determinação,
abraçar a vida e viver com paixão, perder com
classe e vencer com ousadia, porque o mundo
pertence a quem se atreve e a vida é muito para
ser insignificante.”

(Charles Chaplin)

Sumário

Resumo	11
Abstract.....	12
Introdução Geral	13
1º Capítulo.....	14
<i>Resumo</i>	<i>15</i>
<i>Introdução</i>	<i>16</i>
<i>Proposição</i>	<i>17</i>
<i>Material e Método.....</i>	<i>18</i>
<i>Resultados</i>	<i>22</i>
<i>Discussão</i>	<i>26</i>
<i>Conclusão.....</i>	<i>29</i>
<i>Referências</i>	<i>30</i>
2º Capítulo.....	34
<i>Resumo</i>	<i>35</i>
<i>Introdução</i>	<i>36</i>
<i>Proposição</i>	<i>37</i>
<i>Material e Método.....</i>	<i>38</i>
<i>Resultados</i>	<i>42</i>
<i>Discussão</i>	<i>46</i>
<i>Conclusão.....</i>	<i>48</i>
<i>Referências</i>	<i>49</i>
Anexos	52

Resumo

Rodrigues E. Validação de um modelo de ciclagem de pH para verificar a relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na desmineralização e remineralização *in vitro* [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, 2007.

Foi objetivo validar o modelo de ciclagem de pH verificando relação dose-resposta de materiais que liberam flúor, pela sua capacidade em reduzir a desmineralização e promover a remineralização *in vitro*. Selecionou-se 120 blocos de esmalte (4x3 mm), pelo teste de microdureza de superfície (SMH), sendo avaliadas 4 distâncias (150, 300, 450 e 600 μm) do material. Lesão de cárie artificial foi induzida (n=48) para o teste de microdureza de superfície pós-cárie (SMH₁). Corpos-de-prova foram confeccionados (n=96) e adaptados aos blocos dos grupos: Z 100, Fluroshield, Vitremer e Vitremer diluído ¼, sendo o restante (n=24) do grupo controle. Os espécimes foram submetidos à ciclagem de pH, para inibir a desmineralização e promover a remineralização. Realizou-se teste de microdureza de superfície final (SMH₂) para cálculo da porcentagem de alteração (%SMH_A) e recuperação (%SMH_R). Tanto a porcentagem de alteração (ΔZ_A) como a de recuperação (ΔZ_R) do conteúdo mineral foi calculada. Fez-se a leitura de flúor das soluções ($\mu\text{g F}$) e do esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$). Correlação negativa foi observada entre %SMH_A e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=-0,9983$; $p=0,0000001$), %SMH_A e $\mu\text{g F}$ ($r=-0,9884$; $p=0,0000001$), também entre ΔZ_A e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=-0,9762$; $p=0,0048$) e ΔZ_A e $\mu\text{g F}$ ($r=-0,9975$; $p=0,0000001$); e positiva entre $\mu\text{g F/mm}^3$ e $\mu\text{g F}$ ($r=0,9802$; $p=0,0018$). Houve correlação positiva entre %SMH_R e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0,9770$; $p=0,004$), %SMH_R e $\mu\text{g F}$ ($r=0,9939$; $p=0,0000001$), e também entre $\mu\text{g F}$ e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0,9819$; $p=0,0010$). Em relação ao ΔZ_R , houve correlação com $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0,9853$; $p=0,0002$) e $\mu\text{g F}$ ($r=0,9975$; $p=0,0000001$). O modelo de ciclagem de pH foi validado pela verificação *in vitro* da relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na desmineralização e na remineralização do esmalte.

Palavras-chave: desmineralização, remineralização, material dental, flúor, ciclagem de pH.

Abstract

Rodrigues E. Validation of pH-cycling model to verify the dose-response relationship of fluoride-releasing materials in demineralization and remineralization *in vitro* [thesis]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, 2007.

The aim was valid pH-cycling model verifying dose-response relationship of the fluoride-releasing materials by its capacity in reduce the demineralization and promote the remineralization *in vitro*. Bovine enamel blocks (n=120) were selectioned by surface microhardness test (SMH) in 4 distances evaluated (150, 300, 450 and 600 μm) of material. Artificial caries lesions were induced (n=48) for post caries surface microhardness test (SMH₁). Samples of the materials Z 100, Fluroshield, Vitremer and Vitremer ¼ diluted were prepared (n=96) and adapted to enamel blocks. For the control group, no material was used (n=24). The specimens were submitted to pH-cycling to inhibit demineralization and other to promote remineralization. Final surface microhardness test was assessed (SMH₂) to calculate the percentage of change (%SMH_C) and recovery (%SMH_R). As much the change (ΔZ_C) and recovery (ΔZ_R) percentage of mineral content were calculated. Next, fluoride present in enamel ($\mu\text{g F/mm}^3$) and in solution the pH-cycling ($\mu\text{g F}$) were measured. Negative correlation was observed between %SMH_C and $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=-0.9989$; $p=0.0000001$), %SMH_C and $\mu\text{g F}$ ($r=-0.9884$; $p=0.0000001$), also between ΔZ_C and $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=-0.9762$; $p=0.0048$) and ΔZ_C and $\mu\text{g F}$ ($r=-0.9975$; $p=0.0000001$); and positive between $\mu\text{g F/mm}^3$ and $\mu\text{g F}$ ($r=0.9802$; $p=0.0018$). There was positive correlation between %SMH_R and $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0.9770$; $p=0.004$), %SMH_R and $\mu\text{g F}$ ($r=0.9939$; $p=0.0000001$), and also between $\mu\text{g F}$ and $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0.9819$; $p=0.0010$). As per ΔZ_R , there was correlation with $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0.9853$; $p=0.0002$) and $\mu\text{g F}$ ($r=0.9975$; $p=0.0000001$). The pH-cycling model was validated by verification of *in vitro* dose-response relationship of fluoride-releasing materials in demineralization and in remineralization of enamel.

Key words: demineralization, remineralization, dental material, fluoride, pH-cycling.

Introdução Geral

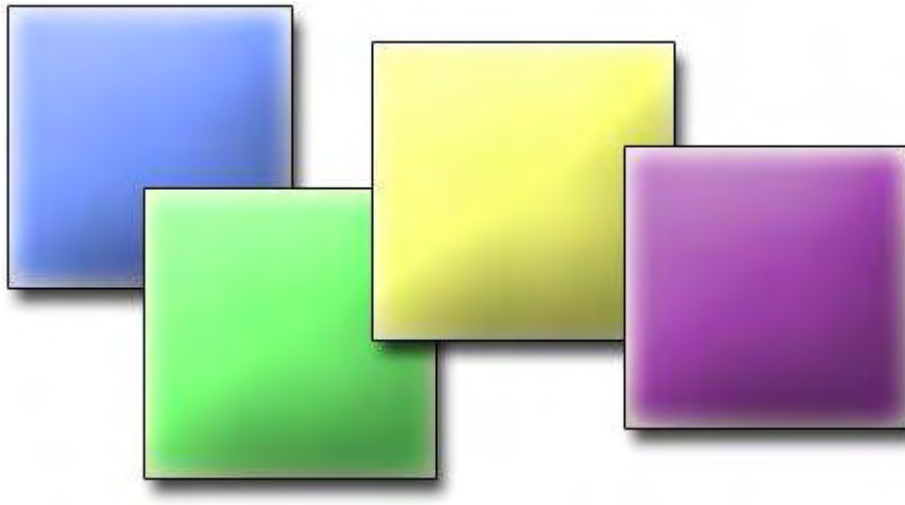
O desenvolvimento de modelos *in vitro* é de grande importância para a pesquisa, pois permitem criar, modificar e avaliar situações por tentativas, pela busca de respostas para a solução de problemas ou confirmação de suspeita, dando suporte a novas análises como os modelos *in situ* e *in vivo*. Rawls* comparou modelos de cárie desenvolvidos em animal e *in vitro*, sendo que ambos provaram ser prognóstico dos resultados que foram encontrados em piloto de teste clínico humano.

A validação de um modelo é possível somente se o seu formato permitir a aplicação e interpretação correta dos resultados. Para novas formulações de produtos que contém flúor, os resultados obtidos em um modelo de estudo não deveriam ser considerados como evidência definitiva para eficácia clínica, sendo necessários mais de um tipo de modelo apropriado. Além disso, o modelo deve ser confiável não se baseando apenas em um teste isolado de avaliação, mas sim em um conjunto de métodos de análise, como o teste de microdureza de superfície, microdureza em secção longitudinal e microabrasão.

Os métodos e modelos designados para estudos de produtos fluoretados tópicos e também os que mostram interação destes produtos com materiais dentários podem ser prontamente adaptados para o uso com materiais que liberam flúor. Com a grande disponibilidade comercial de diferentes materiais restauradores com flúor há necessidade de desenvolver métodos de análise que demonstrem a ação cariostática desses materiais, principalmente em relação à dose do flúor para efeito de resposta.

Vieira et al. desenvolveram um modelo de ciclagem de pH que mostrou relação dose-resposta em soluções fluoretadas na inibição da desmineralização ou promoção da remineralização do esmalte, utilizando esmalte bovino. Para análise de materiais que liberam flúor nos processos de desmineralização e remineralização, alterações nesse modelo *in vitro* são necessárias para padronização dos métodos e obtenção de relação dose-resposta desses materiais. Assim, para um melhor entendimento e apresentação deste trabalho, fez-se a divisão em dois capítulos: “Validação de modelo de ciclagem de pH para verificar relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na desmineralização do esmalte”, e outro “Validação de modelo de ciclagem de pH para verificar relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na remineralização do esmalte”.

* Rawls HR. Evaluation of fluoride-releasing dental materials by means of *in vitro* and *in vivo* demineralization models: reaction paper. Adv Dent Res 1995; 9(3):324-331.



1^o Capítulo

*Validação de um modelo de ciclagem de pH para
verificar relação dose-resposta de materiais que
liberam flúor na desmineralização in vitro*



Resumo*

Rodrigues E. Validação de um modelo de ciclagem de pH para verificar a relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na desmineralização *in vitro* [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, 2007.

Foi objetivo validar o modelo de ciclagem de pH verificando a relação dose-resposta de materiais que liberam flúor em reduzir a desmineralização *in vitro*. Selecionou-se 60 blocos de esmalte bovino (4x3 mm) pelo teste de microdureza de superfície (SMH₁). Corpos-de-prova foram confeccionados (n=48) a partir dos materiais: Z 100, Fluroshield, Vitremer e Vitremer diluído ¼ (pó/líquido) e adaptados aos blocos de esmalte, sendo o restante (n=12) do grupo controle. Os espécimes foram submetidos à ciclagem de pH em processo dinâmico de cárie, onde predominou a desmineralização. Após, avaliou-se a microdureza de superfície final (SMH₂) para cálculo da porcentagem de alteração da microdureza de superfície (%SMH_A). A seguir, determinou-se a presença de flúor no esmalte (µg F/mm³) e das soluções de ciclagem (µg F). Foi realizado o teste de microdureza em secção longitudinal para cálculo do conteúdo mineral (ΔZ). Análise de Variância (p<0,05) foi aplicada aos resultados da %SMH_A, ΔZ e µg F; e Kruskal-Wallis para µg F/mm³. A correlação foi avaliada pelo teste de regressão. Houve correlação negativa entre %SMH_A e µg F/mm³ (r=-0,9989; p=0,0000001), %SMH_A e µg F (r=-0,9884; p=0,0000001), ΔZ e µg F/mm³ (r=-0,9762; p=0,0048) e também entre ΔZ e µg F (r=-0,9975; p=0,0000001). Houve correlação positiva entre µg F/mm³ e µg F (r=0,9802; p=0,0018). Concluiu-se que o modelo de ciclagem de pH foi validado pela verificação *in vitro* da relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na desmineralização do esmalte.

Palavras-chave: desmineralização, material dental, flúor, ciclagem de pH.

* Normalização segundo a revista *Operative Dentistry* (Anexo B).



Introdução

Estudos *in vitro* indicam que materiais que contêm flúor estão associados com a redução de cárie secundária, pela ação anticariogênica com inibição da desmineralização e aumento do potencial de remineralização da estrutura dentária.¹⁻²

Porém, os materiais que liberam flúor têm sido avaliados em condições que não simulam o meio bucal, a dinâmica de desenvolvimento da cárie e o efeito do flúor.³ Quando se discutem sobre os modelos utilizados para materiais dentários, as questões críticas estão relacionadas à dose-resposta e para tentar compreendê-las é importante que se analisem: as concentrações de flúor capazes de reduzir e/ou prevenir lesões localizadas perto do material (lesões secundárias) e a influência do grau de liberação x modelo de liberação (qualquer alteração no modelo afetará a resposta do material testado).⁴

Vários estudos *in vitro*⁵⁻⁷ têm mostrado liberação de flúor dos materiais utilizando esmalte bovino, provavelmente devido a fácil obtenção (frigoríficos), maior área de esmalte e menor variação da composição quando comparado ao esmalte humano.⁸ Os dentes bovinos apresentam qualidades necessárias para facilitar e promover uma metodologia uniforme, métodos de avaliação simples e diretos como microdureza de superfície e incorporação de flúor pelo esmalte.⁹

Os modelos de laboratórios que analisam o flúor, em várias formas de aplicação, deveriam simular o equilíbrio entre a desmineralização e a remineralização durante a ciclagem de pH (ciclos alternados). Quanto à remineralização, esta não ocorre somente durante os períodos de pH neutro, quando os minerais se precipitam do fluido oral na alteração do esmalte, mas também durante o desenvolvimento da cárie,¹ por isso é importante que se reproduza *in vitro* condição de alto desafio cariogênico, para que se possa analisar a capacidade dos materiais que liberam flúor ao interferir neste processo dinâmico.

O modelo de ciclagem de pH desenvolvido por Vieira et al.¹⁰ determinou relação dose-resposta em soluções fluoretadas em diferentes concentrações. Entretanto, este modelo não foi validado para materiais que liberam flúor. Isto será importante, porque a literatura mostra vários modelos de ciclagem de pH, mas poucos foram validados ou mostraram relação dose-resposta.

Portanto, neste primeiro capítulo abordou-se a validação de um modelo de ciclagem de pH para materiais que liberam flúor na dinâmica do processo de cárie.



Proposição

Validar o modelo de ciclagem de pH verificando a relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na redução da desmineralização *in vitro*.



Material e Método

1. Preparação dos blocos de esmalte

Para a realização deste estudo foram utilizados dentes incisivos bovinos que foram mantidos em formol a 2%, pH 7,0, durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental.¹¹⁻¹²

Inicialmente, após a separação da raiz, a coroa foi fixada em placa de acrílico para a secção da porção palatina em cortadeira elétrica (Isomet Low Speed Saw, Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA), sob refrigeração com água deionizada (Anexo D). A porção vestibular da coroa foi fixada na placa de acrílico para obtenção do bloco de esmalte. Foram realizadas 4 secções, na porção mais plana, sendo duas no sentido longitudinal e duas no sentido transversal da coroa, obtendo blocos medindo 4x4 mm (Anexo D e H). Durante os procedimentos, os blocos foram mantidos em ambiente úmido (recipientes plásticos + gaze embebida em formol a 2%, pH 7,0).⁹⁻¹⁰

Após a obtenção dos blocos de esmalte, realizou-se o ajuste da dentina em politriz APL-4 (Arotec, Cotia, SP, Brasil) com lixa de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler, Lake Bluff, IL, USA), 2 pesos, durante 20 segundos sob baixa rotação e refrigeração (Anexo D e H). Em seguida, a superfície do esmalte foi polida de acordo com a seqüência: lixas de granulação 600, 800 e 1200 respectivamente, com 2 pesos, tempo de 30 segundos e refrigeração a água. Na seqüência, o esmalte foi polido com papel feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) e suspensão de diamante (Extec I Watr. Based Diamond Perm., CT, USA) durante 1 minuto (Anexo D). A seguir, os blocos foram lavados com jato de água deionizada e submetidos ao ultra-som (Branson Ultrasonics Corp. American Technologies, Inc., Danbury, CT, USA), durante 2 minutos, imersos em solução de limpeza (Extec Lubricant & Extender Remover QT, CT, USA) diluída na proporção 20:1 em água destilada. Finalmente, os blocos foram lavados em jatos de água deionizada e armazenados.

Após o polimento, secções transversais foram realizadas a uma distância de 1 mm da borda do bloco, em cortadeira sob refrigeração a água destilada/deionizada (Anexo D e H). A parte maior (4x3 mm) do bloco foi utilizada no experimento, sendo a menor parte descartada. Devido à curvatura do bloco (característica da face vestibular), o polimento se torna deficiente em sua periferia, sendo necessária a secção transversal para manter uma superfície polida na borda do bloco que entrará em contato com o material.



2. *Análise de microdureza de superfície do esmalte*

Para os testes de microdureza inicial dos blocos de esmalte (SMH₁) foi utilizado o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos,¹³ acoplado ao “Software” para análise de imagem CAMS-WIN (NewAge Industries, Inc., Southampton, PA, USA) (Anexo E). Foram realizadas 5 impressões no esmalte separadas entre si por uma distância de 100 µm, nas distâncias de 150, 300, 450 e 600 µm da borda seccionada, totalizando 20 impressões (Anexo E e H). Foram selecionados 60 blocos que apresentaram dureza entre 350 a 380 Knoop (KHN) e não apresentaram trincas ou defeitos no esmalte. Esses blocos foram divididos em 5 grupos (n=12): controle (sem material), resina composta Z 100 (3M/ESPE, St Paul, MN, USA), selante de fósulas e fissuras Fluroshield (Dentsply Ind. e Com., Rio de Janeiro, RJ, Brasil), cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitremer (3M/ESPE), cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitremer diluído ¼ - pó/líquido (3M/ESPE).

3. *Confecção do material e adaptação ao bloco de esmalte*

Para cada material: resina composta Z 100, selante de fósulas e fissuras Fluroshield, cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitremer, cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitremer diluído ¼ - pó/líquido, foram confeccionados 12 corpos-de-prova, os quais foram obtidos a partir de matrizes metálicas que apresentam uma cavidade de 3 mm de largura, 2 mm de altura e 1 mm de espessura (Anexo E e H).

A manipulação do cimento de ionômero de vidro modificado por resina Vitremer foi realizada de acordo com as instruções do fabricante, e para a obtenção do Vitremer diluído sua proporção pó/líquido foi alterada para 1:4. A resina Z 100 e o selante Fluroshield foram utilizados diretamente das suas embalagens comerciais, prontos para uso. A polimerização dos materiais fotoativados foi realizada com aparelho Vip (Bisco, Schaumburg, IL, USA) de luz halógena, com tempo de 40 segundos, nos dois lados do corpo-de-prova, e intensidade de luz de 500 mW/cm².¹⁴ Após o endurecimento, os excessos foram cuidadosamente removidos.

Após confecção dos corpos-de-prova (n=48), estes foram adaptados às faces seccionadas dos blocos de esmalte e fixados com auxílio de cera pegajosa, exceto para o grupo controle (n=12) – sem material (Anexo E e H). Em seguida, o conjunto bloco de esmalte + corpo-de-prova e blocos de esmalte (controle) foram isolados com esmalte de unha deixando a superfície de esmalte do bloco e do corpo-de-prova expostos (Anexo E).



4. Ciclagem de Des-Remineralização (DES>RE)

Esta fase avaliou o efeito do flúor ao interferir com a dinâmica do processo de cárie, no qual o desafio cariogênico é maior que a remineralização, utilizando o modelo preconizado por Vieira et al.¹⁰ Os blocos + corpos-de-prova e blocos de esmalte (controle) foram submetidos a 5 ciclagens de pH, a uma temperatura de 37°C, sendo imersos nas soluções desmineralizante – DES (6 horas – Ca e P 2,0 mmol L⁻¹ em tampão acetato 0,075 mol L⁻¹, 0,04 ppm F em pH 4,7 - 2,2 mL/mm²) e remineralizante - RE (18 horas – Ca 1,5 mmol L⁻¹, P 0,9 mmol L⁻¹, KCl 0,15 mol L⁻¹ em tampão cacodilato 0,02 mol L⁻¹, 0,05 ppm F em pH 7,0 – 1,1 mL/mm²) (Anexo E e H). Os blocos foram lavados com jatos de água destilada/deionizada por 30 segundos, após remoção das soluções DES/RE. Após o 5º dia, a solução RE foi trocada e os blocos permaneceram nesta solução por 48 horas.

Concluída a ciclagem de pH, os materiais que estavam unidos aos blocos de esmalte foram removidos, e os blocos foram submetidos ao teste de microdureza de superfície final (SMH₂), utilizando a mesma metodologia do item 2. A 150, 300, 450 e 600 µm do material foram realizadas 5 impressões, utilizando-se carga estática de 25 gramas, entre as 5 impressões iniciais, separadas entre si por uma distância de 100 µm (Anexo E e H). Avaliou-se, a seguir, a porcentagem de alteração da microdureza de superfície (%SMH_A = [(SMH₂ – SMH₁)/SMH₁] $\times$ 100) em cada distância. Na sequência, foi determinada a concentração de flúor incorporado ao esmalte e liberado nas soluções de ciclagem.

5. Avaliação da microdureza em secção longitudinal do esmalte (CSMH)

Após a ciclagem de pH, os blocos foram seccionados longitudinalmente e uma das metades foi levada à embutidora metalográfica (Arotec Pré 30s, Cotia, SP, Brasil) para a inclusão em resina acrílica (Anexo G). Em seguida, realizou-se o polimento com lixas de granulação 320, 600, 800, 1200 e papel feltro com solução de diamante. Para o teste de microdureza em secção longitudinal utilizou-se o microdurômetro já citado anteriormente com carga de 25 g e tempo de 10 s. Foram realizadas em cada bloco 32 impressões distribuídas em 4 séries de 8 impressões cada, sendo as distâncias de: 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 e 330 µm em profundidade. A primeira série iniciou-se a 150 µm da borda que permaneceu em contato com o material, sendo as outras realizadas a 300, 450 e 600 µm da primeira (Anexo G). Os valores obtidos do teste, até a profundidade de 90 µm, foram convertidos em conteúdo mineral (%volume mineral). Após, calculou-se a área integrada do esmalte hígido (Z₁) e a área integrada pós-ciclagem (Z₂) para cálculo do conteúdo mineral (ΔZ), cuja fórmula $\Delta Z = (Z_2 - Z_1)$ (Anexo J). A profundidade da lesão foi mensurada da distância da superfície até onde o conteúdo mineral retornou a 95% do nível do esmalte hígido.



6. Análise de flúor presente no esmalte e nas soluções DES/RE (DES>RE)

A outra metade foi novamente seccionada para obtenção de um bloco 2x2 mm. Em seguida, os blocos foram adaptados em mandris e após realizou-se as medidas dos blocos com o paquímetro digital (Mitutoyo CD-15B, Mitutoyo Corporation, Japan) obtendo-se a área de superfície do esmalte. Com um micromotor acoplado à peça reta (N 270, Dabi-Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e disco de lixa auto-adesiva (13 mm de diâmetro) de granulação 320 (Silicon-Carbide, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) em frascos de poliestireno cristal (J-10, Injeplast, São Paulo, SP, Brasil) foi realizada a remoção de uma camada de 50 μm de esmalte de cada bloco (Anexo G), baseado no trabalho de Weatherell et al.¹⁵ As superfícies dos blocos foram lavadas com 0,4 mL de água deionizada, no interior dos frascos onde foi acrescentado 0,4 mL de HCl 1 mol L⁻¹. Os frascos foram mantidos sob agitação constante por 30 minutos e em seguida foram adicionados 0,8 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹.¹⁶

A leitura da concentração de íons flúor presentes na solução dos frascos e nas soluções de ciclagem (DES/RE) foi realizada com o uso de um eletrodo específico para íon flúor (9609 – BN, Orion Research, Inc, Beverly, MA, USA) e analisador de íons (Orion 720 A, Orion Research, Inc) (Anexo G). Previamente, foram preparadas curvas de calibração de 0,05 $\mu\text{g F mL}^{-1}$ a 0,8 $\mu\text{g F mL}^{-1}$ em TISAB III (Total Ionic Strength Adjustment Buffer), conforme planilha do Anexo L, para a leitura de flúor nos frascos e os resultados foram expressos em $\mu\text{g F/mm}^3$. Para as soluções de ciclagem, foram realizadas previamente, curvas de calibração de 0,0625 $\mu\text{g F mL}^{-1}$ a 1,0 $\mu\text{g F mL}^{-1}$ em TISAB III, conforme planilhas do Anexo M e os resultados foram expressos em quantidade de flúor ($\mu\text{g F}$) liberado na solução.

7. Análise estatística

Os dados obtidos de %SMH_A, ΔZ e das soluções de ciclagem ($\mu\text{g F}$), após comprovação de sua homogeneidade, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA). Os dados de flúor presente no esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$) foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis. A correlação foi realizada por teste de regressão. As análises foram feitas utilizando o software GMC versão 2002 e o nível de significância estabelecido foi de 5%.



Resultados

Na Tabela 1 pôde-se observar que não houve diferença significativa entre %SMH_A e as distâncias nos grupos controle e Z 100. Entre os materiais que liberam flúor, nas distâncias de 300 e 450 µm, observou-se diferença estatisticamente significativa quanto à %SMH_A. Em relação à média dos valores totais da %SMH_A, também se observou diferença significativa entre os materiais que liberam flúor ($p < 0,05$) (Anexo I).

Tabela 1 – Porcentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMH_A) (média $\pm$ dp, n=12) de acordo com distância e o grupo

Distância (µm)	Grupo				
	Controle	Z 100	Fluroshield	Vitremer	Vitremer ¼
150	-89,1 $\pm$ 7,8a*	-86,4 $\pm$ 8,4a	-43,4 $\pm$ 10,7b,d	-23,3 $\pm$ 6,1e	-20,6 $\pm$ 5,3e
300	-88,1 $\pm$ 10,7a	-86,9 $\pm$ 6,9a	-50,7 $\pm$ 10,0b,c	-31,9 $\pm$ 8,9d	-25,4 $\pm$ 8,6e
450	-87,9 $\pm$ 10,0a	-89,0 $\pm$ 5,5a	-56,8 $\pm$ 10,9c	-39,9 $\pm$ 9,1d	-28,6 $\pm$ 9,1e
600	-87,0 $\pm$ 12,4a	-86,8 $\pm$ 6,4a	-58,1 $\pm$ 11,4c	-52,2 $\pm$ 13,7b,c	-37,6 $\pm$ 8,0d
Total	-88,0 $\pm$ 10,1A ⁺	-87,3 $\pm$ 6,7A	-52,2 $\pm$ 11,9B	-36,8 $\pm$ 14,4C	-28,1 $\pm$ 9,9D

Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente (5%). *letras minúsculas: comparação da %SMH_A entre os grupos e distâncias. ⁺letras maiúsculas: comparação dos valores totais da %SMH_A entre os grupos.

As Figuras 1 e 2 respectivamente mostram correlação negativa entre %SMH_A e µg F/mm³ ($r = -0,9989$; $p = 0,0000001$), %SMH_A e µg F ($r = -0,9884$; $p = 0,0000001$). Para os materiais que liberam flúor, quanto menores os valores da %SMH_A maiores serão os valores de flúor presente no esmalte (µg F/mm³) (Figura 1) e nas soluções de ciclagem (µg F) (Figura 2), sendo estatisticamente diferentes entre si ($p < 0,05$).

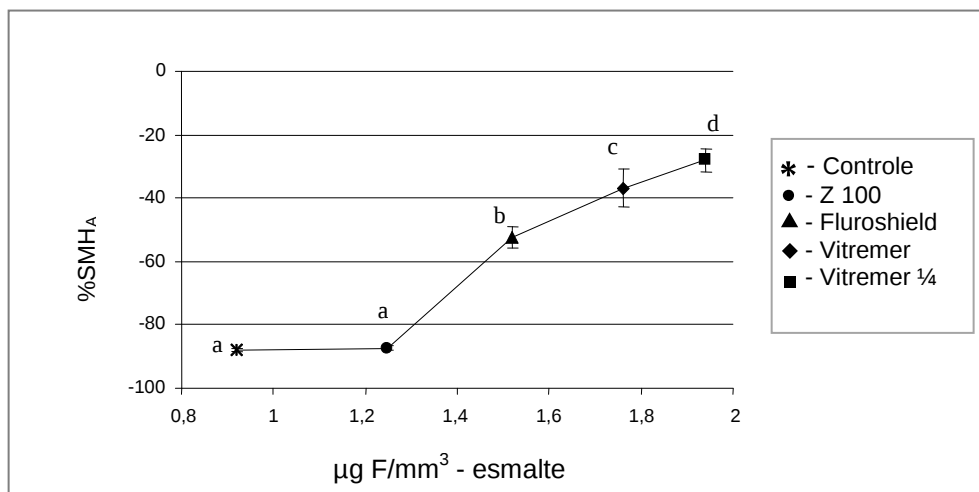


Figura 1 - Porcentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMH_A) (média $\pm$ ep, n=12) em relação ao flúor presente no esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

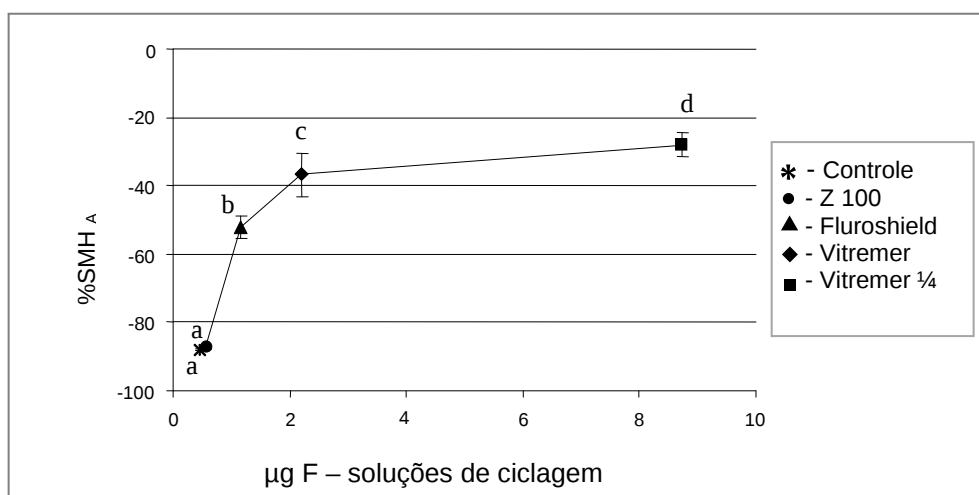


Figura 2 - Porcentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMH_A) (média $\pm$ ep, n=12) em relação ao flúor presente nas soluções de ciclagem ($\mu\text{g F}$), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

Houve correlação significativa entre $\mu\text{g F}$ e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0,9802$; $p=0,0018$) (Figura 3). Com o cálculo do conteúdo mineral até a profundidade de 90 μm , pôde-se observar correlação significativa entre ΔZ e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=-0,9762$; $p=0,0048$), ou seja, quanto maior a quantidade de flúor presente no esmalte, menor é a perda mineral (Figura 4).

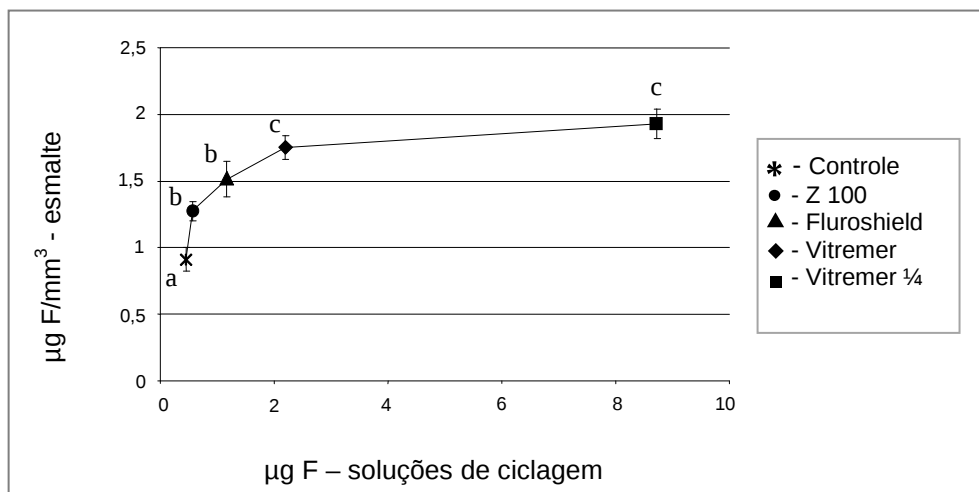


Figura 3 - Flúor presente no esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$) (média $\pm$ ep, $n=12$) em relação ao flúor presente nas soluções de ciclagem ($\mu\text{g F}$), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

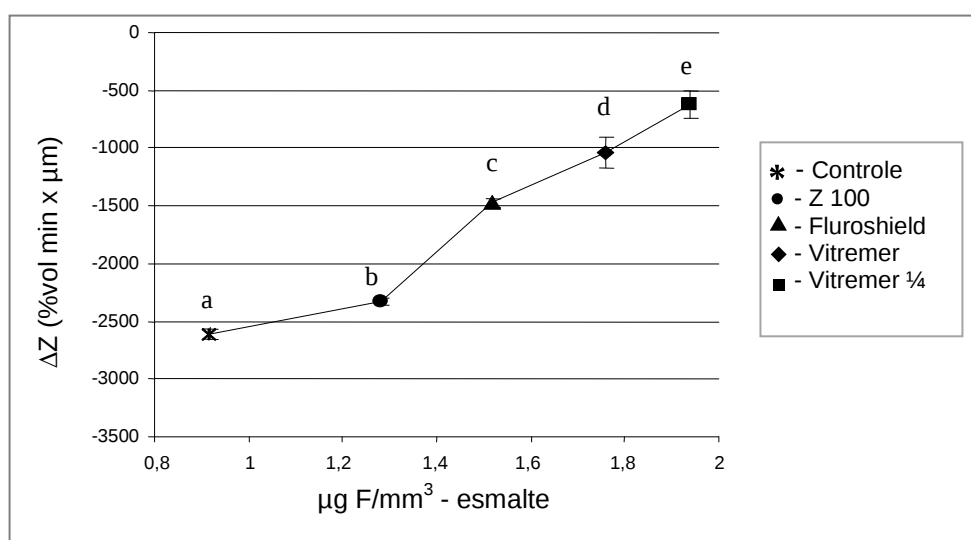


Figura 4 - Conteúdo mineral (ΔZ) (média $\pm$ ep, $n=12$) em relação ao flúor presente no esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

Quanto ao ΔZ e $\mu\text{g F}$ observou-se correlação significativa ($r=-0,9975$; $p=0,0000001$), assim quando há maiores valores de flúor nas soluções de ciclagem, conseqüentemente, há menores valores de perda mineral (Figura 5).

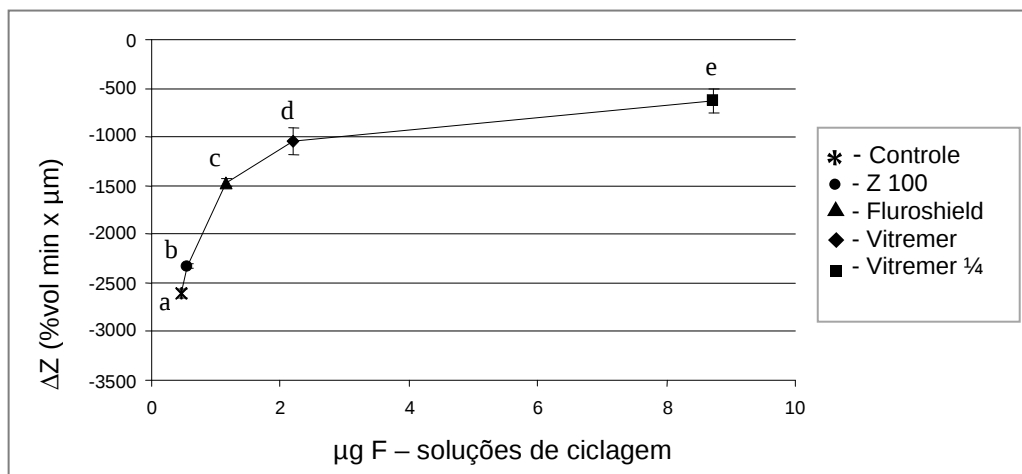


Figura 5 - Conteúdo mineral (ΔZ) (média $\pm$ ep, n=12) em relação ao flúor presente nas soluções de ciclagem ($\mu\text{g F}$), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Para os materiais que liberaram uma maior quantidade de flúor (Vitremer e Vitremer ¼), houve redução do ΔZ ao longo das distâncias, assim quanto mais afastado do material menores os valores do ΔZ . Para esses materiais foi possível observar diferença significativa do ΔZ nas distâncias de 150 e 600 μm , analisando individualmente cada um desses materiais. Para os grupos controle (sem material) e Z 100 (material sem flúor), os resultados foram estatisticamente similares (Figura 6).

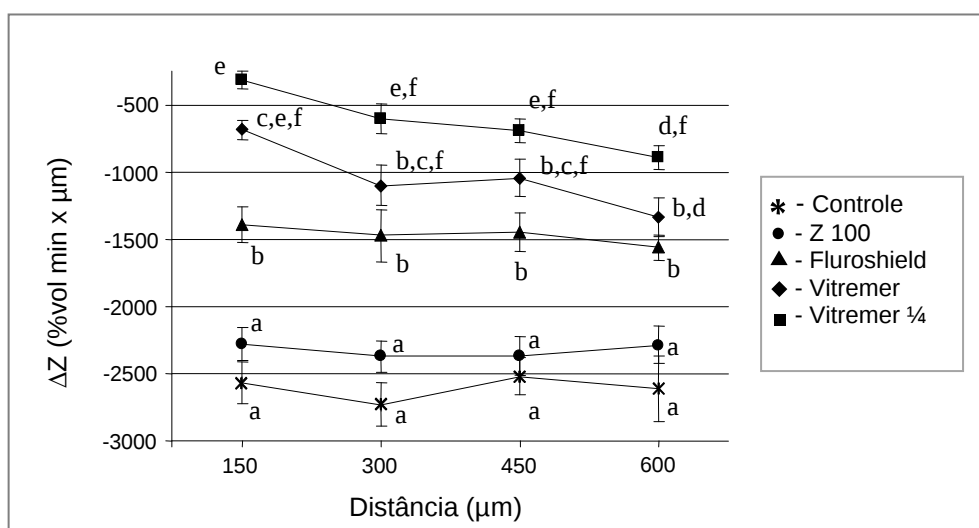


Figura 6 - Conteúdo mineral (ΔZ) (média $\pm$ ep, n=12) em relação à distância do material (μm), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).



Discussão

O estabelecimento de metodologia sensível para a avaliação da relação dose-resposta de materiais que liberam flúor é de interesse para a comunidade científica. Os primeiros estudos *in vitro*¹⁷ avaliaram os efeitos do flúor na desmineralização e remineralização separadamente, em modelos estáticos. Ten Cate e Duijsters¹⁸ introduziram o conceito de modelo dinâmico com períodos alternados de desmineralização e remineralização. Esse modelo *in vitro* é extremamente útil para a determinação dos efeitos do flúor tópico, já que consegue simular as condições encontradas *in vivo*.¹⁷ Diferentes modelos de ciclagens de pH foram propostos e os estudos *in vitro* passaram a ter grande importância para os estudos relacionados à progressão ou remineralização da cárie dentária.

O modelo de ciclagem de pH desenvolvido para determinação da relação dose-resposta de produtos fluoretados (soluções e dentifrícios) utilizando dente bovino¹⁰ foi submetido à validação e fundamentou-se nas vantagens do dente bovino em relação ao dente humano,⁸ assim como no conhecimento de que o esmalte do dente bovino responde mais rápido aos desafios cariogênicos ou condições remineralizantes em relação ao esmalte humano, sendo viável a sua utilização em estudos *in vitro*.¹⁹ Fatores de influência nas lesões *in vitro* produzidas no esmalte de dente bovino, como tempo de desmineralização, tempo de remineralização, composição e pH das soluções desmineralizadoras e remineralizadoras e duração da ciclagem foram alterados para o estabelecimento de metodologia para avaliação da relação dose-resposta de produtos fluoretados.¹⁰

No presente estudo, além das alterações definidas por Vieira et al.¹⁰ outras modificações foram necessárias para os materiais que liberam flúor, como o estabelecimento de um protocolo para análise de microdureza de superfície. Para isso foram realizadas impressões em várias distâncias (150, 300, 450 e 600 μm da borda seccionada) buscando definir uma região que mostrasse diferença entre os materiais e que sofresse menor influência de fatores externos, como por exemplo, a distância de 150 μm por estar próxima a secção do bloco, foi a mais susceptível a trincas e outras alterações durante o processo de isolamento do bloco, dificultando o preparo. Portanto, na Tabela 1, as distâncias de 300 e 450 μm foram suficientes para que se possa observar diferenças entre os materiais que liberam flúor com menor interferência dos fatores externos, permitindo uma maior precisão de análise. Vários estudos *in vitro*^{7,20-25} demonstraram maior inibição da desmineralização do esmalte em área adjacente ao material. Porém, quando se tenta comparar materiais que liberam muito flúor, na distância de 150 μm do



material, a resposta ao efeito do flúor atinge mesma intensidade, e isso dificulta a diferenciação entre eles. O mesmo comportamento se observa quando se distancia muito do material (600 μm), pois há uma diminuição do efeito do flúor e em determinado momento os materiais se igualam, sendo difícil diferenciá-los. Assim, as distâncias de 300 e 450 μm são as mais favoráveis para que se possa distinguir um material do outro.

Os trabalhos desenvolvidos *in vitro* ou *in situ*^{6,20,26-29} realizaram cavidades convencionais no esmalte para os testes envolvendo materiais. Neste estudo, os materiais foram adaptados aos blocos de esmalte, para propiciar a realização da microdureza de superfície próxima ao material. Ao pressionar o material na cavidade, ocorreria um excesso sobre a superfície de esmalte cobrindo as impressões iniciais e mesmo realizando o polimento da superfície estas impressões seriam removidas não permitindo o cálculo da porcentagem de alteração de microdureza, somente teste de microdureza em secção longitudinal.

O teste de microdureza de superfície foi aplicado por ser um método de análise simples e rápido, e por permitir a realização de outros testes. Assim, com o teste de microdureza de superfície foi possível avaliar as alterações da microdureza em cada grupo, sendo que, para verificar relação dose-resposta em um modelo de ciclagem de pH, é necessário que o grupo controle apresente uma redução da microdureza de superfície próxima de 80%.^{10,30} Esse parâmetro fornece segurança ao modelo utilizado, pois se ocorrer maior ou menor perda mineral neste grupo, isso implicará em alterações no processo de inibição da desmineralização e conseqüentemente os resultados não serão confiáveis. Neste trabalho foi possível observar uma média de alteração de microdureza de superfície de 88% no grupo controle. Quanto ao teste de microdureza em secção longitudinal, pôde-se observar que quanto maior a liberação de flúor pelo material no meio e incorporado pelo esmalte maior o valor do ΔZ (dose-resposta). Portanto, para este modelo de ciclagem de pH, os testes de microdureza de superfície e em secção longitudinal foram adequados para avaliação de materiais que liberam flúor.

A liberação de flúor de materiais restauradores e as conseqüentes alterações no conteúdo de flúor do esmalte foram avaliadas por Norman et al.³¹ mostrando que nem sempre os materiais que liberaram mais flúor aumentaram a incorporação do mesmo no esmalte. Neste estudo foi possível observar correlação entre o flúor presente no esmalte e o liberado nas soluções de ciclagem. A utilização de modelo de ciclagem de pH que simula o desafio cariogênico, sua capacidade de promover relação dose-resposta e a utilização de métodos mais precisos para dosagem de flúor, como o teste de microabrasão, possibilitou esse resultado. A incorporação de flúor pelo esmalte não é uniforme, ou seja, a distribuição do flúor sobre a camada de esmalte não fica restrita somente a área próxima ao material (onde se realizou as impressões do teste de



microdureza de superfície). Porém para fins de comparação deve-se realizar a microabrasão do esmalte mais próximo ao material com uma área de desgaste aproximada de 2x2 mm/bloco. Assim, a padronização do tamanho da área de desgaste é importante para reduzir a variação do resultado entre os blocos de um mesmo grupo.

Houve correlação entre $\mu\text{g F}$ e $\mu\text{g F/mm}^3$, $\%\text{SMH}_A$ e $\mu\text{g F/mm}^3$ e também entre ΔZ e $\mu\text{g F/mm}^3$. Este fato pode estar relacionado com uma presença maior de flúor na camada de esmalte removida pela microabrasão (50 μm) e que corresponde a região de maior perda mineral do esmalte. A análise do conteúdo de flúor no esmalte pode não ser aceito como um indicador crítico do mecanismo de ação do flúor, mas é uma excelente medida de auxílio sendo recomendado que se continue realizando-a.³²

O resultado da análise quantitativa de flúor liberado nas soluções de ciclagem para este estudo foi o esperado (diferença significativa dos valores entre os materiais que liberam flúor) e isso se deve à composição das soluções de imersão (DES/RE) que simulam as interações da superfície, a força iônica, o pH do meio e o grau de saturação, favorecendo a liberação de íons flúor.³ O modelo avaliado no presente estudo possibilitou a verificação da relação dose-resposta através da análise da microdureza de superfície, microdureza em secção longitudinal, flúor presente no esmalte e nas soluções de ciclagem. Quando o modelo for utilizado com o objetivo de comparar a efetividade de materiais odontológicos, o teste de microdureza de superfície é o mais adequado pela facilidade de aplicação e baixo custo.

A efetividade dos materiais que liberam flúor em reduzir o processo de desmineralização do esmalte ainda deve ser testada em estudos *in vitro* precedendo a realização dos estudos *in situ* e *in vivo*.⁴ Para isto, os modelos de ciclagem de pH devem reproduzir o processo de cárie natural e permitir a verificação da relação dose-resposta com a variação da concentração de flúor.^{4,32-33} Estas são características importantes para validação de modelos com função de predizer o potencial de eficácia clínica de materiais que liberam flúor.⁴



Conclusão

O modelo de ciclagem de pH foi validado pela verificação da relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na desmineralização *in vitro*.



Referências*

1. ten Cate JM (1990) *In vitro* studies on the effects of fluoride on de- and remineralization *Journal of Dental Research* 69(Special Issue) 614-619.
2. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Koliniotou-Koubia E & Tolidis K (2003) Inhibition of demineralization *in vitro* around fluoride releasing materials *Journal of Oral Rehabilitation* 30(12) 1216-1222.
3. Carvalho AS & Cury JA (1999) Fluoride release from some dental materials in different solutions *Operative Dentistry* 24(1) 14-19.
4. Cummins D (1995) Role of models in assessing new agents for caries prevention *Advances in Dental Research* 9(3) 338-339.
5. Arends J & van der Zee Y (1990) Fluoride uptake in bovine enamel and dentin from a fluoride-releasing composite resin *Quintessence International* 21(7) 541-544.
6. Pin MLG, Abdo RCC, Machado MAAM, Silva SMB, Pavarini A & Marta SN (2005) *In vitro* evaluation of the cariostatic action of esthetic restorative materials in bovine teeth under severe cariogenic challenge *Operative Dentistry* 30(3) 368-375.
7. Exterkate RAM, Damen JJM & ten Cate JM (2005) Effect of fluoride-releasing filling materials on underlying dentinal lesions *in vitro* *Caries Research* 39(6) 509-513.
8. Mellberg JR (1992) Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity *in situ* *Journal of Dental Research* 71(Special Issue) 913-919.
9. Featherstone JDB & Zero DT (1992) An *in situ* model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization *Journal of Dental Research* 71(Special Issue) 804-810.

* Normalização segundo a revista *Operative Dentistry* (Anexo B).



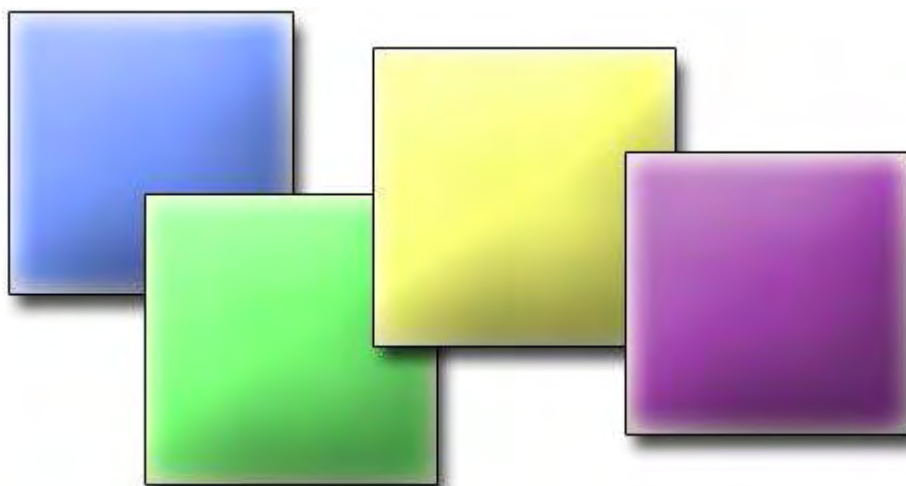
10. Vieira AEM, Delbem ACB, Sasaki KT, Rodrigues E, Cunha RF & Cury JA (2005) Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel *Caries Research* 39(6) 514-520.
11. Cury JA, Rebello MA & Del Bel Cury AA (1997) *In situ* relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque *Caries Research* 31(5) 356-360.
12. Delbem ACB & Cury JA (2002) Effect of application time of APF and NAF gels on microhardness and fluoride uptake of *in vitro* enamel caries *American Journal of Dentistry* 15(3) 169-172.
13. Argenta RMO, Tabchoury CPM & Cury JA (2003) A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization *Pesquisa Odontológica Brasileira* 17(3) 241-246.
14. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB & Cannon M (2007) Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials *Operative Dentistry* 32(4) 330-337.
15. Weatherell JA, Robinson C, Strong M & Nakagaki H (1985) Micro-sampling by abrasion *Caries Research* 19(2) 97-102.
16. Alves KMRP, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FAL, Buzalaf MAR, Sasaki KT & Delbem ACB (2007) *In vitro* evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices *Caries Research* 41(4) 263-267.
17. White DJ & Featherstone JDB (1987) A longitudinal microhardness analysis of fluoride dentifrice effects on lesion progression *in vitro* *Caries Research* 21(6) 502-512.
18. ten Cate JM & Duijsters PPE (1982) Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions *Caries Research* 16(3) 201-210.
19. Clasen ABS & Ögaard B (1999) Experimental intra-oral caries models in fluoride research *Acta Odontologica Scandinavica* 57(6) 334-341.



20. Serra MC & Cury JA (1992) The *in vitro* effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model *Quintessence International* 23(2) 143-147.
21. Creanor SL, Carruthers LM, Saunders WP, Strang R & Foye RH (1994) Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements *Caries Research* 28(5) 322-328.
22. Erickson RL & Glasspoole EA (1995) Model investigations of caries inhibition by fluoride-releasing dental materials *Advances in Dental Research* 9(3) 315-323.
23. Damen JJM, Buijs MJ, van Strijp AJ & ten Cate JM (1999) *In vitro* fluoride uptake by intra-orally aged and contaminated glass ionomer cement *Caries Research* 33(1) 88-90.
24. Donly KJ, Segura A, Wefel JS & Hogan MM (1999) Evaluating the effects of fluoride-releasing dental materials on adjacent interproximal caries *The Journal of the American Dental Association* 130(6) 817-825.
25. Lobo MM, Pecharki GD, Tengan C, Silva DD, Tagliaferro EPS & Napimoga MH (2005) Fluoride-releasing capacity and cariostatic effect provided by sealants *Journal of Oral Science* 47(1) 35-41.
26. Benelli EM, Serra MC, Rodrigues Jr AL & Cury JA (1993) *In situ* anticariogenic potential of glass ionomer cement *Caries Research* 27(4) 280-284.
27. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Koliniotou-Koubia E & Papagodiannis Y (1994) Secondary caries formation *in vitro* around fluoride-releasing restorations *Operative Dentistry* 19(5) 183-188.
28. Serra MC & Rodrigues Jr AL (1998) Potencial cariostático de materiais restauradores contendo flúor *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas* 52(5) 359-364.
29. Hicks MJ, Flaitz CM & Garcia-Godoy F (2000) Fluoride-releasing sealant and caries-like enamel lesion formation *in vitro* *The Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 24(3) 215-219.



30. Brighenti FL, Delbem ACB, Buzalaf MAR, Oliveira FAL, Ribeiro DB & Sasaki KT (2006) *In vitro* evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content *Caries Research* 40(3) 239-244.
31. Norman RD, Phillips RW & Swartz ML (1960) Fluoride uptake by enamel from certain dental materials *Journal of Dental Research* 39(1) 11-16.
32. ten Cate JM & Mundorff-Shrestha SA (1995) Working group report 1: Laboratory models for caries (*in vitro* and animal models) *Advances in Dental Research* 9(3) 332-334.
33. Dunipace AJ, Zhang W, Beiswanger AJ & Stookey GK (1994) An *in vitro* model for studying the efficacy of fluoride dentifrices in preventing root caries *Caries Research* 28(5) 315-321.



2º Capítulo

*Validação de um modelo de ciclagem de pH para
verificar relação dose-resposta de materiais que
liberam flúor na remineralização in vitro*



Resumo*

Rodrigues E. Validação de um modelo de ciclagem de pH para verificar relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na remineralização *in vitro* [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista, 2007.

O objetivo foi validar um modelo de ciclagem de pH verificando a relação dose-resposta em materiais que liberam flúor na remineralização *in vitro*. Selecionou-se 60 blocos de esmalte bovino pelo teste de microdureza de superfície (SMH₁). Realizou-se indução de lesão de cárie e microdureza de superfície pós-cárie (SMH₂). Foram confeccionados corpos-de-prova (n=48) e adaptou-se aos blocos dos grupos: Z 100, Fluroshield, Vitremer e Vitremer diluído ¼, sendo o restante (n=12) do grupo controle. Os espécimes foram submetidos à ciclagem de pH, para promover a remineralização. Após, avaliou-se a microdureza de superfície final (SMH₃) para cálculo da porcentagem de recuperação da microdureza de superfície (%SMH_R). Realizou-se a determinação do flúor presente no esmalte (µg F/mm³) e nas soluções de ciclagem (µg F). O teste de microdureza em secção longitudinal foi realizado para cálculo do conteúdo mineral (ΔZ). Análise de Variância (p<0,05) foi aplicada à %SMH_R e ΔZ; e Kruskal-Wallis para µg F e µg F/mm³. A correlação foi avaliada pelo teste de regressão. Entre os grupos controle e Z 100 não houve diferença significativa nas análises realizadas - %SMH_R, ΔZ, µg F e µg F/mm³ (p<0,05). Houve correlação positiva entre a %SMH_R e µg F/mm³ (r=0,9770; p=0,004), %SMH_R e µg F (r=0,9939; p=0,0000001), ΔZ e µg F (r=0,9975; p=0,0000001), ΔZ e µg F/mm³ (r=0,9853; p=0,0002) e também entre µg F e µg F/mm³ (r=0,9819; p=0,0010). O modelo de ciclagem de pH foi validado pela verificação da relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na remineralização do esmalte.

Palavras-chave: remineralização, material dental, flúor, ciclagem de pH.

* Normalização segundo a revista *Journal of Dentistry* (Anexo C).



Introdução

A função dos modelos de cárie *in vitro* é facilitar a geração de dados quantitativos suficientes para se desenvolver pesquisas clínicas com segurança.¹ De acordo com Council on Dental Therapeutics,² os modelos de cárie deveriam ser capazes de permitir a verificação da relação dose-resposta de produtos fluoretados, através de teste de inibição da desmineralização e/ou promoção da remineralização.

Os modelos de cárie *in vitro* atualmente utilizados são capazes de mensurar a relação dose-resposta, na inibição da progressão da cárie ou promoção da remineralização, de forma exponencial à concentração de flúor nos produtos utilizando dentes humanos.³⁻⁴ Entretanto, os dentes humanos apresentam maior heterogeneidade de composição em relação aos dentes bovinos, maior curvatura do esmalte o que dificulta a obtenção de superfícies planas para a realização de testes de microdureza de superfície, menor disponibilidade de amostras e uma área menor de esmalte.⁵

O padrão de formação de lesão cariosa no esmalte permanente bovino é mais similar ao esmalte humano decíduo do que o esmalte humano permanente.⁶⁻⁸ Embora o esmalte bovino não seja idêntico ao esmalte humano em alguns aspectos, a sua utilização para avaliar efeito de agentes anticariogênicos ou remineralizantes é aceitável.⁶ As lesões de subsuperfície são bem controladas em condições *in vitro*.⁵

Quando se deseja analisar a ação do flúor em modelos de remineralização (RE>DES), faltam pesquisas direcionadas a esta situação, pois a maioria dos trabalhos utiliza modelos de alto desafio cariogênico (DES>RE), ou seja, que analisam a inibição da desmineralização e não diretamente a promoção da remineralização.

Vieira et al.⁹ definiram um modelo de ciclagem de pH que permitiu a determinação de relação dose-resposta em produtos com diferentes concentrações de flúor no processo de remineralização do esmalte. A validação deste modelo para materiais que liberam flúor é de grande importância, pela necessidade de avaliar a incorporação de flúor no esmalte e sua relação com a remineralização de lesão de cárie (cárie secundária). Portanto, neste capítulo abordou-se a validação do modelo para os materiais que liberam flúor em ativar a remineralização do esmalte.



Proposição

Validar o modelo de ciclagem de pH verificando a relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na remineralização *in vitro*.



Material e Método

1. Preparação dos blocos de esmalte

Para a realização deste estudo foram utilizados dentes incisivos bovinos mantidos em formol a 2%, pH 7,0, durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental.¹⁰⁻¹¹

Inicialmente, após a separação da raiz, a coroa foi fixada em placa de acrílico para a secção da porção palatina em cortadeira elétrica (Isomet Low Speed Saw, Buehler, Lake Bluff, Illinois, USA), sob refrigeração com água deionizada (Anexo D). A porção vestibular da coroa foi fixada na placa de acrílico para obtenção do bloco de esmalte. Foram realizadas 4 secções, na porção mais plana, sendo duas no sentido longitudinal e duas no sentido transversal da coroa, obtendo blocos medindo 4x4 mm (Anexo D e H). Durante os procedimentos os blocos foram mantidos em ambiente úmido (recipientes plásticos + gaze embebida em formol a 2%, pH 7,0).^{9,12}

Após a obtenção dos blocos de esmalte, realizou-se o ajuste da dentina em politriz APL-4 (Arotec, Cotia, SP, Brasil) com lixa de granulação 320 (Carbimet Paper Discs, 30-5108-320, Buehler, Lake Bluff, IL, USA), 2 pesos, durante 20 segundos sob baixa rotação e refrigeração (Anexo D e H). Em seguida, a superfície do esmalte foi polida de acordo com a seqüência: lixas de granulação 600, 800 e 1200 respectivamente, com 2 pesos, tempo de 30 segundos e refrigeração a água. Na seqüência, o esmalte foi polido com papel feltro (Polishing Cloth Buehler 40-7618, Buehler, Lake Bluff, IL, USA) e suspensão de diamante (Extec I Watr. Based Diamond Perm., CT, USA) durante 1 minuto (Anexo D). A seguir, os blocos foram lavados com jato de água deionizada e submetidos ao ultra-som (Branson Ultrasonics Corp. American Technologies, Inc., Danbury, CT, USA) durante 2 minutos, imersos em solução de limpeza (Extec Lubricant & Extender Remover QT, CT, USA) diluída na proporção 20:1 em água destilada. Finalmente, os blocos foram lavados em jatos de água deionizada e armazenados.

Após o polimento, secções transversais foram realizadas a uma distância de 1 mm da borda do bloco, em cortadeira sob refrigeração a água destilada/deionizada (Anexo D e H). A parte maior (4x3 mm) do bloco foi utilizada no experimento, sendo a menor parte descartada. Devido à curvatura do bloco (característica da face vestibular), o polimento se torna deficiente em sua periferia, sendo necessária a secção transversal para manter uma superfície polida na borda do bloco que entrará em contato com o material.



2. Análise de microdureza de superfície do esmalte

Para o teste de microdureza de superfície inicial (SMH₁) foi utilizado o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2.000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos,¹³ acoplado ao “Software” para análise de imagem CAMS-WIN (NewAge Industries, Inc., Southampton, PA, USA). Foram realizadas 5 impressões no esmalte separadas entre si por uma distância de 100 µm, nas distâncias de 150, 300, 450 e 600 µm da borda seccionada, totalizando 20 impressões (Anexo E e H).

3. Indução da lesão artificial de cárie

Lesões artificiais de cárie foram produzidas, após SMH₁, através da imersão em solução contendo 1,3 mmol L⁻¹ Ca, 0,78 mmol L⁻¹ P em tampão acetato 0,05 mol L⁻¹, em pH 5,0; 0,03 ppm F (2 mL/mm²), por um período de 16 horas, a uma temperatura de 37°C, para produção de cárie (Anexo H).¹⁴ Os blocos foram submetidos à microdureza de superfície pós-desmineralização (SMH₂), sendo realizadas 5 impressões entre as 5 iniciais (SMH₁) nas distâncias previamente definidas da borda do bloco (Anexo F e H), de acordo com o item 2.

4. Confeção do material e adaptação ao bloco de esmalte

Foram confeccionados, para cada grupo (exceto grupo controle), 12 corpos-de-prova, os quais foram obtidos a partir de matrizes metálicas que apresentam cavidade de 3 mm de largura, 2 mm de altura e 1 mm de espessura (Anexo F e H). Assim, para obtenção dos corpos-de-prova, o material Vitremer (3M/ESPE, St Paul, MN, USA) foi manipulado seguindo-se as instruções do fabricante e também teve sua proporção alterada para ¼ (pó/líquido). A manipulação foi desnecessária para o selante resinoso Fluroshield (Dentsply Ind. e Com., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e a resina composta Z 100 (3M/ESPE, St Paul, MN, USA) já que são utilizados diretamente das suas embalagens comerciais, prontos para uso.

A polimerização dos materiais fotoativados foi realizada com aparelho Vip (Bisco, Schaumburg, IL, USA) de luz halógena, com tempo de 40 segundos, nos dois lados do corpo-de-prova, e intensidade de luz de 500 mW/cm².¹⁵ Após o endurecimento, os excessos foram cuidadosamente removidos. Após confecção dos corpos-de-prova, estes foram adaptados às faces seccionadas dos blocos de esmalte e fixados com auxílio de cera pegajosa (Anexo F e H).



5. Ciclagem de Des-Remineralização (RE>DES)

Esta fase avaliou o efeito do flúor em promover a remineralização da lesão de cárie artificial, utilizando o modelo preconizado por Vieira et al.⁹ Os blocos + corpos-de-prova e blocos de esmalte (controle) foram submetidos individualmente durante seis dias a seis ciclagens de pH⁹ (Anexo F e H), a uma temperatura de 37°C, sendo imersos em solução remineralizadora - RE (1,5 mmol L⁻¹ Ca, 0,9 mmol L⁻¹ P, 0,15 mol L⁻¹ KCl em tampão cacodilato 0,02 mol L⁻¹, 0,04 ppm F, em pH 7,0; 4 mL por bloco), a qual foi trocada duas vezes ao dia (8 e 16 horas). Os desafios cariogênicos foram realizados com a solução desmineralizadora – DES (2,0 mmol L⁻¹ Ca e P em tampão acetato 0,075 mol L⁻¹, 0,03 ppm F, em pH 4,7; 12 mL para cada bloco) durante duas horas (12 às 14 horas) (Anexo F e H). Os blocos foram lavados com jatos de água destilada/deionizada por 30 segundos, após remoção das soluções DES/RE, que foram trocadas diariamente.

Concluídas as 6 ciclagens de pH, os materiais que estavam unidos aos blocos de esmalte foram removidos e juntos com o grupo controle foram submetidos ao teste de microdureza de superfície final (SMH₃), utilizando a mesma metodologia do item 2. A 150, 300, 450 e 600 µm do material foram realizadas 5 impressões entre as iniciais (SMH₁) e as pós-desmineralização (SMH₂), separadas entre si por uma distância de 100 µm (Anexo F e H). Avaliou-se, a seguir, a porcentagem de recuperação da microdureza de superfície (%SMH_R=[(SMH₃ – SMH₂)/SMH₁ – SMH₂])x100) em cada distância (Anexo N). Na seqüência, foi determinada a concentração de flúor presente no esmalte e liberado nas soluções de ciclagem.

6. Avaliação da microdureza em secção longitudinal do esmalte (CSMH)

Após a ciclagem de pH, os blocos foram seccionados longitudinalmente e uma das metades foi levada à embutidora metalográfica (Arotec Pré 30s, Cotia, SP, Brasil) para inclusão em resina acrílica (Anexo G). Após a inclusão, realizou-se o polimento com lixas de granulação 320, 600, 800, 1200 e papel feltro com solução de diamante. Para o teste de microdureza em secção longitudinal utilizou-se o microdurômetro já citado anteriormente com carga de 25 g e tempo de 10 s. Foram realizadas em cada bloco 32 impressões distribuídas em 4 séries de 8 impressões cada, sendo as distâncias de: 10, 30, 50, 70, 90, 110, 220 e 330 µm em profundidade. A primeira série iniciou-se a 150 µm da borda que permaneceu em contato ao material, sendo as outras realizadas a 300, 450 e 600 µm da primeira (Anexo G). Os valores obtidos do teste, até a profundidade de 90 µm, foram convertidos em conteúdo mineral (%volume mineral). Após, calculou-se a área integrada do esmalte hígido (Z₁) e a área integrada pós-ciclagem (Z₂) para cálculo do conteúdo mineral (ΔZ), cuja fórmula ΔZ= (Z₂ - Z₁) (Anexo O). A profundidade da lesão



foi mensurada da distância da superfície até onde o conteúdo mineral retornou a 95% do nível do esmalte hígido.

7. *Análise de flúor presente no esmalte e nas soluções DES/RE (RE>DES)*

A outra metade foi novamente seccionada para obtenção de um bloco 2x2 mm. Em seguida, os blocos foram adaptados em mandris e após realizou-se as medidas dos blocos com o paquímetro digital (Mitutoyo CD-15B, Mitutoyo Corporation, Japan) obtendo-se a área da superfície do esmalte. Com um micromotor acoplado à peça reta (N 270, Dabi-Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e disco de lixa auto-adesiva (13 mm de diâmetro) de granulação 320 (Silicon-Carbide, Buehler, IL, USA) em frascos de poliestireno cristal (J-10, Injeplast, São Paulo, SP, Brasil) foi realizada a remoção de uma camada de 50 μm de esmalte de cada bloco (Anexo G), baseado no trabalho de Weatherell et al.¹⁶ As superfícies dos blocos foram lavadas com 0,4 mL de água deionizada, no interior dos frascos onde foi acrescentado 0,4 mL de HCl 1 mol L⁻¹. Os frascos foram mantidos sob agitação constante por 30 minutos e em seguida foram adicionados 0,8 mL de NaOH 0,5 mol L⁻¹.¹⁷

A leitura da concentração de íons flúor presentes na solução dos frascos e nas soluções de ciclagem (DES/RE) foi realizada com o uso de um eletrodo específico para íon flúor (9609 – BN, Orion Research, Inc, Beverly, MA, USA) e analisador de íons (Orion 720 A, Orion Research, Inc) (Anexo G). Previamente, foram preparadas curvas de calibração de 0,05 $\mu\text{g F mL}^{-1}$ a 0,8 $\mu\text{g F mL}^{-1}$ em TISAB III (Total Ionic Strength Adjustment Buffer), conforme planilha do Anexo P, para a leitura de flúor nos frascos e os resultados foram expressos em $\mu\text{g F/mm}^3$. Para as soluções de ciclagem, foram realizadas previamente, curvas de calibração de 0,025 $\mu\text{g F mL}^{-1}$ a 0,4 $\mu\text{g F mL}^{-1}$ em TISAB III, conforme planilha do Anexo Q e os resultados foram expressos em quantidade de flúor ($\mu\text{g F}$) liberado na solução.

8. *Análise estatística*

Os dados obtidos de %SMH_R e ΔZ , após comprovação de sua homogeneidade, foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) seguida do teste de Tukey e os dados de $\mu\text{g F/mm}^3$ e $\mu\text{g F}$ ao teste Kruskal-Wallis. Os dados de %SMH_R, ΔZ , $\mu\text{g F/mm}^3$ e $\mu\text{g F}$ foram submetidos ao teste de regressão. As análises foram feitas utilizando o software GMC versão 2002 e o nível de significância estabelecido foi de 5%.



Resultados

Analisando a Tabela 1, observa-se que em cada grupo estudado não houve diferença estatisticamente significativa da porcentagem de recuperação de microdureza de superfície (%SMH_R) nas diferentes distâncias (ANOVA, $p=0,000877$). Para os materiais que liberam flúor, nas distâncias de 300 e 450 μm , observa-se diferença significativa entre eles, sendo esta diferença mantida quando se comparam os valores das médias totais de %SMH_R.

Tabela 1 – Porcentagem de recuperação de microdureza de superfície (%SMH_R) (média $\pm$ dp, n=12) de acordo com a distância e o grupo

Distância (μm)	Grupo				
	Controle	Z 100	Fluroshield	Vitremer	Vitremer ¼
150	11,7 $\pm$ 6,2a,e*	10,2 $\pm$ 7,6a	20,9 $\pm$ 6,3b,e,f	39,7 $\pm$ 7,3c,d	46,1 $\pm$ 7,6d,h
300	13,0 $\pm$ 5,5a,e	10,5 $\pm$ 8,6a	21,9 $\pm$ 7,1b,f	37,7 $\pm$ 6,0c,h	48,8 $\pm$ 6,8d
450	14,1 $\pm$ 6,7a,e	11,4 $\pm$ 6,9a,e	22,6 $\pm$ 8,7b,f	33,0 $\pm$ 6,8c,g	47,6 $\pm$ 5,6d,h
600	14,6 $\pm$ 5,9a,e	11,8 $\pm$ 7,1a,e	23,0 $\pm$ 8,9b,f,g	30,3 $\pm$ 7,6c,f	43,2 $\pm$ 7,2d,h
Total	13,3 $\pm$ 1,3A ⁺	11,0 $\pm$ 1,4A	22,1 $\pm$ 0,9B	35,2 $\pm$ 4,3C	46,4 $\pm$ 2,4D

Médias seguidas de letras distintas diferem estatisticamente (5%). *letras minúsculas: comparação da %SMH_A entre os grupos e distâncias. ⁺letras maiúsculas: comparação dos valores totais da %SMH_A entre os grupos.

Quanto ao teste de regressão, foi possível observar correlação positiva entre %SMH_R e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0,9770$; $p=0,004$) (Fig. 1), %SMH_R e $\mu\text{g F}$ ($r=0,9939$; $p=0,0000001$) (Fig. 2), e também entre $\mu\text{g F}$ e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0,9819$; $p=0,0010$) (Fig. 3). Para os materiais que liberam flúor, quanto maiores os valores de $\mu\text{g F/mm}^3$ e $\mu\text{g F}$ maiores valores da %SMH_R foram observados (Fig. 1 e 2). Quando há uma maior presença de flúor no esmalte também se observa um aumento nas soluções de ciclagem (Fig. 3).

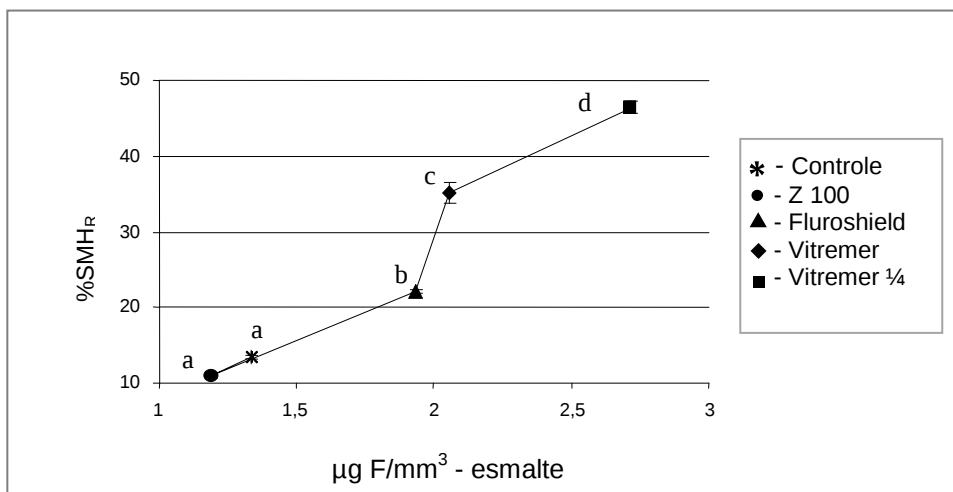


Fig. 1 - Porcentagem de recuperação de microdureza de superfície (%SMH_R) (média ± ep, n=12) em relação ao flúor presente no esmalte (μg F/mm³), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes (p<0,05).

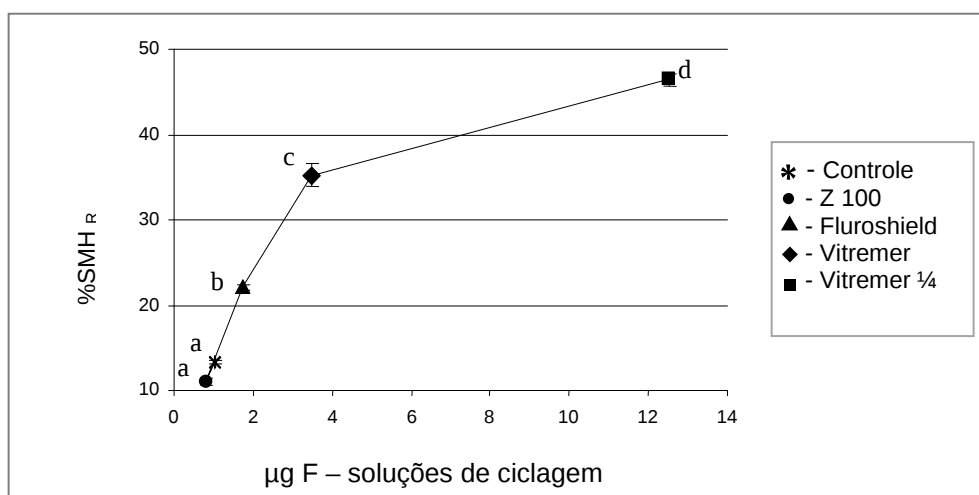


Fig. 2 - Porcentagem de recuperação de microdureza de superfície (%SMH_R) (média ± ep, n=12) em relação ao flúor presente nas soluções de ciclagem (μg F), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes (p<0,05).

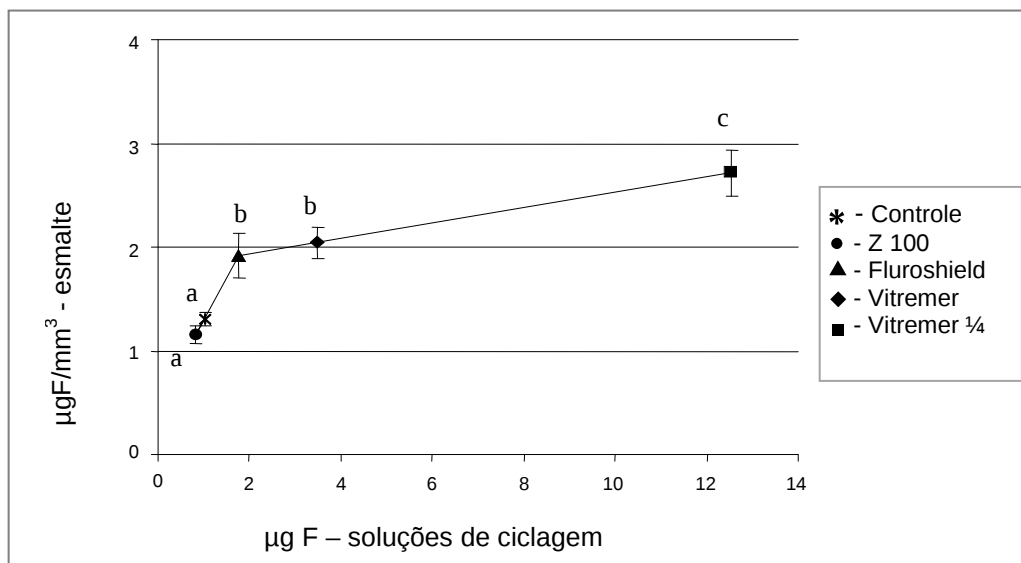


Fig. 3 - Flúor presente no esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$) (média $\pm$ ep, $n=12$) em relação ao flúor presente nas soluções de ciclagem ($\mu\text{g F}$), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

Foi possível observar correlação positiva quanto aos valores de ΔZ e $\mu\text{g F/mm}^3$ ($r=0,9853$; $p=0,0002$) (Fig. 4), e ΔZ e $\mu\text{g F}$ ($r=0,9975$; $p=0,0000001$) (Fig. 5), ou seja, para maiores valores de $\mu\text{g F/mm}^3$ e $\mu\text{g F}$ menores serão os valores de perda mineral.

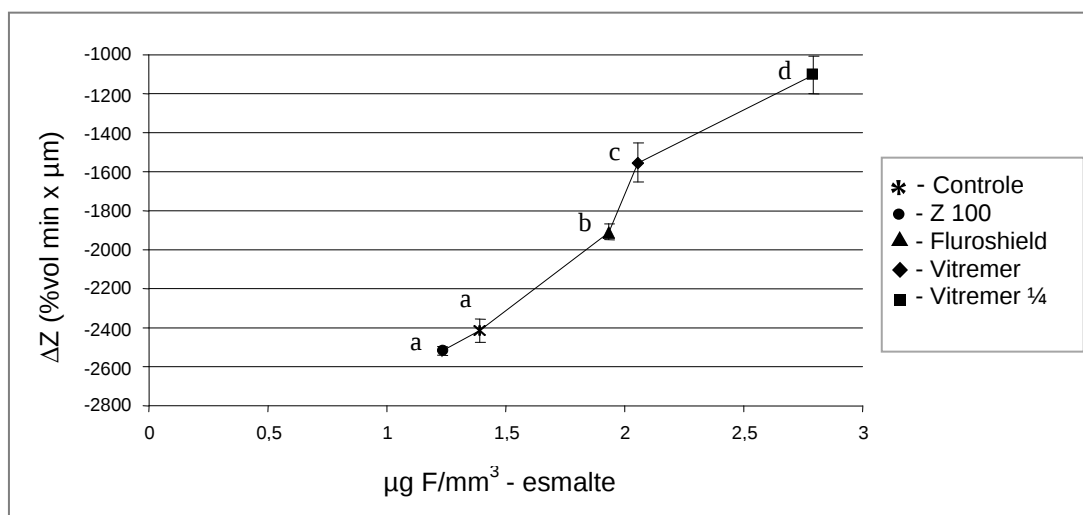


Fig. 4 - Conteúdo mineral (ΔZ) (média $\pm$ ep, $n=12$) em relação ao flúor presente no esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

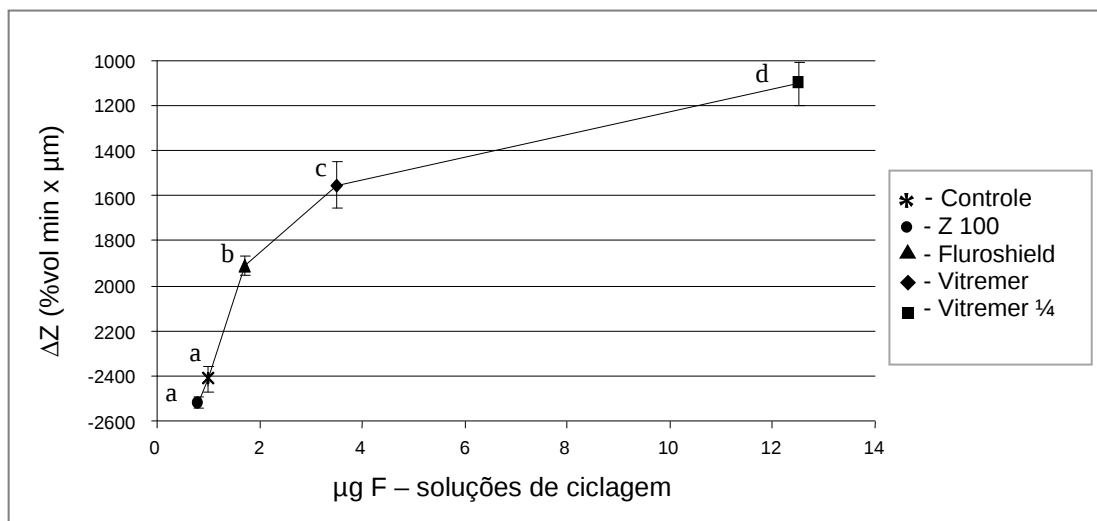


Fig. 5 - Conteúdo mineral (ΔZ) (média $\pm$ ep, n=12) em relação ao flúor presente nas soluções de ciclagem ($\mu\text{g F}$), de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).

A Figura 6 mostra diferença significativa, em relação ao ΔZ , entre os materiais que liberam flúor nas distâncias de 150 e 300 μm ($p<0,05$).

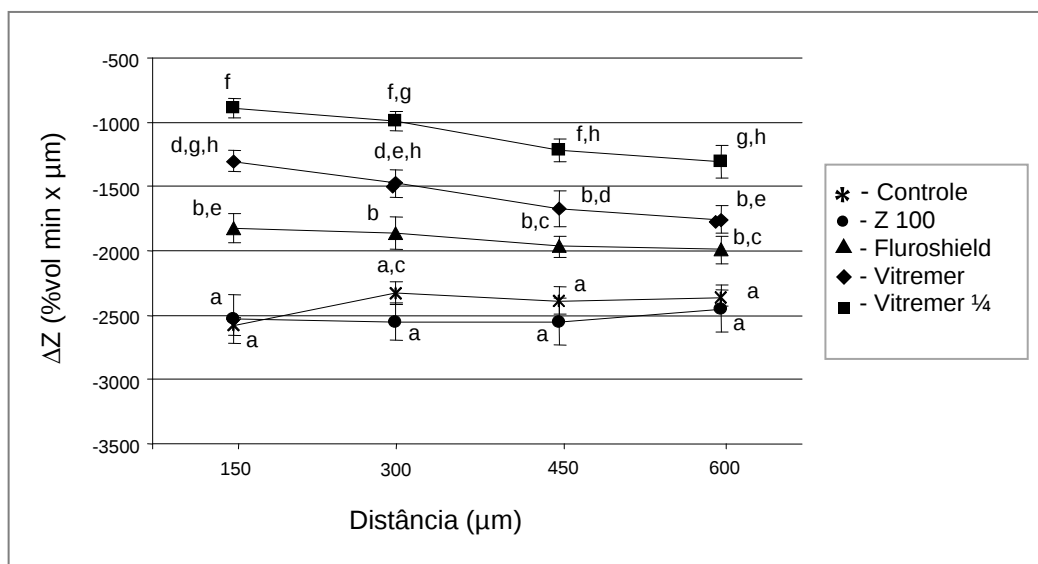


Fig. 6 - Conteúdo mineral (ΔZ) (média $\pm$ ep, n=12) em relação às distâncias, de acordo com os grupos. Médias seguidas por letras distintas são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).



Discussão

Ten Cate e Duijsters¹⁸ introduziram o conceito de modelo dinâmico com períodos alternados de desmineralização e remineralização. Diferentes modelos de ciclagens de pH foram propostos e os estudos *in vitro*^{7,9,11,17} passaram a ter grande importância para os estudos relacionados à progressão ou remineralização da cárie dentária.

No presente estudo, um modelo de ciclagem de pH desenvolvido para determinação da relação dose-resposta de produtos fluoretados (soluções e dentifrícios) utilizando dente bovino⁹ foi utilizado para verificar a remineralização de materiais que liberam flúor. Entretanto, foi necessário estabelecer uma metodologia para análise de microdureza de superfície que possibilitasse a verificação de diferenças entre os materiais. Para isto, definiram-se distâncias dos materiais (150, 300, 450 e 600 μm) onde se realizaram as impressões.

Os materiais que liberam flúor têm maior efetividade em áreas mais próximas das margens da restauração.¹⁹⁻²¹ Comparando os resultados da %SMH_R foi possível perceber diferenças entre os materiais que liberam flúor em cada distância, sendo que não houve diferença significativa entre as distâncias em cada grupo, indicando que a remineralização ocorreu de forma similar. Portanto, as distâncias de 300 e 450 μm são as mais interessantes para a análise da %SMH_R por não sofrerem diretamente influência dos fatores externos (trincas e outras alterações), como pode ocorrer a 150 μm , e também por não estarem muito distantes do material (600 μm).

Os trabalhos realizados *in vitro* ou *in situ*^{19,22-26} realizam cavidades convencionais no esmalte para os testes envolvendo materiais. Neste estudo, os materiais foram adaptados aos blocos de esmalte. Isto foi necessário para permitir a realização da microdureza de superfície final, pois ao colocar o material na cavidade ocorreria o extravazamento sobre a superfície recobrando as impressões iniciais e as pós-desmineralização, dificultando as análises dos dados. Não seria possível a remoção do excesso de material, pois isso implicaria também na alteração do esmalte afetado (lesão de cárie).

Os valores de dureza são produzidos pela combinação do material inorgânico e matriz orgânica, e podem ser medidos pelo teste de microdureza em secção longitudinal que já é uma técnica estabelecida para o esmalte, promovendo uma avaliação detalhada das condições das lesões, pois analisa o corpo da lesão em profundidade.^{19,27} A realização deste teste fornece dados (ΔZ) que contribuem para comprovação da disponibilidade e ação do flúor presente nos materiais. No presente estudo, puderam-se observar diferenças entre os materiais que liberam flúor e um maior ganho mineral nas distâncias de 150 e 300 μm , e isto pode estar relacionado a



uma presença maior de flúor próximo ao material. Com os resultados dos testes de microdureza de superfície e em secção longitudinal pode-se dizer que a distância de 300 μm é a mais adequada para se comparar materiais que liberam flúor.

A liberação de flúor de materiais restauradores e as conseqüentes alterações no conteúdo de flúor do esmalte foram avaliadas por Norman et al.²⁸ mostrando que geralmente, os materiais que liberaram mais flúor também aumentaram a incorporação do mesmo no esmalte. No presente estudo isto pode ser evidenciado pela correlação existente entre flúor presente no esmalte ($\mu\text{g F/mm}^3$) e nas soluções de ciclagem ($\mu\text{g F}$), como também entre %SMH_R e $\mu\text{g F/mm}^3$ e ΔZ e $\mu\text{g F/mm}^3$, embora o conteúdo de flúor no esmalte não seja indicativo conclusivo para eficácia dos produtos testados.²⁹

As soluções de ciclagem reproduzem as condições necessárias para que ocorra a liberação de flúor dos materiais e isso favorece a remineralização, que pode ser demonstrada neste trabalho pela correlação significativa entre ΔZ e $\mu\text{g F}$. Para validar um modelo de remineralização, o esmalte bovino deve apresentar uma porcentagem de alteração de microdureza de superfície próxima a 80%, após a obtenção de lesão de cárie artificial, além de permitir que o grupo controle remineralize entre 10 e 20%.⁹ Se a perda mineral fosse maior haveria dificuldade no processo de remineralização e, se fosse menor, não seria possível observar diferenças entre os grupos.

O modelo de ciclagem testado possibilitou a verificação da relação dose-resposta através da análise da porcentagem de recuperação da microdureza de superfície, do conteúdo mineral, do flúor presente no esmalte e nas soluções de ciclagem.

A literatura apresenta poucos trabalhos quando se quer informações sobre a capacidade dos materiais que liberam flúor em promover a remineralização, sendo a maioria voltada à capacidade desses materiais em inibir a desmineralização, portanto este modelo *in vitro* apresentou métodos de análise importantes que servirão como base para o desenvolvimento de novas pesquisas com materiais que liberam flúor.



Conclusão

O modelo de ciclagem de pH foi validado pela verificação da relação dose-resposta de materiais que liberam flúor na remineralização *in vitro*.



Referências*

1. Cummins D. Role of models in assessing new agents for caries prevention. *Advances in Dental Research* 1995; **9**:338-9.
2. Guidelines for the acceptance of fluoride-containing dentifrices. Council on Dental Therapeutics. *The Journal of the American Dental Association* 1985; **110**:545-7.
3. Faller RV. *In vitro* fluoride dose response bellow 1100 ppm F (NaF). *Journal of Dental Research* 1992; **71**:186. (Abstract 647).
4. Okuyama K, Nakata T, Pereira PN, Kawamoto C, Komatsu H, Sano H. Prevention of artificial caries: effect of bonding agent, resin composite and topical fluoride application. *Operative Dentistry* 2006; **31**:135-42.
5. Zero DT. *In situ* caries models. *Advances in Dental Research* 1995; **9**:214-30.
6. Mellberg JR. Hard-tissue substrates for evaluation of cariogenic and anti-cariogenic activity *in situ*. *Journal of Dental Research* 1992; **71**:913-9.
7. Anderson P, Levinkind M, Elliot JC. Scanning microradiographic studies of rates of *in vitro* demineralization in human and bovine dental enamel. *Archives Oral Biology* 1998; **43**:649-56.
8. Lynch RJ, Ten Cate JM. The effect of lesion characteristics at baseline on subsequent de- and remineralisation behaviour. *Caries Research* 2006; **40**:530-5.
9. Vieira AEM, Delbem ACB, Sasaki KT, Rodrigues E, Cunha RF, Cury JA. Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. *Caries Research* 2005; **39**:514-20.

* Normalização segundo a revista *Journal of Dentistry* (Anexo C).



10. Cury JA, Rebello MA, Del Bel Cury AA. *In situ* relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. *Caries Research* 1997; **31**:356-60.
11. Delbem ACB, Cury JA. Effect of application time of APF and NAF gels on microhardness and fluoride uptake of *in vitro* enamel caries. *American Journal of Dentistry* 2002; **15**:169-72.
12. Featherstone JDB, Zero DT. An *in situ* model for simultaneous assessment of inhibition of demineralization and enhancement of remineralization. *Journal of Dental Research* 1992; **71**:804-10.
13. Argenta RMO, Tabchoury CPM, Cury JA. A modified pH-cycling model to evaluate fluoride effect on enamel demineralization. *Pesquisa Odontológica Brasileira* 2003; **17**:241-6.
14. Queiroz CS, Hara AT, Leme AFP, Cury JA. Avaliação de um modelo de ciclagem de pH na remineralização do esmalte e no efeito dose-resposta do flúor. *Pesquisa Odontológica Brasileira* 2003; **17**:221.
15. Silva KG, Pedrini D, Delbem ACB, Cannon M. Effect of pH variations in a cycling model on the properties of restorative materials. *Operative Dentistry* 2007; **32**:330-7.
16. Weatherell JA, Robinson C, Strong M, Nakagaki H. Micro-sampling by abrasion. *Caries Research* 1985; **19**:97-102.
17. Alves KMRP, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FAL, Buzalaf MAR et al. *In vitro* evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Research* 2007; **41**:263-7.
18. ten Cate JM, Duijsters PPE. Alternating demineralization and remineralization of artificial enamel lesions. *Caries Research* 1982; **16**:201-10.
19. Serra MC, Cury JA. The *in vitro* effect of glass-ionomer cement restoration on enamel subjected to a demineralization and remineralization model. *Quintessence International* 1992; **23**:143-7.



20. Creanor SL, Carruthers LM, Saunders WP, Strang R, Foye RH. Fluoride uptake and release characteristics of glass ionomer cements. *Caries Research* 1994; **28**:322-8.
21. Damen JJM, Buijs MJ, van Strijp AJ, ten Cate JM. *In vitro* fluoride uptake by intra-orally aged and contaminated glass ionomer cement. *Caries Research* 1999; **33**:88-90.
22. Benelli EM, Serra MC, Rodrigues Jr AL, Cury JA. *In situ* anticariogenic potential of glass ionomer cement. *Caries Research* 1993; **27**:280-4.
23. Dionysopoulos P, Kotsanos N, Koliniotou-Koubia, Papagodiannis Y. Secondary caries formation *in vitro* around fluoride-releasing restorations. *Operative Dentistry* 1994; **19**:183-8.
24. Serra MC, Rodrigues Jr AL. Potencial cariostático de materiais restauradores contendo flúor. *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas* 1998; **52**:359-64.
25. Hicks MJ, Flaitz CM, Garcia-Godoy F. Fluoride-releasing sealant and caries-like enamel lesion formation *in vitro*. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 2000; **24**:215-9.
26. Pin MLG, Abdo RCC, Machado MAAM, Silva SMB, Pavarini A, Marta SN. *In vitro* evaluation of the cariostatic action of esthetic restorative materials in bovine teeth under severe cariogenic challenge. *Operative Dentistry* 2005; **30**:368-75.
27. Featherstone JDB. Consensus conference on intra-oral models: evaluation techniques. *Journal of Dental Research* 1992; **71**:955-6.
28. Norman RD, Phillips RW, Swartz ML. Fluoride uptake by enamel from certain dental materials. *Journal of Dental Research* 1960; **39**:11-6.
29. ten Cate JM, Mundorff-Shrestha SA. Laboratory models for caries (*in vitro* and animal models). *Advances in Dental Research* 1995; **9**:332-4.



Anexos

Anexo A



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Araçatuba

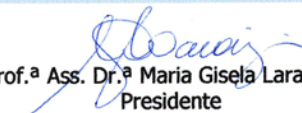


COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEa)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "VALIDAÇÃO DE UM MODELO DE CICLAGEM DE pH PARA VERIFICAR A DESMINERALIZAÇÃO, REMINERALIZAÇÃO E RELAÇÃO DOSE-RESPOSTA DE MATERIAIS QUE LIBERAM FLÚOR" sob responsabilidade de DENISE PEDRINI, ELIANA RODRIGUES, ALBERTO CARLOS BOTTAZO DELBEM está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEa em reunião de 19 de maio de 2005, de acordo com o protocolo nº 62/05.

Araçatuba, 19 de maio de 2005.


Prof.ª Ass. Dr.ª Maria Gisela Laranjeira
Presidente



Anexo B

OPERATIVE DENTISTRY

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Effective May 1 2005, Operative Dentistry requires electronic submission of all manuscripts. This will greatly improve our efficiency and communication, reduce turn-around time on papers and eliminate many of the format problems that can delay publication. Submission should be via e-mail to [editor\(at\)jopdent.org](mailto:editor(at)jopdent.org), and may be sent as multiple messages if file size presents a problem with your server. Mailed, printed papers **WILL NOT** be returned, and the author will be notified to send the paper electronically. Manuscripts that do not meet our formatting and data requirements listed below will no longer be accepted for review.

GENERAL INFORMATION

- All materials submitted for publication must be submitted exclusively to Operative Dentistry and become the sole property of Operative Dentistry.
- The editor reserves the right to make literary corrections.
- Currently, color will be provided at no cost to the author if the editor deems it essential to the manuscript. However, we reserve the right to convert to gray scale if color does not contribute significantly to the quality and/or information content of the paper.
- The author(s) retain the right to formally withdraw the paper from consideration and/or publication if they disagree with editorial decisions.
- International authors whose native language is not English are strongly encouraged to have their work reviewed by a native English speaker prior to submission. Manuscripts with errors in language, spelling, punctuation, grammar and/or syntax will be returned for correction prior to the review process.
- Spelling must conform to the American Heritage Dictionary of the English Language, and SI units for scientific measurement are preferred.
- While we do not currently have limitations on the length of manuscripts, papers limiting text length to 10 double-spaced pages of 12-point type (excluding references, tables and figures) may be given publication priority. Authors are also encouraged to be selective in their use of figures and tables, using only those that contribute significantly to the understanding of the research.



- Please e-mail manuscripts only once. Acknowledgement of receipt is sent automatically. If you do not receive such an acknowledgement, please contact us at editor@jopdent.org rather than resending your paper. Receipt of multiple copies of a manuscript is confusing and can slow down the review process.
- **IMPORTANT:** Please add our e-mail address to your address book on your server to prevent transmission problems from spam and other filters. Also make sure that your server will accept larger file sizes. This is particularly important since we send page-proofs for review and correction as .pdf files.

REQUIREMENTS

- **CORRESPONDING AUTHOR** must provide a WORKING / VALID e-mail address which will be used for all communication with the journal including:
 1. notification of receipt of manuscript by journal
 2. notification of acceptance / rejection by journal
 3. transmission of manuscript revisions by author
 4. transmission of page-proofs to author if paper is accepted
 5. transmission of any questions regarding the manuscript by author or journal

NOTE: Corresponding authors MUST notify the journal immediately if their e-mail address changes. If we cannot contact authors within seven days, their manuscript will be removed from our publication queue.

In addition, the corresponding author must provide:

1. a complete mailing address
 2. telephone and fax numbers
- **AUTHOR INFORMATION** must include:
 1. full name of all authors
 2. complete mailing address for each author
 3. degrees (DDS, DMD, PhD)
 4. positions (professor, visiting professor, research scientist)
 5. affiliation (Department of Dental Materials, School of Dentistry, University of Michigan)
 - **RESEARCH MANUSCRIPTS** must include:
 1. a running (short) title
 2. a clinical relevance statement



3. a concise summary (abstract)
 4. introduction, methods & materials, results, discussion and conclusion
 5. references
 6. acknowledgement, disclaimer and/or recognition of support (if needed) on separate page
- CLINICAL TECHNIQUE/CASE PRESENTATION MANUSCRIPTS must include:
 1. a running (short) title
 2. purpose
 3. description of technique
 4. list of materials used
 5. potential problems
 6. summary of advantages and disadvantages
 7. references
 - LITERATURE REVIEW MANUSCRIPTS must include:
 1. a running (short) title
 2. a clinical relevance statement based on the conclusions of the review
 3. conclusions based on the literature review...without this, the review is just an exercise
 4. references
 - MENTION OF COMMERCIAL PRODUCTS/EQUIPMENT must include:
 1. full name of product
 2. full name of manufacturer
 3. city, state and/or country of manufacturer
 - **MANUSCRIPTS AND TABLES** must be provided as Microsoft Word files. Please limit size of tables to no more than one page. Running a table on to a second page complicates the page-setting process and is confusing for the reader.
 - **GRAPHS** must be provided as Microsoft Excel files. For numbering purposes, they are considered figures.
 - **ILLUSTRATIONS AND FIGURES** must be provided as TIFF (the use of LZW compression is recommended); JPEG files are not recommended unless saving as quality number 7 or higher.
 1. gray scale/black & white figures must have a minimum resolution of 300 dpi.
 2. color figures must have a minimum resolution of 600 dpi.



3. **DO NOT SEND POWER POINT FILES.** They are not suitable for publication and often cannot be read properly or converted to a more workable format.

REFERENCES

Please note that we have instituted a major change in our reference style. if you have prepared manuscripts for operative dentistry in the past, you will find that we now use the more common numbering of references in the text rather than a listing of authors.

- **REFERENCES** must be numbered (superscripted numbers) consecutively as they appear in the text and, where applicable, they should appear after punctuation.

The reference list should be arranged in numeric sequence at the end of the manuscript and should include:

1. Author(s) last name(s) and initial (ALL AUTHORS must be listed) followed by the date of publication in parentheses.
2. Full article title.
3. Full journal name in italics (no abbreviations), volume and issue numbers and first and last page numbers complete (i.e. 163-168 NOT attenuated 163-68).
4. Abstracts should be avoided when possible but, if used, must include the above plus the abstract number and page number.
5. Book chapters must include chapter title, book title in italics, editors names (if appropriate), name of publisher and publishing address.
6. Websites may be used as references, but must include the date (day, month and year) accessed for the information.
7. Papers in the course of publication should only be entered in the references if they have been accepted for publication by a journal and then given in the standard manner with "In press" following the journal name.
8. **DO NOT** include unpublished data or personal communications in the reference list. Cite such references parenthetically in the text and include a date.

EXAMPLES OF REFERENCE STYLE

- Journal article:
two authors Evans DB & Neme AM (1999) Shear bond strength of composite resin and amalgam adhesive systems to dentin *American Journal of Dentistry* 12(1) 19-25.
- Journal article:
multiple authors Eick JD, Gwinnett AJ, Pashley DH & Robinson SJ (1997) Current concepts on adhesion to dentin *Critical Review of Oral and Biological Medicine* 8(3) 306-335.



- Journal article:
special issue/supplement Van Meerbeek B, Vargas M, Inoue S, Yoshida Y, Peumans M, Lambrechts P and Vanherle G (2001) Adhesives and cements to promote preservation dentistry *Operative Dentistry* (Supplement 6) 119-144.
- Abstract:
Yoshida Y, Van Meerbeek B, Okazaki M, Shintani H & Suzuki K (2003) Comparative study on adhesive performance of functional monomers *Journal of Dental Research* 82(Special Issue B) Abstract #0051 p B-19.
- Corporate publication:
ISO-Standards (1997) ISO 4287 Geometrical Product Specifications Surface texture: Profile method – Terms, definitions and surface texture parameters *Geneve: International Organization for Standardization* 1st edition 1-25.
- Book:
single author Mount GJ (1990) *An Atlas of Glass-ionomer Cements* Martin Duntz Ltd, London.
- Book:
two authors Nakabayashi N & Pashley DH (1998) *Hybridization of Dental Hard Tissues* Quintessence Publishing Tokyo.
- Book:
chapter Hilton TJ (1996) Direct posterior composite restorations In: Schwarts RS, Summitt JB, Robbins JW (eds) *Fundamentals of Operative Dentistry* Quintessence Chicago 207-228.
- Website:
single author Carlson L (2003) Web site evolution; Retrieved online July 23, 2003 from: <http://www.d.umn.edu/~lcarlson/cms/evolution.html>
- Website:
corporate publication National Association of Social Workers (2000) NASW Practice research survey 2000. NASW Practice Research Network, 1. 3. Retrieved online September 8, 2003 from: <http://www.socialworkers.org/naswprn/default>



Anexo C

JOURNAL OF DENTISTRY

Guide for Authors

Submissions

The requirements for submission are in accordance with the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals," *Annals of Internal Medicine*, 1977, 126, 36-47.

Authors are requested to submit their original manuscript and figures via the online submission and editorial system for Journal of Dentistry. Using this online system, authors may submit manuscripts and track their progress through the system to publication. Reviewers can download manuscripts and submit their opinions to the editor. Editors can manage the whole submission/review/revise/publish process. Please register at: <http://ees.elsevier.com/jjod>

Authors unable to submit online should contact the Editorial office: Marie Dymond, Journal Manager, Journal of Dentistry, Elsevier, Bampfylde Street, Exeter, UK, EX1 2AH. JOD@elsevier.com
TEL: +44 (0)1392 285809 Fax: +44 (0)1865 853132.

Contributions falling into the following categories will be considered for publication:

- Original Research Reports: maximum length 6 printed pages approximately 20 typescript pages, including illustrations and tables.
- Review articles: maximum length 10 printed pages, approximately 33 typescript pages, including illustrations and tables.
- Short communication for rapid publication: maximum length 2 printed pages, approximately 7 typescript pages, including illustrations.
- Letters providing informed comment and constructive criticism of material previously published in the Journal.

Authors are urged to write as concisely as possible.

Articles should be arranged in the following order. ***Title, Summary, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, Tables and Legends to Illustrations.***

Summary: should not exceed 250 words and should be presented under the following subheadings: Objectives, Methods; Results; Conclusions (For Reviews: Objectives; Data; Sources;



Study selection; Conclusions). These subheadings should appear in the text of the summary. Please repeat the title of the article at the top of the abstract page.

Introduction: must be presented in a structured format, covering the following subjects, although not under subheadings: succinct statements of the issue in question; the essence of existing knowledge and understanding pertinent to the issue; and the aims and objectives of the research being reported.

Keywords: up to 10 keywords should be supplied.

Abbreviations and acronyms: terms and names to be referred to in the form of abbreviations or acronyms must be given in full when first mentioned.

Units: SI units should be used throughout. If non-SI units must be quoted, the SI equivalent must immediately follow in parentheses.

The complete names of individual teeth must be given in the text. In tables and legends for illustrations individual teeth should be identified using the FDI two-digit system.

Illustrations: The following are acceptable ways to present illustrations: white card or plastic; high quality computer generated line drawings; unmounted glossy photographs.

Illustrations should be clearly labelled on the back with the title of the article, the figure number and an arrow to indicate the top edge.

When preparing illustrations authors should consider that the majority of illustrations will be reduced to the width of a single column (approximately 85 mm). Authors can indicate if they feel an illustration should be full page width.

All typescripts must be accompanied by a Permission Note. This is a letter signed by each author (not just the corresponding author), affirming that the paper has been submitted solely to *Journal of Dentistry* and that it is not concurrently under consideration for publication in another journal. All of the named authors should have been involved in the work leading to the publication of the paper and should have read the paper before it is submitted for publication.

Offprints and page charges: no page charges are levied on articles published in *Journal of Dentistry*. The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via



e-mail or, alternatively, 25 free paper offprints. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Authors will also have the opportunity to order additional paper copies.

The Editor and Publisher reserve the right to make such corrections to typescripts as may be necessary for clarity of expression, or to conform to the style required.

Notes for Typescript Preparation

- Three copies of the manuscript should be submitted: each accompanied by a set of illustrations.
- Scripts should be typed on one side of A4, double-line spaced with margins of 30 mm.
- A disk should be submitted initially with the manuscript. The file on disk should exactly match the printed version of the manuscript. Please refer to www.elsevier.com/locate/disksub for guidelines for the submission of manuscripts on disk.
- Authors are encouraged to submit electronic artwork files with the original printed illustrations. Please refer to www.elsevier.com/artworkinstructions for guidelines for the preparation of electronic artwork files.
- To facilitate anonymity the authors' names and any reference to their addresses should only appear on the title page.
- The title page should contain the following information:
 - Title of paper
 - Short title
 - Name(s) and address(es) of author(s)
 - Name, address, telephone, fax and e-mail of the corresponding author
 - Up to 10 keywords

Spelling: Either the *Oxford English Dictionary* or *Websters* should be followed for each manuscript. Spelling should be consistent within any one submission.

Legends to illustrations should be typed on a separate sheet.

References: These should appear in the text in numerical order and should follow the Vancouver Reference system (details may be found at <http://www.icmje.org/index.html#reference>).

Please note that the house style of the *Journal of Dentistry* includes:

- to refer to the name of the Journal in full



- to put the name of the Journal in Italics
- to put the volume number in bold

Examples as follows :

Burrow, MF, Tagami J, Negishi T. Early tensile bond strengths of several enamel and dentin bonding systems. *Journal of Dental Research* 1994; 74:522-28. Phillips SJ, Whisnant JP. The role of dentine under restorations. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. The science of restorative dentistry. 2nd ed. Oxford: Elsevier; 2003. p.266-78.

If there are seven or more authors please list the first six and et al., otherwise list all authors. Journal titles should be given in full.

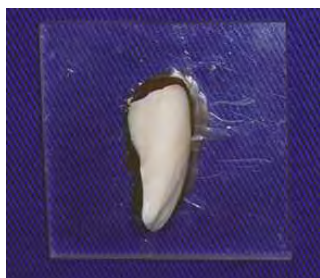
Disk Submission: Disks must be submitted initially with the manuscript. The Editor will request revised disks from authors at the appropriate time. Further information on disk submission and electronic artwork preparation is available at www.elsevier.com/authors

Proofs: Proofs will be sent to the author (first-named author if no corresponding author is identified on mutli-authored papers) by PDF wherever possible and should be returned within 48 hours of receipt, preferably by e-mail. Corrections should be restricted to typesetting errors; any other amendments made may be charged to the author. Any queries should be answered in full. Elsevier will do everything possible to get your article corrected and published as quickly and accurately as possible. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are returned to us in one all-inclusive e-mail or fax. Subsequent additional corrections will not be possible, so please ensure that your first communication is complete.

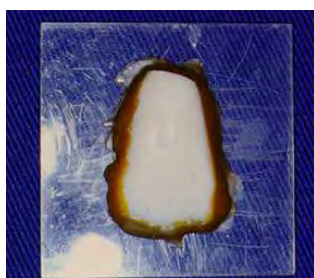
Should you choose to mail your corrections, please return them to: Log-in Department, Elsevier, Stover Court, Bampfylde Street, Exeter, Devon EX1 2AH, UK.



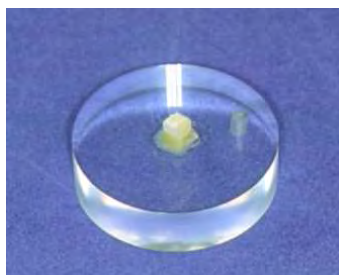
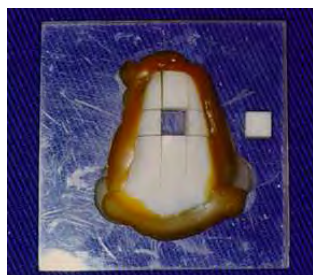
Anexo D



- Coroa de dente bovino fixada com cera pegajosa em placa de acrílico.
- Secção da coroa em cortadeira elétrica para obtenção da face vestibular.



- Face vestibular de dente bovino fixada com cera pegajosa em placa de acrílico.
- Secções longitudinal e transversal da face vestibular, em cortadeira elétrica, para obtenção do bloco de esmalte.



- Obtenção do bloco de esmalte bovino 4x4 mm.
- Bloco fixado com cera pegajosa em base acrílica, com dentina voltada para cima.



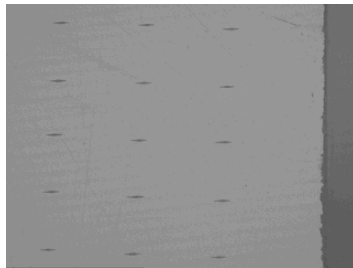
- Planificação da dentina e polimento do esmalte em politriz elétrica.



- 4 ou 5 blocos (4x4 mm) foram alinhados e fixados em placa de acrílico para secção transversal de 1 mm/bloco em cortadeira elétrica.



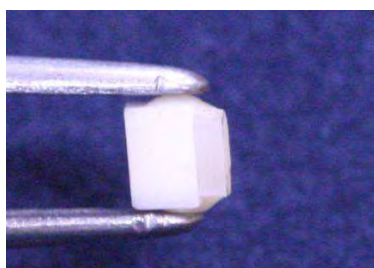
Anexo E



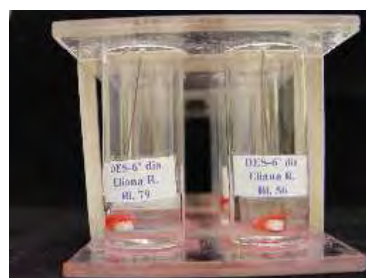
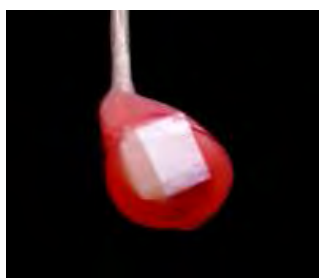
- Microdurômetro Shimadzu HMV-2.000 acoplado ao "Software" para realização dos testes de microdureza de superfície e em secção longitudinal.
- Fotomicrografia do teste de microdureza de superfície inicial com 20 impressões.



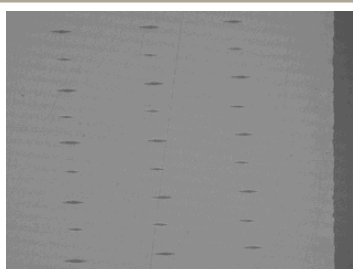
- Materiais odontológicos utilizados: Z 100, Fluroshield e Vitremer.
- Matriz metálica com cavidade de 3 mm de largura, 2 mm de altura e 1 mm de espessura para confecção dos corpos-de-prova.



- Remoção dos corpos-de-prova da matriz após fotopolimerização.
- União do bloco de esmalte bovino e corpo-de-prova com auxílio de cera pegajosa.



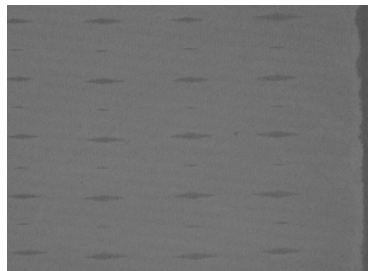
- Bloco de esmalte + corpo-de-prova isolados com esmalte de unha e fixados à haste metálica com cera para realização da ciclagem.
- Bloco de esmalte + corpo-de-prova mergulhados em solução de ciclagem contida em frascos J-40 (DES>RE).



- Fotomicrografia do teste de microdureza de superfície final (SMH₂) após ciclagem de pH (DES>RE).



Anexo F



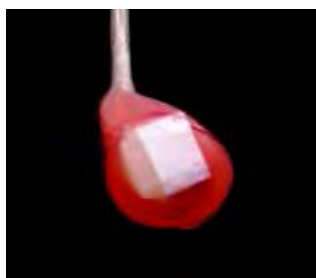
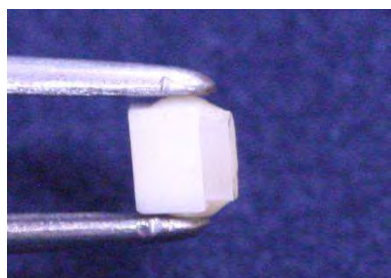
- Blocos de esmalte bovino isolados com esmalte de unha mergulhados em solução de cárie artificial por 16 horas a 37°C.

- Fotomicrografia do teste de microdureza de superfície pós-cárie (SMH₂) (RE>DES).



- Materiais odontológicos utilizados: Z 100, Fluroshield e Vitremer.

- Confeção e remoção dos corpos-de-prova da matriz após fotopolimerização.



- União do bloco de esmalte bovino (borda seccionada) e corpo-de-prova com auxílio de cera pegajosa nas laterais.

- Bloco de esmalte + corpo-de-prova isolados com esmalte de unha e fixados à haste metálica com cera.



- Bloco de esmalte + corpo-de-prova mergulhados em solução de ciclagem contida em frascos J-40 (RE>DES).



- Penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 gramas e tempo de 10 segundos.

- Fotomicrografia do teste de microdureza de superfície final (SMH₃) após ciclagem de pH (RE>DES).



Anexo G

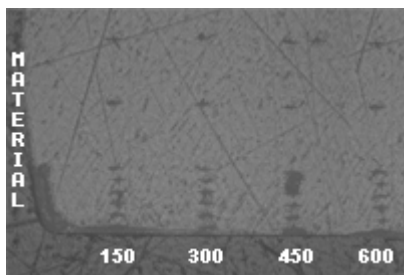


- Os blocos (4x3 mm) foram fixados em placa de acrílico e seccionados longitudinalmente.

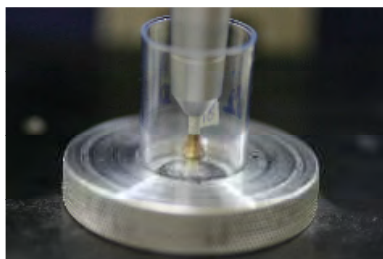


- Uma das metades de cada bloco (2x3mm) foi levada a embutidora.

- Blocos (2x3 mm) com identificação incluídos em resina acrílica.



- Fotomicrografia do teste de microdureza em secção longitudinal. Em cada bloco (2x3 mm) foram feitas 8 impressões em cada distância totalizando 32 impressões.



- Outra metade de cada bloco fixada em mandril e este adaptado ao motor de baixa rotação para realização do desgaste.

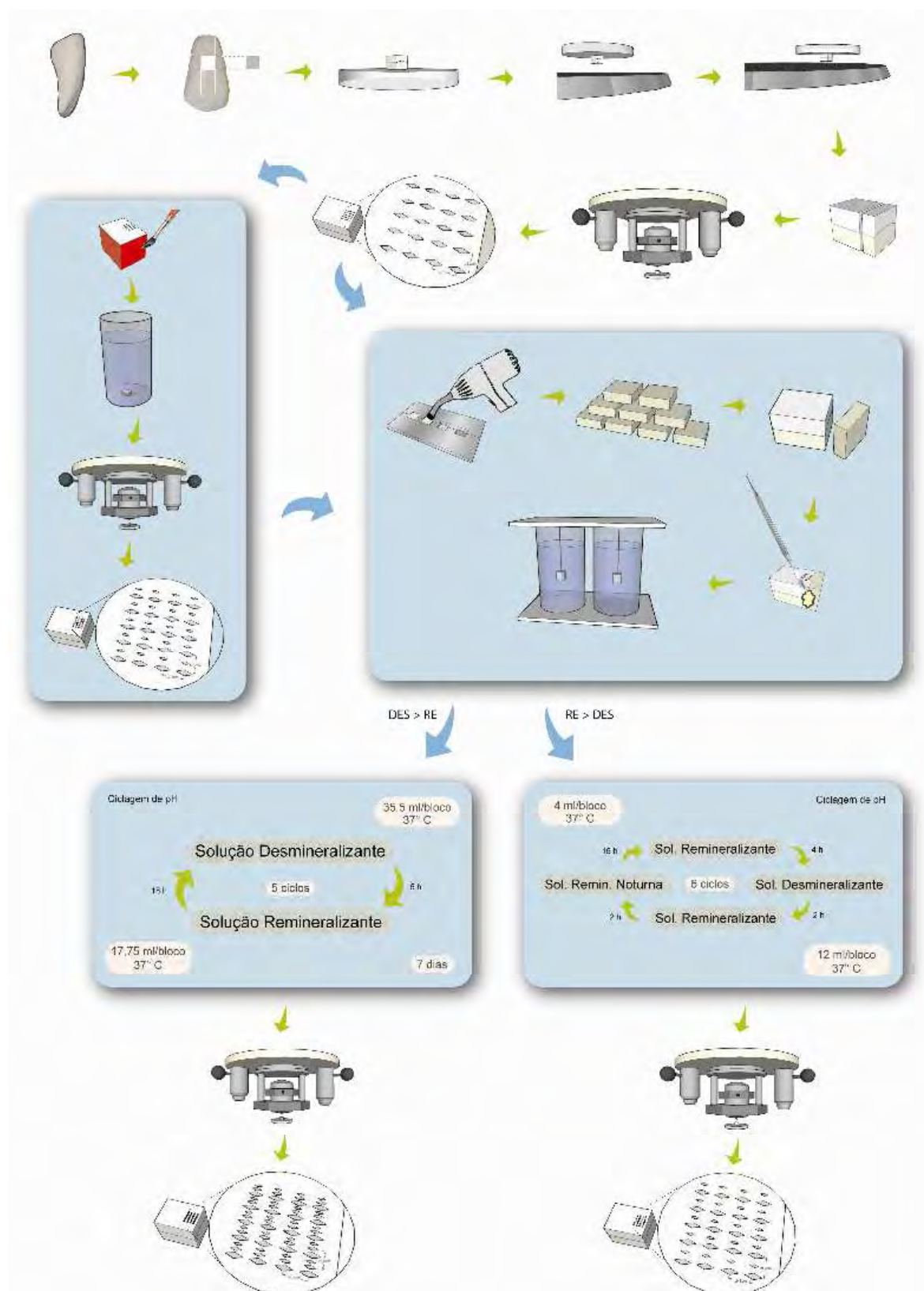
- Desgaste: remoção de uma camada de 50 μm com lixa de granulação 320 adaptada ao frasco J-10.



- Analisador e eletrodo específico para íons flúor para a leitura de flúor presente no esmalte e nas soluções de ciclagem.



Anexo H





Anexo I

Valores da porcentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMH_A) no grupo controle nas diferentes distâncias.

Blocos	Distância (μm)			
	150	300	450	600
1	-96,4	-97,9	-96,9	-96,9
2	-88,3	-87,5	-87,3	-87,9
3	-96,4	-95,4	-93,4	-93,4
4	-95,6	-97,1	-98,2	-98,2
5	-87,7	-84,4	-87,6	-85,2
6	-72,2	-61,5	-62,2	-58,5
7	-92,3	-95,4	-90,1	-97,4
8	-91,4	-96,8	-97,3	-97,2
9	-91,1	-88,6	-86,1	-79,6
10	-77,2	-87,4	-90,8	-91,4
11	-96,5	-90,7	-88,6	-89,3
12	-84,6	-74,7	-76,7	-69,3
média	-89,1	-88,1	-87,9	-87,0
desvio padrão	7,8	10,7	10,0	12,4

Valores da porcentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMH_A) no grupo Z 100 nas diferentes distâncias.

Blocos	Distância (μm)			
	150	300	450	600
1	-94,2	-97,9	-98,7	-75,7
2	-70,8	-75,9	-85,7	-91,4
3	-84,3	-82,2	-87,3	-91,5
4	-96,2	-95,6	-96,6	-98,0
5	-95,4	-90,9	-89,1	-88,0
6	-73,9	-79,1	-78,1	-78,1
7	-86,6	-84,2	-88,9	-88,8
8	-85,5	-81,5	-88,8	-88,2
9	-86,7	-90,0	-83,1	-82,7
10	-95,2	-90,7	-92,8	-85,7
11	-88,8	-92,1	-89,9	-81,3
12	-79,5	-82,9	89,1	-92,3
média	-86,4	-86,9	-89,0	-86,8
desvio padrão	8,4	6,9	5,5	6,4



Valores da porcentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMH_A) no grupo Fluroshield nas diferentes distâncias.

Blocos	Distância (μm)			
	150	300	450	600
1	-32,3	-40,7	-58,1	-60,7
2	-41,4	-65,2	67,1	-58,5
3	-58,2	-66,8	69,8	-66,6
4	-59,4	-57,7	-65,2	-62,1
5	-30,8	-38,0	-41,1	-40,8
6	-31,7	-38,2	-53,8	-54,8
7	-45,3	-46,9	-51,7	-53,2
8	-48,8	-52,0	-56,1	-62,8
9	-34,2	-41,2	-38,9	-38,3
10	-36,0	-48,8	-48,0	-51,3
11	-46,5	-56,1	-73,6	-78,3
12	-56,7	56,5	-57,8	69,2
média	-43,4	-50,7	-56,8	-58,1
desvio padrão	10,7	10,0	10,9	11,4

Valores da porcentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMH_A) no grupo Vitremer nas diferentes distâncias.

Blocos	Distância (μm)			
	150	300	450	600
1	-30,5	-34,6	-41,7	-59,9
2	-27,6	-35,3	-51,0	-71,6
3	-18,4	-28,1	-41,7	-41,6
4	-25,0	-24,0	-43,0	-66,9
5	-16,5	-26,0	-30,9	-39,9
6	-24,9	-46,7	-50,5	-59,4
7	-25,6	-31,7	-39,2	-43,1
8	-35,2	-42,6	-46,2	-53,1
9	-17,3	-25,8	-38,7	-51,9
10	-16,9	-20,9	-17,1	-23,8
11	-16,9	-22,7	-41,3	-66,6
12	-24,2	-45,0	-37,2	-49,0
média	-23,3	-31,9	-39,9	-52,2
desvio padrão	6,1	8,9	9,1	13,7



Valores da porcentagem de alteração de microdureza de superfície (%SMH_A) no grupo Vitremer diluído ¼ nas diferentes distâncias.

Blocos	Distância (µm)			
	150	300	450	600
1	-21,2	-21,5	-14,9	-31,1
2	-27,3	-29,8	-35,0	-44,4
3	-20,3	-25,3	-30,6	-34,0
4	-27,0	-36,5	-35,5	-41,9
5	-25,8	-26,0	-30,9	-40,7
6	-12,3	-13,8	-28,0	35,0
7	-19,4	-11,9	-11,9	-18,5
8	-17,0	-18,0	-20,3	-45,0
9	-11,4	-19,2	-22,7	-34,6
10	-18,1	-32,2	-37,6	-37,3
11	-23,3	-34,4	-38,5	-49,1
12	-24,5	-35,9	-37,2	-40,2
média	-20,6	-25,4	-28,6	-37,6
desvio padrão	5,3	8,6	9,1	8,0



Anexo J

Valores médios da %vol.min. (ΔZ) de acordo com as distâncias nos diferentes grupos (DES>RE)

Controle					Z 100					Fluroshield				
Distância μm					Distância μm					Distância μm				
Blocos	150	300	450	600	Blocos	150	300	450	600	Blocos	150	300	450	600
1	-3558,9	-3626,3	-3665,3	-3063,9	1	-3747,6	-3013,5	-3017,1	-3823,1	1	-2041,3	-2292,8	-2837,8	-3062,9
2	-3572,0	-3920,8	-2518,9	-4627,1	2	-2636,4	-2924,9	-3465,4	-3470,1	2	-2094,4	-1685,2	-2073,6	-2835,8
3	-4843,2	-4402,3	-2978,0	-3666,9	3	-3316,6	-3902,0	-3522,8	-3404,5	3	-2868,8	-2604,4	-2748,0	-2329,6
4	-2677,3	-3498,5	-3694,4	-4099,3	4	-3524,5	-4000,2	-3483,6	-4174,6	4	-2910,3	-4081,1	-2951,5	-1981,3
5	-2755,4	-2517,8	-2712,1	-3023,3	5	-3021,1	-3145,7	-3162,7	-2285,0	5	-2222,4	-3777,4	-3248,0	-2878,8
6	-2564,5	-2732,4	-3203,8	-2903,1	6	-2835,3	-3050,2	-4190,9	-3143,7	6	-1652,3	-1730,1	-2104,0	-2270,6
7	-3059,7	-3744,0	-4451,5	-3527,1	7	-2898,8	-2891,5	-2405,4	-3825,1	7	-3478,5	-3523,7	-3074,4	-2487,7
8	-3553,0	-2936,8	-3223,9	-3877,9	8	-3010,6	-3167,6	-3073,2	-3309,1	8	-2557,0	-1600,9	-1851,1	-2341,3
9	-2895,9	-3333,1	-2933,9	-2743,8	9	-2941,3	-2735,0	-2873,1	-2831,0	9	-2143,8	-1715,7	-1619,6	-2263,9
10	-2665,4	-2967,0	-3411,2	-2942,2	10	-2896,1	-3056,3	-4528,3	-4526,7	10	-1906,1	-2639,9	-1418,2	-2320,3
11	-3014,5	-2607,9	-2847,0	-2757,8	11	-2656,7	-2582,6	-2682,3	-2818,8	11	-1679,2	-1920,0	-1960,4	-2229,0
12	-3187,4	-3217,4	-3313,0	-2515,2	12	-3667,3	-3962,4	-4118,0	-3774,2	12	-1581,6	-2550,1	-2727,6	-2490,0
média=	-3195,6	-3292,0	-3246,1	-3312,3	média=	-3096,0	-3202,7	-3376,9	-3448,8	média=	-2261,3	-2510,1	-2384,5	-2457,6
dp=	632,4	572,6	522,8	643,5	dp=	377,9	482,8	641,4	627,0	dp=	583,8	867,1	614,7	314,7
ep=	200,0	181,1	165,3	203,5	ep=	119,5	152,7	202,8	198,3	ep=	184,6	274,2	194,4	99,5

Vitremer					Vitremer 1/4				
Distância μm					Distância μm				
Blocos	150	300	450	600	Blocos	150	300	450	600
1	-2033,9	-2003,4	-2556,3	-1103,4	1	-299,7	-1177,5	-1116,2	-1028,7
2	-1314,5	-1526,3	-2325,8	-3104,8	2	-554,8	-499,8	-1097,2	-1350,8
3	-793,5	-1424,2	-1312,0	-1853,1	3	-181,1	-871,4	-1375,9	-1012,8
4	-1671,1	-2029,4	-1332,8	-2587,5	4	-243,8	-647,6	-899,1	-571,7
5	-1463,6	-1716,3	-1844,0	-1427,2	5	-885,4	-861,8	-417,1	-763,4
6	-1484,6	-2348,9	-1960,9	-2210,4	6	-537,1	-335,1	-690,5	-242,2
7	-1205,5	-2333,2	-1132,2	-2043,1	7	-852,3	-474,9	-651,8	-1488,4
8	-1566,6	-2551,9	-2745,6	-2480,2	8	-948,8	-1133,2	-915,0	-1165,5
9	-1078,7	-924,8	-1780,9	-1591,0	9	49,2	-594,5	-862,6	-1188,9
10	-1553,7	-1805,5	-931,1	-1893,6	10	-233,9	-547,9	-1250,6	-1217,1
11	-1588,9	-2230,8	-1971,7	-2413,1	11	-793,5	-800,8	-1388,2	-1172,8
12	-1031,9	-1032,2	-1269,8	-1854,8	12	-572,3	-692,6	-606,5	-683,3
média=	-1398,9	-1827,2	-1763,6	-2046,8	média=	-504,4	-719,8	-939,2	-990,5
dp=	333,7	522,3	581,7	551,0	dp=	323,3	259,0	313,5	358,7
ep=	105,5	165,2	184,0	174,3	ep=	102,2	81,9	99,1	113,4



Anexo L

Dosagem de flúor no esmalte

Curva de calibração				
Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,050	170,9	171,0	172,0	171,30
0,100	154,2	154,1	154,3	154,20
0,200	135,0	136,0	136,2	135,73
0,400	117,3	116,8	117,3	117,13
0,800	99,2	98,9	98,9	99,00
Blank	207,9	209,7	211,2	209,60

Teste 1	135,8	134,7	134,3	134,93
Teste 2	117,3	117,2	117,1	117,20

TISAB III (0,1 mL) / 1 mL

[padrão] µg/mL	mL do padrão	água	HCl 1M	NaOH 0.5M	µg F/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
1,0	0,050	0,200	0,250	0,500	0,050	-1,30103000	171,30	-1,2925106	0,051	1,98
2,0	0,050	0,200	0,250	0,500	0,100	-1,00000000	154,20	-1,0092148	0,098	-2,10
2,0	0,100	0,150	0,250	0,500	0,200	-0,69897000	135,73	-0,7032774	0,198	-0,99
2,0	0,200	0,050	0,250	0,500	0,400	-0,39794001	117,13	-0,3951311	0,403	0,65
8,0	0,100	0,150	0,250	0,500	0,800	-0,09691001	99,00	-0,0947160	0,804	0,51
									média	0,01

Curva Total

intercepção 1,545417661

inclinação -0,016567007

Rquad 0,99979

Slope -60,4

Temp.: 25°C

	[padrão] µg/mL	mL do padrão	água	HCl 1M	NaOH 0.5M	µg F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,00	0,00	0,250	0,250	0,500	0,000	209,60	-1,927027012	0,012	
Teste 1	2,00	0,100	0,150	0,250	0,500	0,200	134,93	-0,690023821	0,204	2,08
Teste 2	2,00	0,200	0,050	0,250	0,500	0,400	117,20	-0,396235563	0,40	0,39

Controle

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	155,9	-1,0374	0,09	0,7	0,06	1,6	0,147	2,15	1,67	0,050	0,82
2	185,7	-1,5311	0,03	0,7	0,02	1,6	0,047	2,06	1,61	0,050	0,28
3	147,2	-0,8932	0,13	0,7	0,09	1,6	0,205	2,01	1,57	0,050	1,30
4	155,1	-1,0241	0,09	0,7	0,07	1,6	0,151	2,00	1,76	0,050	0,86
5	153,2	-0,9926	0,10	0,7	0,07	1,6	0,163	2,01	1,75	0,050	0,93
6	155,1	-1,0241	0,09	0,7	0,07	1,6	0,151	1,99	1,66	0,050	0,92
7	152,0	-0,9728	0,11	0,7	0,07	1,6	0,170	2,07	1,71	0,050	0,96
8	147,3	-0,8949	0,13	0,7	0,09	1,6	0,204	1,90	1,68	0,050	1,28
9	151,0	-0,9562	0,11	0,7	0,08	1,6	0,177	1,86	1,60	0,050	1,19
10	151,5	-0,9645	0,11	0,7	0,08	1,6	0,174	1,98	1,76	0,050	1,00
11	154,6	-1,0158	0,10	0,7	0,07	1,6	0,154	2,03	1,72	0,050	0,88
12	175,4	-1,3604	0,04	0,7	0,03	1,6	0,070	1,89	1,53	0,050	0,48

média= 0,9
dp= 0,3

Z 100

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	156,7	-1,0506	0,09	0,7	0,06	1,6	0,142	1,98	1,74	0,050	0,83
2	151,6	-0,9661	0,11	0,7	0,08	1,6	0,173	1,74	1,64	0,050	1,21
3	155,3	-1,0274	0,09	0,7	0,07	1,6	0,150	1,79	1,56	0,050	1,08
4	150,0	-0,9396	0,11	0,7	0,08	1,6	0,184	2,09	1,49	0,050	1,18
5	152,3	-0,9777	0,11	0,7	0,07	1,6	0,168	2,05	1,31	0,050	1,25
6	148,9	-0,9214	0,12	0,7	0,08	1,6	0,192	1,73	1,44	0,050	1,54
7	149,1	-0,9247	0,12	0,7	0,08	1,6	0,190	1,88	1,57	0,050	1,29
8	150,0	-0,9396	0,11	0,7	0,08	1,6	0,184	1,86	1,78	0,050	1,11
9	153,3	-0,9943	0,10	0,7	0,07	1,6	0,162	1,75	1,63	0,050	1,14
10	149,4	-0,9297	0,12	0,7	0,08	1,6	0,188	2,08	1,47	0,050	1,23
11	144,9	-0,8551	0,14	0,7	0,10	1,6	0,223	1,98	1,32	0,050	1,71
12	152,1	-0,9744	0,11	0,7	0,07	1,6	0,170	1,97	1,15	0,050	1,50

média= 1,3
dp= 0,2

**Fluoroshield**

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	139,0	-0,7574	0,17	0,7	0,12	1,6	0,280	1,74	1,65	0,050	1,95
2	135,6	-0,7011	0,20	0,7	0,14	1,6	0,318	1,92	1,52	0,050	2,18
3	144,3	-0,8452	0,14	0,7	0,10	1,6	0,229	1,91	1,55	0,050	1,54
4	151,8	-0,9695	0,11	0,7	0,08	1,6	0,172	1,61	1,58	0,050	1,35
5	150,3	-0,9446	0,11	0,7	0,08	1,6	0,182	1,84	1,40	0,050	1,41
6	146,3	-0,8783	0,13	0,7	0,09	1,6	0,212	1,84	1,77	0,050	1,30
7	157,9	-1,0705	0,09	0,7	0,06	1,6	0,136	1,86	1,65	0,050	0,89
8	143,3	-0,8286	0,15	0,7	0,10	1,6	0,237	1,83	1,78	0,050	1,46
9	145,4	-0,8634	0,14	0,7	0,10	1,6	0,219	1,82	1,80	0,050	1,34
10	150,2	-0,9429	0,11	0,7	0,08	1,6	0,182	1,89	1,54	0,050	1,25
11	150,9	-0,9545	0,11	0,7	0,08	1,6	0,178	1,82	1,71	0,050	1,14
12	138,3	-0,7458	0,18	0,7	0,13	1,6	0,287	1,70	1,32	0,050	2,56
média=											1,5
dp=											0,5

Vitremer

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	134,1	-0,6762	0,21	0,7	0,15	1,6	0,337	2,05	1,45	0,050	2,27
2	136,9	-0,7226	0,19	0,7	0,13	1,6	0,303	2,03	1,56	0,050	1,91
3	148,8	-0,9198	0,12	0,7	0,08	1,6	0,192	1,73	1,65	0,050	1,35
4	150,5	-0,9479	0,11	0,7	0,08	1,6	0,180	1,66	1,51	0,050	1,44
5	148,5	-0,9148	0,12	0,7	0,09	1,6	0,195	1,77	1,37	0,050	1,61
6	148,5	-0,9148	0,12	0,7	0,09	1,6	0,195	1,91	1,45	0,050	1,41
7	141,7	-0,8021	0,16	0,7	0,11	1,6	0,252	1,74	1,47	0,050	1,97
8	149,3	-0,9280	0,12	0,7	0,08	1,6	0,189	1,77	1,41	0,050	1,51
9	144,1	-0,8419	0,14	0,7	0,10	1,6	0,230	1,70	1,61	0,050	1,68
10	142,1	-0,8088	0,16	0,7	0,11	1,6	0,249	1,92	1,47	0,050	1,76
11	139,6	-0,7673	0,17	0,7	0,12	1,6	0,273	2,03	1,67	0,050	1,61
12	136,2	-0,7110	0,19	0,7	0,14	1,6	0,311	1,87	1,54	0,050	2,16
média=											1,7
dp=											0,3

Vitremer diluído 1/4

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	141,1	-0,7922	0,16	0,7	0,11	1,6	0,258	1,88	1,65	0,050	1,66
2	140,4	-0,7806	0,17	0,7	0,12	1,6	0,265	2,02	1,53	0,050	1,72
3	147,0	-0,8899	0,13	0,7	0,09	1,6	0,206	1,95	1,45	0,050	1,46
4	135,0	-0,6911	0,20	0,7	0,14	1,6	0,326	1,75	1,67	0,050	2,23
5	131,7	-0,6365	0,23	0,7	0,16	1,6	0,370	1,98	1,69	0,050	2,21
6	137,4	-0,7309	0,19	0,7	0,13	1,6	0,297	2,14	1,45	0,050	1,92
7	132,6	-0,6514	0,22	0,7	0,16	1,6	0,357	1,82	1,64	0,050	2,39
8	143,6	-0,8336	0,15	0,7	0,10	1,6	0,235	1,82	1,80	0,050	1,43
9	137,8	-0,7375	0,18	0,7	0,13	1,6	0,293	1,75	1,41	0,050	2,37
10	129,9	-0,6066	0,25	0,7	0,17	1,6	0,396	2,01	1,72	0,050	2,29
11	147,1	-0,8916	0,13	0,7	0,09	1,6	0,205	1,88	1,26	0,050	1,73
12	148,0	-0,9065	0,12	0,7	0,09	1,6	0,198	1,83	1,48	0,050	1,47
média=											1,9
dp=											0,4



Dosagem de flúor no esmalte - repetição

Curva de calibração

Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,050	170,9	171,0	172,0	171,30
0,100	154,2	154,1	154,3	154,20
0,200	135,0	136,0	136,2	135,73
0,400	117,3	116,8	117,3	117,13
0,800	99,2	98,9	98,9	99,00
Blank	207,9	209,7	211,2	209,60

Teste 1	117,3	117,2	117,1	117,20
Teste 2	117,0	116,8	116,7	116,83

TISAB III (0,1 mL) / 1 mL

[padrão] µg/mL	mL do padrão	água	HCl 1M	NaOH 0.5M	µg F/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
1,0	0,050	0,200	0,250	0,500	0,050	-1,30103000	171,30	-1,2925106	0,051	1,98
2,0	0,050	0,200	0,250	0,500	0,100	-1,00000000	154,20	-1,0092148	0,098	-2,10
2,0	0,100	0,150	0,250	0,500	0,200	-0,69897000	135,73	-0,7032774	0,198	-0,99
2,0	0,200	0,050	0,250	0,500	0,400	-0,39794001	117,13	-0,3951311	0,403	0,65
8,0	0,100	0,150	0,250	0,500	0,800	-0,09691001	99,00	-0,0947160	0,804	0,51
									média	0,01

Curva Total

Intercepção	1,545417661	inclinação	-0,016567007	Rquad	0,99979
Slope		-60,4	Temp.: 25°C		

	[padrão] µg/mL	mL do padrão	água	HCl 1M	NaOH 0.5M	µg F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,00	0,00	0,250	0,250	0,500	0,000	209,60	-1,927027012	0,012	
Teste 1	2,00	0,200	0,050	0,250	0,500	0,400	117,20	-0,396235563	0,402	0,39
Teste 2	2,00	0,200	0,050	0,250	0,500	0,400	116,83	-0,390160993	0,41	1,81

2ª leitura

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	155,1	-1,0241	0,09	0,7	0,07	1,6	0,151	2,15	1,67	0,050	0,84
2	186,9	-1,5510	0,03	0,7	0,02	1,6	0,045	2,06	1,61	0,050	0,27
3	146,1	-0,8750	0,13	0,7	0,09	1,6	0,213	2,01	1,57	0,050	1,35
4	151,7	-0,9678	0,11	0,7	0,08	1,6	0,172	2,00	1,76	0,050	0,98
5	153,4	-0,9960	0,10	0,7	0,07	1,6	0,161	2,01	1,75	0,050	0,92
6	155,0	-1,0225	0,09	0,7	0,07	1,6	0,152	1,99	1,66	0,050	0,92
7	155,3	-1,0274	0,09	0,7	0,07	1,6	0,150	2,07	1,71	0,050	0,85
8	146,8	-0,8866	0,13	0,7	0,09	1,6	0,208	1,90	1,68	0,050	1,30
9	150,5	-0,9479	0,11	0,7	0,08	1,6	0,180	1,86	1,60	0,050	1,21
10	151,1	-0,9579	0,11	0,7	0,08	1,6	0,176	1,98	1,76	0,050	1,01
11	154,2	-1,0092	0,10	0,7	0,07	1,6	0,157	2,03	1,72	0,050	0,90
12	176,2	-1,3737	0,04	0,7	0,03	1,6	0,068	1,89	1,53	0,050	0,47
										média=	0,9
										dp=	0,3

Z 100

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	157,9	-1,0705	0,09	0,7	0,06	1,6	0,136	1,98	1,74	0,050	0,79
2	152,4	-0,9794	0,10	0,7	0,07	1,6	0,168	1,74	1,64	0,050	1,18
3	156,2	-1,0423	0,09	0,7	0,06	1,6	0,145	1,79	1,56	0,050	1,04
4	149,4	-0,9297	0,12	0,7	0,08	1,6	0,188	2,09	1,49	0,050	1,21
5	153,6	-0,9993	0,10	0,7	0,07	1,6	0,160	2,05	1,31	0,050	1,19
6	149,6	-0,9330	0,12	0,7	0,08	1,6	0,187	1,73	1,44	0,050	1,50
7	148,1	-0,9082	0,12	0,7	0,09	1,6	0,198	1,88	1,57	0,050	1,34
8	150,4	-0,9463	0,11	0,7	0,08	1,6	0,181	1,86	1,78	0,050	1,09
9	148,5	-0,9148	0,12	0,7	0,09	1,6	0,195	1,75	1,63	0,050	1,37
10	146,3	-0,8783	0,13	0,7	0,09	1,6	0,212	2,08	1,47	0,050	1,38
11	142,7	-0,8187	0,15	0,7	0,11	1,6	0,243	1,98	1,32	0,050	1,86
12	150,3	-0,9446	0,11	0,7	0,08	1,6	0,182	1,97	1,15	0,050	1,60
										média=	1,3
										dp=	0,3

**Fluoroshield**

blocos	mV	log F calc.	$\mu\text{g F/mL calc.}$	mL amostra	$\mu\text{g F}$	volume da biópsia	$\mu\text{g F liberado}$	comprimento	largura	espessura (mm)	$\mu\text{g F/mm}^3$
1	139,0	-0,7574	0,17	0,7	0,12	1,6	0,280	1,74	1,65	0,050	1,95
2	136,3	-0,7127	0,19	0,7	0,14	1,6	0,310	1,92	1,52	0,050	2,12
3	143,9	-0,8386	0,15	0,7	0,10	1,6	0,232	1,91	1,55	0,050	1,57
4	152,7	-0,9844	0,10	0,7	0,07	1,6	0,166	1,61	1,58	0,050	1,30
5	150,9	-0,9545	0,11	0,7	0,08	1,6	0,178	1,84	1,40	0,050	1,38
6	146,9	-0,8883	0,13	0,7	0,09	1,6	0,207	1,84	1,77	0,050	1,27
7	159,2	-1,0920	0,08	0,7	0,06	1,6	0,129	1,86	1,65	0,050	0,84
8	144,9	-0,8551	0,14	0,7	0,10	1,6	0,223	1,83	1,78	0,050	1,37
9	146,0	-0,8734	0,13	0,7	0,09	1,6	0,214	1,82	1,80	0,050	1,31
10	151,0	-0,9562	0,11	0,7	0,08	1,6	0,177	1,89	1,54	0,050	1,22
11	151,7	-0,9678	0,11	0,7	0,08	1,6	0,172	1,82	1,71	0,050	1,11
12	139,0	-0,7574	0,17	0,7	0,12	1,6	0,280	1,70	1,32	0,050	2,49
										média=	1,5
										dp=	0,5

Vitremer

blocos	mV	log F calc.	$\mu\text{g F/mL calc.}$	mL amostra	$\mu\text{g F}$	volume da biópsia	$\mu\text{g F liberado}$	comprimento	largura	espessura (mm)	$\mu\text{g F/mm}^3$
1	133,3	-0,6630	0,22	0,7	0,15	1,6	0,348	2,05	1,45	0,050	2,34
2	136,2	-0,7110	0,19	0,7	0,14	1,6	0,311	2,03	1,56	0,050	1,97
3	148,6	-0,9164	0,12	0,7	0,08	1,6	0,194	1,73	1,65	0,050	1,36
4	150,1	-0,9413	0,11	0,7	0,08	1,6	0,183	1,66	1,51	0,050	1,46
5	147,7	-0,9015	0,13	0,7	0,09	1,6	0,201	1,77	1,37	0,050	1,66
6	147,9	-0,9048	0,12	0,7	0,09	1,6	0,199	1,91	1,45	0,050	1,44
7	140,7	-0,7856	0,16	0,7	0,11	1,6	0,262	1,74	1,47	0,050	2,05
8	149,2	-0,9264	0,12	0,7	0,08	1,6	0,190	1,77	1,41	0,050	1,52
9	143,4	-0,8303	0,15	0,7	0,10	1,6	0,236	1,70	1,61	0,050	1,73
10	141,0	-0,7905	0,16	0,7	0,11	1,6	0,259	1,92	1,47	0,050	1,84
11	138,5	-0,7491	0,18	0,7	0,12	1,6	0,285	2,03	1,67	0,050	1,68
12	135,2	-0,6944	0,20	0,7	0,14	1,6	0,323	1,87	1,54	0,050	2,25
										média=	1,8
										dp=	0,3

Vitremer diluído 1/4

blocos	mV	log F calc.	$\mu\text{g F/mL calc.}$	mL amostra	$\mu\text{g F}$	volume da biópsia	$\mu\text{g F liberado}$	comprimento	largura	espessura (mm)	$\mu\text{g F/mm}^3$
1	139,5	-0,7657	0,17	0,7	0,12	1,6	0,274	1,88	1,65	0,050	1,77
2	139,8	-0,7706	0,17	0,7	0,12	1,6	0,271	2,02	1,53	0,050	1,76
3	146,3	-0,8783	0,13	0,7	0,09	1,6	0,212	1,95	1,45	0,050	1,50
4	134,2	-0,6779	0,21	0,7	0,15	1,6	0,336	1,75	1,67	0,050	2,30
5	131,0	-0,6249	0,24	0,7	0,17	1,6	0,380	1,98	1,69	0,050	2,27
6	136,9	-0,7226	0,19	0,7	0,13	1,6	0,303	2,14	1,45	0,050	1,95
7	131,8	-0,6381	0,23	0,7	0,16	1,6	0,368	1,82	1,64	0,050	2,47
8	143,3	-0,8286	0,15	0,7	0,10	1,6	0,237	1,82	1,80	0,050	1,45
9	137,2	-0,7276	0,19	0,7	0,13	1,6	0,300	1,75	1,41	0,050	2,43
10	129,2	-0,5950	0,25	0,7	0,18	1,6	0,407	2,01	1,72	0,050	2,35
11	147,8	-0,9032	0,12	0,7	0,09	1,6	0,200	1,88	1,26	0,050	1,69
12	147,8	-0,9032	0,12	0,7	0,09	1,6	0,200	1,83	1,48	0,050	1,48
										média=	2,0
										dp=	0,4



Anexo M

MODELO - Dosagem de flúor nas soluções de ciclagem (DES>RE)

Análise do flúor liberado em soluções DES

Curva de calibração				
Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,0625	164,4	164,2	163,9	164,15
0,1250	146,9	146,9	146,9	146,90
0,250	128,8	129,1	129,4	129,10
0,500	110,4	111,2	112,0	111,20
1,000	93,1	93,4	93,7	93,40
Blank	206,2	203,6	206,6	205,47
Teste 1	129,7	128,3	126,9	128,30
Teste 2	147,9	145,7	144,7	146,10
Sol. Des.	167,8	167,8	168,2	167,93

Curva de calibração p/ Análise de Flúor em solução DESMINERALIZANTE

[padrão] ug/mL	mL padrão	mL H2O deio.	[Mistura] ug/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
0,1250	0,250	0,250	0,06250	-1,20411998	164,15	-1,200015024	0,0631	0,94
0,250	0,250	0,250	0,1250	-0,90308999	146,90	-0,906983083	0,124	-0,90
0,500	0,250	0,250	0,250	-0,60205999	129,10	-0,604608095	0,249	-0,59
1,00	0,250	0,250	0,500	-0,30103000	111,20	-0,300534371	0,501	0,11
2,00	0,250	0,250	1,000	0,00000000	93,40	0,001840617	1,004	0,42
média								0,00

Curva Total

intercepção	1,588459936
-------------	-------------

inclinação	-0,016987359
------------	--------------

Rquad	0,99995
-------	---------

Slope	-58,9
-------	-------

Temp.: 25°C

	[padrão] µg/mL	mL padrão	mL H2O deio.	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,000	0,250	0,250	0,000	205,47	-1,901876068	0,013	
Teste 1	0,500	0,250	0,250	0,250	128,30	-0,591018208	0,256	2,51
Teste 2	0,250	0,250	0,250	0,125	146,10	-0,893393196	0,128	2,21
Sol. Des.	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.				
	167,9	-1,264283865	0,054	0,042				

Controle

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	166,7	-1,243332789	0,057	0,015	0,5	0,0076	35,5	0,27
2	168,9	-1,280704978	0,052	0,011	0,5	0,0053	35,5	0,19
3	167,3	-1,253525204	0,056	0,014	0,5	0,0069	35,5	0,25
4	169,0	-1,282403714	0,052	0,010	0,5	0,0052	35,5	0,18
5	168,5	-1,273910035	0,053	0,011	0,5	0,0057	35,5	0,20
6	167,2	-1,251826468	0,056	0,014	0,5	0,0071	35,5	0,25
7	167,9	-1,26371762	0,054	0,013	0,5	0,0063	35,5	0,22
8	168,0	-1,265416355	0,054	0,012	0,5	0,0062	35,5	0,22
9	167,9	-1,26371762	0,054	0,013	0,5	0,0063	35,5	0,22
10	168,5	-1,273910035	0,053	0,011	0,5	0,0057	35,5	0,20
11	169,5	-1,290897394	0,051	0,009	0,5	0,0047	35,5	0,17
12	166,8	-1,245031525	0,057	0,015	0,5	0,0075	35,5	0,27
média=								0,22
dp=								0,03

Z 100

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	167,2	-1,251826468	0,056	0,014	0,5	0,0071	35,5	0,25
2	167,9	-1,26371762	0,054	0,013	0,5	0,0063	35,5	0,22
3	167,5	-1,256922676	0,055	0,013	0,5	0,0067	35,5	0,24
4	168,6	-1,275608771	0,053	0,011	0,5	0,0056	35,5	0,20
5	168,9	-1,280704978	0,052	0,011	0,5	0,0053	35,5	0,19
6	167,9	-1,26371762	0,054	0,013	0,5	0,0063	35,5	0,22
7	166,7	-1,243332789	0,057	0,015	0,5	0,0076	35,5	0,27
8	167,4	-1,25522394	0,056	0,014	0,5	0,0068	35,5	0,24
9	167,0	-1,248428997	0,056	0,015	0,5	0,0073	35,5	0,26
10	169,1	-1,28410245	0,052	0,010	0,5	0,0051	35,5	0,18
11	168,2	-1,268813827	0,054	0,012	0,5	0,0060	35,5	0,21
12	168,1	-1,267115091	0,054	0,012	0,5	0,0061	35,5	0,22
média=								0,23
dp=								0,03



Fluoroshield

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	163,4	-1,187274505	0,065	0,023	0,5	0,0115	35,5	0,41
2	164,3	-1,202563128	0,063	0,021	0,5	0,0104	35,5	0,37
3	164,1	-1,199165656	0,063	0,021	0,5	0,0107	35,5	0,38
4	163,4	-1,187274505	0,065	0,023	0,5	0,0115	35,5	0,41
5	163,2	-1,183877033	0,065	0,024	0,5	0,0118	35,5	0,42
6	164,6	-1,207659335	0,062	0,020	0,5	0,0101	35,5	0,36
7	163,4	-1,187274505	0,065	0,023	0,5	0,0115	35,5	0,41
8	162,9	-1,178780825	0,066	0,024	0,5	0,0122	35,5	0,43
9	160,9	-1,144806107	0,072	0,030	0,5	0,0149	35,5	0,53
10	163,3	-1,185575769	0,065	0,023	0,5	0,0117	35,5	0,41
11	164,7	-1,209358071	0,062	0,020	0,5	0,0099	35,5	0,35
12	165,6	-1,224646694	0,060	0,018	0,5	0,0089	35,5	0,31
média=								0,40
dp=								0,05

Vitremer

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	153,8	-1,024195859	0,095	0,053	0,5	0,0264	35,5	0,94
2	154,5	-1,036087011	0,092	0,050	0,5	0,0251	35,5	0,89
3	155,2	-1,047978162	0,090	0,048	0,5	0,0238	35,5	0,85
4	152,7	-1,005509765	0,099	0,057	0,5	0,0284	35,5	1,01
5	152,9	-1,008907236	0,098	0,056	0,5	0,0280	35,5	1,00
6	158,4	-1,10233771	0,079	0,037	0,5	0,0186	35,5	0,66
7	156,2	-1,064965521	0,086	0,044	0,5	0,0221	35,5	0,79
8	159,9	-1,127818749	0,075	0,033	0,5	0,0163	35,5	0,58
9	156,1	-1,063266785	0,086	0,045	0,5	0,0223	35,5	0,79
10	157,7	-1,090446559	0,081	0,039	0,5	0,0197	35,5	0,70
11	157,3	-1,083651616	0,082	0,041	0,5	0,0203	35,5	0,72
12	158,9	-1,11083139	0,077	0,036	0,5	0,0178	35,5	0,63
média=								0,80
dp=								0,14

Vitremer diluído 1/4

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	136,6	-0,732013287	0,185	0,143	0,5	0,0717	35,5	2,55
2	131,1	-0,638582813	0,230	0,188	0,5	0,0940	35,5	3,34
3	137,9	-0,754096853	0,176	0,134	0,5	0,0671	35,5	2,38
4	131,8	-0,650473964	0,224	0,182	0,5	0,0909	35,5	3,23
5	137,2	-0,742205702	0,181	0,139	0,5	0,0696	35,5	2,47
6	136,8	-0,735410759	0,184	0,142	0,5	0,0710	35,5	2,52
7	133,9	-0,686147418	0,206	0,164	0,5	0,0821	35,5	2,91
8	143,2	-0,844129855	0,143	0,101	0,5	0,0506	35,5	1,80
9	142,2	-0,827142496	0,149	0,107	0,5	0,0535	35,5	1,90
10	137,2	-0,742205702	0,181	0,139	0,5	0,0696	35,5	2,47
11	139,6	-0,782975363	0,165	0,123	0,5	0,0615	35,5	2,18
12	132,6	-0,664063851	0,217	0,175	0,5	0,0874	35,5	3,10
média=								2,57
dp=								0,47

**Dosagem de flúor nas soluções de ciclagem (DES>RE)****Análise do flúor liberado em soluções RE**

Curva de calibração

Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,050	168,7	166,1	165,9	166,90
0,100	151,5	149,3	149,7	150,17
0,200	134,9	133,2	133,4	133,83
0,400	117,8	115,9	116,1	116,60
0,800	100,1	98,0	98,5	98,87
Blank	193,0	195,1	194,6	194,23

Teste 1	133,4	134,3	133,6	133,77
Teste 2	133,8	132,3	132,1	132,73
Sol. Re.	160,7	160,4	160,2	160,43

Curva de calibração p/ Análise de Flúor em solução REMINERALIZANTE

[padrão] ug/mL	mL padrão	mL H2O deio.	[Mistura] ug/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
0,500	0,100	0,900	0,050	-1,30103000	166,90	-1,295556323	0,051	1,25
0,500	0,200	0,800	0,100	-1,00000000	150,17	-0,998682481	0,100	0,30
0,500	0,400	0,600	0,200	-0,69897000	133,83	-0,708905225	0,195	-2,31
0,50	0,800	0,200	0,400	-0,39794001	116,60	-0,40316065	0,395	-1,21
1,00	0,800	0,200	0,800	-0,09691001	98,87	-0,088545343	0,816	1,91
							média	-0,01

Curva Total

intercepção	1,665494132
-------------	-------------

inclinação	-0,017741465
------------	--------------

Rquad	0,99975
-------	---------

Slope	-56,4
-------	-------

Temp.: 25°C

	[padrão] µg/mL	mL padrão	mL H2O deio.	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,000	0,500	0,500	0,000	194,23	-1,780489691	0,017	
Teste 1	0,500	0,400	0,600	0,200	133,77	-0,70772246	0,196	-2,04
Teste 2	0,500	0,400	0,600	0,200	132,73	-0,689389613	0,204	2,18
Sol. Re.	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.				
	160,4	-1,180828185	0,066	0,049				

Controle

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	164,3	-1,249428515	0,056	0,007	1,0	0,0069	17,75	0,12
2	176,3	-1,462326091	0,034	-0,015	1,0	-0,0149	17,75	-0,26
3	168,2	-1,318620227	0,048	-0,001	1,0	-0,0014	17,75	-0,02
4	169,0	-1,332813399	0,046	-0,003	1,0	-0,0029	17,75	-0,05
5	169,0	-1,332813399	0,046	-0,003	1,0	-0,0029	17,75	-0,05
6	164,7	-1,256525101	0,055	0,006	1,0	0,0060	17,75	0,11
7	170,8	-1,364748036	0,043	-0,006	1,0	-0,0062	17,75	-0,11
8	167,3	-1,302652909	0,050	0,000	1,0	0,0004	17,75	0,01
9	165,9	-1,277814859	0,053	0,003	1,0	0,0034	17,75	0,06
10	164,0	-1,244106076	0,057	0,008	1,0	0,0076	17,75	0,14
11	167,0	-1,29733047	0,050	0,001	1,0	0,0011	17,75	0,02
12	169,3	-1,338135838	0,046	-0,003	1,0	-0,0035	17,75	-0,06
							média=	-0,01
							dp=	0,11

Z 100

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	165,5	-1,270718273	0,054	0,004	1,0	0,0042	17,75	0,08
2	165,0	-1,26184754	0,055	0,005	1,0	0,0054	17,75	0,10
3	163,8	-1,240557783	0,057	0,008	1,0	0,0081	17,75	0,14
4	165,3	-1,26716998	0,054	0,005	1,0	0,0047	17,75	0,08
5	167,7	-1,309749495	0,049	0,000	1,0	-0,0004	17,75	-0,01
6	166,0	-1,279589005	0,053	0,003	1,0	0,0032	17,75	0,06
7	166,5	-1,288459737	0,051	0,002	1,0	0,0021	17,75	0,04
8	167,8	-1,311523641	0,049	-0,001	1,0	-0,0006	17,75	-0,01
9	163,8	-1,240557783	0,057	0,008	1,0	0,0081	17,75	0,14
10	169,3	-1,338135838	0,046	-0,003	1,0	-0,0035	17,75	-0,06
11	166,3	-1,284911444	0,052	0,003	1,0	0,0025	17,75	0,04
12	168,3	-1,320394374	0,048	-0,002	1,0	-0,0015	17,75	-0,03
							média=	0,05
							dp=	0,07



Fluoroshield

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	158,3	-1,142979727	0,072	0,023	1,0	0,0226	17,75	0,40
2	160,2	-1,17668851	0,067	0,017	1,0	0,0172	17,75	0,31
3	156,7	-1,114593384	0,077	0,027	1,0	0,0274	17,75	0,49
4	154,4	-1,073788015	0,084	0,035	1,0	0,0350	17,75	0,62
5	155,5	-1,093303626	0,081	0,031	1,0	0,0313	17,75	0,56
6	159,5	-1,164269485	0,069	0,019	1,0	0,0191	17,75	0,34
7	160,3	-1,178462656	0,066	0,017	1,0	0,0169	17,75	0,30
8	159,7	-1,167817778	0,068	0,019	1,0	0,0186	17,75	0,33
9	157,1	-1,121689969	0,076	0,026	1,0	0,0262	17,75	0,46
10	159,7	-1,167817778	0,068	0,019	1,0	0,0186	17,75	0,33
11	162,4	-1,215719732	0,061	0,011	1,0	0,0115	17,75	0,20
12	162,6	-1,219268025	0,060	0,011	1,0	0,0110	17,75	0,20
média=								0,38
dp=								0,13

Vitremex

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	149,0	-0,977984106	0,105	0,056	1,0	0,0558	17,75	0,99
2	150,0	-0,99572557	0,101	0,052	1,0	0,0516	17,75	0,92
3	150,8	-1,009918742	0,098	0,048	1,0	0,0484	17,75	0,86
4	149,5	-0,986854838	0,103	0,054	1,0	0,0537	17,75	0,95
5	149,7	-0,990403131	0,102	0,053	1,0	0,0529	17,75	0,94
6	154,5	-1,075562161	0,084	0,035	1,0	0,0347	17,75	0,62
7	149,8	-0,992177277	0,102	0,052	1,0	0,0525	17,75	0,93
8	152,7	-1,043627525	0,090	0,041	1,0	0,0411	17,75	0,73
9	149,3	-0,983306545	0,104	0,055	1,0	0,0546	17,75	0,97
10	149,8	-0,992177277	0,102	0,052	1,0	0,0525	17,75	0,93
11	149,1	-0,979758252	0,105	0,055	1,0	0,0554	17,75	0,98
12	153,2	-1,052498257	0,089	0,039	1,0	0,0392	17,75	0,70
média=								0,88
dp=								0,13

Vitremex diluído 1/4

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	122,0	-0,498964559	0,317	0,268	1,0	0,2676	17,75	4,75
2	124,0	-0,534447489	0,292	0,243	1,0	0,2427	17,75	4,31
3	125,0	-0,552188953	0,280	0,231	1,0	0,2311	17,75	4,10
4	123,0	-0,516706024	0,304	0,255	1,0	0,2549	17,75	4,52
5	122,8	-0,513157731	0,307	0,257	1,0	0,2574	17,75	4,57
6	119,8	-0,459933337	0,347	0,297	1,0	0,2974	17,75	5,28
7	115,4	-0,381870892	0,415	0,366	1,0	0,3657	17,75	6,49
8	129,3	-0,628477251	0,235	0,186	1,0	0,1859	17,75	3,30
9	128,5	-0,61428408	0,243	0,194	1,0	0,1937	17,75	3,44
10	120,8	-0,477674802	0,333	0,284	1,0	0,2835	17,75	5,03
11	124,5	-0,543318221	0,286	0,237	1,0	0,2368	17,75	4,20
12	114,6	-0,367677721	0,429	0,380	1,0	0,3795	17,75	6,74
média=								4,73
dp=								1,05



Dosagem de flúor nas soluções de ciclagem (DES>RE)

µg F liberado sol. DES

Grupos						
Blocos	controle	Z 100	Fluroshield	Vitremer	Vitremer 1/4	
1	0,28	0,25	0,40	0,99	2,57	
2	0,21	0,19	0,37	0,94	3,38	
3	0,26	0,23	0,36	0,90	2,45	
4	0,20	0,23	0,38	1,07	3,26	
5	0,20	0,17	0,42	1,01	2,52	
6	0,28	0,26	0,33	0,74	2,57	
7	0,21	0,25	0,37	0,79	3,00	
8	0,24	0,30	0,40	0,62	1,93	
9	0,26	0,24	0,53	0,86	1,96	
10	0,22	0,18	0,42	0,71	2,57	
11	0,16	0,20	0,29	0,79	2,22	
12	0,28	0,19	0,28	0,72	3,13	
média=	0,24	0,22	0,38	0,84	2,63	
dp=	0,04	0,04	0,07	0,14	0,48	
ep=	0,01	0,01	0,02	0,03	0,12	

µg F liberado sol. RE

Grupos						
Blocos	controle	Z 100	Fluroshield	Vitremer	Vitremer 1/4	
1	0,07	0,29	0,86	1,32	6,15	
2	0,01	0,48	0,81	1,29	5,47	
3	0,08	0,49	0,94	1,40	5,32	
4	0,10	0,37	1,15	1,43	5,93	
5	0,18	0,26	1,04	1,45	5,86	
6	0,42	0,35	0,69	1,04	6,76	
7	0,14	0,32	0,73	1,41	8,32	
8	0,25	0,28	0,74	1,25	4,33	
9	0,39	0,45	0,84	1,52	4,70	
10	0,49	0,13	0,70	1,46	6,53	
11	0,32	0,37	0,46	1,49	5,37	
12	0,21	0,21	0,53	1,17	8,39	
média=	0,22	0,33	0,79	1,35	6,10	
dp=	0,16	0,11	0,20	0,14	1,26	
ep=	0,04	0,03	0,05	0,04	0,32	

µg F liberado - DES+RE

Grupos						
Blocos	controle	Z 100	Fluroshield	Vitremer	Vitremer 1/4	
1	0,36	0,54	1,26	2,31	8,72	
2	0,22	0,68	1,18	2,23	8,85	
3	0,34	0,72	1,30	2,29	7,77	
4	0,30	0,60	1,53	2,49	9,18	
5	0,38	0,43	1,46	2,46	8,38	
6	0,71	0,61	1,02	1,78	9,33	
7	0,35	0,57	1,09	2,21	11,33	
8	0,50	0,57	1,14	1,88	6,26	
9	0,65	0,69	1,37	2,38	6,67	
10	0,72	0,32	1,12	2,17	9,10	
11	0,48	0,57	0,75	2,28	7,59	
12	0,49	0,40	0,81	1,89	11,52	
média=	0,46	0,56	1,17	2,20	8,73	
dp=	0,16	0,12	0,24	0,23	1,59	
ep=	0,04	0,03	0,06	0,06	0,40	



Anexo N

Valores da porcentagem de recuperação da microdureza de superfície (%SMH_R) no grupo controle de acordo com as distâncias.

Blocos	Distância (μm)			
	150	300	450	600
1	3,7	5,3	7,0	9,0
2	15,3	12,8	15,8	22,7
3	17,1	19,6	22,8	20,1
4	13,9	18,3	22,3	19,1
5	16,0	17,8	19,1	16,5
6	6,7	8,2	8,1	8,2
7	11,2	11,6	6,5	10,5
8	19,8	17,1	19,4	23,4
9	8,4	10,3	13,5	10,9
10	2,1	5,1	3,3	9,4
11	5,7	9,4	12,1	7,6
12	20,1	20,0	19,6	17,9
média	11,7	13,0	14,1	14,6
desvio padrão	6,2	5,5	6,7	5,9

Valores da porcentagem de recuperação da microdureza de superfície (%SMH_R) no grupo Z 100 de acordo com as distâncias.

Blocos	Distância (μm)			
	150	300	450	600
1	3,9	6,3	8,2	6,1
2	19,0	17,9	18,7	20,1
3	18,1	12,9	15,9	15,0
4	23,5	28,6	20,2	21,8
5	7,3	10,9	12,1	14,7
6	14,1	16,3	16,7	16,2
7	14,8	16,8	20,0	15,4
8	2,5	4,0	5,5	9,0
9	1,6	-0,3	-0,1	-1,5
10	7,5	8,1	9,9	13,3
11	10,3	7,4	7,6	9,6
12	0,2	-2,3	2,5	1,4
média	10,2	10,5	11,4	11,8
desvio padrão	7,6	8,6	6,9	7,1



Valores da porcentagem de recuperação da microdureza de superfície (%SMH_R) no grupo Fluroshield de acordo com as distâncias.

Blocos	Distância (μm)			
	150	300	450	600
1	24,3	34,1	38,6	41,7
2	36,7	34,4	36,9	35,3
3	16,7	21,7	22,8	20,2
4	11,1	13,1	15,9	20,0
5	19,0	12,1	16,2	20,0
6	24,4	21,4	22,6	21,2
7	19,0	19,9	18,4	15,4
8	20,6	24,6	23,7	26,0
9	23,1	24,1	25,1	26,3
10	21,0	24,2	27,2	26,4
11	14,6	16,7	11,4	12,1
12	19,7	16,9	11,8	11,3
média	20,9	21,9	22,6	23,0
desvio padrão	6,3	7,1	8,7	8,9

Valores da porcentagem de recuperação da microdureza de superfície (%SMH_R) no grupo Vitremer de acordo com as distâncias.

Blocos	Distância (μm)			
	150	300	450	600
1	42,1	38,9	25,2	14,8
2	45,5	42,5	44,3	39,3
3	45,1	43,6	38,8	38,5
4	40,0	38,6	40,8	36,6
5	46,2	45,3	39,9	31,8
6	46,1	26,8	27,8	19,4
7	22,9	37,5	30,9	28,4
8	37,0	39,5	28,4	30,7
9	39,4	34,6	28,4	31,1
10	28,1	25,9	23,2	23,3
11	41,9	41,2	36,6	34,7
12	42,5	37,6	32,1	35,0
média	39,7	37,7	33,0	30,3
desvio padrão	7,3	6,0	6,8	7,6



Valores da porcentagem de recuperação da microdureza de superfície (%SMH_R) no grupo Vitremer diluído ¼ de acordo com as distâncias.

Blocos	Distância (µm)			
	150	300	450	600
1	44,2	41,1	40,2	37,6
2	52,9	57,7	55,5	35,7
3	47,4	43,5	36,1	28,9
4	42,4	45,2	46,9	43,1
5	47,7	53,9	53,3	50,7
6	54,9	57,3	45,3	46,4
7	52,2	54,2	52,1	51,7
8	56,4	57,3	51,6	53,6
9	30,7	48,0	51,5	46,7
10	46,2	44,2	45,2	38,7
11	37,6	39,8	45,3	43,4
12	40,3	43,6	47,9	41,3
média	46,1	48,8	47,6	43,2
desvio padrão	7,6	6,8	5,6	7,2



Anexo O

Valores médios da %vol.min. (ΔZ) de acordo com as distâncias nos diferentes grupos (RE>DES)

Controle					Z 100					Fluroshield				
Distância μm					Distância μm					Distância μm				
Blocos	150	300	450	600	Blocos	150	300	450	600	Blocos	150	300	450	600
1	-3152,8	-3038,7	-2864,0	-3080,4	1	-2554,9	-2526,7	-2205,4	-2387,2	1	-2130,9	-2532,4	-2755,4	-2984,7
2	-3073,0	-2767,8	-3817,4	-2871,4	2	-1765,0	-2692,6	-2695,9	-2645,5	2	-2484,6	-2085,6	-2593,7	-2650,9
3	-3223,3	-3009,7	-2789,3	-2667,6	3	-2580,7	-2541,4	-3072,6	-2630,4	3	-1841,8	-2313,4	-2542,9	-2763,5
4	-3135,1	-3065,7	-2680,6	-2685,5	4	-3317,4	-2959,1	-2989,1	-2245,3	4	-2106,1	-2472,4	-2465,2	-2063,4
5	-3159,1	-2804,5	-2979,5	-3038,9	5	-3774,1	-3327,2	-3516,7	-3761,4	5	-1784,7	-2075,3	-2055,7	-1832,1
6	-2506,4	-2951,2	-3198,2	-3029,6	6	-4032,6	-2695,9	-3138,8	-2694,2	6	-1887,2	-1941,0	-2144,4	-1745,8
7	-3073,9	-2911,3	-3077,8	-3142,7	7	-3820,8	-3813,2	-2674,7	-3353,3	7	-2522,1	-2925,4	-3019,2	-2947,1
8	-3245,5	-2682,6	-3161,3	-2659,9	8	-3422,9	-2939,5	-3402,6	-3628,6	8	-1893,6	-3237,0	-2861,6	-3580,5
9	-2905,3	-2505,8	-2576,3	-2695,5	9	-4001,8	-3908,5	-4494,4	-4674,6	9	-2107,4	-2512,2	-3046,8	-2685,6
10	-2982,6	-2867,6	-2723,4	-2817,3	10	-3834,6	-3356,3	-4171,5	-3356,8	10	-1635,1	-2911,5	-2167,8	-2493,5
11	-3217,3	-3236,0	-3760,9	-3568,4	11	-2471,7	-2888,6	-3145,0	-3346,1	11	-1853,4	-1972,9	-1978,3	-1928,4
12	-3839,6	-3958,4	-4451,4	-3794,3	12	-2516,3	-2584,4	-2823,2	-2421,0	12	-2080,2	-2043,6	-2237,5	-2658,1
média=	-3126,2	-2983,3	-3173,3	-3004,3	média=	-3174,4	-3019,5	-3194,2	-3095,4	média=	-2027,3	-2418,6	-2489,0	-2527,8
dp=	301,8	362,0	562,9	363,2	dp=	760,7	479,4	638,8	718,5	dp=	268,8	426,5	375,4	545,8
ep=	95,4	114,5	178,0	114,8	ep=	240,6	151,6	202,0	227,2	ep=	85,0	134,9	118,7	172,6

Vitremmer					Vitremmer 1/4				
Distância μm					Distância μm				
Blocos	150	300	450	600	Blocos	150	300	450	600
1	-1798,4	-1706,9	-2315,8	-2260,9	1	-1023,2	-964,4	-1293,9	-2059,3
2	-1980,5	-1941,5	-1460,3	-2866,3	2	-581,7	-1370,5	-1696,3	-2742,4
3	-1535,2	-2061,5	-2301,2	-2015,4	3	-732,1	-1334,4	-992,5	-1750,6
4	-1671,9	-941,2	-1489,8	-1770,1	4	-850,0	-998,4	-1489,1	-2275,9
5	-870,0	-1581,3	-1888,5	-2536,5	5	-745,6	-1002,0	-1423,2	-1560,8
6	-1926,2	-1850,0	-2458,0	-2915,0	6	-842,8	-948,0	-1721,1	-2545,9
7	-1364,9	-2026,0	-2109,6	-2549,7	7	-758,6	-1944,5	-1844,5	-2868,5
8	-1267,4	-1643,2	-2659,4	-2845,5	8	-841,0	-1018,4	-1868,4	-1303,7
9	-1164,4	-1913,8	-3381,0	-2881,4	9	-865,7	-972,4	-2447,3	-1539,7
10	-1662,2	-1561,6	-2466,5	-2771,4	10	-1072,4	-839,8	-1286,5	-1836,2
11	-1412,6	-1968,8	-1751,0	-1707,2	11	-755,8	-1421,0	-1256,0	-2676,0
12	-1438,0	-2444,9	-2570,0	-2024,3	12	-921,2	-1287,8	-1437,4	-1354,4
média=	-1507,6	-1803,4	-2237,6	-2428,6	média=	-832,5	-1175,1	-1563,0	-2042,8
dp=	323,5	366,1	543,2	454,0	dp=	133,2	311,0	382,2	565,2
ep=	102,3	115,8	171,8	143,6	ep=	42,1	98,3	120,9	178,7



Anexo P

Dosagem de flúor no esmalte

Curva de calibração

Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,050	176,6	176,0	176,9	176,50
0,100	157,2	157,4	157,3	157,30
0,200	137,9	137,8	137,3	137,67
0,400	119,1	119,0	118,6	118,90
0,800	100,7	100,5	100,8	100,67
Blanck	200,8	201,9	201,1	201,27

Teste 1	156,6	156,2	156,3	156,37
Teste 2	154,2	154,1	153,6	153,97

TISAB III (0,1 mL) / 1 mL

[padrão] µg/mL	mL do padrão	água	HCl 1M	NaOH 0.5M	µg F/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
1,0	0,050	0,200	0,250	0,500	0,050	-1,30103000	176,50	-1,3053486	0,050	-0,99
2,0	0,050	0,200	0,250	0,500	0,100	-1,00000000	157,30	-1,0013148	0,100	-0,30
2,0	0,100	0,150	0,250	0,500	0,200	-0,69897000	137,67	-0,6904191	0,204	1,99
2,0	0,200	0,050	0,250	0,500	0,400	-0,39794001	118,90	-0,3932471	0,404	1,09
8,0	0,100	0,150	0,250	0,500	0,800	-0,09691001	100,67	-0,1045205	0,786	-1,74
									média	0,01

Curva Total

intercepção	1,489545747	inclinação	-0,015835095	Rquad	0,99981
-------------	-------------	------------	--------------	-------	---------

Slope	-63,2	Temp.: 25°C
-------	-------	-------------

	[padrão] µg/mL	mL do padrão	água	HCl 1M	NaOH 0.5M	µg F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blanck	0,00	0,00	0,250	0,250	0,500	0,000	201,27	-1,69753112	0,020	
Teste 1	2,00	0,050	0,200	0,250	0,500	0,100	156,37	-0,98653534	0,103	3,15
Teste 2	2,00	0,050	0,200	0,250	0,500	0,100	153,97	-0,94853111	0,113	12,58

Controle

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	139,1	-0,7131	0,19	0,7	0,14	1,6	0,310	2,04	1,81	0,050	1,68
2	143,7	-0,7860	0,16	0,7	0,11	1,6	0,262	1,97	1,91	0,050	1,39
3	148,4	-0,8604	0,14	0,7	0,10	1,6	0,221	1,98	1,76	0,050	1,27
4	149,6	-0,8794	0,13	0,7	0,09	1,6	0,211	1,91	1,77	0,050	1,25
5	150,8	-0,8984	0,13	0,7	0,09	1,6	0,202	1,93	1,68	0,050	1,25
6	140,1	-0,7290	0,19	0,7	0,13	1,6	0,299	1,82	1,81	0,050	1,81
7	142,0	-0,7590	0,17	0,7	0,12	1,6	0,279	1,99	1,87	0,050	1,50
8	141,1	-0,7448	0,18	0,7	0,13	1,6	0,288	1,86	1,71	0,050	1,81
9	145,3	-0,8113	0,15	0,7	0,11	1,6	0,247	2,06	1,85	0,050	1,30
10	144,4	-0,7970	0,16	0,7	0,11	1,6	0,255	2,01	1,75	0,050	1,45
11	151,3	-0,9063	0,12	0,7	0,09	1,6	0,199	2,17	1,67	0,050	1,10
12	155,7	-0,9760	0,11	0,7	0,07	1,6	0,169	2,11	1,89	0,050	0,85
										média=	1,4
										dp=	0,3

Z 100

blocos	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	mL amostra	µg F	volume da biópsia	µg F liberado	comprimento	largura	espessura (mm)	µg F/mm ³
1	151,4	-0,9079	0,12	0,7	0,09	1,6	0,198	1,76	1,72	0,050	1,31
2	152,4	-0,9237	0,12	0,7	0,08	1,6	0,191	1,80	1,74	0,050	1,22
3	156,8	-0,9934	0,10	0,7	0,07	1,6	0,162	1,81	1,60	0,050	1,12
4	154,1	-0,9506	0,11	0,7	0,08	1,6	0,179	1,99	1,81	0,050	1,00
5	141,4	-0,7495	0,18	0,7	0,12	1,6	0,285	1,96	1,75	0,050	1,66
6	150,0	-0,8857	0,13	0,7	0,09	1,6	0,208	1,98	1,83	0,050	1,15
7	151,9	-0,9158	0,12	0,7	0,08	1,6	0,194	2,13	1,81	0,050	1,01
8	148,1	-0,8556	0,14	0,7	0,10	1,6	0,223	2,12	1,70	0,050	1,24
9	147,0	-0,8382	0,15	0,7	0,10	1,6	0,232	2,00	1,75	0,050	1,33
10	150,5	-0,8936	0,13	0,7	0,09	1,6	0,204	1,98	1,73	0,050	1,19
11	142,9	-0,7733	0,17	0,7	0,12	1,6	0,270	1,90	1,72	0,050	1,65
12	157,2	-0,9997	0,10	0,7	0,07	1,6	0,160	1,91	1,82	0,050	0,92
										média=	1,2
										dp=	0,2

**Fluorshield**

blocos	mV	log F calc.	$\mu\text{g F/mL calc.}$	mL amostra	$\mu\text{g F}$	volume da biópsia	$\mu\text{g F liberado}$	comprimento	largura	espessura (mm)	$\mu\text{g F/mm}^3$
1	143,2	-0,7780	0,17	0,7	0,12	1,6	0,267	2,03	1,76	0,050	1,49
2	153,9	-0,9475	0,11	0,7	0,08	1,6	0,181	1,73	1,69	0,050	1,24
3	145,9	-0,8208	0,15	0,7	0,11	1,6	0,242	1,95	1,71	0,050	1,45
4	142,5	-0,7670	0,17	0,7	0,12	1,6	0,274	2,11	1,87	0,050	1,39
5	125,8	-0,5025	0,31	0,7	0,22	1,6	0,503	2,06	1,70	0,050	2,87
6	135,9	-0,6624	0,22	0,7	0,15	1,6	0,348	2,01	1,79	0,050	1,93
7	123,8	-0,4708	0,34	0,7	0,24	1,6	0,541	2,01	1,74	0,050	3,09
8	136,2	-0,6672	0,22	0,7	0,15	1,6	0,344	1,93	1,93	0,050	1,85
9	129,8	-0,5658	0,27	0,7	0,19	1,6	0,435	1,82	1,74	0,050	2,75
10	144,4	-0,7970	0,16	0,7	0,11	1,6	0,255	2,03	1,58	0,050	1,59
11	128,2	-0,5405	0,29	0,7	0,20	1,6	0,461	2,07	1,78	0,050	2,50
12	149,9	-0,8841	0,13	0,7	0,09	1,6	0,209	2,11	1,88	0,050	1,05
média=											1,9
dp=											0,7

Vitremer

blocos	mV	log F calc.	$\mu\text{g F/mL calc.}$	mL amostra	$\mu\text{g F}$	volume da biópsia	$\mu\text{g F liberado}$	comprimento	largura	espessura (mm)	$\mu\text{g F/mm}^3$
1	135,3	-0,6529	0,22	0,7	0,16	1,6	0,356	1,99	1,83	0,050	1,95
2	128,2	-0,5405	0,29	0,7	0,20	1,6	0,461	2,06	1,90	0,050	2,36
3	136,6	-0,6735	0,21	0,7	0,15	1,6	0,339	1,95	1,87	0,050	1,86
4	134,6	-0,6419	0,23	0,7	0,16	1,6	0,365	1,98	1,77	0,050	2,08
5	145,0	-0,8065	0,16	0,7	0,11	1,6	0,250	2,11	1,93	0,050	1,23
6	123,0	-0,4582	0,35	0,7	0,24	1,6	0,557	2,01	1,88	0,050	2,95
7	131,4	-0,5912	0,26	0,7	0,18	1,6	0,410	1,93	1,77	0,050	2,40
8	132,1	-0,6023	0,25	0,7	0,17	1,6	0,400	2,03	1,81	0,050	2,18
9	120,3	-0,4154	0,38	0,7	0,27	1,6	0,615	2,56	1,86	0,050	2,58
10	139,5	-0,7195	0,19	0,7	0,13	1,6	0,305	2,30	1,83	0,050	1,45
11	136,9	-0,6783	0,21	0,7	0,15	1,6	0,336	2,00	1,93	0,050	1,74
12	135,0	-0,6482	0,22	0,7	0,16	1,6	0,360	2,01	1,87	0,050	1,91
média=											2,1
dp=											0,5

Vitremer diluído 1/4

blocos	mV	log F calc.	$\mu\text{g F/mL calc.}$	mL amostra	$\mu\text{g F}$	volume da biópsia	$\mu\text{g F liberado}$	comprimento	largura	espessura (mm)	$\mu\text{g F/mm}^3$
1	125,6	-0,4993	0,32	0,7	0,22	1,6	0,507	2,00	1,76	0,050	2,88
2	138,8	-0,7084	0,20	0,7	0,14	1,6	0,313	1,86	1,81	0,050	1,86
3	125,8	-0,5025	0,31	0,7	0,22	1,6	0,503	1,81	1,79	0,050	3,11
4	133,0	-0,6165	0,24	0,7	0,17	1,6	0,387	1,95	1,71	0,050	2,32
5	128,4	-0,5437	0,29	0,7	0,20	1,6	0,458	2,02	1,75	0,050	2,59
6	124,6	-0,4835	0,33	0,7	0,23	1,6	0,526	2,24	1,84	0,050	2,55
7	114,4	-0,3220	0,48	0,7	0,33	1,6	0,762	2,06	1,73	0,050	4,28
8	120,1	-0,4122	0,39	0,7	0,27	1,6	0,619	1,93	1,85	0,050	3,47
9	118,1	-0,3806	0,42	0,7	0,29	1,6	0,666	2,09	1,99	0,050	3,20
10	130,6	-0,5785	0,26	0,7	0,18	1,6	0,422	1,91	1,91	0,050	2,32
11	135,8	-0,6609	0,22	0,7	0,15	1,6	0,349	1,93	1,83	0,050	1,98
12	122,4	-0,4487	0,36	0,7	0,25	1,6	0,569	1,98	1,96	0,050	2,93
média=											2,8
dp=											0,7



Anexo Q

MODELO - Dosagem de flúor nas soluções de ciclagem (RE>DES)

Análise do flúor liberado em soluções DES

Curva de calibração

Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,025	187,7	186,8	187,2	187,23
0,050	170,7	170,5	170,7	170,63
0,100	154,1	154,0	153,8	153,97
0,200	137,0	136,8	136,6	136,80
0,400	119,5	119,3	119,2	119,33
Blank	216,5	224,7	225,5	222,23

Teste 1	154,1	154,3	153,8	154,07
Teste 2	170,6	170,9	171,0	170,83
Sol. Des c/ F (1)	176,6	176,9	177,0	176,83
Sol. Des c/ F (2)	177,4	177,4	177,3	177,37

Curva de calibração p/ Análise de Flúor em solução DESMINERALIZANTE

[padrão] ug/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] ug/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
0,500	0,050	0,950	0,025	-1,60205999	187,23	-1,596896607	0,025	1,18
0,500	0,100	0,900	0,050	-1,30103000	170,63	-1,302351908	0,050	-0,30
0,500	0,200	0,800	0,100	-1,00000000	153,97	-1,006624298	0,098	-1,54
0,500	0,400	0,600	0,200	-0,69897000	136,80	-0,702024861	0,199	-0,71
0,500	0,800	0,200	0,400	-0,39794001	119,33	-0,392102326	0,405	1,34
média								-0,01

Curva Total

intercepção	1,725307358
-------------	-------------

inclinação	-0,017743657
------------	--------------

Rquad	0,99987
-------	---------

Slope	-56,4
-------	-------

Temp.: 25°C

	[padrão] µg/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,000	0,000	1,000	0,000	222,23	-2,217924587	0,006	
Teste 1	0,500	0,200	0,800	0,100	154,07	-1,008398664	0,098	-1,95
Teste 2	0,500	0,100	0,900	0,050	170,83	-1,305900639	0,049	-1,13

Sol. Des s/ F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.
	177,4	-1,421825862	0,038	0,032

Vitremer diluído 1/4

1º dia

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	149,2	-0,922046202	0,120	0,088	1,0	0,0879	12,00	1,054
2	147,2	-0,886558889	0,130	0,098	1,0	0,0980	12,00	1,177
3	145,4	-0,854620307	0,140	0,108	1,0	0,1080	12,00	1,295
4	154,1	-1,008990119	0,098	0,066	1,0	0,0661	12,00	0,794
5	154,2	-1,010764485	0,098	0,066	1,0	0,0657	12,00	0,789
6	141,7	-0,788968778	0,163	0,131	1,0	0,1308	12,00	1,569
7	149,4	-0,925594933	0,119	0,087	1,0	0,0869	12,00	1,043
8	160,2	-1,117226424	0,076	0,045	1,0	0,0445	12,00	0,534
9	161,9	-1,147390641	0,071	0,039	1,0	0,0394	12,00	0,473
10	159,0	-1,095934037	0,080	0,048	1,0	0,0484	12,00	0,581
11	159,7	-1,108354596	0,078	0,046	1,0	0,0461	12,00	0,553
12	164,4	-1,191749782	0,064	0,033	1,0	0,0325	12,00	0,390

média= 0,85
dp= 0,4



Vitremers diluído 1/4

2º dia

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	124,8	-0,489100982	0,324	0,292	1,0	0,2925	12,00	3,510
2	156,2	-1,046251798	0,090	0,058	1,0	0,0581	12,00	0,697
3	158,3	-1,083513477	0,083	0,051	1,0	0,0507	12,00	0,608
4	166,4	-1,227237095	0,059	0,027	1,0	0,0275	12,00	0,329
5	166,4	-1,227237095	0,059	0,027	1,0	0,0275	12,00	0,329
6	160,4	-1,120775156	0,076	0,044	1,0	0,0439	12,00	0,527
7	164,0	-1,184652319	0,065	0,034	1,0	0,0336	12,00	0,403
8	164,1	-1,186426685	0,065	0,033	1,0	0,0333	12,00	0,400
9	166,5	-1,229011461	0,059	0,027	1,0	0,0272	12,00	0,327
10	164,4	-1,191749782	0,064	0,033	1,0	0,0325	12,00	0,390
11	165,3	-1,207719073	0,062	0,030	1,0	0,0302	12,00	0,362
12	165,6	-1,21304217	0,061	0,029	1,0	0,0294	12,00	0,353

média= 0,69

dp= 0,9

Vitremers diluído 1/4

3º dia

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	165,9	-1,218365267	0,060	0,029	1,0	0,0287	12,00	0,344
2	164,3	-1,189975416	0,065	0,033	1,0	0,0328	12,00	0,393
3	164,0	-1,184652319	0,065	0,034	1,0	0,0336	12,00	0,403
4	167,5	-1,246755117	0,057	0,025	1,0	0,0249	12,00	0,298
5	168,3	-1,260950043	0,055	0,023	1,0	0,0230	12,00	0,276
6	165,1	-1,204170342	0,062	0,031	1,0	0,0307	12,00	0,368
7	166,5	-1,229011461	0,059	0,027	1,0	0,0272	12,00	0,327
8	165,3	-1,207719073	0,062	0,030	1,0	0,0302	12,00	0,362
9	168,0	-1,255626946	0,056	0,024	1,0	0,0237	12,00	0,284
10	167,2	-1,24143202	0,057	0,026	1,0	0,0255	12,00	0,307
11	172,9	-1,342570863	0,045	0,014	1,0	0,0136	12,00	0,164
12	170,3	-1,296437356	0,051	0,019	1,0	0,0187	12,00	0,225

média= 0,31

dp= 0,1

Vitremers diluído 1/4

4º dia

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	167,6	-1,248529483	0,056	0,025	1,0	0,0246	12,00	0,295
2	165,8	-1,216590901	0,061	0,029	1,0	0,0289	12,00	0,347
3	165,9	-1,218365267	0,060	0,029	1,0	0,0287	12,00	0,344
4	169,3	-1,278693699	0,053	0,021	1,0	0,0208	12,00	0,250
5	169,7	-1,285791162	0,052	0,020	1,0	0,0200	12,00	0,240
6	166,5	-1,229011461	0,059	0,027	1,0	0,0272	12,00	0,327
7	169,0	-1,273370602	0,053	0,021	1,0	0,0215	12,00	0,258
8	168,6	-1,26627314	0,054	0,022	1,0	0,0224	12,00	0,268
9	169,3	-1,278693699	0,053	0,021	1,0	0,0208	12,00	0,250
10	170,2	-1,29466299	0,051	0,019	1,0	0,0189	12,00	0,227
11	174,5	-1,370960713	0,043	0,011	1,0	0,0108	12,00	0,129
12	170,5	-1,299986087	0,050	0,018	1,0	0,0183	12,00	0,220

média= 0,26

dp= 0,1



Análise do flúor liberado em soluções DES

Curva de calibração

Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,025	187,7	186,8	187,2	187,23
0,050	170,7	170,5	170,7	170,63
0,100	154,1	154,0	153,8	153,97
0,200	137,0	136,8	136,6	136,80
0,400	119,5	119,3	119,2	119,33
Blank	216,5	224,7	225,5	222,23

Teste 1	170,6	170,9	171,0	170,83
Teste 2	171,0	171,1	171,0	171,03
Sol. Des c/ F (1)	176,6	176,9	177,0	176,83
Sol. Des c/ F (2)	177,4	177,4	177,3	177,37

Curva de calibração p/ Análise de Flúor em solução DESMINERALIZANTE

[padrão] ug/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] ug/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
0,500	0,050	0,950	0,025	-1,60205999	187,23	-1,596896607	0,025	1,18
0,500	0,100	0,900	0,050	-1,30103000	170,63	-1,302351908	0,050	-0,30
0,500	0,200	0,800	0,100	-1,00000000	153,97	-1,006624298	0,098	-1,54
0,500	0,400	0,600	0,200	-0,69897000	136,80	-0,702024861	0,199	-0,71
0,500	0,800	0,200	0,400	-0,39794001	119,33	-0,392102326	0,405	1,34
							média	-0,01

Curva Total

intercepção	1,725307358
-------------	-------------

inclinação	-0,017743657
------------	--------------

Rquad	0,99987
-------	---------

Slope	-56,4
-------	-------

Temp.: 25°C

	[padrão] µg/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,000	0,000	1,000	0,000	222,23	-2,217924587	0,006	
Teste 1	0,500	0,100	0,900	0,050	170,83	-1,305900639	0,049	-1,13
Teste 2	0,500	0,100	0,900	0,050	171,03	-1,309449371	0,049	-1,96

Sol. Des s/ F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.
	176,8	-1,412362579	0,039	0,033

Vitremér diluído 1/4

5º dia

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	168,5	-1,264498774	0,054	0,022	1,0	0,0217	12,00	0,261
2	168,0	-1,255626946	0,056	0,023	1,0	0,0229	12,00	0,274
3	165,8	-1,216590901	0,061	0,028	1,0	0,0281	12,00	0,337
4	169,4	-1,280468065	0,052	0,020	1,0	0,0198	12,00	0,237
5	169,6	-1,284016796	0,052	0,019	1,0	0,0194	12,00	0,232
6	166,5	-1,229011461	0,059	0,026	1,0	0,0264	12,00	0,317
7	170,0	-1,291114259	0,051	0,019	1,0	0,0185	12,00	0,222
8	169,2	-1,276919334	0,053	0,020	1,0	0,0202	12,00	0,243
9	168,8	-1,269821871	0,054	0,021	1,0	0,0211	12,00	0,253
10	170,5	-1,299986087	0,050	0,017	1,0	0,0175	12,00	0,210
11	173,9	-1,360314519	0,044	0,011	1,0	0,0110	12,00	0,132
12	171,4	-1,315955378	0,048	0,016	1,0	0,0157	12,00	0,188

média= 0,24
dp= 0,1



Vitremer diluído 1/4

6º dia

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	170,0	-1,291114259	0,051	0,019	1,0	0,0185	12,00	0,222
2	169,3	-1,278693699	0,053	0,020	1,0	0,0200	12,00	0,240
3	168,4	-1,262724408	0,055	0,022	1,0	0,0220	12,00	0,264
4	171,0	-1,308857915	0,049	0,016	1,0	0,0165	12,00	0,198
5	171,2	-1,312406647	0,049	0,016	1,0	0,0161	12,00	0,193
6	168,4	-1,262724408	0,055	0,022	1,0	0,0220	12,00	0,264
7	170,2	-1,29466299	0,051	0,018	1,0	0,0181	12,00	0,217
8	169,1	-1,275144968	0,053	0,020	1,0	0,0204	12,00	0,245
9	169,6	-1,284016796	0,052	0,019	1,0	0,0194	12,00	0,232
10	170,4	-1,298211721	0,050	0,018	1,0	0,0177	12,00	0,212
11	173,7	-1,356765788	0,044	0,011	1,0	0,0113	12,00	0,136
12	168,9	-1,271596237	0,054	0,021	1,0	0,0209	12,00	0,250
média=								0,22
dp=								0,0

Vitremer diluído 1/4

1º dia / repetição

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	149,8	-0,932692396	0,117	0,084	1,0	0,0841	12,00	1,009
2	147,9	-0,898979449	0,126	0,094	1,0	0,0935	12,00	1,123
3	146,4	-0,872363964	0,134	0,102	1,0	0,1015	12,00	1,218
4	154,8	-1,021410679	0,095	0,063	1,0	0,0626	12,00	0,751
5	154,7	-1,019636313	0,096	0,063	1,0	0,0629	12,00	0,755
6	142,1	-0,79606624	0,160	0,127	1,0	0,1273	12,00	1,528
7	149,3	-0,923820568	0,119	0,087	1,0	0,0865	12,00	1,038
8	160,1	-1,115452059	0,077	0,044	1,0	0,0440	12,00	0,528
9	162,2	-1,152713738	0,070	0,038	1,0	0,0377	12,00	0,453
10	158,9	-1,094159671	0,081	0,048	1,0	0,0479	12,00	0,574
11	159,5	-1,104805865	0,079	0,046	1,0	0,0459	12,00	0,551
12	164,4	-1,191749782	0,064	0,032	1,0	0,0317	12,00	0,380
média=								0,83
dp=								0,4

Vitremer diluído 1/4

2º dia / repetição

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	124,7	-0,487326616	0,326	0,293	1,0	0,2930	12,00	3,515
2	156,2	-1,046251798	0,090	0,057	1,0	0,0573	12,00	0,687
3	158,0	-1,07819038	0,084	0,051	1,0	0,0509	12,00	0,611
4	166,2	-1,223688364	0,060	0,027	1,0	0,0271	12,00	0,325
5	166,1	-1,221913998	0,060	0,027	1,0	0,0274	12,00	0,328
6	160,3	-1,11900079	0,076	0,043	1,0	0,0434	12,00	0,521
7	164,1	-1,186426685	0,065	0,032	1,0	0,0325	12,00	0,390
8	164,0	-1,184652319	0,065	0,033	1,0	0,0327	12,00	0,393
9	166,2	-1,223688364	0,060	0,027	1,0	0,0271	12,00	0,325
10	164,3	-1,189975416	0,065	0,032	1,0	0,0319	12,00	0,383
11	165,1	-1,204170342	0,062	0,030	1,0	0,0299	12,00	0,358
12	165,2	-1,205944707	0,062	0,030	1,0	0,0296	12,00	0,355
média=								0,68
dp=								0,9



Análise do flúor liberado em soluções DES

Curva de calibração

Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,025	187,7	186,8	187,2	187,23
0,050	170,7	170,5	170,7	170,63
0,100	154,1	154,0	153,8	153,97
0,200	137,0	136,8	136,6	136,80
0,400	119,5	119,3	119,2	119,33
Blank	216,5	224,7	225,5	222,23

Teste 1	171,0	171,1	171,0	171,03
Teste 2	170,3	171,1	170,7	170,70
Sol. Des c/ F (1)	176,6	176,9	177,0	176,83
Sol. Des c/ F (2)	177,4	177,4	177,3	177,37

Curva de calibração p/ Análise de Flúor em solução DESMINERALIZANTE

[padrão] ug/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] ug/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
0,500	0,050	0,950	0,025	-1,60205999	187,23	-1,596896607	0,025	1,18
0,500	0,100	0,900	0,050	-1,30103000	170,63	-1,302351908	0,050	-0,30
0,500	0,200	0,800	0,100	-1,00000000	153,97	-1,006624298	0,098	-1,54
0,500	0,400	0,600	0,200	-0,69897000	136,80	-0,702024861	0,199	-0,71
0,500	0,800	0,200	0,400	-0,39794001	119,33	-0,392102326	0,405	1,34
							média	-0,01

Curva Total

intercepção	1,725307358	inclinação	-0,017743657	Rquad	0,99987
		Slope	-56,4	Temp.: 25°C	

	[padrão] µg/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,000	0,000	1,000	0,000	222,23	-2,217924587	0,006	
Teste 1	0,500	0,100	0,900	0,050	171,03	-1,309449371	0,049	-1,96
Teste 2	0,500	0,100	0,900	0,050	170,70	-1,303534818	0,050	-0,58
Sol. Des s/ F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.				
	176,8	-1,412362579	0,039	0,033				

Vitremers diluído 1/4

3º dia / repetição

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	165,7	-1,214816536	0,061	0,028	1,0	0,0283	12,00	0,340
2	164,0	-1,184652319	0,065	0,033	1,0	0,0327	12,00	0,393
3	163,7	-1,179329222	0,066	0,034	1,0	0,0335	12,00	0,402
4	167,0	-1,237883289	0,058	0,025	1,0	0,0252	12,00	0,302
5	168,0	-1,255626946	0,056	0,023	1,0	0,0229	12,00	0,274
6	165,1	-1,204170342	0,062	0,030	1,0	0,0299	12,00	0,358
7	166,6	-1,230785826	0,059	0,026	1,0	0,0261	12,00	0,314
8	165,5	-1,211267804	0,061	0,029	1,0	0,0288	12,00	0,346
9	168,3	-1,260950043	0,055	0,022	1,0	0,0222	12,00	0,266
10	167,3	-1,243206386	0,057	0,024	1,0	0,0245	12,00	0,294
11	172,9	-1,342570863	0,045	0,013	1,0	0,0128	12,00	0,154
12	169,8	-1,287565527	0,052	0,019	1,0	0,0189	12,00	0,227
							média=	0,31
							dp=	0,1



Vitremmer diluído 1/4

4º dia / repetição

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	167,3	-1,243206386	0,057	0,024	1,0	0,0245	12,00	0,294
2	166,1	-1,221913998	0,060	0,027	1,0	0,0274	12,00	0,328
3	165,7	-1,214816536	0,061	0,028	1,0	0,0283	12,00	0,340
4	169,4	-1,280468065	0,052	0,020	1,0	0,0198	12,00	0,237
5	169,7	-1,285791162	0,052	0,019	1,0	0,0191	12,00	0,230
6	166,4	-1,227237095	0,059	0,027	1,0	0,0266	12,00	0,319
7	168,3	-1,260950043	0,055	0,022	1,0	0,0222	12,00	0,266
8	168,2	-1,259175677	0,055	0,022	1,0	0,0224	12,00	0,269
9	168,8	-1,269821871	0,054	0,021	1,0	0,0211	12,00	0,253
10	169,7	-1,285791162	0,052	0,019	1,0	0,0191	12,00	0,230
11	173,9	-1,360314519	0,044	0,011	1,0	0,0110	12,00	0,132
12	170,0	-1,291114259	0,051	0,019	1,0	0,0185	12,00	0,222
média=								0,26
dp=								0,1

Vitremmer diluído 1/4

5º dia / repetição

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	168,4	-1,262724408	0,055	0,022	1,0	0,0220	12,00	0,264
2	167,9	-1,25385258	0,056	0,023	1,0	0,0231	12,00	0,277
3	165,9	-1,218365267	0,060	0,028	1,0	0,0278	12,00	0,334
4	169,6	-1,284016796	0,052	0,019	1,0	0,0194	12,00	0,232
5	169,7	-1,285791162	0,052	0,019	1,0	0,0191	12,00	0,230
6	166,7	-1,232560192	0,059	0,026	1,0	0,0259	12,00	0,311
7	170,1	-1,292888624	0,051	0,018	1,0	0,0183	12,00	0,220
8	169,5	-1,282242431	0,052	0,020	1,0	0,0196	12,00	0,235
9	169,0	-1,273370602	0,053	0,021	1,0	0,0206	12,00	0,248
10	171,0	-1,308857915	0,049	0,016	1,0	0,0165	12,00	0,198
11	174,4	-1,369186348	0,043	0,010	1,0	0,0101	12,00	0,121
12	172,2	-1,330150303	0,047	0,014	1,0	0,0141	12,00	0,169
média=								0,24
dp=								0,1

Vitremmer diluído 1/4

6º dia / repetição

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	170,3	-1,296437356	0,051	0,018	1,0	0,0179	12,00	0,215
2	169,5	-1,282242431	0,052	0,020	1,0	0,0196	12,00	0,235
3	168,5	-1,264498774	0,054	0,022	1,0	0,0217	12,00	0,261
4	171,2	-1,312406647	0,049	0,016	1,0	0,0161	12,00	0,193
5	171,5	-1,317729744	0,048	0,015	1,0	0,0155	12,00	0,186
6	168,4	-1,262724408	0,055	0,022	1,0	0,0220	12,00	0,264
7	170,2	-1,29466299	0,051	0,018	1,0	0,0181	12,00	0,217
8	168,9	-1,271596237	0,054	0,021	1,0	0,0209	12,00	0,250
9	169,9	-1,289339893	0,051	0,019	1,0	0,0187	12,00	0,225
10	170,4	-1,298211721	0,050	0,018	1,0	0,0177	12,00	0,212
11	173,9	-1,360314519	0,044	0,011	1,0	0,0110	12,00	0,132
12	168,9	-1,271596237	0,054	0,021	1,0	0,0209	12,00	0,250
média=								0,22
dp=								0,0

**Dosagem de flúor nas soluções de ciclagem (RE>DES)****Análise do flúor liberado em soluções RE**

Curva de calibração

Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,025	188,3	190,3	189,7	189,43
0,050	170,7	170,5	170,9	170,70
0,100	153,4	153,7	154,5	153,87
0,200	136,3	136,9	137,3	136,83
0,400	118,6	119,3	119,6	119,17
Blanck	215,6	216,6	217,2	216,47

Teste 1	154,4	154,7	154,4	154,50
Teste 2	154,1	154,2	153,9	154,07
Sol. RE c/ F (1)	183,2	184,1	183,8	183,70
Sol. RE c/ F (2)	184,3	184,3	183,8	184,13

Curva de calibração p/ Análise de Flúor em solução REMINERALIZANTE

[padrão] ug/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] ug/mL	log F	mV	log Fcalc.	µg F/mL calc.	C.V.%
0,500	0,050	0,950	0,025	-1,60205999	189,43	-1,61142036	0,024	-2,18
0,500	0,100	0,900	0,050	-1,30103000	170,70	-1,288167075	0,052	2,92
0,500	0,200	0,800	0,100	-1,00000000	153,87	-0,997699265	0,101	0,53
0,500	0,400	0,600	0,200	-0,69897000	136,83	-0,703780352	0,198	-1,11
0,500	0,800	0,200	0,400	-0,39794001	119,17	-0,398932948	0,399	-0,23
média								-0,01

Curva Total

Intercepção	1,657349071
-------------	-------------

Inclinação	-0,017255513
------------	--------------

Slope	-58,0
-------	-------

Rquad	0,99969
-------	---------

Temp.: 25°C

	[padrão] µg/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] µg/mL	mV	log Fcalc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blanck	0,000	0,000	1,000	0,000	216,47	-2,077894407	0,008	
Teste 1	0,500	0,200	0,800	0,100	154,50	-1,008627757	0,098	-2,01
Teste 2	0,500	0,200	0,800	0,100	154,07	-1,001150368	0,100	-0,27
Sol. Des s/ F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.				
	184,1	-1,519966139	0,030	0,022				

RE - DIURNA**Vitremer diluído 1/4****1º dia**

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	111,3	-0,263189576	0,546	0,524	1,0	0,5237	4,00	2,095
2	111,3	-0,263189576	0,546	0,524	1,0	0,5237	4,00	2,095
3	105,7	-0,166558701	0,681	0,660	1,0	0,6596	4,00	2,638
4	109,2	-0,226952998	0,593	0,571	1,0	0,5711	4,00	2,285
5	115,1	-0,328760527	0,469	0,447	1,0	0,4472	4,00	1,789
6	104,9	-0,15275429	0,703	0,682	1,0	0,6816	4,00	2,727
7	112,1	-0,276993987	0,528	0,507	1,0	0,5066	4,00	2,026
8	117,1	-0,363271554	0,433	0,411	1,0	0,4114	4,00	1,646
9	112,6	-0,285621743	0,518	0,496	1,0	0,4962	4,00	1,985
10	111,6	-0,26836623	0,539	0,517	1,0	0,5172	4,00	2,069
11	109,4	-0,2304041	0,588	0,566	1,0	0,5665	4,00	2,266
12	108,0	-0,206246381	0,622	0,600	1,0	0,6001	4,00	2,400
média=								2,17
dp=								0,3

Vitremer diluído 1/4**2º dia**

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	143,1	-0,811914903	0,154	0,132	1,0	0,1324	4,00	0,529
2	139,4	-0,748069504	0,179	0,157	1,0	0,1568	4,00	0,627
3	134,9	-0,670419693	0,214	0,192	1,0	0,1917	4,00	0,767
4	143,1	-0,811914903	0,154	0,132	1,0	0,1324	4,00	0,529
5	141,8	-0,789482736	0,162	0,141	1,0	0,1405	4,00	0,562
6	135,3	-0,677321899	0,210	0,188	1,0	0,1884	4,00	0,754
7	142,3	-0,798110493	0,159	0,137	1,0	0,1373	4,00	0,549
8	146,4	-0,868858098	0,135	0,113	1,0	0,1134	4,00	0,454
9	144,5	-0,836072622	0,146	0,124	1,0	0,1240	4,00	0,496
10	142,3	-0,798110493	0,159	0,137	1,0	0,1373	4,00	0,549
11	140,4	-0,765325017	0,172	0,150	1,0	0,1498	4,00	0,599
12	151,8	-0,96203787	0,109	0,087	1,0	0,0873	4,00	0,349
média=								0,56
dp=								0,1



Vitremér diluído 1/4

3º dia

bloco	mV	log F calc.	µg FmL calc.	µg FmL corr.	mL solução	µg Fna solução	vol. da amostra (mL)	µg Fna amostra
1	148,0	-0,896466919	0,127	0,105	1,0	0,1051	4,00	0,420
2	146,3	-0,867132546	0,136	0,114	1,0	0,1139	4,00	0,456
3	144,5	-0,836072622	0,146	0,124	1,0	0,1240	4,00	0,496
4	145,3	-0,849877033	0,141	0,119	1,0	0,1194	4,00	0,478
5	147,7	-0,891290265	0,128	0,107	1,0	0,1066	4,00	0,426
6	143,8	-0,823993763	0,150	0,128	1,0	0,1281	4,00	0,513
7	145,8	-0,85850479	0,139	0,117	1,0	0,1167	4,00	0,467
8	151,5	-0,956861216	0,110	0,089	1,0	0,0886	4,00	0,354
9	148,3	-0,901643573	0,125	0,104	1,0	0,1036	4,00	0,414
10	148,7	-0,908545779	0,123	0,102	1,0	0,1016	4,00	0,406
11	151,6	-0,958586768	0,110	0,088	1,0	0,0882	4,00	0,353
12	155,2	-1,020706616	0,095	0,074	1,0	0,0735	4,00	0,294
média=								0,42
dp=								0,1

Vitremér diluído 1/4

4º dia

bloco	mV	log F calc.	µg FmL calc.	µg FmL corr.	mL solução	µg Fna solução	vol. da amostra (mL)	µg Fna amostra
1	149,1	-0,915447984	0,121	0,100	1,0	0,0996	4,00	0,399
2	149,5	-0,922350189	0,120	0,098	1,0	0,0977	4,00	0,391
3	147,7	-0,891290265	0,128	0,107	1,0	0,1066	4,00	0,426
4	153,6	-0,993097795	0,102	0,080	1,0	0,0798	4,00	0,319
5	150,8	-0,944782357	0,114	0,092	1,0	0,0917	4,00	0,367
6	147,8	-0,893015817	0,128	0,106	1,0	0,1061	4,00	0,424
7	151,0	-0,94823346	0,113	0,091	1,0	0,0908	4,00	0,363
8	154,5	-1,008627757	0,098	0,076	1,0	0,0762	4,00	0,305
9	151,1	-0,949959011	0,112	0,090	1,0	0,0904	4,00	0,361
10	151,6	-0,958586768	0,110	0,088	1,0	0,0882	4,00	0,353
11	160,5	-1,112160837	0,077	0,055	1,0	0,0554	4,00	0,222
12	156,0	-1,034511027	0,092	0,071	1,0	0,0705	4,00	0,282
média=								0,35
dp=								0,1

Vitremér diluído 1/4

5º dia

bloco	mV	log F calc.	µg FmL calc.	µg FmL corr.	mL solução	µg Fna solução	vol. da amostra (mL)	µg Fna amostra
1	154,2	-1,003451103	0,099	0,077	1,0	0,0774	4,00	0,309
2	152,7	-0,977567833	0,105	0,083	1,0	0,0835	4,00	0,334
3	150,4	-0,937880152	0,115	0,094	1,0	0,0935	4,00	0,374
4	154,0	-1	0,100	0,078	1,0	0,0782	4,00	0,313
5	152,7	-0,977567833	0,105	0,083	1,0	0,0835	4,00	0,334
6	148,4	-0,903369125	0,125	0,103	1,0	0,1031	4,00	0,412
7	152,0	-0,965488973	0,108	0,086	1,0	0,0864	4,00	0,346
8	156,9	-1,050040989	0,089	0,067	1,0	0,0673	4,00	0,269
9	152,8	-0,979293384	0,105	0,083	1,0	0,0830	4,00	0,332
10	154,1	-1,001725551	0,100	0,078	1,0	0,0778	4,00	0,311
11	159,8	-1,100081978	0,079	0,058	1,0	0,0576	4,00	0,230
12	160,3	-1,108709735	0,078	0,056	1,0	0,0560	4,00	0,224
média=								0,32
dp=								0,1

Vitremér diluído 1/4

6º dia

bloco	mV	log F calc.	µg FmL calc.	µg FmL corr.	mL solução	µg Fna solução	vol. da amostra (mL)	µg Fna amostra
1	157,3	-1,056943194	0,088	0,066	1,0	0,0659	4,00	0,263
2	153,5	-0,991372243	0,102	0,080	1,0	0,0802	4,00	0,321
3	151,0	-0,94823346	0,113	0,091	1,0	0,0908	4,00	0,363
4	156,1	-1,036236578	0,092	0,070	1,0	0,0702	4,00	0,281
5	153,1	-0,984470038	0,104	0,082	1,0	0,0818	4,00	0,327
6	149,2	-0,917173535	0,121	0,099	1,0	0,0992	4,00	0,397
7	154,9	-1,015529962	0,096	0,075	1,0	0,0746	4,00	0,299
8	157,4	-1,058668746	0,087	0,066	1,0	0,0655	4,00	0,262
9	156,6	-1,044864335	0,090	0,068	1,0	0,0683	4,00	0,273
10	155,8	-1,031059924	0,093	0,071	1,0	0,0713	4,00	0,285
11	165,6	-1,200163956	0,063	0,041	1,0	0,0412	4,00	0,165
12	159,8	-1,100081978	0,079	0,058	1,0	0,0576	4,00	0,230
média=								0,29
dp=								0,1



Análise do flúor liberado em soluções RE

Curva de calibração

Data	Primeira	Segunda	Terceira	Média
0,025	188,3	190,3	189,7	189,43
0,050	170,7	170,5	170,9	170,70
0,100	153,4	153,7	154,5	153,87
0,200	136,3	136,9	137,3	136,83
0,400	118,6	119,3	119,6	119,17
Blank	215,6	216,6	217,2	216,47

Teste 1	154,1	154,2	153,9	154,15
Teste 2	154,4	154,4	154,4	154,40
Sol. RE c/ F (1)	183,2	184,1	183,8	183,70
Sol. RE c/ F (2)	184,3	184,3	183,8	184,13

Curva de calibração p/ Análise de Flúor em solução REMINERALIZANTE

[padrão] ug/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] ug/mL	log F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V.%
0,500	0,050	0,950	0,025	-1,60205999	189,43	-1,61142036	0,024	-2,18
0,500	0,100	0,900	0,050	-1,30103000	170,70	-1,288167075	0,052	2,92
0,500	0,200	0,800	0,100	-1,00000000	153,87	-0,997699265	0,101	0,53
0,500	0,400	0,600	0,200	-0,69897000	136,83	-0,703780352	0,198	-1,11
0,500	0,800	0,200	0,400	-0,39794001	119,17	-0,398932948	0,399	-0,23
média								-0,01

Curva Total

intercepção	1,657349071
-------------	-------------

inclinação	-0,017255513
------------	--------------

Rquad	0,99969
-------	---------

Slope	-58,0
-------	-------

Temp.: 25°C

	[padrão] µg/mL	mL padrão	mL Des s/ F	[Mistura] µg/mL	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	C.V. %
Blank	0,000	0,000	1,000	0,000	216,47	-2,077894407	0,008	
Teste 1	0,500	0,200	0,800	0,100	154,15	-1,002588327	0,099	-0,60
Teste 2	0,500	0,200	0,800	0,100	154,40	-1,006902205	0,098	-1,60
Sol. Des s/ F	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.				
	183,7	-1,512488749	0,031	0,022				

RE - NOTURNA

Vitremér diluído 1/4

1º dia

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	113,3	-0,297700603	0,504	0,481	1,0	0,4815	4,00	1,926
2	112,8	-0,289072846	0,514	0,492	1,0	0,4916	4,00	1,966
3	110,0	-0,240757408	0,574	0,552	1,0	0,5521	4,00	2,208
4	119,4	-0,402959235	0,395	0,373	1,0	0,3730	4,00	1,492
5	118,0	-0,378801516	0,418	0,396	1,0	0,3957	4,00	1,583
6	111,6	-0,26836623	0,539	0,517	1,0	0,5167	4,00	2,067
7	116,7	-0,356369348	0,440	0,418	1,0	0,4178	4,00	1,671
8	128,0	-0,55135665	0,281	0,259	1,0	0,2586	4,00	1,034
9	126,0	-0,516845623	0,304	0,282	1,0	0,2818	4,00	1,127
10	122,3	-0,453000224	0,352	0,330	1,0	0,3300	4,00	1,320
11	121,1	-0,432293608	0,370	0,347	1,0	0,3472	4,00	1,389
12	130,7	-0,597946537	0,252	0,230	1,0	0,2300	4,00	0,920
média=								1,56
dp=								0,4

Vitremér diluído 1/4

2º dia

bloco	mV	log F calc.	µg F/mL calc.	µg F/mL corr.	mL solução	µg F na solução	vol. da amostra (mL)	µg F na amostra
1	123,5	-0,47370684	0,336	0,314	1,0	0,3136	4,00	1,254
2	122,4	-0,454725775	0,351	0,329	1,0	0,3286	4,00	1,314
3	120,3	-0,418489197	0,382	0,359	1,0	0,3591	4,00	1,437
4	120,0	-0,413312543	0,386	0,364	1,0	0,3637	4,00	1,455
5	125,5	-0,508217867	0,310	0,288	1,0	0,2879	4,00	1,152
6	117,1	-0,363271554	0,433	0,411	1,0	0,4109	4,00	1,643
7	126,5	-0,52547338	0,298	0,276	1,0	0,2758	4,00	1,103
8	131,7	-0,61520205	0,243	0,220	1,0	0,2202	4,00	0,881
9	125,7	-0,511668969	0,308	0,285	1,0	0,2855	4,00	1,142
10	127,0	-0,534101137	0,292	0,270	1,0	0,2700	4,00	1,080
11	126,4	-0,523747829	0,299	0,277	1,0	0,2770	4,00	1,108
12	137,0	-0,706656271	0,196	0,174	1,0	0,1741	4,00	0,696
média=								1,19
dp=								0,3



Vitremér diluído 1/4

3º dia

bloco	mV	log F calc.	µg FmL calc.	µg FmL corr.	mL solução	µg Fna solução	vol. da amostra (mL)	µg Fna amostra
1	126,5	-0,52547338	0,298	0,276	1,0	0,2758	4,00	1,103
2	129,9	-0,584142126	0,261	0,238	1,0	0,2382	4,00	0,953
3	125,2	-0,503041213	0,314	0,292	1,0	0,2917	4,00	1,167
4	128,5	-0,559984407	0,275	0,253	1,0	0,2531	4,00	1,012
5	129,6	-0,578965472	0,264	0,241	1,0	0,2413	4,00	0,965
6	125,3	-0,504766764	0,313	0,290	1,0	0,2904	4,00	1,162
7	131,3	-0,608299845	0,246	0,224	1,0	0,2241	4,00	0,896
8	134,8	-0,668694142	0,214	0,192	1,0	0,1921	4,00	0,768
9	127,7	-0,546179996	0,284	0,262	1,0	0,2620	4,00	1,048
10	131,9	-0,618653153	0,241	0,218	1,0	0,2183	4,00	0,873
11	144,8	-0,841249276	0,144	0,122	1,0	0,1218	4,00	0,487
12	136,3	-0,694577412	0,202	0,180	1,0	0,1797	4,00	0,719
média=								0,93
dp=								0,2

Vitremér diluído 1/4

4º dia

bloco	mV	log F calc.	µg FmL calc.	µg FmL corr.	mL solução	µg Fna solução	vol. da amostra (mL)	µg Fna amostra
1	129,7	-0,580691023	0,263	0,240	1,0	0,2402	4,00	0,961
2	130,7	-0,597946537	0,252	0,230	1,0	0,2300	4,00	0,920
3	127,2	-0,53755224	0,290	0,268	1,0	0,2677	4,00	1,071
4	132,5	-0,629006461	0,235	0,213	1,0	0,2126	4,00	0,850
5	133,8	-0,651438628	0,223	0,201	1,0	0,2008	4,00	0,803
6	126,8	-0,530650034	0,295	0,272	1,0	0,2723	4,00	1,089
7	130,7	-0,597946537	0,252	0,230	1,0	0,2300	4,00	0,920
8	138,2	-0,727362888	0,187	0,165	1,0	0,1650	4,00	0,660
9	132,5	-0,629006461	0,235	0,213	1,0	0,2126	4,00	0,850
10	133,7	-0,649713077	0,224	0,202	1,0	0,2017	4,00	0,807
11	146,7	-0,874034752	0,134	0,111	1,0	0,1113	4,00	0,445
12	142,2	-0,796384941	0,160	0,137	1,0	0,1374	4,00	0,550
média=								0,83
dp=								0,2

Vitremér diluído 1/4

5º dia

bloco	mV	log F calc.	µg FmL calc.	µg FmL corr.	mL solução	µg Fna solução	vol. da amostra (mL)	µg Fna amostra
1	135,1	-0,673870796	0,212	0,190	1,0	0,1895	4,00	0,758
2	134,9	-0,670419693	0,214	0,191	1,0	0,1912	4,00	0,765
3	131,1	-0,604848742	0,248	0,226	1,0	0,2260	4,00	0,904
4	134,5	-0,663517488	0,217	0,195	1,0	0,1946	4,00	0,779
5	135,6	-0,682498553	0,208	0,185	1,0	0,1854	4,00	0,741
6	128,7	-0,56343551	0,273	0,251	1,0	0,2509	4,00	1,004
7	133,0	-0,637634218	0,230	0,208	1,0	0,2080	4,00	0,832
8	139,8	-0,754971709	0,176	0,153	1,0	0,1534	4,00	0,614
9	135,0	-0,672145245	0,213	0,190	1,0	0,1904	4,00	0,761
10	136,3	-0,694577412	0,202	0,180	1,0	0,1797	4,00	0,719
11	148,4	-0,903369125	0,125	0,103	1,0	0,1026	4,00	0,410
12	144,6	-0,837798174	0,145	0,123	1,0	0,1229	4,00	0,492
média=								0,73
dp=								0,2

Vitremér diluído 1/4

6º dia

bloco	mV	log F calc.	µg FmL calc.	µg FmL corr.	mL solução	µg Fna solução	vol. da amostra (mL)	µg Fna amostra
1	137,4	-0,713558477	0,193	0,171	1,0	0,1710	4,00	0,684
2	135,0	-0,672145245	0,213	0,190	1,0	0,1904	4,00	0,761
3	131,2	-0,606574293	0,247	0,225	1,0	0,2250	4,00	0,900
4	137,6	-0,717009579	0,192	0,169	1,0	0,1695	4,00	0,678
5	135,9	-0,687675207	0,205	0,183	1,0	0,1829	4,00	0,732
6	131,8	-0,616927601	0,242	0,219	1,0	0,2192	4,00	0,877
7	136,8	-0,703205169	0,198	0,176	1,0	0,1757	4,00	0,703
8	141,6	-0,786031633	0,164	0,141	1,0	0,1413	4,00	0,565
9	141,1	-0,777403877	0,167	0,145	1,0	0,1446	4,00	0,578
10	139,2	-0,744618401	0,180	0,158	1,0	0,1577	4,00	0,631
11	148,0	-0,896466919	0,127	0,105	1,0	0,1046	4,00	0,418
12	143,4	-0,817091557	0,152	0,130	1,0	0,1300	4,00	0,520
média=								0,67
dp=								0,1



Dosagem de flúor nas soluções de ciclagem (RE>DES)

µg F liberado sol. Des					
Grupos					
Blocos	controle	Z 100	Fluorshield	Vitremer	Vitremer 1/4
1	0,76	0,53	0,57	1,23	5,66
2	0,71	0,50	0,47	1,16	3,09
3	0,71	0,56	0,47	1,31	3,21
4	0,69	0,52	0,44	1,24	2,07
5	0,69	0,56	0,52	0,95	2,03
6	0,67	0,50	0,50	1,20	3,34
7	0,65	0,52	0,61	1,17	2,46
8	0,66	0,48	0,53	0,88	2,04
9	0,66	0,46	0,55	1,45	1,79
10	0,53	0,54	0,33	1,09	1,91
11	0,56	0,48	0,50	1,11	1,46
12	0,52	0,44	0,63	1,00	1,62
média=	0,65	0,51	0,51	1,15	2,56
dp=	0,08	0,04	0,08	0,16	1,16
ep=	0,02	0,01	0,02	0,04	0,29

µg F liberado sol. Re					
Grupos					
Blocos	controle	Z 100	Fluorshield	Vitremer	Vitremer 1/4
1	0,29	0,34	1,32	2,31	10,71
2	0,38	0,32	1,43	2,32	10,84
3	0,33	0,32	0,91	2,97	12,74
4	0,32	0,35	0,57	2,02	10,40
5	0,26	0,26	1,53	1,51	9,78
6	0,38	0,26	1,04	3,09	13,05
7	0,38	0,32	2,51	1,84	10,12
8	0,34	0,26	0,68	2,26	7,72
9	0,37	0,35	2,26	3,48	9,31
10	0,35	0,25	0,71	2,11	9,35
11	0,49	0,34	1,08	2,15	7,97
12	0,43	0,32	0,73	1,94	7,64
média=	0,36	0,31	1,23	2,33	9,97
dp=	0,06	0,04	0,62	0,57	1,76
ep=	0,02	0,01	0,16	0,14	0,44

µg F liberado - DES+RE					
Grupos					
Blocos	controle	Z 100	Fluorshield	Vitremer	Vitremer 1/4
1	1,1	0,9	1,9	3,5	16,4
2	1,1	0,8	1,9	3,5	13,9
3	1,0	0,9	1,4	4,3	15,9
4	1,0	0,9	1,0	3,3	12,5
5	0,9	0,8	2,1	2,5	11,8
6	1,1	0,8	1,5	4,3	16,4
7	1,0	0,8	3,1	3,0	12,6
8	1,0	0,7	1,2	3,1	9,8
9	1,0	0,8	2,8	4,9	11,1
10	0,9	0,8	1,0	3,2	11,3
11	1,0	0,8	1,6	3,3	9,4
12	0,9	0,8	1,4	2,9	9,3
média=	1,01	0,82	1,74	3,48	12,52
dp=	0,06	0,04	0,66	0,69	2,62
ep=	0,02	0,01	0,21	0,22	0,83