

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 25/10/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

MARCELA MACEDO NUNES

**Síntese e caracterização de ciclotrifosfato de sódio contendo cálcio e seu  
efeito na prevenção da erosão do esmalte *in vitro***

ARAÇATUBA  
2021

MARCELA MACEDO NUNES

**Síntese e caracterização de ciclotrifosfato de sódio contendo cálcio e seu efeito na prevenção da erosão do esmalte *in vitro***

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

**Orientador:** Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem  
**Coorientadora:** Prof.<sup>a</sup> Associada Denise Pedrini

ARAÇATUBA  
2021

Catálogo-na-Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

N972s Nunes, Marcela Macedo.  
Síntese e caracterização do ciclotrifosfato de sódio contendo cálcio e seu efeito na prevenção da erosão do esmalte in vitro / Marcela Macedo Nunes. - Araçatuba, 2021  
39 f. : il. ; tab.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Orientador: Prof. Alberto Carlos Botazzo Delbem  
Coorientadora: Profa. Denise Pedrini

1. Esmalte dentário 2. Fosfatos 3. Cálcio 4. Fluoretos  
5. Erosão dentária I. T.

Black D27  
CDD 617.645

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho,*

Aos meus pais **Marcelo Almeida Nunes** e **Maria Tereza Coelho Macedo Nunes**, que sem o amor, dedicação e incentivo esse sonho não seria possível. Obrigada por todo o esforço investido na minha educação, poder contar com o apoio de vocês é uma das melhores coisas da vida, obrigada!

Á minha tia e madrinha **Viviane Coelho Macedo**, que sempre esteve presente em todos os momentos da minha vida, sendo meu exemplo e inspiração.

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

### **À Deus**

Por sempre me mostrar o caminho certo, com saúde e força para concluir mais este desafio.

### **À toda a minha família,**

Agradeço a compreensão com a minha ausência durante todo esse tempo. Obrigada pelo profundo apoio e amor de vocês.

### **À minha irmã,**

#### **Daniela Macedo Nunes,**

Por sempre me apoiar e incentivar, obrigada pela companhia, mesmo estando longe, pelos conselhos e pelos momentos juntas.

### **Ao meu orientador,**

#### **Professor Alberto Carlos Botazzo Delbem,**

Obrigada por todo tempo dedicado à elaboração deste projeto, por todos os ensinamentos, pela paciência de me atender sempre que eu o procurei, pelo suporte, pelas suas correções e incentivos. Apesar de todos os desafios, foi graças a sua inteligência e dedicação que este trabalho pôde ser concluído.

### **À minha coorientadora,**

#### **Professora Denise Pedrini,**

Obrigada por ter me acompanhado durante todo esse caminho. Agradeço por cada minuto da sua atenção e dedicação. O seu apoio, carinho e orientação fizeram toda a diferença, obrigada por tudo professora.

### **Aos docentes da Disciplina de Odontopediatria,**

Ao **Professor Robson Frederico Cunha**, a **Professora Cristiane Duque** e ao **Professor Juliano Pelim Pessan**, obrigada por todo o conhecimento transmitido, pelo carinho e atenção que contribuíram com a minha formação acadêmica e profissional.

**À Thayse e Priscila,**

Obrigada por toda a ajuda, paciência e dedicação, vocês foram peças fundamentais no desenvolvimento deste projeto. Poder contar com o apoio e o conhecimento de vocês foi essencial. Obrigada.

**A todos os amigos da Pós-Graduação,**

Quero agradecer por toda a ajuda e amizade durante esses anos, obrigada por me acolherem com tanto carinho.

**Aos funcionários do departamento de Odontopediatria,  
Luizinho, Mário e Ricardo,**

Muito obrigada por todo o auxílio, cuidado e paciência.

**Ao Prof. Dr. João Carlos Silos Moraes e ao Técnico de laboratório Elton José Souza da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Campus de Ilha Solteira,**

Obrigada pelo tempo dedicado à leitura das amostras, pelos ensinamentos e pela a utilização do aparelho de Microscopia Eletrônica de Varredura.

**À seção de Pós-Graduação,**

Cristiane e Camila, muito obrigada por toda atenção e paciência.

**À Faculdade de Odontologia de Araçatuba,**

Nas pessoas dos professores: Prof. Titular Glauco Issamu Miyahara, digníssimo Diretor e Prof. Titular Alberto Carlos Botazzo Delbem, digníssimo Vice-Diretor.

**Ao Curso de Pós-Graduação em Ciência Odontológica da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP,**

Na pessoa do Coordenador Prof. Assoc. Juliano Pelim Pessan.

**À Capes - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**

(Código de financiamento 001) pelo investimento à pesquisa.

**Ao Frigorífico FRIBOI,**

Pela permissão da coleta dos dentes bovinos.

## **EPÍGRAFE**

“Quando você elimina o impossível, o que restar, não importa o quão improvável,  
deve ser a verdade.”

Arthur Conan Doyle

NUNES, M.M. **Síntese e caracterização de ciclotrifosfato de sódio contendo cálcio e seu efeito na prevenção da erosão do esmalte *in vitro***. 2021. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

## **RESUMO**

O objetivo do presente estudo foi sintetizar e caracterizar ciclotrifosfato de sódio (NaTMP) contendo cálcio, e verificar seu efeito utilizando modelo de lesões iniciais de erosão do esmalte. Os ciclotrifosfatos contendo cálcio (CaNaTMP) foram sintetizados utilizando coluna para cromatografia e adição de sobrenadante de solução contendo hidróxido de cálcio e analisados por meio de microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de raios-X por dispersão de energia. Para determinar o efeito sobre lesões erosivas iniciais, blocos de esmalte bovino sadios (n=96) foram selecionados por dureza de superfície inicial e divididos em 8 grupos experimentais (12 blocos/grupo): controle (água deionizada), 0,24% NaF (1100 ppm F), 0,25%, 0,5% e 1% de NaTMP e CaNaTMP nas mesmas concentrações. Os blocos de esmalte foram imersos em 4 mL das soluções experimentais durante 2 minutos, seguidos por 4 desafios erosivos (ácido cítrico, 0,75%, pH 3,5, por 1 minuto, sob agitação). A porcentagem de perda da dureza de superfície (%SH) foi calculada após cada desafio ácido. Os dados foram submetidos à análise de variância de medidas repetidas a dois critérios, seguida pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). O processo de síntese levou a substituição de átomos de Na por átomos de Ca e as partículas apresentaram tamanhos homogêneos. As soluções contendo 0,25%, 0,5% e 1% CaNaTMP apresentaram menor %SH quando comparadas as suas contrapartes sem cálcio ( $p < 0,001$ ), após os quatro desafios erosivos. Quando comparado a solução contendo 1100 ppm F, as soluções 0,5% e 1% CaNaTMP promoveram redução na perda de dureza ( $p < 0,001$ ). Concluiu-se que soluções contendo CaNaTMP promoveram efeitos protetores superiores em comparação ao grupo 1100 ppm F sobre lesões iniciais do esmalte.

**Palavras-chave:** Esmalte Dentário, Fosfatos, Cálcio, Fluoretos, Erosão Dentária, Dentifrícios.

NUNES, M.M. **Synthesis and characterization of calcium-containing sodium cyclotriphosphate and its effect on preventing enamel erosion *in vitro***. 2021. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2021.

## **ABSTRACT**

The objective of the present study was to synthesize and characterize sodium cyclotriphosphate (NaTMP) containing calcium and verify its effect using an initial enamel erosion model. Cyclotriphosphate containing calcium (CaNaTMP) was synthesized using column chromatography, and addition of a solution with calcium hydroxide supernatant and analyzed by scanning electron microscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy. To determine the effect on enamel initial erosion, sound bovine enamel blocks (n=96) were selected by initial surface hardness and divided into 8 experimental groups (12 blocks/group): control (deionized water), 0.24% NaF (1100 ppm F), 0.25%, 0.5% and 1% NaTMP and CaNaTMP at the same concentrations. The enamel blocks were immersed in 4 mL of the experimental solutions for 2 minutes followed by 4 erosive challenges (citric acid, 0.75%, pH 3.5, for 1 minute, under stirring). The percentage of surface hardness variation (%SH) was calculated after each acid challenge. Data were subjected to two-way repeated measures analysis of variance, followed by Tukey's test ( $p < 0.05$ ). The synthesis process led to the replacement atoms of Na by atoms of Ca with particles having, homogeneous sizes. The solutions containing 0.25%, 0.5% and 1% CaNaTMP promoted lower %SH when compared to their counterparts without calcium ( $p < 0.001$ ), after the four erosive challenges. When compared to the solution containing 1100 ppm F, the 0.5% and 1% CaNaTMP solutions were superior in reducing hardness loss ( $p < 0.001$ ). It was concluded that solutions containing CaNaTMP led to superior protective effects compared to the 1100 ppm F group on initial enamel erosion.

**Keywords:** Dental Enamel, Phosphates, Calcium, Fluorides, Dental Erosion, Dentifrices.

## LISTA DE FIGURAS

- |                 |  |    |
|-----------------|--|----|
| <b>Figura 1</b> | Ilustração da análise da dureza de superfície após a preparação dos blocos de esmalte (SHi), pós-tratamento (SHt), e após o 1º, 2º, 3º e 4º desafio erosivo (SHd).   | 16 |
| <b>Figura 2</b> | Fotomicrografia de microscopia eletrônica de varredura das amostras NaTMP (A) e CaNaTMP (B), e respectivos histogramas de EDS (C e D).   | 19 |
| <b>Figura 3</b> | Valores médios (DP) da porcentagem de alteração da dureza de superfície no esmalte de acordo com os grupos e condições experimentais. Letras minúsculas distintas indicam uma diferença significativa entre os tratamentos e as condições experimentais (ANOVA, Tukey, $p < 0,05$ , $n = 12$ ).                                    | 21 |
| <b>Figura 4</b> | Fotomicrografias representativas obtidas pela microscopia eletrônica de varredura da superfície do esmalte após os desafios erosivos (Aumento de 5000x). As setas pretas indicam esmalte interprismáticos. Setas abertas indicam os prismas de esmalte. Setas brancas indicam material amorfo depositado na superfície do esmalte. | 22 |

## LISTA DE TABELAS

|                 |  |    |
|-----------------|--|----|
| <b>Tabela 1</b> | Valores médios (DP) de trimetafosfato (TMP), cálcio (Ca), fluoreto (F), e pH nos grupos experimentais. | 20 |
|-----------------|--|----|

## SUMÁRIO

|                    |    |
|--------------------|----|
| RESUMO             | 12 |
| INTRODUÇÃO         | 13 |
| MATERIAL E MÉTODOS | 14 |
| RESULTADOS         | 18 |
| DISCUSSÃO          | 23 |
| CONCLUSÃO          | 25 |
| REFERÊNCIAS        | 25 |
| ANEXOS             | 29 |

## Conclusão

Com base nos resultados da metodologia *in vitro*, concluiu-se que ocorreu substituição parcial do elemento sódio pelo elemento cálcio na síntese e as soluções contendo CaNaTMP promoveram efeitos protetores superiores em comparação ao grupo 1100 ppm F e aos grupos contendo NaTMP na erosão inicial do esmalte.

## Referências bibliográficas

Amaral JG, Delbem ACB, Pessan JP, Manarelli MM, Barbour ME. Effects of polyphosphates and fluoride on hydroxyapatite dissolution: A pH-stat investigation. *Arch Oral Biol* 2016;63:40–46.

Amaral JG, Pessan JP, Souza JAS, Moraes JCS, Delbem ACB. Cyclotriphosphate

associated to fluoride increases hydroxyapatite resistance to acid attack. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2018;106(7):2553–2564.

Barbour ME, Lussi A, Shellis RP. Screening and prediction of erosive potential. *Caries Res* 2011;45:24–32.

Baumann T, Bereiter R, Lussi A, Carvalho TS. The effect of different salivary calcium concentrations on the erosion protection conferred by the salivary pellicle. *Sci Rep* 2017;7:12999.

- Baumann T, Kozik J, Lussi A, Carvalho TS. Erosion protection conferred by whole human saliva, dialysed saliva, and artificial saliva. *Sci Rep* 2016;6:34760.
- Buzalaf MA, Hannas AR, Kato MT. Saliva and dental erosion. *J Appl Oral Sci* 2012;20:493–502.
- Cruz NV, Pessan JP, Manarelli MM, Souza MD, Delbem AC. In vitro effect of lowfluoride toothpastes containing sodium trimetaphosphate on enamel erosion. *Arch Oral Biol* 2015;60(9):1231–1236.
- Danelon M, Pessan JP, Santos VRD, Chiba EK, Garcia LSG, de Camargo ER, Delbem ACB. Fluoride toothpastes containing micrometric or nano-sized sodium trimetaphosphate reduce enamel erosion in vitro. *Acta Odontol Scand* 2018;76(2):119–124.
- Delbem ACB, Pessan JP. Alternatives to enhance the anticaries effects of fluoride. In: Coelho Leal S, Takeshita E. (eds) *Pediatric restorative dentistry*. Springer, Cham. 2019. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-93426-6\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-93426-6_6).
- Favretto CO, Delbem ACB, Moraes JCS, Camargo ER, de Toledo PTA, Pedrini D. Dentinal tubule obliteration using toothpastes containing sodium trimetaphosphate microparticles or nanoparticles. *Clin Oral Investig* 2018;22(9):3021–3029.
- Fiske CH, Subbarow Y: The colorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 1925;66:375–400.
- Gonçalves FMC, Delbem ACB, Gomes LF, Emerenciano NG, Pessan JP, Romero GDA, Cannon ML, Danelon M. Effect of fluoride, casein phosphopeptide-amorphous calcium phosphate and sodium trimetaphosphate combination treatment on the remineralization of caries lesions: An in vitro study. *Arch Oral Biol* 2021;122:105001.
- González-Cabezas C, Fernández CE. Recent advances in remineralization therapies for caries lesions. *Adv Dent Res* 2018;29(1):55–59.
- Griffith EJ. The structure of salt sodium calcium metaphosphate ( $\text{Na}_4\text{CaP}_6\text{O}_{18}$ ). *Inorg Chem* 1962;1(4):962.
- Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C. Dental erosion--an overview with emphasis on chemical and histopathological aspects. *Caries Res* 2011;45 Suppl 1:2-12. doi: 10.1159/000325915.
- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Buzalaf MA, Lussi A. Fluoride in dental erosion. In Buzalaf MA (ed): *Fluoride in the oral cavity*. Monogr Oral Sci. Basel, Karger, 2011.

- Magalhães AC, Wiegand A, Rios D, Honório HM, Buzalaf MAR. Insights into preventive measures for dental erosion. *J Appl Oral Sci* 2009;17(2):75–86.
- Manarelli MM, Moretto MJ, Sassaki KT, Martinhon CC, Pessan JP, Delbem AC. Effect of fluoride varnish supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion. *Am J Dent* 2013;26(6):307–312.
- Manarelli MM, Pessan JP, Delbem AC, Amaral JG, Paiva MF, Barbour ME. Protective effect of phosphates and fluoride on the dissolution of hydroxyapatite and their interactions with saliva. *Caries Res* 2017;51(2):96–101.
- Manarelli MM, Vieira AEM, Matheus AA, Sassaki KT, Delbem ACB. Effect of mouth rinses with fluoride and trimetaphosphate on enamel erosion: an in vitro study. *Caries Res* 2011;45:506–509.
- Moretto MJ, Magalhães AC, Sassaki KT, Delbem ACB, Martinhon CCR. Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion. *Caries Res* 2010;44(2):135–140.
- Nalin EKP, Danelon M, da Silva ES, Hosida TY, Pessan JP, Delbem ACB. Surface free energy, interaction, and adsorption of calcium and phosphate to enamel treated with trimetaphosphate and glycerophosphate. *Caries Res* 2021; doi:10.1159/000518943.
- Neves JG, Danelon M, Pessan JP, Figueiredo LR, Camargo ER, Delbem ACB. Surface free energy of enamel treated with sodium hexametaphosphate, calcium and phosphate. *Arch Oral Biol* 2018; 90:108–112.
- Pancote LP, Manarelli MM, Danelon M, Delbem ACB. Effect of fluoride gels supplemented with sodium trimetaphosphate on enamel erosion and abrasion: In vitro study. *Arch Oral Biol* 2014;59:336–340.
- Philip N. State of the art enamel remineralization systems: The next frontier in caries management. *Caries Res* 2019;53(3):284–295.
- Reynolds EC. Calcium phosphate-based remineralization systems: Scientific evidence? *Aust Dent J* 2008;53:268–273.
- Reynolds EC, Cai F, Shen P, Walker GD. Retention in plaque and remineralization of enamel lesions by various forms of calcium in a mouthrinse or sugar-free chewing gum. *J Dent Res* 2003;82:206–211.
- Schipper R, Loof A, De Groot J, Harthoorn L, Dransfield E, van Heerde W. SELDITOFMS of saliva: methodology and pre-treatment effects. *J Chromatogr B* 2007;847:45–53.

- Stenhagen KR, Hove LH, Holme B, Taxt-Lamolle S, Tveit AB. Comparing different methods to assess erosive lesion depths and progression in vitro. *Caries Res* 2010;44(6):555–561.
- Takeshita EM, Danelon M, Castro LP, Cunha RF, Delbem AC. Remineralizing potential of a low fluoride toothpaste with sodium trimetaphosphate: An in situ study. *Caries Res* 2016;50(6):571–578.
- Takeshita EM, Exterkate RAM, Delbem ACB, ten Cate JM. Evaluation of different fluoride concentrations supplemented with trimetaphosphate on enamel De- and Remineralization in vitro. *Caries Res* 2011;45(5):494–497.
- Viana PS, Machado AL, Giampaolo ET, Pavarina AC, Vergani CE. Disinfection of bovine enamel by microwave irradiation: effect on the surface microhardness and demineralization/remineralization. *Caries Res* 2010;44:349–357.
- Vogel GL, Chow LC, Brow WL. A microanalytical procedure for the determination of calcium, phosphate and fluoride in enamel biopsy samples. *Caries Res* 1983;17:23–31.
- Watanabe M, Yoshida K, Sakurai M, Sato S. Synthesis and thermal behaviour of alkaline earth cyclo-octaphosphates. *J Mater Sci* 1998;33:5601–5606.