

Luciene Pereira de Castro

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE DENTIFRÍCIOS  
CONVENCIONAIS SUPLEMENTADOS COM  
TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO SOBRE A  
DESMINERALIZAÇÃO DE ESMALTE BOVINO**

Araçatuba – SP

2013

Luciene Pereira de Castro

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE DENTIFRÍCIOS  
CONVENCIONAIS SUPLEMENTADOS COM  
TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO SOBRE A  
DESMINERALIZAÇÃO DE ESMALTE BOVINO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia da  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,  
Campus de Araçatuba, para obtenção de título de Mestre  
em Ciência Odontológica - Área de Concentração: Saúde  
Bucal da Criança.

Orientador: Professor Titular Célio Percinoto

Araçatuba – SP

2013

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

C355a Castro, Luciene Pereira de.  
Avaliação in vitro de dentifrícios convencionais suplementados com trimetafosfato de sódio sobre a desmineralização de esmalte bovino / Luciene Pereira de Castro. - Araçatuba : [s.n.], 2013  
75 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Orientador: Prof. Dr. Célio Percinoto

1. Fosfatos 2. Fluoretos 3. Desmineralização  
4. Dentifrícios I. T.

Black D27  
CDD 617.645

## *DADOS CURRICULARES*

*Luciene Pereira de Castro*

<b>Nascimento</b>	08/05/1983 – Cristalândia - TO
<b>Filiação</b>	Marcelino Pereira de Castro Deuzila Bezerra Neves
<b>2005/2010</b>	Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP - Campus Araçatuba.
<b>2011/2013</b>	Curso de Pós-Graduação na área de Ciência Odontológica, Concentração em Saúde Bucal da Criança, nível de Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.
<b>Associações</b>	CROSP – Conselho Regional de Odontologia de São Paulo SBPqO – Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica

# *DEDICATÓRIA*



## *A DEUS*

*Quero agradecê-lo por mais uma conquista em minha vida! Sei que sempre esteve presente ao meu lado, me dando equilíbrio nos momentos de tensão, paciência e sabedoria. Obrigada por sempre guiar o meu caminho! E mesmo a minha falta de fé diante as dificuldades, não fez que o senhor desistisse de mim, sempre colocando pessoas maravilhosas ao meu lado. Obrigada por tudo!*

***“O coração humano projeta o caminho, mas é o senhor quem dirige os passos” (Pr.16,9).***



## *À MINHA FAMÍLIA*

### *À minha Tia Socorro (In memoriam)*

*Sempre que me lembro da senhora, sinto saudade, mas, depois o meu coração se acalma, pois sei que sempre estará comigo, me protegendo. Obrigada por ter sido, apesar de pouco tempo, a minha base e ter doado o seu amor materno. Com certeza, os seus ensinamentos e sua base continuam em mim! Além de meu amor pela senhora, sinto uma imensa gratidão, pois nada seria possível sem a sua presença em minha vida!*

### *Às minhas irmãs, Patrícia, Ana Flávia e ao meu cunhado, Adriano,*

*Sempre agradeço a Deus por ter vocês em meu caminho! Há duas palavras que posso dizer, mas que são suficientes: Amo vocês!*

### *Aos meus sobrinhos, Isabella e Lucas,*

*Obrigada por iluminarem a minha vida! Cada palavra, cada brincadeira, cada gesto de vocês são responsáveis pelo meu sorriso!*

### *À minha Tia Maria do Carmo,*

*Agradeço pela preocupação para comigo, pelo carinho e pelos conselhos! Com o passar do tempo fui depositando na senhora o meu amor de filha! Obrigada por sempre acreditar em meu potencial e me incentivar no estudo.*

*AGRADECIMENTOS*  
*ESPECIAIS*



### *Ao Meu orientador, Prof. Célio Percinoto*

*Penso que tudo na vida tem um propósito! O senhor não foi meu orientador por acaso. Pude absorver um pouco de seu conhecimento, de sua experiência, de sua exigência e de sua sinceridade. A sua orientação foi necessária para o meu amadurecimento, diminuindo a minha insegurança e aprendendo que a pesquisa não se faz sozinha, é necessário ter um grupo de pessoas, as quais auxiliam cada uma de acordo com o seu conhecimento. Obrigada por me permitir conhecê-lo!*

### *Ao Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem*

*A admiração não se pede e nem se cobra. Por isso posso dizer com sinceridade que a admiração que tenho pelo senhor foi crescendo com o tempo de convivência, observando a sua dedicação, a sua inteligência, a sua ética e a sua preocupação com a pesquisa e com o laboratório onde passamos a maior parte de nosso tempo. Eu agradeço pela sua atenção para comigo, por sempre ser tão solícito quanto às minhas dúvidas e pelos conselhos que não irei me esquecer. Obrigada por tudo!*

### *À Profa. Kikue Takebayachi*

*Agradeço-a por ter sido a minha primeira orientadora de iniciação científica. Com a senhora eu comecei a dar os primeiros passos na pesquisa. Por isso, tenho um imenso carinho e admiração pela senhora. Obrigada por sempre ter me acolhido, tanto no laboratório como em sua casa. Serei eternamente grata!*



### *À amiga Marcelle Danelon*

*Querida Marcelle, você é mais que uma amiga, é uma irmã! Obrigada por estar disposta a me ajudar em todos os momentos! Obrigada pela sua paciência! Sinto uma admiração pela pessoa que você é: Dedicada, organizada, com conhecimentos valiosos, otimista, sempre solícita com todos que estão a sua volta. Esta dissertação eu dedico a você, pois você se dedicou inteiramente em meu auxílio para finalizá-la. Posso dizer que você já é uma orientadora! “Friends Forever.”*

### *À amiga Eliana Takeshita*

*Obrigada por permitir que eu fosse sua estagiária de Iniciação Científica! Eu sempre vi você como um exemplo a ser seguido, com um grande potencial para a pesquisa, independente, organizada, dedicada, sempre disposta a auxiliar as outras pessoas. Eu devia ter aproveitado mais desta oportunidade e ter absorvido mais de seus conhecimentos. Obrigada por sempre querer o melhor para mim!*

# *AGRADECIMIENTOS*



À Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba- UNESP, nas pessoas da sua Diretora Profa. Adj. Ana Maria Pires Soubhia e Vice-Diretor Prof. Dr. Prof. Titular Wilson Roberto Poi,

*Por proporcionar a realização desta pesquisa.*

Ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Odontológica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP, na pessoa do coordenador Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem,

*Por permitir o acesso ao conhecimento, através do atendimento no Programa de Prevenção da Bebê Clínica, do acompanhamento das clínicas da disciplina de Odontopediatria e do uso de um laboratório com material e equipamentos necessários a realização desta pesquisa.*

Aos professores da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Dr. Célio Percinoto, Dr. Robson Frederico Cunha, Dra. Sandra Maria Herondina Ávila de Aguiar, Dr. Juliano Pelim Pessan e Cristiane Duque,

*Pela orientação, exigência, experiência e conhecimentos transmitidos.*

À Profa. Colaboradora Dra. Rosangela Santos Nery,

*Pelo carinho e atenção que sempre teve com a minha pessoa.*

À Profa. Dra. Denise Pedrini,

*Pela amizade, carinho, simplicidade e colaboração junto ao departamento de Odontopediatria.*

A todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP,

*Por todos os ensinamentos ministrados e convivência tão agradável.*



Aos professores do curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP,

*Por serem os responsáveis pela minha formação acadêmica, através da transmissão de seus conhecimentos, experiência e amizade.*

Aos funcionários da Disciplina de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Maria Bertolina Mesquita de Oliveira, Maria dos Santos Ferreira Fernandes e Mario Luís da Silva,

*Pela colaboração e auxílio sempre que foram necessários.*

Em especial, à funcionária Maria dos Santos Ferreira Fernandes,

*Pelo carinho, pelos conselhos, pelas conversas... Por sempre cuidar de nós!*

Ao funcionário, Luiz Carlos dos Santos (Luizinho),

*Pela sua educação para com todos do laboratório. Por sempre manter a limpeza do mesmo.*

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Valéria, Lilian e Cristiane,

*Pela solicitude, educação e profissionalismo.*

A todos os funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Ana Cláudia Grieger Manzatti, Cláudio Hideo Matsumoto, Ivone Rosa de Lima Munhoz, Izamar da Silva Freitas, Luzia Anderlini, Maria Cláudia de Castro Benez e Ana Paula de Oliveira, Luis Cláudio e Denise Nakamura,

*Pela atenção e amizade que sempre me dispensaram desde a graduação.*



A todos os funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP,

*Pela atenção e amizade com todos os alunos da faculdade.*

Em especial, aos funcionários, Dulce, Luciana, Ivete, Edna e Pedro,

*Por sempre torcerem por mim! E pela amizade.*

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq),

*Por me conceder bolsa de formação, permitindo a conclusão do curso de Mestrado.*

Ao Frigorífico FRIBOI, em especial, à funcionária Meire,

*Pela atenção dispensada aos alunos do departamento de Odontopediatria, permitindo a coleta de dentes bovinos, usados na metodologia de nossas pesquisas.*

À equipe do Centrinho (CAOE),

*Pelos conhecimentos adquiridos. Pela oportunidade de conhecer o trabalho realizado com os pacientes especiais. Por me permitir ter o contato com estes pacientes e a nutrir um carinho especial por eles.*

*Com certeza, estar junto a vocês e aos pacientes me tornou diferente!*

Em especial, à Aparecida Araújo (Nenê), Liliane Louzada e Cíntia Barbieri,

*Por sempre me darem carinho, atenção e auxílio nos momentos difíceis.*

Aos amigos do Laboratório, Marcelle Danelon, Danielle Camara, Daniela Oliveira, Carla Favretto, Karina Kondo, Juliana Mendonça, José Antônio Souza e Douglas Monteiro,

*Pela amizade. Pelo companheirismo. Pela paciência. Pelos conselhos. Pelas risadas. Por sempre me acalmarem diante a algo que não dava certo. Esta dissertação tem um pedacinho de cada um.*

*Obrigada pela presença sempre!*



Aos colegas de Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, Ana Laura Esteves, Carolina Lodi, Fernanda Alves Santos Jackeline Amaral, Marcelo Moretto, Maria Daniela, Michele Manarelli, Natália Colombo, Paulo Duarte e Remberto Marcelo Argandoña Valdez,

*Pela convivência, amizade e troca de experiências.*

Aos colegas de Curso de Mestrado em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, Nathalia Viana, Carla Favretto, Karina Kondo e Juliana Mendonça,

*Pela convivência. Pela amizade. Pelos conhecimentos, dúvidas e angústias compartilhadas. Pelos desabafos e pelo choro... É um ombro amigo para consolar. Ao final formamos uma excelente equipe!*

Aos estagiários do departamento de Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP,

*Pelo auxílio prestado aos alunos de pós – graduação. Com vocês, a pesquisa se torna mais fácil de ser realizada.*

Em especial, à minha estagiária Amanda Passarinho,

*Por sua dedicação, simplicidade e vontade de aprender. Obrigada!*

Às queridas amigas, Márcia Regina, Ana Carolina Ferreira, Maira Adami e Joana D’arc,

*Pela preocupação que sempre tiveram comigo. Pelas conversas na madrugada. Pelas risadas. Por sempre serem boas ouvintes. Pelos segredos compartilhados. Agradeço a vocês por sempre me apoiarem em todas as minhas escolhas! Cada uma está guardada em meu coração! E para mim, vocês são mais que amigas, são como irmãs.*



Às queridas Yayla Faride, Josiane Scarpa, Edvania Nunes e Priscila Saeki,

*Pela convivência. Espero que a nossa amizade aumente a cada dia.*

Aos amigos Gislaine Paganin e Jorge Nakashima,

*Pelo carinho e amizade que sempre tiveram e tem comigo. Vocês participaram intensamente destes dois anos de Mestrado. Obrigada por tudo!*

Aos amigos Ariane Gallo e Alexandre Guimarães,

*Por vocês sempre estarem ao meu lado quando precisei de um ombro amigo. Obrigada por saber que posso sempre contar com a amizade de vocês!*

A amiga Lidiane Viana,

*Por sempre me ajudar de todas as formas possíveis. Por estar sempre de bem com a vida e me fazer sorrir junto com você. "Friends Forever."*

Ao amigo Afonso Alexandre Correia,

*Por participar inteiramente da minha vida. Sem a sua amizade aqui em Araçatuba, eu não sei que conseguiria ficar muito tempo! Por sempre poder contar com você para tudo! Obrigada!*

Ao amigo Felipe Nishimoto,

*Por sempre me ligar. Por manter a nossa amizade mesmo à distância. Você é um grande amigo!*

Ao amigo José Luiz Leles,

*Pelo apoio e incentivo desde antes que eu começasse a graduação no curso de Odontologia. Por confiar e acreditar em meu potencial. Você sempre estará em meu coração.*



Ao amigo Renan Fernandes,

*Pelas conversas que nunca tem fim. Pelas risadas. Por compartilhar comigo os momentos de alegria e tristeza. Por me ensinar a não desistir!*

Às minhas companheiras de casa, Elisa Finotti e Paula Domenegheti,

*Por dividirem comigo os momentos de ansiedade e stress. Por me fazerem rir em momentos que eu queria chorar. Pela companhia agradável. Obrigada por conhecê-las a cada dia que passa e me tornar amiga de vocês.*

À família Andreotti,

*Por ter me acolhido em sua casa no início de minha graduação. Pelo carinho, amizade e bem querer.*

A todos que de alguma forma contribuíram para que esta dissertação fosse finalizada,

*Muito obrigada!*



*"Bom mesmo é ir à luta com **DETERMINAÇÃO**, abraçar a vida com **PAIXÃO**, perder com classe e **VENCER** com **OUSADIA**, porque o mundo pertence a quem se atreve e a vida é muito pra ser insignificante".*

*Charles Chaplin*

*RESUMO*



CASTRO, LP. **Avaliação *in vitro* de dentifrícios convencionais suplementados com trimetafosfato de sódio sobre a desmineralização de esmalte bovino.** [Dissertação].

Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2013.

## RESUMO

**Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vitro* a capacidade de dentifrícios convencionais (1100 ppm F) suplementados com diferentes concentrações de trimetafosfato de sódio (TMP), em reduzir a desmineralização do esmalte bovino.

**Material e métodos:** Para este estudo, blocos de esmalte bovino (4x4mm, n=84) foram selecionados através da dureza de superfície inicial (SHi) e a seguir divididos em 7 grupos experimentais (n=12): Dentifrício sem fluoreto e sem TMP (placebo); Dentifrício com 1100 ppm F (1100); Dentifrício com 1100 ppm F associado a concentrações de 1% TMP (1100 1% TMP), 3% TMP (1100 3% TMP), 4,5% TMP (1100 4,5% TMP), 6% TMP (1100 6% TMP) e 9% TMP (1100 9% TMP), os quais foram submetidos durante sete dias, a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37°C, permanecendo os últimos dois dias em solução remineralizadora. O tratamento foi realizado diariamente com 2mL de suspensão de dentifrícios, 2 vezes ao dia. Foram determinadas as análises de dureza de superfície final (SHf) e em secção longitudinal para o cálculo da perda integrada de dureza de subsuperfície ( $\Delta$ KHN) e concentração de fluoreto (F) presente no esmalte.

**Resultados:** Os resultados de SHf mostraram que a suplementação com TMP produz efeito máximo com 3% ( $p < 0,001$ ). O grupo 1100 3%TMP apresentou menor perda mineral em profundidade ( $\Delta$ KHN) ( $p < 0,00$ ) e proporcionou maior presença de F no esmalte. ( $p < 0,001$ ).

**Conclusão:** A adição de 3%TMP a um dentifrício convencional (1100 ppm F) apresentou maior eficácia em reduzir a desmineralização do esmalte bovino.



Relevância Clínica: Potencializar o efeito de dentifrícios convencionais é essencial para reduzir a prevalência da cárie dentária em pacientes de alto risco.

**Palavras-chaves:** Fosfatos. Fluoretos. Desmineralização. Dentifrícios.

*ABSTRACT*



CASTRO, LP. *In vitro* evaluation of conventional dentifrices supplemented with sodium trimetaphosphate on the demineralization of bovine enamel. [Dissertação].

Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2013.

## **ABSTRACT**

**Objective:** The aim of this study was to evaluate *in vitro* the ability of conventional dentifrices (1100 ppm F) supplemented with different concentrations of sodium trimetaphosphate (TMP) in reducing bovine enamel demineralization.

**Material and methods:** For this study, blocks of bovine enamel (4x4mm, n = 84) were selected through surface hardness (SHi) and then divided into seven experimental groups (n = 12): Dentifrice without F and TMP (placebo), Dentifrice with 1,100 ppm F (1100) and Dentifrice with 1,100 ppm associated with concentrations: 1% TMP (1100 1%TMP), 3% TMP (1100 3%TMP), 4.5% TMP (1100 4.5%TMP) 6% TMP (1100 6%TMP) e 9% TMP (1100 9%TMP), which were submitted for seven days, five cycling pH, temperature 37°C, leaving the last two days remineralizing solution. Treatment was performed daily with 2ml/block of suspension dentifrices, two times a day. Were determined surface hardness end (SHf) and in longitudinal section for calculating the integrated loss of subsurface hardness ( $\Delta$ KHN) and concentration of F present in the enamel.

**Results:** The results of SHf showed that supplementation with TMP produces a maximum effect with 3% (p <0.001). The 1100 3% TMP group had lower mineral loss in depth ( $\Delta$ KHN) (p <0.001) and provided greater presence of F in enamel (p <0.001).

**Conclusion:** The addition of 3% TMP to a conventional dentifrice (1100 ppm F) showed greater efficacy in reducing bovine enamel demineralization.



Clinical relevance: To boost the effect of conventional toothpastes is essential to reduce the prevalence of dental caries in high-risk patients.

**Keywords:** Phosphates. Fluorides. Demineralization. Dentifrices.

*LISTAS*

# *LISTA DE ABREVIATURAS*



*LISTA DE ABREVIATURAS*

°C	Graus Celsius
Ca	Cálcio
cm	Centímetro
cm <sup>2</sup>	Centímetro quadrado
DP	Desvio padrão
F	Fluoreto
FI	Fluoreto iônico
FT	Fluoreto total
g	Gramas
h	Hora
HCl	Ácido clorídrico
KCl	Cloreto de potássio
Kgf/mm <sup>2</sup>	Kilograma força por milímetro ao quadrado
KHN	Unidade de dureza Knoop
L	Litro
N	Número de amostra
NaF	Fluoreto de sódio
NaOH	Hidróxido de sódio
mg	Miligrama

## *LISTA DE ABREVIATURAS*



mL	Mililitro
mm	Milímetro
mm <sup>2</sup>	Milímetro quadrado
mm <sup>3</sup>	Milímetro cúbico
mol L <sup>-1</sup>	Mol por litro
mmol L <sup>-1</sup>	Milimol por litro
mV	Milivolts
P	Fósforo
pH	Potencial de Hidrogênio
ppm	Partes por milhão
s	Segundos
SH <sub>i</sub>	Dureza de superfície inicial
SH <sub>f</sub>	Dureza de superfície final
TISAB	Tampão ajustador de força iônica total
TMP	Trimetafosfato de sódio
µg	Micrograma
µm	Micrômetro
ΔKHN	Perda integrada de dureza de subsuperfície
ΔIH	Dureza integrada

# *LISTA DE FIGURAS*



*FIGURAS*

**Figura 1** – Figura 1. Valores médios (n=12) da (A) dureza de superfície, (B) dureza integrada de subsuperfície, (C) fluoreto presente no esmalte e (D) dureza integrada nas regiões entre 5-10  $\mu\text{m}$  e 40-130  $\mu\text{m}$ . Barras verticais denotam o desvio-padrão (Student-Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ). Pág. 45

## *SUMÁRIO*



*SUMÁRIO*

1. INTRODUÇÃO	35
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
3. RESULTADOS	39
4. DISCUSSÃO	40
5. REFERÊNCIAS	41
ANEXOS	47

**AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE DENTIFRÍCIOS CONVENCIONAIS  
SUPLEMENTADOS COM TRIMETAFOSFATO DE SÓDIO SOBRE  
A DESMINERALIZAÇÃO DE ESMALTE BOVINO**

Castro LP, Delbem ACB, Danelon M, Percinoto C

Faculdade de Odontologia - Campus de Araçatuba, UNESP - Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, SP, Brasil.

**Título curto:** Associação de trimetafosfato de sódio e fluoreto na desmineralização do esmalte

**Palavras chave:** Fosfatos. Fluoretos. Desmineralização. Dentifrícios

**Correspondência:**

Prof. Dr. Célio Percinoto

Universidade Estadual Paulista – UNESP

Departamento de Odontologia Infantil e Social

Rua José Bonifácio, 1193

Araçatuba – SP – Brasil

CEP: 16015-050

Tel. (18) 3636 3274

E-mail: [percinoto@foa.unesp.br](mailto:percinoto@foa.unesp.br)

\*De acordo com as instruções aos autores do periódico Clinical Oral Investigations (Anexo A).

CASTRO, LP. *In vitro* evaluation of conventional dentifrices supplemented with sodium trimetaphosphate on the demineralization of bovine enamel. [Dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista; 2013.

## **ABSTRACT**

**Objective:** The aim of this study was to evaluate in vitro the ability of conventional dentifrices (1100 ppm F) supplemented with different concentrations of sodium trimetaphosphate (TMP) in reducing bovine enamel demineralization.

**Material and methods:** For this study, blocks of bovine enamel (4x4mm, n = 84) were selected through surface hardness (SHi) and then divided into seven experimental groups (n = 12): Dentifrice without F and TMP (placebo), Dentifrice with 1,100 ppm F (1100) and Dentifrice with 1,100 ppm associated with concentrations: 1% TMP (1100 1%TMP), 3% TMP (1100 3%TMP), 4.5% TMP (1100 4.5%TMP) 6% TMP (1100 6% TMP) e 9% TMP (1100 9%TMP), which were submitted for seven days, five cycling pH, temperature 37°C, leaving the last two days remineralizing solution. Treatment was performed daily with 2ml/block of suspension dentifrices, two times a day. Were determined surface hardness end (SHf) and in longitudinal section for calculating the integrated loss of subsurface hardness ( $\Delta$ KHN) and concentration of F present in the enamel.

**Results:** The results of SHf showed that supplementation with TMP produces a maximum effect with 3% (p <0.001). The 1100 3% TMP group had lower mineral loss in depth ( $\Delta$ KHN) (p <0.001) and provided greater presence of F in enamel (p <0.001).

**Conclusion:** The addition of 3% TMP to a conventional dentifrice (1100 ppm F) showed greater efficacy in reducing bovine enamel demineralization.

**Clinical relevance:** To boost the effect of conventional toothpastes is essential to reduce the prevalence of dental caries in high-risk patients.

**Keywords:** Phosphates. Fluorides. Demineralization. Dentifrices.



## 1. INTRODUÇÃO

O processo de desenvolvimento da cárie dentária segue em uma crescente redução, principalmente devido ao uso do fluoreto (F) não só na água de abastecimento público, como também em outros veículos fluoretados, como os dentifrícios, soluções, vernizes [1, 2, 3, 4], géis [5], espumas [6] e materiais odontológicos [7]. O F age como um importante auxiliar para a manutenção do equilíbrio mineral dos dentes, atuando diretamente na dinâmica do processo de des-remineralização [8, 9], inibindo a desmineralização, promovendo a remineralização e formando fluoreto de cálcio.

Apesar da existência de inúmeras fontes de F, observa-se atualmente uma tendência de polarização da doença, segundo a qual, 25% dos indivíduos concentram aproximadamente 75% dos dentes com prevalência de cárie dentária [10]. Estudos vêm demonstrando que esta polarização está relacionada particularmente com os fatores socioeconômicos [11, 12, 13]. Isto indica, portanto, que ainda há indivíduos com alto risco de cárie, tais como: crianças [14, 15], adolescentes, pessoas que não possuem acesso à água de abastecimento fluoretada e aos serviços odontológicos [16].

Sabendo-se que os dentifrícios destacam-se dentre as formas de administração tópica mais utilizada no mundo pela população e que contribuem para a redução da cárie dentária [17], seria interessante aumentar a eficácia dos mesmos, o que diminuiria os índices da doença.

Um recurso utilizado para aumentar a eficácia de um dentifrício é a adição de sais de fosfato. Dentre os sais de fosfato com atividade anticariogênica, o trimetafosfato de sódio (TMP) parece ser o mais efetivo [18, 19, 20, 21]. Estudos sugerem que o TMP pode estar relacionado com uma ação local, sendo adsorvido à superfície do esmalte, causando uma redução na solubilidade da hidroxiapatita e reduzindo as trocas minerais entre o meio e o esmalte. Takeshita *et al.*, 2009 [22] demonstraram *in vitro*, que a suplementação com 1%TMP de um dentifrício de reduzida concentração de F (500 ppm F) proporcionou ação semelhante à de um dentifrício padrão (1100 ppm F) no processo de desmineralização dentária do esmalte. Porém, a adição de 3%TMP em uma solução contendo 1500 ppm F, mostrou semelhante remineralização quando comparado aos grupos 3000 ppm F suplementados ou não com 3%TMP [23].

Entretanto, na literatura há escassez de trabalhos potencializando o efeito de dentifrícios convencionais (1100 ppm F) e TMP na desmineralização dentária *in vitro*. Assim, é necessário que haja mais estudos, visando aumentar a eficácia dos mesmos com o intuito de reduzir e prevenir a polarização da cárie dentária dentre a população menos favorecida em relação ao fator socioeconômico.



Assim, o objetivo do estudo foi avaliar, *in vitro*, dentifrícios convencionais suplementados com TMP sobre a desmineralização de esmalte bovino.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### *Delimitação experimental*

Para a realização do estudo, blocos de esmalte (4x4mm, n=84) foram obtidos de dentes incisivos bovinos mantidos em solução de formol 2% pH 7,0 durante 30 dias antes de qualquer procedimento experimental [24]. Esses blocos tiveram sua superfície de esmalte polida sequencialmente, o que permitiu a seleção através da determinação da dureza de superfície inicial (SHi) (Anexos C e D). O delineamento experimental foi casualizado e os blocos divididos em sete grupos experimentais de doze espécimes cada, os quais foram submetidos à ciclagem de pH [25] por 7 dias e tratamento com os respectivos dentifrícios 2 vezes ao dia (Anexos E e F): 1) Dentifrício sem fluoreto e sem TMP (placebo); 2) Dentifrício com 1100 ppm F (1100); 3) Dentifrício com 1100 ppm F + 1%TMP (1100 1%TMP), 4) Dentifrício com 1100 ppm F + 3%TMP (1100 3%TMP), 5) Dentifrício com 1100 ppm F + 4,5%TMP (1100 4,5%TMP), 6) Dentifrício com 1100 ppm F + 6%TMP (1100 6%TMP), 7) Dentifrício com 1100 ppm F + 9%TMP (1100 9%TMP). Após as ciclagens de pH, foram determinadas a dureza de superfície final (SHf) e em secção longitudinal para o cálculo da perda integrada de dureza de subsuperfície ( $\Delta$ KHN) (Anexos D e G), concentração de F (Anexo H) presente no esmalte foi determinada após as ciclagens de pH. Para análise estatística, foram considerados como variáveis os valores de SHf,  $\Delta$ KHN,  $\Delta$ IH e F no esmalte, e como fator de variação, os dentifrícios.

### *Formulação, determinação do pH e concentração de F nos dentifrícios*

Os dentifrícios foram manipulados com os seguintes componentes: dióxido de titânio, carboximetilcelulose, metil-p-hidroxibenzoato de sódio, sacarina, óleo de menta, glicerina, sílica abrasiva, lauril sulfato de sódio e água deionizada. Foram preparados dentifrícios contendo TMP (Aldrich Chemistry, CAS 7785-84-4, China) nas concentrações de 1; 3; 4,5; 6 e 9 %, com adição de F na concentração de 1100 ppm F sob a forma de NaF (Merck, CAS 7681-49-4, Alemanha). Além destes, foram preparados um dentifrício sem adição de TMP e F (placebo) e um dentifrício com 1100 ppm F sem TMP. As concentrações de F dos dentifrícios manipulados foram conferidas [26], assim como o pH



dos mesmos [27] (Anexo B).

### *Ciclagem de pH e tratamento com os dentifrícios*

Os blocos foram submetidos, em frascos individuais durante sete dias, a cinco ciclagens de pH, à temperatura de 37°C, permanecendo os últimos dois dias em solução remineralizadora [25]. A seguir foram imersos sob agitação constante, duas vezes ao dia durante 1 min, em suspensões de dentifrícios em água destilada/deionizada (1:3-peso: peso) quando removidos das soluções desmineralizadora (6 horas – Ca e P 2,0 mmol L<sup>-1</sup> em tampão acetato 0,075 mol L<sup>-1</sup>, 0,04 µg F/mL em pH 4,7 – 2,2 mL/mm<sup>2</sup>) e remineralizadora (18 horas – Ca 1,5 mmol L<sup>-1</sup>, P 0,9 mmol L<sup>-1</sup>, KCl 0,15 mol L<sup>-1</sup> em tampão cacodilato de sódio 0,02 mol L<sup>-1</sup>, 0,05 µg F/mL em pH 7,0 – 1,1 mL/mm<sup>2</sup>). Os blocos foram lavados com jatos de água destilada/deionizada por 30 s, tanto após remoção das soluções de ciclagem como das suspensões de dentifrício/água (Anexos E e F).

### *Análise da dureza do esmalte (Des>Re)*

A dureza de superfície foi determinada utilizando-se o microdurômetro Shimadzu Micro Hardness Tester HMV-2000 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan), com penetrador tipo Knoop, carga estática de 25 g e tempo de 10 segundos, acoplado ao Software para análise de imagem CAMS-WIN (New Age Industries, USA). Cinco impressões, separadas entre si por uma distância de 100 µm, foram realizadas na região central de cada bloco (SHi). Após a ciclagem de pH foram realizadas outras cinco impressões (SHf) distantes a 100 µm das impressões de SHi ( Anexo D). Para a análise da dureza em secção longitudinal, uma secção foi realizada no centro de cada bloco e uma das metades incluída em resina acrílica e polida. Foi utilizado microdurômetro Micromet 5114 hardness tester (Buehler, Lake Bluff, USA) e o software Buehler Omni Met (Buehler, Lake Bluff, USA), carga de 5 g por 10 s. Uma sequência de 14 impressões nas distâncias de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 70, 90, 110, 130, 220 e 330 µm da superfície externa do esmalte foi realizada na área central dos blocos [6] ( Anexo G). A área integrada da dureza (KHN x µm) da lesão até o esmalte hígido foi calculada utilizando a regra trapezoidal (Graph Pad Prism, versão 3.02) e subtraída da área integrada da dureza do esmalte hígido obtendo a perda integrada de dureza de subsuperfície (ΔKHN) [28]. A área integrada do perfil diferencial (i.e. os valores de dureza em profundidade dos dentifrícios com 1100 ppm F menos os valores de dureza do placebo) foi



determinada em duas regiões (5 – 10  $\mu\text{m}$ ; 20 – 130  $\mu\text{m}$ ) em profundidade na lesão, definindo os valores de  $\Delta\text{IH}$  [29].

### *Análise da concentração de F presente no esmalte*

Blocos (2x2 mm) obtidos a partir de uma das metades dos blocos (4x4mm) seccionados no sentido longitudinal foram fixados com cola adesiva em mandril para peça reta e uma camada de esmalte ( $57,5 \pm 0,05 \mu\text{m}$ ) foi removida [22, 30]. Foi utilizado um micrômetro eletrônico digital com saída (Starrett, São Paulo – SP) acoplado a uma base de microscópio. O desgaste foi realizado com disco de lixa autoadesiva (13 mm de diâmetro) de carbureto de sílica e granulação 400 (Buelher), fixado em frascos de poliestireno cristal (J-10, Injeplast, Brasil). Os frascos, após a adição de 1,0 mL de HCl  $1,0 \text{ mol/L}^{-1}$ , foram mantidos sob agitação constante durante 1 h e a seguir adicionado 1,0 mL de NaOH  $1,0 \text{ mol/L}^{-1}$  [22, 31]. Para análise de F foi utilizado eletrodo específico 9409BN (Thermo Scientific, Beverly, MA, EUA) e microeletrodo de referência (Analyser, São Paulo, Brasil) acoplados a um analisador de íons (Orion 720A+, Thermo Scientific, Beverly, MA, EUA). Os eletrodos foram previamente calibrados com padrões contendo 0,125 a 2,00  $\mu\text{g F/mL}$ , nas mesmas condições das amostras. As leituras foram realizadas com alíquotas de 500  $\mu\text{L}$  da solução da biópsia acrescidas com o mesmo volume de TISAB II. Os resultados foram expressos em  $\mu\text{g/mm}^3$  (Anexo H).

### *Análise estatística*

Para a análise estatística, utilizou-se o programa Sigma Plot (versão 12.0), com limite de significância estabelecido em 5%. Foram considerados como variáveis os valores de SHf,  $\Delta\text{KHN}$ ,  $\Delta\text{IH}$  e F no esmalte. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Cochran). Os dados de SHf,  $\Delta\text{KHN}$  e F no esmalte apresentaram distribuição heterogênea e foram submetidos à análise de Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls. Os resultados de  $\Delta\text{IH}$  apresentaram-se heterogêneos e foram submetidos à análise de variância a 2 critérios (fator de variação dentifício e região no esmalte) seguidos pelo teste de Student-Newman-Keuls).



### 3. RESULTADOS

As concentrações de flúor designadas como fluoreto total (FT) e iônico (FI) do dentifrício placebo foram respectivamente 9,5 (1,1) e 9,7 (0,4). Para os dentifrícios com 1100 ppm F os valores médios (DP) entre os grupos foram 1162,0 (44,1) e 1157,2 (16,8), respectivamente; variando entre 1111,0 e 1183,9 ppm F (Anexo I). O pH entre os grupos foi de 7,3 (0,3) com os valores variando entre 6,8 a 7,7 (Anexo J).

O valor médio (DP) da SHi (Anexo K) considerando todos os blocos foi 373,83 (0,22) kgf/mm<sup>2</sup> e não houve diferenças significativas entre as médias dos grupos ( $p=0,610$ ). Os resultados da SHf (Figura 1A, Anexo K) mostraram que a suplementação com TMP produziu um efeito máximo com 3% ( $p < 0,001$ ). Acima de 3% observou-se uma redução no efeito da suplementação (Figura 1A). A perda mineral em profundidade ( $\Delta$ KHN) apresentou um padrão de resultado similar ao encontrado com a análise da dureza de superfície (Figura 1B, Anexo L). Com a suplementação de 3% de TMP houve um efeito máximo ( $p < 0,001$ ) que reduziu com aumento da porcentagem do polifosfato na formulação. Mesmo com esta redução, a área da lesão permaneceu menor quando comparado ao dentifrício com 1100 ppm F ( $p < 0,001$ ).

Analisando os resultados da área integrada do perfil diferencial ( $\Delta$ IH), a suplementação produziu pouca alteração na dureza do esmalte na região mais externa do esmalte (5 - 10  $\mu$ m). Somente com a adição de 3% de TMP foi possível verificar um efeito melhor ( $p = 0,016$ ) quando comparado ao dentifrício 1100 ppm F (Figura 1D). Na região mais profunda da lesão (20 - 130  $\mu$ m) observou-se que a suplementação com TMP levou a uma perda mineral menor em relação ao dentifrício com 1100 ppm F. ( $p < 0,001$ ). A lesão em profundidade foi menor com a adição de 3% de TMP na formulação dentifrícia ( $p < 0,001$ ).

Os resultados de F presente no esmalte (Figura 1C, Anexo M) mostram que não houve diferenças estatísticas entre os grupos 1100 1%TMP, 1100 4,5%TMP, 1100 6%TMP e 1100 9%TMP quando comparados ao grupo 1100 ppm F ( $p > 0,286$ ). A adição de 3% de TMP ao dentifrício de 1100 ppm F proporcionou a maior presença de F no esmalte ( $p < 0,015$ ).



#### 4. DISCUSSÃO

Estudos têm mostrado que a adição de polifosfatos a formulações fluoretadas com reduzida concentração de fluoreto aumenta sua ação contra a desmineralização [22, 23, 27, 29, 32, 33]. Diante disso, o presente estudo testou a hipótese de que a adição de TMP, o qual é um polifosfato, a dentifrícios convencionais (1100 ppm F) elevaria sua capacidade de reduzir a perda mineral em um modelo de cárie *in vitro*. É importante entender que o modelo de ciclagem de pH apresenta limitações inerentes a todos os protocolos *in vitro*: não reproduzem as condições complexas do meio oral; os períodos de desmineralização e remineralização são mais rápidos, não são capazes de simular adequada eliminação do fluoreto e composição do fluido saliva/placa [34]. Assim, os dados obtidos usando este modelo (ou qualquer outro protocolo *in vitro*) deveriam ser considerados com cuidado devido às limitações descritas previamente. Entretanto, os modelos de ciclagem de pH são apropriados para avaliar o impacto de novos princípios ativos na ação anticárie de dentifrícios fluoretados, bem como sua associação com outros tratamentos cariostáticos [34].

Como observado em prévios estudos [22,23], a associação TMP/F aumentou a capacidade do dentifrício em reduzir a desmineralização do esmalte. A redução da perda mineral foi de 61% com a adição de TMP a 3% em relação ao dentifrício convencional (1100 ppm F) considerando os dados de dureza em secção longitudinal ( $\Delta$ KHN). Estes resultados podem ser explicados pela capacidade de adsorção do TMP ao esmalte formando uma camada protetora contra a difusão de ácidos para o interior do esmalte [23, 35, 36]. Porém, ao analisarmos os dados de dureza de superfície a redução foi menor, ao redor de 16%. Estudos mostram que a capacidade de ação do fluoreto se localiza na região mais externa da lesão de cárie de subsuperfície [23,37]. A associação TMP/F afeta o processo de desmineralização e remineralização na região mais profunda da lesão de cárie [23, 29]. No presente estudo observou-se que a desmineralização foi menor em profundidade quando o TMP esteve presente nas formulações (Figura 1D). Além de reduzir a difusão de ácido, o TMP adsorvido ao esmalte facilita a difusão de cálcio para o interior do esmalte [23,36], como também de fluoreto, de acordo com os resultados do presente estudo e do estudo de Takeshita *et al.*, 2011[23]. A adição de 1% de TMP a formulação elevou a concentração de fluoreto ao esmalte em 8% e em 31% com 3% de TMP. Entretanto, maior porcentagem de TMP na formulação dentifrícia não favoreceu a incorporação de fluoreto no esmalte e nem o efeito anticárie.



De acordo com Gonzalez [18], o TMP e o F não competem para os mesmos sítios de ligação na superfície do esmalte. Entretanto, estudo recente mostrou que o TMP pode competir com o fluoreto nos sítios de ligações na hidroxiapatita, como os sítios da hidroxila (dados não publicados)<sup>1</sup>. Isto pode interferir com a presença de fluoreto no esmalte, como observado no presente estudo. Como a adsorção dos polifosfatos ocorrem rapidamente [38] e compete com a adsorção do fluoreto, o TMP e F devem ser combinados em uma proporção molar adequada. O efeito sinérgico do TMP e do F parece ser dependente de sua incorporação nos dentifrícios em uma proporção adequada. Combinando 500 ppm F com TMP observou-se melhor eficácia quando comparado ao dentifrício 1100 ppm F com a proporção molar entre 1,2 a 3,7 [22]. Com concentração convencional de fluoreto na formulação (1100 ppm F) o equilíbrio da adsorção de TMP e fluoreto atinge um efeito máximo com 3% de TMP (proporção TMP/F: 1,7), diferente do que ocorre com 500 ppm F. Acima de 3% de TMP (proporções TMP/F: 2,5; 3,4 e 5,1), a força de ligação química da hidroxiapatita com o TMP supera a do fluoreto reduzindo o efeito sinérgico anticárie. Quando a concentração de fluoreto é aumentada para 3000 ppm F, a força de união ao esmalte é superior a do TMP a 3% não havendo uma melhora no efeito anticárie [23].

Diante das formulações dentifrícias testadas neste trabalho *in vitro*, a adição de 3% TMP a um dentifrício convencional (1100 ppm F) apresentou maior eficácia em reduzir a desmineralização do esmalte bovino.

## 5. REFERÊNCIAS

- [1] van Rijkom HM, Truin GJ, van't Hof MA (1998) A meta-analysis of clinical studies on caries-inhibiting effect of fluoride gel treatment. *Caries Res* 32:83-92.
- [2] Marinho VCC, Higgins, JPT, Logan S, Sheiham A (2003a) Systematic review of controlled trials on the effectiveness of fluoride gels for the prevention of dental caries in children. *J Dent Educ* 67:448-445.
- [3] Marinho VCC, Higgins JPT, Logan S, Sheiham A (2003b) Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels, varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 4: CD002782.

---

<sup>1</sup> Delbem ACB, Souza JAS, Zaze ACSF, Takeshita EM, Sasaki KT, Morais JCS Effect of trimetaphosphate and fluoride association on hydroxyapatite dissolution and precipitation *in vitro*. *Caries Res*. No prelo 2013.



- [4] Marinho VCC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S (2004) Combinations of topical fluoride (toothpastes mouthrinses, gels or varnishes) versus single topical fluoride for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 1: CD002781.
- [5] Ripa LW (1991) A critique of topical fluoride methods (dentifrices, mouthrinses, operator-, and self-applied gels) in an era of decreased caries and increased fluorosis prevalence. *J Public Health Dent Winter* 51:23-41.
- [6] Delbem ACB, Danelon M, Sasaki KT, Vieira AEM, Takeshita EM, Brighenti FL, Rodrigues E (2010) Effect of rinsing with water immediately after neutral gel and foam fluoride topical application on enamel remineralization: an in situ study. *Arch Oral Biol* 55:913-918.
- [7] Croll TP, Nicholson JW (2002) Glass ionomer cements in pediatric dentistry: review of the literature. *Pediatr Dent* 24:423-429.
- [8] Featherstone JDB, O'Really MM, Shariati M, Brugler et al (1986) Enhancement of remineralization in vitro and in vivo. In: Leach, S.A. Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth. Oxford: IRL Press, 23-34.
- [9] ten Cate JM (1990) In vitro studies on the effects of fluoride on de- and remineralization. *J Dent Res* 69:614-619
- [10] Narvai PC, Castellanos RA, Frazão P (2000) Prevalência de cárie em dentes permanentes de escolares no Município de São Paulo, SP, 1970-1996. *Rev Saúde Pública* 34:196-200.
- [11] Baldani MH, Vasconcelos AGG, Antunes JLF (2004) Association of the DMFT index with socioeconomic and dental services indicators in the state of Paraná, Brazil. *Cad Saude Publica*. 20:143-152.
- [12] Sogi GM, Bhaskar DJ (2002) Dental caries and oral hygiene status of school children in Davangere related to their socio-economic levels: an epidemiological study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 20:152-157.
- [13] Gillcrist JA, Brumley DE, Blackford JU (2001) Community socioeconomic status and children's dental health. *J Am Dent Assoc* 132:216- 222.
- [14] Dye BA, Tan S, Smith V, Lewis BG, Barker LK, Thornton-Evans G, *et al* (2007) Trends in oral health status: United States, 1988-1994 and 1999-2004. *Vital Health Stat* 248: 1- 92.



- [15] Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica, Coordenação Nacional de Saúde Bucal (2004) Projeto SB Brasil 2003—Condições de saúde bucal da população brasileira 2002–2003: resultados principais.
- [16] Ditmyer M, Dounis G, Mobley C, Schawarz E (2011) Inequalities of caries experience in Nevada da youth expressed by DMFT index vs. Significant Caries Index (Sic) overtime. BMC Oral Health. doi: 10.1186/1472-6831-11-12.
- [17] Rølla G, Ogaard B, Cruz Rde A (1991) Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes: a review. Int Dent J 41:171-174.
- [18] Gonzalez M (1971) Effect of trimetaphosphate ions on the process of mineralization. J Dent Res 50:1056-1064.
- [19] Gonzalez M, Jeansonne BG, Feagin FF (1973) Trimetaphosphate and fluoride actions on mineralization at the enamel-solution interface. J Dent Res 52:261-266.
- [20] Harris RS, Niizel AE, Walsh BN (1967) The effect of phosphate structure on dental caries development in rats. J Dent Res 46:290-294.
- [21] Larson RH, Spalter CD, Clemmer BA, Scherp HW (1972) Continuous versus intermittent feedings of differents levels of trimetaphosphate in relation to caries development in the rat. Arch Oral Biol 17:1537-1541.
- [22] Takeshita EM, Castro LP, Sasaki KT, Delbem ACB (2009) In vitro evaluation of dentifrice with low fluoride content supplemented with trimetaphosphate. Caries Res 43:50-56.
- [23] Takeshita EM, Exterkate RA, Delbem AC, ten Cate JM (2011) Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel de- and remineralization in vitro. Caries Res 45:494-497.
- [24] Delbem ACB, Cury JA (2002) Effect of application time of APF and NaF gels on microhardness and fluoride uptake of in vitro enamel caries. Am J Dent 15:169-172.
- [25] Vieira AE, Delbem AC, Sasaki KT, Rodrigues E, Cury JA, Cunha RF (2005) Fluoride dose response in pH-cycling models using bovine enamel. Caries Res 39:514-520.
- [26] Delbem AC, Bergamaschi M, Rodrigues E, Sasaki KT, Vieira AE, Missel EM (2012) Anticaries effect of dentifrices with calcium citrate and sodium trimetaphosphate. J App Oral Sci 20: 94–98. doi: 10.1590/S1678-77572012000100017.



- [27] Moretto MJ, Magalhaes AC, Sasaki KT, Delbem AC, Martinhon CC (2010) Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. *Caries Res* 44: 135 – 140.
- [28] Spiguel MH, Tovo MF, Kramer PF, Franco KS, Alves KM, Delbem AC (2009) Evaluation of laser fluorescence in the monitoring of the initial stage of the de-/remineralization process: an in vitro and in situ study. *Caries Res* 43:302–307.
- [29] Danelon, M, Takeshita, EM, Sasaki, KT, Delbem, ACB (2013) In situ evaluation of a low fluoride concentration gel with sodium trimetaphosphate in enamel remineralization. *Am J Dent* 2013; 26: 15-20.
- [30] Weatherell JA, Robinson C, Strong M, Nakagaki, H (1985) Micro-sampling by abrasion. *Caries Res* 19:97-102.
- [31] Alves KM, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FA, Buzalaf MA, Sasaki KT, Delbem AC (2007) In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res* 41:263-268.
- [32] Manarelli MM, Vieira AE, Matheus AA, Sasaki KT, Delbem AC (2011) Effect of mouth rinses with fluorides and trimetaphosphate on enamel erosion: an in vitro study. *Caries Res* 46:506-509.
- [33] Amaral JG, Sasaki KT, Martinhon CCR, Delbem ACB (2013) Effect of low-fluoride dentifrices supplemented with calcium glycerophosphate on enamel demineralization in situ. *Am J Dent* 26: 000–000. (In Press)
- [34] Buzalaf, MAR, Hannas, AR, Magalhães, AC, Rios, D, Honório MH, Delbem, ACB (2010) pH-cycling models for in vitro evaluation of the efficacy of fluoridated dentifrices for caries control: strengths and limitations. *J Appl Oral Sci* 18:316-334.
- [35] McGaughey C, Stowell EC (1977) Effects of polyphosphates on the solubility and mineralization of HA: relevance to a rationale for anticaries activity. *J Dent Res* 56:579-587.
- [36] van Dijk JW, Borggreven JM, Driessens FC (1980) The effect of some phosphates and a phosphonate on the electrochemical properties of bovine enamel. *Arch Oral Biol* 25:591-595.
- [37] Altenburger MJ, Schirrmeister JF, Wrbas KT, Klasser M, Hellwig E (2008) Fluoride uptake and remineralisation of enamel lesions after weekly application of differently concentrated fluoride gels. *Caries Res* 42:312-318.
- [38] Anbar M, Farley EP, Denson DD, Maloney KR (1979) Localized fluoride release from fluoride-carrying polyphosphonates. *J Dent Res* 58:1134-1145.

FIGURA 1 (A-D)

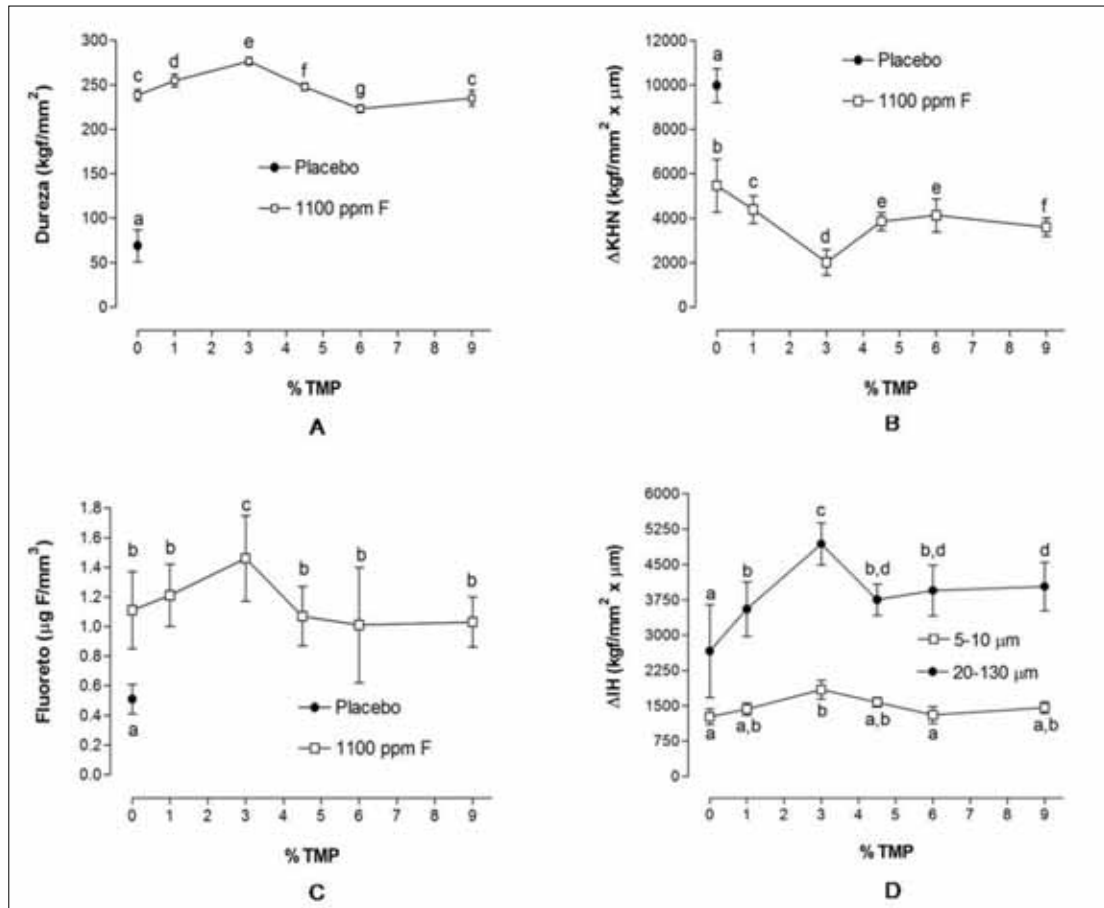


Figura 1. Valores médios (n=12) da (A) dureza de superfície após ciclagem de pH (SHf), (B) dureza integrada de subsuperfície ( $\Delta$ KHN), (C) fluoreto presente no esmalte e (D) dureza integrada ( $\Delta$ IH) nas regiões entre 5-10  $\mu$ m e 20-130  $\mu$ m. Barras verticais denotam o desvio-padrão (Student-Newman-Keuls,  $p < 0,05$ ).

*ANEXOS*



## *ANEXO A*

### *Normas do Periódico Clinical Oral Investigations*

#### Instructions for Authors

##### TYPES OF PAPERS

Papers may be submitted for the following sections:

- Original articles
- Invited reviews
- Short communications
- Letters to the editor

It is the general policy of this journal not to accept case reports and pilot studies.

##### EDITORIAL PROCEDURE

If you have any questions please contact:

Prof. Dr. G. Schmalz

University of Regensburg

Department of Conservative Dentistry and Periodontology

Franz-Josef-Strauß-Allee 11

93053 Regensburg

Germany

E-mail: [gottfried.schmalz@klinik.uni-regensburg.de](mailto:gottfried.schmalz@klinik.uni-regensburg.de)

Tel.:

Fax: +49 941 9446025

##### MANUSCRIPT SUBMISSION

##### Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its



publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

### **Permissions**

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

### **Online Submission**

Authors should submit their manuscripts online. Electronic submission substantially reduces the editorial processing and reviewing times and shortens overall publication times. Please follow the hyperlink “Submit online” on the right and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

### **Further Useful Information**

The Springer Author Academy is a set of comprehensive online training pages mainly geared towards first-time authors. At this point, more than 50 pages offer advice to authors on how to write and publish a journal article.

Springer Author Academy

#### **TITLE PAGE**

The title page should include:

- The name(s) of the author(s)
- A concise and informative title
- The affiliation(s) and address (es) of the author(s)
- The e-mail address, telephone and fax numbers of the corresponding author

#### **Abstract**

Please provide a structured abstract of 150 to 250 words which should be divided into the following sections:

Objectives (stating the main purposes and research question)



Materials and Methods

Results/Conclusions

Clinical Relevance

These headings must appear in the abstract.

### **Keywords**

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

### **TEXT**

#### **Text Formatting**

Manuscripts should be submitted in Word.

Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.

Use italics for emphasis.

Use the automatic page numbering function to number the pages.

Do not use field functions.

Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.

Use the table function, not spreadsheets, to make tables.

Use the equation editor or MathType for equations.

Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX.

#### **Headings**

Please use no more than three levels of displayed headings.

#### **Abbreviations**

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

#### **Footnotes**

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by Superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols. Always use footnotes instead of endnotes.



## Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section before the reference list. The names of funding organizations should be written in full.

## REFERENCES

### Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].
2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].
3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

### Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text. Do not use footnotes or endnotes as a substitute for a reference list.

The entries in the list should be numbered consecutively.

#### Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. *Eur J Appl Physiol* 105:731-738. doi: 10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. *N Engl J Med* 965:325–329

#### Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. *J Mol Med*. doi:10.1007/s001090000086

#### Book

South J, Blass B (2001) *The future of modern genomics*. Blackwell, London



Book chapter.

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. <http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1>. Accessed 26 June 2007

Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California

Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title

Word Abbreviations, see

[www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php](http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php)

For authors using EndNote, Springer provides an output style that supports the formatting of intext citations and reference list.

**EndNote style (zip, 2 kB)**

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibtex file `spbasic.bst` which is included in Springer's LaTeX macro package.

## TABLES

All tables are to be numbered using Arabic numerals.

Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.

For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.

The entries in the list should be numbered consecutively.

Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body

.



## ARTWORK AND ILLUSTRATIONS GUIDELIN

For the best quality final product, it is highly recommended that you submit all of your artwork –photographs, line drawings, etc. – in an electronic format. Your art will then be produced to the highest standards with the greatest accuracy to detail. The published work will directly reflect the quality of the artwork provided.

### Electronic Figure Submission

Supply all figures electronically.

Indicate what graphics program was used to create the artwork.

For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format.

MS Office files are also acceptable.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

### Line Art

Definition: Black and white graphic with no shading.

Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.

All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.

Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.

Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

### Halftone Art

- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.

If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.

- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.

- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.



### **Color Art**

- Color art is free of charge for online publication.
- If black and white will be shown in the print version, make sure that the main information will still be visible. Many colors are not distinguishable from one another when converted to black and white. A simple way to check this is to make a xerographic copy to see if the necessary distinctions between the different colors are still apparent.
- If the figures will be printed in black and white, do not refer to color in the captions.
- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

### **Figure Lettering**

To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).

Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).

Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.

Avoid effects such as shading, outline letters, etc.

Do not include titles or captions within your illustrations.

### **Figure Numbering**

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.
- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures, "A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices (Electronic Supplementary Material) should, however, be numbered separately.

### **Figure Captions**

Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.

Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.

No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.



Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.

Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

### **Figure Placement and Size**

- When preparing your figures, size figures to fit in the column width.
- For most journals the figures should be 39 mm, 84 mm, 129 mm, or 174 mm wide and not higher than 234 mm.
- For books and book-sized journals, the figures should be 80 mm or 122 mm wide and not higher than 198 mm.

### **Permissions**

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format. Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

### **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1



## ELECTRONIC SUPPLEMENTARY MATERIAL

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

### **Submission**

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.

### **Audio, Video, and Animations**

- Always use MPEG-1 (.mpg) format.

### **Text and Presentations**

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

### **Spreadsheets**

- Spreadsheets should be converted to PDF if no interaction with the data is intended.
- If the readers should be encouraged to make their own calculations, spreadsheets should be submitted as .xls files (MS Excel).

### **Specialized Formats**

- Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

### **Collecting Multiple Files**

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

### **Numbering**

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.



- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation

(Online Resource 3)", "... additional data are given in Online Resource 4”.

- Name the files consecutively, e.g. “ESM\_3.mpg”, “ESM\_4.pdf”.

### **Captions**

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

### **Processing of supplementary files**

Electronic supplementary material will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

### **Accessibility**

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material
- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

### **CONFLICT OF INTEREST**

Authors must indicate whether or not they have a financial relationship with the organization that sponsored the research. This note should be added in a separate section before the reference list.

If no conflict exists, authors should state: The authors declare that they have no conflict of interest.

### **DOES SPRINGER PROVIDE ENGLISH LANGUAGE SUPPORT?**

Manuscripts that are accepted for publication will be checked by our copyeditors for spelling and formal style. This may not be sufficient if English is not your native language and substantial editing would be required. In that case, you may want to have your manuscript edited by a native speaker prior to submission. A clear and concise language will help editors and reviewers concentrate on the scientific content of your paper and thus smooth the peer review process.



The following editing service provides language editing for scientific articles in all areas Springer publishes in.

Use of an editing service is neither a requirement nor a guarantee of acceptance for publication.

Please contact the editing service directly to make arrangements for editing and payment.

#### AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of your article you will receive a link to the special Author Query Application at Springer's web page where you can sign the Copyright Transfer Statement online and indicate whether you wish to order OpenChoice and offprints.

Once the Author Query Application has been completed, your article will be processed and you will receive the proofs.

#### **Open Choice**

In addition to the normal publication process (whereby an article is submitted to the journal and access to that article is granted to customers who have purchased a subscription), Springer now provides an alternative publishing option: Springer Open Choice. A Springer Open Choice article receives all the benefits of a regular subscription-based article, but in addition is made available publicly through Springer's online platform Springer Link.

#### **Springer Open Choice**

##### **Copyright transfer**

Authors will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher (or grant the Publisher exclusive publication and dissemination rights). This will ensure the widest possible protection and dissemination of information under copyright laws.

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

##### **Offprints**

Offprints can be ordered by the corresponding author.

##### **Color illustrations**

Publication of color illustrations is free of charge.

**Proof reading**

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

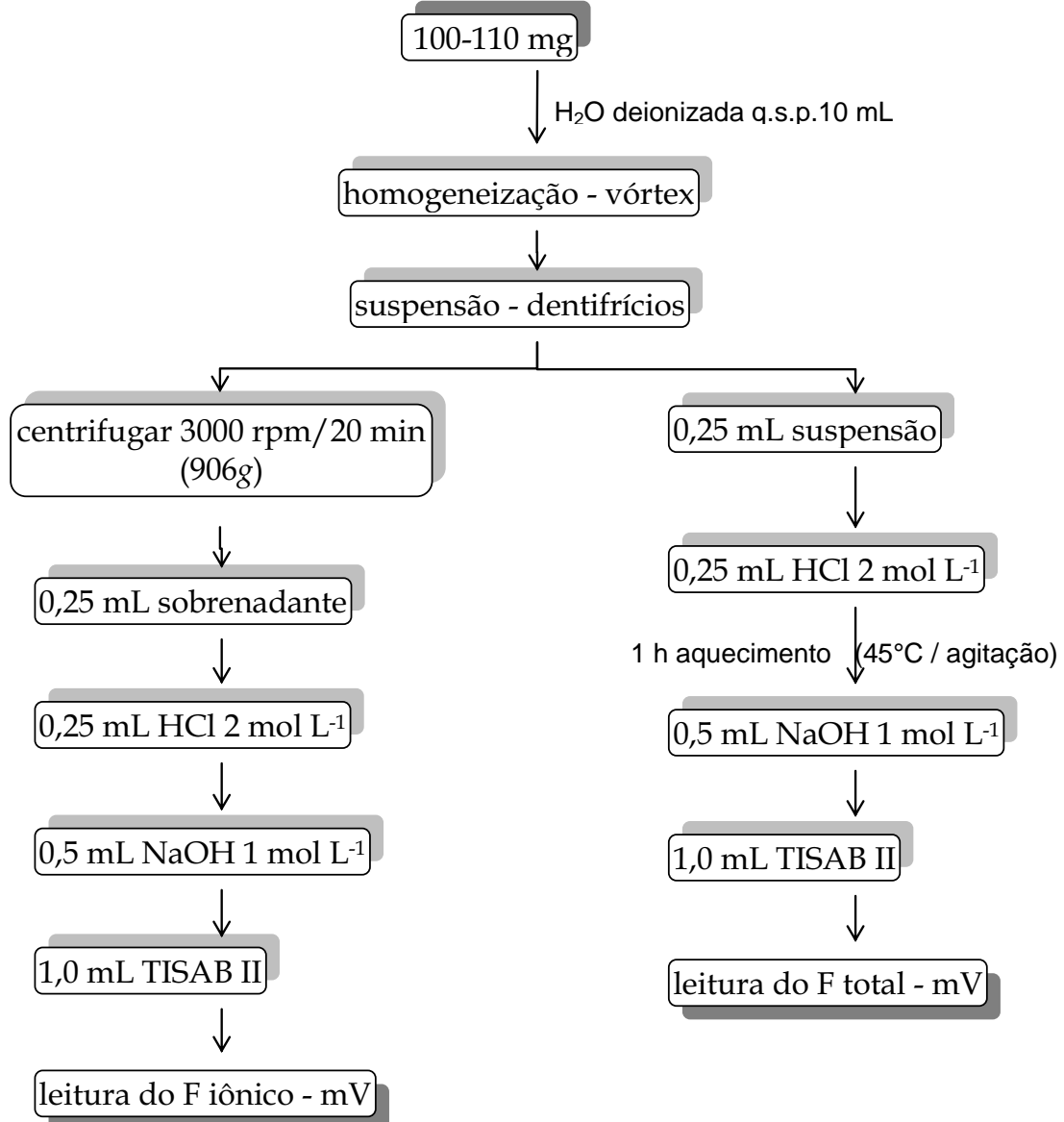
After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

**Online First**

The article will be published online after receipt of the corrected proofs. This is the official first publication citable with the DOI. After release of the printed version, the paper can also be cited by issue and page numbers.

## ANEXO B

## DOSAGEM DE F NOS DENTIFRÍCIOS



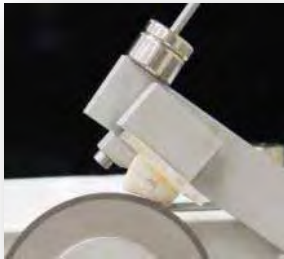


## *ANEXO C*

### *OBTENÇÃO E PREPARO DOS BLOCOS DE ESMALTE* *Confecção dos blocos de esmalte bovino (4 x 4 mm)*



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

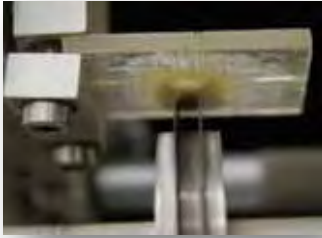


2. Secção da coroa utilizando disco diamantado (série 15 HC Diamond - n. 11-4244 Buehler) separando a superfície vestibular da lingual.



3. Face vestibular fixada na placa de acrílico.

---



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



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



## ANEXO C

### OBTENÇÃO E PREPARO DOS BLOCOS DE ESMALTE *Planificação da dentina e polimento do esmalte*



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



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



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



### *Sequência do polimento de esmalte*

1. Pedra-pomes, água deionizada e taça de borracha montada em contra-ângulo em baixa-rotação;
2. Na Politriz APL-4 AROTEC - lixa de granulação 600, 800 e 1200 (30 segundos – 2 pesos) e refrigeração a água. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/ deionizada por 2 minutos, entre cada lixa;
3. Na Politriz APL-4 AROTEC - acabamento final com disco de papel feltro TEXMET 1000 (Buehler Polishing Cloth) (1 minuto – 2 pesos) e suspensão de diamante 1 micron base-água (Buehler);
4. Limpeza em lavadora ultrassônica utilizando solução detergente (Ultramet Sonic Cleaning Solution - Buehler) diluída 20:1 em água destilada/deionizada (2 minutos);
5. Lavagem durante 30 segundos com jato de água destilada/ deionizada.



*ANEXO D*

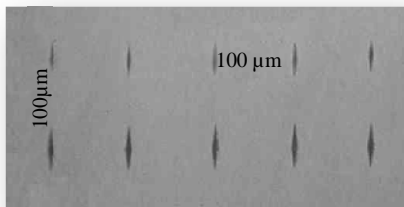
*ANÁLISE DE DUREZA SUPERFICIAL INICIAL (SHi E FINAL (SHf)*



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



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



3. Fotomicrografia das impressões para análise de dureza inicial e final do esmalte (Aumento: 100x).



## ANEXO E

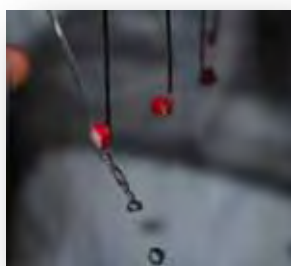
### CICLAGEM DE pH (Des>Re)



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



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



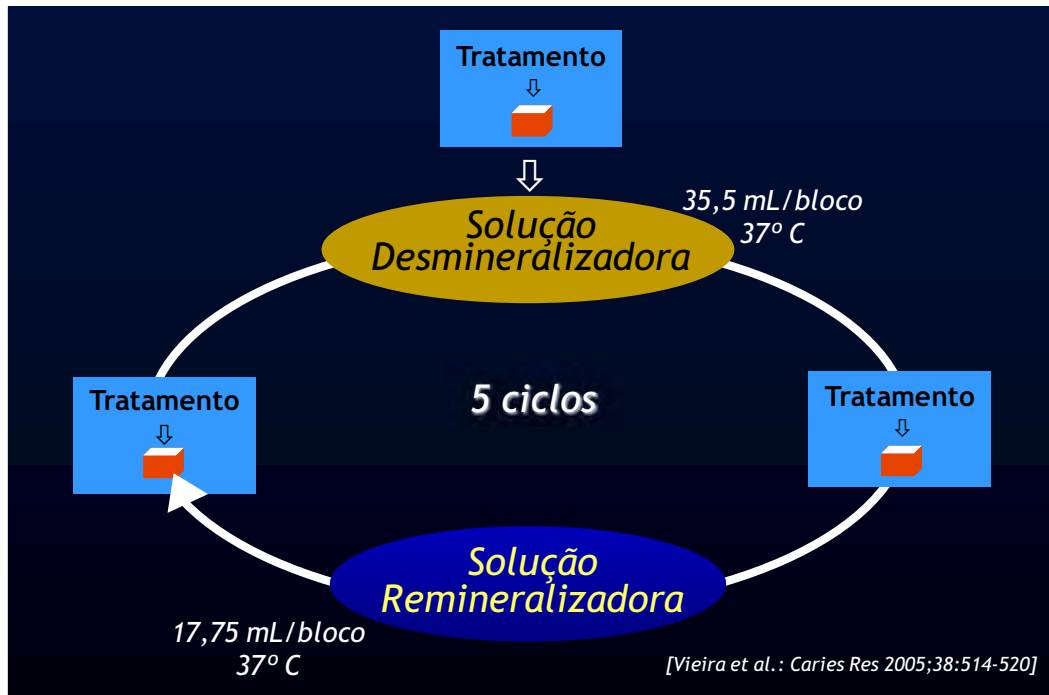
3. Lavagem dos blocos de esmalte antes e após os tratamentos, durante 30 s com água deionizada.



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

## ANEXO F

### ESQUEMA REPRESENTATIVO DA CICLAGEM DE pH (Des > Re)





## ANEXO G

### ANÁLISE DA DUREZA EM SECCÃO LONGITUDINAL



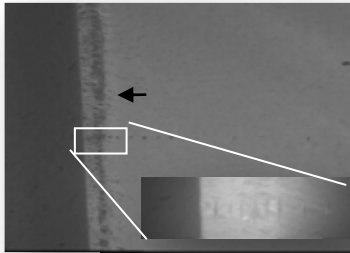
1. Embutidora metalográfica (AROTEC PRE 30S) – utilizada para inclusão dos blocos de esmalte em 5 gramas de resina acrílica (Buehler Transoptic Powder, Lake Bluff, Illinois, USA), pressão de 150 Kgf/cm<sup>2</sup>, tempo de aquecimento de 7 minutos e mais 7 minutos de resfriamento. Os blocos foram fixados em posição com cola adesiva (Super Bonder – Loctite).



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



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



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

### *Sequência do polimento de esmalte:*

1. Lixas de granulação 320 (1 min), 600, 800 e 1200 (2min) e refrigeração a água;
2. Limpeza em lavadora ultrassônica e água destilada/ deionizada por 2 min, entre cada lixa;
3. Acabamento final com disco de papel feltro Microcloth Supreme PSA (Buehler) durante 2 min com suspensão de diamante 1/4 micron base-água (Buehler);
4. Lavagem durante 30 s com jato de água deionizada;
5. Limpeza em lavadora ultrassônica utilizando água destilada/deionizada (2 min).



## ANEXO H

### ANÁLISE DE CONCENTRAÇÃO DE F NO ESMALTE (F)



1. Micrômetro eletrônico digital com saída (Starrett, São Paulo – SP) acoplado a uma base de microscópio.



2. Bloco fixado em mandril para peça reta.



3. Bloco de esmalte adaptado ao mandril, sendo submetido à microabrasão, com desgaste de 50  $\mu\text{m}$ , para análise do F no esmalte.

---



4. Após desgaste, pó de esmalte presente na lixa adaptada em frascos de poliestireno cristal (J - 10, Injeplast, Brasil).



5. Para análise do conteúdo de F no esmalte utilizou-se:

- Eletrodo específico Orion 9409-BN (Orion Research, Inc., Beverly, MA, EUA).
  - Microeletrodo de referência (Analyser Comércio e Indústria LTDA, São Paulo, SP).
  - Analisador de íons Orion 720A (Orion Research, Inc.).
-

*ANEXO I**DOSAGEM DE FLUORETO NOS DENTÍFRÍCIOS*

Valores de fluoreto (FI) e (FT) nos dentífrícos experimentais

<b>Dentífrícos</b>	<b>FI (ppm F)</b>	<b>FT ( ppm F)</b>
Placebo	9,7± 0,41 (2)	9,5 ± 1,06 (2)
1100 ppm F	1238,1 ± 53,92 (2)	1132,7 ± 34,72 (2)
1100 ppm F + 1% TMP	1171,6 ± 80,75 (2)	1153,2 ± 78,65 (2)
1100 ppm F+ 3% TMP	1171 ± 26,83 (2)	1183,9 ± 47,38 (2)
1100 ppm F + 4,5% TMP	1129,9 ± 8,49 (2)	1150,8 ± 24,66 (2)
1100 ppm F+ 6% TMP	1111,0 ± 18,63 (2)	1162,0 ± 6,42 (2)
1100 ppm F+ 9% TMP	1150,6 ± 33,30 (2)	1160,7 ± 39,01 (2)

*ANEXO J**DETERMINAÇÃO DE pH NOS DENTIFRÍCIOS*

Valores de pH nos dentifrícios experimentais

<b>Dentifrícios</b>	<b>pH</b>
Placebo	7,58± 0,11 (2)
1100 ppm F	7,71 ± 0,01 (2)
1100 ppm F + 1% TMP	7,62 ± 0,02 ( 2)
1100 ppm F + 3% TMP	7,41 ± 0,01 (2)
1100 ppm F + 4,5% TMP	7,05 ± 0,23 (2)
1100 ppm F + 6,0% TMP	7,21 ± 0,01 (2)
1100 ppm F + 9,0% TMP	6,83 ± 0,01 (2)

## ANEXO K

## VALORES DE DUREZA DE SUPERFÍCIE INICIAL E FINAL (SHi e SHf)

## SHi

Bloco	Placebo	1100	1100 + 1%TMP	1100 + 3%TMP	1100 + 4,5%TMP	1100 + 6%TMP	1100 + 9%TMP
1	373,20	375	375,4	373,20	373,6	374	374,6
2	375,00	373,6	373,6	372,60	371,6	373,8	374,4
3	375,40	374,6	374,4	375	373,6	375	374,2
4	373,60	375	373,6	376,2	374,6	370	373,6
5	373,60	374,6	374,8	373,6	372,2	373,6	373,2
6	372,6	374,2	374,6	372,2	372,2	374	375
7	372,6	372,6	374,6	373,6	375,6	373,2	375
8	375,4	374,2	373,6	372,6	372,2	374	373,4
9	374,60	374,6	373	375,4	375,6	374	373,6
10	375	374,4	374,4	374,6	376,2	374,4	372,2
11	372,6	374,8	374,2	373,4	374,6	373,2	374,2
12	372,4	373,2	374	375	374,8	373,8	372,6
média	373,83	374,23	374,18	373,95	373,9	373,58	373,83
d.p	1,18	0,74	0,66	1,27	1,57	1,23	0,89

## SHf

Bloco	Placebo	1100	1100 + 1%TMP	1100 + 3%TMP	1100 + 4,5%TMP	1100 + 6%TMP	1100 + 9%TMP
1	73,00	234,40	263,00	274,60	251,2	219,40	213,2
2	72,00	229,60	251,20	274,40	244,6	219,20	236,8
3	74,20	232,00	266,00	276,20	249,4	225,60	247,60
4	73,80	235,20	266,20	271,20	243,6	221,40	236,80
5	71,20	229,20	253,20	272,00	247,2	220,40	240,40
6	96,40	245,00	244,40	276,60	244,0	235,4	239,8
7	69,40	244,40	246,00	272,20	257,0	226,2	234,4
8	61,00	245,20	252,20	273,40	252,2	221,6	236,4
9	17,40	241,20	253,20	280,20	245,8	221,2	224,2
10	71,20	249,60	255,60	282,60	249,2	224,8	237,8
11	74,40	240,40	256,80	281,60	246,2	220,0	239,4
12	73,8	235,60	250,40	283,8	256,8	222,6	232,2
média	68,98	238,48	254,85	276,57	248,9	223,15	218,49
d.p	18,13	6,74	7,12	4,42	4,62	4,52	8,77

## ANEXO L

VALORES DE DUREZA EM SECCÃO LONGITUDINAL  
(Perda integrada de dureza de subsuperfície -  $\Delta KHN$ ) $\Delta KHN$ 

Blocos	Placebo	1100	1100 + 1%TMP	1100 + 3%TMP	1100 + 4,5%TMP	1100 + 6%TMP	1100 + 9%TMP
1	10002,3	3552,5	4157,5	787,8	3154,5	3095,3	3827,5
2	11243,0	6367,5	3974,0	1554,5	3931,0	4082,3	3647,3
3	9954,3	6984,8	4565,5	2217,3	3972,8	4125,5	2855,3
4	10151,3	5530,8	3205,5	2798,8	4401,0	5012,0	3674,0
5	10076,8	5291,8	5522,3	1807,5	3985,3	3850,8	3864,8
6	9561,8	4163,3	4767,3	2318,8	4397,8	5331,3	3222,3
7	9306,0	5125,5	4549,0	1900,8	3421,5	4663,8	4321,0
8	8828,5	4295,8	3934,5	2366,5	4054,0	3244,0	3289,0
9	11161,8	6849,3	4737,5	1763,8	3641,5	4416,3	3413,8
10	9472,8	6456,5	4473,8	2602,3	3584,5	3456,3	3834,3
11	10073,3	6249,0	3541,8	3007,3	3928,5	3643,0	2708,8
12	9009,8	6158,5	4232,8	2652,3	4369,3	4110,5	3371,8
<b>média</b>	<b>9975,8</b>	<b>5461,8</b>	<b>4388,7</b>	<b>2011,8</b>	<b>3854,4</b>	<b>4127,7</b>	<b>3594,9</b>
d.p	763,3	1196,9	618,8	582,4	403,6	743,7	412,7

*ANEXO M**VALORES DE FLUORETO PRESENTE NO ESMALTE (F)**F*

<b>Blocos</b>	<b>Placebo</b>	<b>1100</b>	<b>1100 + 1%TMP</b>	<b>1100 + 3%TMP</b>	<b>1100 + 4,5%TMP</b>	<b>1100 + 6%TMP</b>	<b>1100 + 9%TMP</b>
1	0,5666	1,0321	1,0844	1,3956	1,0314	0,7226	0,8625
2	0,5735	0,9222	1,4337	1,0127	1,1287	1,2852	1,2578
3	0,5774	0,8141	1,3687	1,8299	1,1666	1,4466	1,0602
4	0,4731	0,7523	1,4196	1,3732	0,9725	0,9113	1,3341
5	0,5686	1,2168	1,0382	1,0162	1,6144	0,9377	1,1222
6	0,5910	0,8737	1,0114	1,8463	0,8642	0,9108	1,0598
7	0,4118	1,2432	1,5279	1,2964	0,9578	0,6986	0,8005
8	0,5898	1,4747	1,3454	1,4800	0,9845	1,1940	0,8868
9	0,4236	0,9832	1,1164	1,8720	1,0715	1,5220	1,1306
10	0,5910	1,6072	1,2153	1,5193	1,0130	1,3779	1,0995
11	0,2679	1,1925	1,0451	1,2806	1,2301	0,1568	0,8819
12	0,4528	1,2403	0,8613	1,5816	0,8652	0,9046	0,8489
<b>Média</b>	<b>0,5073</b>	<b>1,1127</b>	<b>1,2056</b>	<b>1,4586</b>	<b>1,0750</b>	<b>1,0057</b>	<b>1,0287</b>
<b>dp</b>	0,10	0,26	0,21	0,29	0,20	0,39	0,17