

**CÍNTIA PEREIRA MACHADO**

**NORMAS PARA A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO  
FLÚOR EM DENTIFRÍCIOS**

*Apresenta a A.O.*  
**ORIENTADOR: PROF. DR. JAIME A. CURY**

**Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba da  
Universidade Estadual de Campinas,  
para obtenção do título de Mestre  
em Ciências, Área de Farmacologia.**

**PIRACICABA - SP  
1993**

**CÍNTIA PEREIRA MACHADO**

**NORMAS PARA A AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DO  
FLÚOR EM DENTIFRÍCIOS**

*Este trabalho foi  
devidamente corrigido conforme  
Resolução CCPG/034/83  
11/02/93  
Jan D*

**Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba da  
Universidade Estadual de Campinas,  
para obtenção do título de Mestre  
em Ciências, Área de Farmacologia.**

**PIRACICABA - SP  
1993**

DEDICO ESTE TRABALHO

Aos meus pais, JACINTHO e  
DARCY, a eterna gratidão  
pela minha formação pessoal  
e profissional.

A vocês todo o meu reconhecimento e amor.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. JAIME A. CURY,  
pelo privilégio de estar sob  
orientação segura, competen-  
te e amigã, manifestada em  
todos os momentos.

## AGRADECIMENTOS

A todos os docentes do curso de Pós-Graduação em Farmacologia, pelos ensinamentos recebidos que contribuíram para minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. ANTONIO FRANCISCO IEMMA, da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pela realização das análises estatísticas e atenção dispensada.

Aos técnicos do Laboratório de Bioquímica Oral da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Sr. WALDOMIRO VIEIRA FILHO e Sra. MARIZA DE JESUS CARLOS SOARES, pelo inestimável auxílio em toda a etapa experimental deste trabalho e acima de tudo, pela amizade.

A Srta MARIA ELISA DOS SANTOS, secretária do Curso de Pós-Graduação em Farmacologia, pela gentileza e atenção com que sempre me atendeu.

A Sra. SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela correção das Referências Bibliográficas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo auxílio financeiro fornecido, possibilitando a realização deste trabalho.

A ANAKOL Ind. Com., pela formulação dos dentífricos utilizados.

## ÍNDICE

	PÁG.
INTRODUÇÃO .....	2
REVISÃO DA LITERATURA .....	5
PROPOSIÇÃO .....	22
MATERIAIS E MÉTODOS .....	24
RESULTADOS .....	30
DISCUSSÃO .....	60
CONCLUSÕES .....	66
RESUMO .....	68
SUMMARY .....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	72
APÊNDICE .....	78

## INTRODUÇÃO

## INTRODUÇÃO

Houve uma redução marcante na prevalência da cárie dental no mundo ocidental durante os últimos 10-20 anos. Isto tem sido observado tanto em países que utilizam a água fluoretada como uma medida preventiva, como em países que não a utilizam. Esta redução coincidiu com a introdução de dentifrícios fluoretados e alguns pesquisadores afirmam serem estes os principais responsáveis pelo declínio da cárie. Além disso, os dentifrícios são as formas de flúor\* mais amplamente utilizadas, com exceção apenas da água fluoretada (ROLLA, 1991).

A efetividade das preparações, que contêm flúor\*, na prevenção da cárie dental está diretamente relacionada com a disponibilidade dos íons flúor livres ou solúveis durante o tempo de uso. Porém, o flúor solúvel presente nos dentifrícios é capaz de se combinar com outros componentes, tal como o abrasivo, e se tornar insolúvel, desta forma sendo incapaz de exercer sua ação.

No Brasil todos os dentifrícios atualmente encontrados no comércio possuem flúor numa concentração mínima de 600 ppm de flúor solúvel (AYUKAMA, 1990). Isto ocorreu por iniciativa das firmas, porém foi consolidado pela portaria nº 22, de 20 de dezembro de 1989, quando a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária estabeleceu normas de controle de qualidade dos mesmos. Foi estabelecido que o dentifrício deverá manter uma concentração mínima de 600 ppm de flúor solúvel, iônico ou ionizável, até 1 ano após a data de fabricação e de, no mínimo 450 ppm, no restante de seu prazo de validade.

---

\* - Termo genérico para definir as formas iônica (fluoreto), ionizável e não ionizável do elemento flúor.

Contudo, seria extremamente inadequado observar novas formulações de dentifrícios fluoretados por um ano para saber se a mesma atenderia às normas. Além disso, não existe na literatura qualquer dado sobre uma condição laboratorial capaz de determinar previamente o que ocorreria ao flúor solúvel de um dentifrício após 1 ano ou mais de fabricação. Deste modo justifica-se o presente trabalho no auxílio da determinação do prazo de validade de um dentifrício fluoretado.

## REVISÃO DA LITERATURA

## REVISÃO DA LITERATURA

Em 1935, o Conselho de Terapêutica Dental definiu dentifricio como uma preparação que ajuda na remoção de restos alimentares da superfície dos dentes. Primeiramente, tais preparações foram utilizadas com a finalidade de clarear os dentes, embelezando-os e melhorar o hálito. Porém, ainda no 1º século, Demócrito considerava a limpeza dos dentes uma condição indispensável para evitar "as doenças dos dentes". E o uso dos abrasivos é tão antigo quanto o próprio uso dos dentifricios. Desde muito tempo atrás o carbonato de cálcio tem sido utilizado, devido a sua leve ação abrasiva (FOULK & PICKERING, 1935).

Os abrasivos são utilizados atualmente no auxílio da remoção da película, placa, cálculo e restos alimentares. Alguns dos abrasivos presentes nos dentifricios atuais são o pirofosfato de cálcio, alumina trihidratada, carbonato de cálcio e bicarbonato de sódio (FORWARD, 1991).

O fluoreto de sódio foi o primeiro agente fluoretado incorporado em um dentifricio. Entretanto, estudos clínicos realizados com estes dentifricios entre 1945 e 1955 falharam em demonstrar seus efeitos; isto ocorreu devido à incompatibilidades na formulação e inadequados testes clínicos. Outro estudo utilizando um abrasivo compatível com o fluoreto de sódio, o metafosfato de sódio insolúvel, provou ser o NaF efetivo na redução das cáries (GRON & BRUDEVOLD, 1967).

WHITE, em 1983, fez uma revisão sobre a descoberta, início da produção e uso clínico do monofluorofosfato. Os fluorofosfatos foram descobertos pelo Dr. WILLY LANGE, na década de 20, na Alemanha. Na década de 40, os fluorofosfatos foram selecionados por uma companhia americana, Companhia Química Ozark de Tulsa, para um estudo e possível comercialização. Em 1950, foi relatado que o MFP possuía atividade anti-cárie.

De grande importância em relação a preparações dentais é a alta solubilidade do MFP na presença do cálcio, que proporcionará maior quantidade de flúor solúvel, isto é, ativo. Outra característica é a grande estabilidade que apresenta o monofluorofosfato.

### ESTABILIDADE DO FLÚOR NOS DENTIFRÍCIOS

Em 1961, já era conhecida a capacidade dos íons flúor reagirem com fosfato e carbonato de cálcio, abrasivos comumente utilizados. ERICSSON estudou "in vitro" a compatibilidade de alguns tipos de flúor com diferentes componentes dos dentifrícios e a incorporação de flúor pela superfície do esmalte e pelo pó de esmalte, utilizando o  $^{18}\text{F}$ . No estudo da compatibilidade do flúor com abrasivos, foi medida a atividade remanescente na solução após agitação de soluções de NaF, MFP ou  $\text{SnF}_2$ , todas marcadas com  $^{18}\text{F}$ , com diferentes abrasivos durante 30 minutos. Observou-se que a perda de flúor da solução de NaF foi grande para sílica gel e substancial para os sais de cálcio. A solução de  $\text{SnF}_2$  perdeu muito flúor para o pirofosfato de cálcio não aquecido. A perda de flúor da solução de MFP para pirofosfato de cálcio e sílica gel foi menor que da solução de NaF. O resultado mais notável foi a completa não reatividade da solução de MFP com carbonato de cálcio. No estudo da incorporação de flúor pelo esmalte a partir de dentifrícios, observou-se que a incorporação foi a mesma a partir do NaF ou do  $\text{SnF}_2$ , porém esta foi claramente menor a partir do MFP.

DUCKWORTH, em 1968, realizou um estudo no qual foi determinada a quantidade de flúor solúvel presente em 3 dentifrícios à base de fluoreto estânico. As determinações foram realizadas após a aquisição dos mesmos e durante 8 meses em que foram armazenados em geladeira a  $4-5^\circ\text{C}$ , no laboratório a  $19-20^\circ\text{C}$  e em uma estufa a  $35-37^\circ\text{C}$ . As amostras foram analisadas através de um método colorimétrico.

Constatou-se uma queda na concentração de flúor à medida que os dentifrícios envelheciam e este envelhecimento foi acelerado com o aumento da temperatura de armazenamento.

BUSHEE et al.(1971) avaliaram a disponibilidade do ion  $F^-$  livre em 15 preparações dentais profiláticas. As análises foram realizadas antes e 4 meses após o armazenamento. O ion  $F^-$  livre foi determinado potenciométricamente. Foi observado uma diminuição da disponibilidade do ion  $F^-$  livre após o período de armazenamento e dos produtos analisados, as pastas profiláticas profissionais retiveram a maior porcentagem de ion  $F^-$  livre, seguida pelos géis, soluções e dentifrícios.

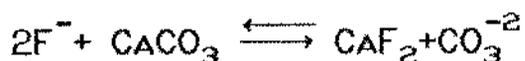
Analisando a atividade iônica do flúor de 2 dentifrícios à base de NaF, BIRKERLAND (1971) observou que o flúor de um dos dentifrícios foi inativado, o que poderia ter sido causado por componentes do dentifrício.

Em 1972, HAGEN estudou o estado do flúor nos dentifrícios, sua ligação com abrasivos e incorporação pelo pó de esmalte, utilizando  $^{18}F$  em uma técnica de adsorção e desorção e análises químicas do flúor. Foram utilizados dentifrícios contendo NaF e MFP. Nenhum dos dentifrícios à base de NaF continha compostos de cálcio. Um dos dentifrícios à base de MFP continha carbonato de cálcio, que provavelmente se combinaria com o MFP somente na extensão que este ion sofresse quebra hidrolítica. O autor constatou que não houve uma relação entre a quantidade de flúor iônico e a incorporação de flúor pelo pó de esmalte. Porém, a natureza química e as propriedades da saliva e da placa dental são capazes de modificar estes resultados. Também foi relatado que as propriedades físicas dos dentifrícios são importantes no comportamento do flúor, como por exemplo, o aquecimento do fosfato tricálcio e pirofosfato de cálcio reduz a sua combinação com o NaF ou MFP.

Avaliando a estabilidade do monofluorfosfato de sódio e do fluoreto de sódio presentes em dentifrícios, tendo como abrasivo carbonato de cálcio, durante 1 ano de estoque, NOREN & HARSE (1974) relataram que o NaF não foi completamente inativado pelo CaCO<sub>3</sub>. O íon F<sup>-</sup> livre presente nos dentifrícios à base de NaF decresceu até atingir o equilíbrio, e então, permaneceu constante em torno de 40% da quantidade adicionada. A dissociação do íon monofluorfosfato é evidentemente uma reação muito mais vagarosa. Em soluções alcalinas, o íon monofluorfosfato se dissocia de acordo com a seguinte reação:



Através desta reação, o íon flúor é liberado. O F<sup>-</sup>, que foi liberado a partir do MFP, reagiria com o carbonato de cálcio formando fluoreto de cálcio, o qual é pouco solúvel.



Dependendo da proporção inicial de MFP para F<sup>-</sup> no dentifrício, o conteúdo de flúor livre aumentava ou no começo diminuía, passando por um mínimo e então, aumentava. Em todos os dentifrícios houve um decréscimo da quantidade de MFP.

PEARCE, em 1974, avaliou 5 dentifrícios fluoretados encontrados na Nova Zelândia, dentre os quais 4 continham MFP e 1 continha NaF, como agente cariostático. Foram determinados flúor iônico solúvel (F<sup>-</sup>), flúor insolúvel associado com o abrasivo da pasta e monofluorfosfato iônico solúvel (PO<sub>3</sub>F<sup>2-</sup>) potenciométricamente. Também foi determinada a incorporação de flúor pelo esmalte. Estas análises foram realizadas no início do estudo e até 17 meses após o armazenamento a temperatura ambiente. O autor relatou que todos os dentifrícios à base de MFP continham flúor iônico solúvel (F<sup>-</sup>) em adição ao MFP.

O flúor iônico solúvel presente nos dentifrícios à base de MFP aumentou com o envelhecimento, em contraste com aquele presente nos dentifrícios à base de NaF, que diminuiu. Uma proporção considerável do flúor total, no máximo 36%, estava associado com os abrasivos carbonato de cálcio e fosfato de cálcio em uma forma insolúvel nos dentifrícios à base de MFP. O flúor insolúvel também aumentou com o tempo. Em relação à incorporação de flúor pelo esmalte, esta pareceu estar relacionada com a concentração de flúor iônico e todos os dentifrícios foram capazes de aumentar o nível de flúor no pó de esmalte.

Avaliando os dentifrícios fluoretados encontrados na Grécia, ATHANASSOULI & PAPASTATHOPOULOS (1978) observaram que nos dentifrícios à base de MFP, o flúor solúvel variou de 75 a 95% do valor esperado da formulação, o que foi atribuído à presença de agentes abrasivos, principalmente os compostos de cálcio, os quais formam compostos insolúveis com o flúor. Também foi constatada uma baixa concentração de flúor iônico nestes dentifrícios, em torno de 4 a 23% do flúor solúvel.

Utilizando uma especificação argentina para a determinação da "vida útil" de um dentifrício, PANZERI et al. (1979) analisaram 23 marcas comerciais de dentifrícios. Esta determinação, que corresponde à verificação da estabilidade do produto após o período de 1 ano nas condições normais de armazenagem, consistiu em submeter o dentifrício a exposição em uma estufa a 45°C durante 72 horas e também foram feitas análises de consistência, densidade e pH.

Em 1980, a Administração de Alimentos e Medicamentos dos Estados Unidos propôs normas envolvendo a disponibilidade do flúor em dentifrícios, requerendo que o flúor iônico para dentifrícios à base de NaF e o flúor solúvel, isto é, iônico mais ionizável, para dentifrícios à base de MFP não seja menos que 60% do conteúdo total de flúor.

De acordo com CURY et al. (1980), todos os dentifrícios à base de MFP apresentam flúor iônico como contaminante. Foram analisadas 8 marcas comerciais de dentifrícios e determinou-se as concentrações de flúor livre ( $F^-$ ), de monofluorofosfato ou flúor ionizável ( $F_{MFP}$ ) e de flúor insolúvel ( $F_{ins}$ ). Após uma análise inicial, os dentifrícios foram mantidos em estufa a  $45^\circ C$  por 72 horas e novamente foi feita uma análise. Os autores também concluíram que os dentifrícios à base de MFP são instáveis, podendo ocorrer uma hidrólise do MFP em função do tempo, e a porcentagem de degradação variou entre 11 a 100%. Quase todos os dentifrícios apresentaram flúor insolúvel que variou de zero a 55% e, além disso, houve um aumento da concentração deste com o armazenamento.

Em artigo de revisão sobre interação de flúor nos dentifrícios, FORWARD (1980) relata que o abrasivo deve ser cuidadosamente escolhido, e que já foi demonstrado que certos abrasivos são capazes de manter níveis de flúor solúvel adequados. Os fluoretos iônicos de sódio e estanho são mais susceptíveis que o flúor ligado covalente no monofluorofosfato de sódio. A ligação covalente entre o átomo de flúor e o de fósforo não é rapidamente quebrada, sugerindo que a formação de flúor insolúvel não ocorre em larga extensão. O autor também relata que a atividade de um produto, corretamente formulado, pode ser mantida por mais de 3 anos.

CURY et al., em 1981, analisaram 6 dentifrícios encontrados no comércio brasileiro, determinando potenciometricamente as concentrações de flúor iônico, flúor ionizável, flúor insolúvel e flúor total. Três dentifrícios apresentaram flúor inativado pelo abrasivo, sendo que um deles continha 55% de flúor insolúvel. Os dentifrícios que apresentavam MFP na sua composição, estavam contaminados com flúor iônico.

Estudando a disponibilidade do flúor presente nos dentífricos encontrados no comércio italiano e experimentais, ALHAIQUE et al. (1982) determinaram as concentrações de flúor total, flúor solúvel e flúor iônico potenciometricamente e através de cromatografia gasosa. Constatou-se uma baixa concentração de flúor iônico nos dentífricos à base de monofluorofosfato de sódio. Também foi avaliado o efeito do envelhecimento em 2 dentífricos experimentais. Um dos dentífricos apresentou diminuição da concentração de flúor iônico; enquanto que o outro, apresentou uma diminuição de apenas 2% da concentração de flúor iônico após 4 meses da sua preparação. Estes achados indicam que o fluoreto de sódio, apesar de inicialmente ter apresentado resultados negativos, é capaz de, em uma formulação adequada, liberar todo o flúor na forma iônica.

A Associação Australiana de Padrões, em 1983, estabeleceu que o valor mínimo de flúor solúvel em um dentífrico deveria ser de 60% do conteúdo total de flúor dentro de 1 ano de fabricação, a menos que a data de validade esteja expressa.

Em artigo de revisão sobre estudos clínicos de dentífricos à base de monofluorofosfato, DE PAOLA (1983) relatou que o MFP é um agente fluoretado vantajoso pois possui grande compatibilidade com agentes abrasivos contendo cálcio. O MFP é único no fato de que seu sal de cálcio é relativamente solúvel; enquanto que os outros agentes fluoretados formam fluoreto de cálcio que é muito menos solúvel. Esta propriedade permite que o MFP seja utilizado com uma grande variedade de abrasivos sem perda de sua eficácia.

A estabilidade do flúor em dentífricos foi estudada por DE FREITAS (1984), que determinou potenciometricamente a concentração de flúor total, flúor solúvel e flúor iônico em nove dentífricos fluoretados encontrados no comércio australiano.

Os dentifrícios foram armazenados a 21°C, 37°C e 45°C e após 50 semanas novas análises foram realizadas. Constatou-se um decréscimo no flúor solúvel relacionado com a elevação da temperatura de armazenamento. Em alguns dentifrícios à base de monofluorofosfato de sódio houve um aumento do conteúdo de flúor iônico com o armazenamento. O autor sugeriu, então, uma libertação hidrolítica do  $F^-$  a partir de  $PO_3F^{2-}$ . Todos os dentifrícios sofreram perdas de flúor iônico devido à sua combinação com o cálcio presente no abrasivo, porém em diferentes graus.

Em 1985, o Conselho de Terapêutica Dental da Associação Dental Americana (USA) publicou orientações para a avaliação da estabilidade e disponibilidade do flúor em dentifrícios fluoretados, estabelecendo que o agente fluoretado ativo deve estar livre e disponível em amostras frescas e envelhecidas. Considera-se amostras frescas aquelas analisadas dentro de 1 mês após sua formulação e amostras envelhecidas aquelas composições encontradas ao final do prazo de validade. Também foi estabelecido que, com finalidade de se avaliar a estabilidade do flúor presente em um dentifrício após o armazenamento, as amostras podem ser envelhecidas sob condições normais ou por envelhecimento acelerado por alta temperatura.

CURY (1986) avaliou a estabilidade do flúor em 7 dentifrícios brasileiros após 6 a 12 meses de armazenamento a temperatura ambiente, constatando nos dentifrícios à base de NaF uma diminuição da concentração do flúor solúvel, sendo que após 1 ano cerca de 20% apenas do flúor permaneceu disponível. Houve um simultâneo aumento da concentração de flúor insolúvel, isto é, ligado ao abrasivo. O autor também relatou que em alguns dentifrícios à base de MFP, o flúor solúvel permaneceu estável, porém, em outros houve um aumento da concentração do flúor iônico livre e do flúor ligado ao abrasivo. Dos dentifrícios analisados, dois não estariam de acordo com a Associação Australiana.

Em 1987, estudando a influência do tempo em dentifrícios "não classificados" e "aceitos" pela Associação Dental Americana (ADA), contendo SnF<sub>2</sub> (Grupo I), NaF (Grupo II) e MFP (Grupo III), FADVAI-RUSDARI et al. constataram que a concentração de flúor solúvel de todos os dentifrícios analisados diminuiu com o tempo. Os dentifrícios à base de MFP foram os menos afetados pelo processo de envelhecimento. Estes dentifrícios foram analisados 3, 6 e 12 meses após a data da produção. Aos 3 meses de envelhecimento, o Grupo III apresentou maior quantidade de flúor solúvel do que os outros 2 grupos, que não apresentaram diferença entre si. Aos 6 meses, o Grupo I apresentou uma quantidade de flúor solúvel muito menor do que a dos outros 2 grupos. Aos 12 meses, o Grupo I apresentou uma quantidade de flúor solúvel menor do que o Grupo II e este, menor que o grupo III.

Estudando a compatibilidade do flúor com abrasivos utilizados em dentifrícios e o efeito do envelhecimento na disponibilidade do flúor, HATTAB (1989) constatou uma perda de 60 a 90% do flúor da solução de NaF adicionada a abrasivos contendo alumínio e cálcio após 1 semana de armazenamento a temperatura ambiente. Além disso, também foi observado que abrasivos contendo cálcio foram marcadamente mais compatíveis com o MFP do que com o NaF. O autor também relatou um aumento do flúor iônico nas pastas à base de MFP envelhecidas e sugeriu ser devido a uma dissociação vagarosa do PO<sub>3</sub>F<sup>2-</sup> decorrente da presença de ions metálicos; e um decréscimo de flúor solúvel indicaria uma reação do flúor iônico, liberado do PO<sub>3</sub>F<sup>2-</sup>, com o carbonato de cálcio formando CaF<sub>2</sub>, praticamente insolúvel.

CURY, em 1989, investigou a disponibilidade e estabilidade do flúor presente em 10 dentifrícios comercializados no Brasil. Foram determinadas potenciométricamente as concentrações de flúor solúvel iônico e ionizável e flúor insolúvel inicialmente e após 72h a 45°C. O autor constatou que apenas 4 dentifrícios apresentaram flúor totalmente disponível e estável.

## REATIVIDADE DO FLÚOR COM O ESMALTE

ERICSSON, em 1967, investigou a hidrólise biológica dos íons monofluorfosfato, utilizando tecidos homogeneizados, fosfatase ácida purificada, outras enzimas, saliva e pó de esmalte dental. Foi analisada a liberação dos íons  $F^-$  e ortofosfato. Utilizou-se intestino, fígado e rins de rato homogeneizados e observou-se que o fígado e rins hidrolisaram frações consideráveis do MFP. Após a ação enzimática da fosfatase ácida, cerca de 93% do monofluorfosfato foi hidrolisado. Quando aqueceu-se os tecidos homogeneizados e a fosfatase ácida, a hidrólise observada foi muito baixa. Além da fosfatase ácida, também foram utilizadas fosfatase alcalina, sulfatase, enolase e 5'nucleotidase e nenhuma destas exerceu alguma ação hidrolítica sobre o íon monofluorfosfato no pH aproximadamente neutro das reações. O autor sugeriu que o sedimento salivar exercia um efeito hidrolítico sobre o íon MFP, capaz de explicar a sua ação anticariogênica após sofrer hidrólise na placa dental. O pó de esmalte apresentou um fraco efeito hidrolítico, o qual provavelmente seria de natureza não-enzimática.

Estudando a reação entre a hidroxiapatita e o MFP, na presença de 2 componentes salivares, INGRAM (1973) observou que o o-fosfato causa inibição da incorporação de MFP, o que se torna acentuado na presença de baixos níveis de MFP. Também foi notado um decréscimo da incorporação do MFP pela hidroxiapatita na presença de bicarbonato, particularmente quando este estava presente na solução de 20 mM de MFP. Normalmente, o pH da saliva é 6,8 e observou-se um decréscimo da incorporação do MFP à medida que se aumentava o pH. As determinações de flúor total foram realizadas através de um método analítico.

PEARCE & MORE, em 1975, investigaram a origem dos ions flúor ( $F^-$ ) em dentifrícios à base de MFP e a fluoretação do esmalte em relação do MFP. Os autores constataram que nenhum MFP foi encontrado no pó de esmalte bovino e nem havia qualquer indicação de que o MFP poderia ser a origem do flúor na boca. A captação do flúor pelo esmalte foi mais relacionada com a concentração inicial de flúor iônico do que com a concentração de MFP dos dentifrícios. Utilizando-se flúor iônico e MFP marcados com  $^{18}F$ , observou-se que 92-97% do flúor captado pelo esmalte surgiu do componente flúor, na forma iônica, dos dentifrícios.

BOLDERSON et al. (1977) mostraram evidências de que a concentração de hidroxiapatita fluoretada formada "in vitro" no esmalte dental, após um pré-tratamento de 1 minuto, poderia prever o desempenho clínico de dentifrícios fluoretados.

Avaliando a decomposição do MFP por enzimas presentes na saliva total, PEARCE & JENKINS (1977) determinaram o flúor iônico e ionizável presente nas soluções de MFP-saliva após incubação a  $37^{\circ}C$ , com o pH variando de 4 a 10. O ponto máximo de atividade ficou entre pH 7,2-8,6. A saliva controle foi aquecida a  $100^{\circ}C$  e não mostrou atividade em nenhum pH testado. Os autores também constataram uma significativa correlação entre a habilidade da saliva em hidrolisar MFP e a habilidade em hidrolisar p-nitrofenilfosfato, sugerindo que as fosfatases salivares não-específicas são responsáveis pela hidrólise do MFP.

DUKE & FORWARD (1978) trataram discos de hidroxiapatita por 1 minuto com soluções fluoretadas de concentrações e pH variáveis e analisaram o fluoreto de cálcio e hidroxiapatita fluoretada (FHA) formados. A formação de FHA, de flúor alcali-solúvel (fluoreto de cálcio) e, desta forma, da incorporação de flúor total aumentaram linearmente com o aumento logarítmico da concentração de flúor destas soluções de pré-tratamento. Igualmente, foi demonstrado uma correlação linear entre a redução da dissolução ácida de discos de HA, pré-tratados com as mesmas soluções fluoretadas, e o logaritmo da concentração de flúor iônico nas soluções.

Em relação à variação do pH, não houve variação na formação de FHA no pó de esmalte e, também, não houve mudança na dissolução ácida dos discos. Entretanto, a deposição de fluoreto de cálcio alcali-solúvel e a incorporação de flúor total aumentaram à medida que o pH, abaixo de 5,5, foi reduzido.

Em 1982, JACKSON investigou a hidrólise do MFP em suspensões de placa supragengival natural, placa artificial e *Streptococcus mutans* K1R, uma bactéria humana cariogênica. A hidrólise do MFP foi avaliada, determinando-se o flúor iônico liberado nas suspensões após vários tempos de incubação, utilizando-se eletrodo específico. A hidrólise do monofluorfosfato, para liberar flúor iônico, em suspensões de placa natural ocorreu rapidamente, sugerindo um possível mecanismo para a ação cariostática dos dentifrícios à base de MFP. Não ocorreu hidrólise nos controles sem células, nem nos controles com células aquecidas a 100°C por 30 minutos, sugerindo que a atividade enzimática foi responsável pela hidrólise. A placa artificial também foi capaz de hidrolisar o MFP, porém o rompimento das células com tolueno reduziu a proporção da hidrólise. Quando se comparou a quantidade de MFP hidrolisado em pH 7 das suspensões de placa natural e artificial com a suspensão de *Streptococcus mutans* K1R, constatou-se que o MFP hidrolisado por esta foi baixo, um resultado intrigante pois é evidente que estes microorganismos possuem enzimas capazes de hidrolisar o MFP. Uma possível explicação seria que as enzimas que hidrolisam MFP estão localizadas intracelularmente e que a integridade da parede bacteriana preveniu o acesso ao substrato extracelular, o monofluorfosfato. Porém, o rompimento das células com tolueno falhou em demonstrar um aumento da hidrólise do MFP.

KLIMEK et al. (1982) investigaram a interação do flúor com a placa e o esmalte subjacente, em uma boca artificial, após a aplicação tópica de 3 soluções fluoretadas diferentes (MFP, NaF e flúor aminado). Constatou-se que as placas tratadas com NaF e flúor aminado continham 72 e 190 ppmF, respectivamente; enquanto que a placa tratada com MFP não apresentou diferença do controle.

Os autores concluíram que o MFP possui uma baixa afinidade pela placa e células bacterianas. No esmalte "limpo", isto é, sem estar coberto por placa, os tratamentos com NaF e flúor aminado causaram aumentos de  $F^-$  no esmalte entretanto, o tratamento com MFP causou um aumento insignificante. Todas as 3 soluções causaram aumentos muito maiores da concentração de flúor no esmalte coberto por placa. A diferença mais pronunciada ocorreu com as amostras tratadas com MFP; a concentração de flúor no esmalte coberto por placa foi quase 2 vezes maior que aquela no esmalte "limpo" e foi maior que as amostras tratadas com NaF.

Em artigo de revisão, PEARCE (1983) relata que o monofluorofosfato pode ser degradado por fosfatases alcalinas e ácidas e o mecanismo seria provavelmente similar à hidrólise ou à transferência de grupos fosforil de outros substratos de fosfatases. Porém, a atividade da monofluorofosfatase é maior em pH 8 do que em pH 5,5, sugerindo que as fosfatases alcalinas orais são mais importantes do que as ácidas na hidrólise do MFP. As fosfatases são capazes de defosforilar uma grande variedade de substratos; entretanto, a quebra da ligação P—F no MFP é a única ação possível com este substrato. O MFP pode ser hidrolisado pela flora microbiana mista da saliva, placa dental e culturas puras de *Streptococcus mutans*.

MELLBERG (1983) revisou trabalhos laboratoriais que utilizaram MFP, concluindo que este é capaz de reduzir a solubilidade do esmalte e depositar flúor no mesmo. Em experimentos "in vitro", a incorporação de flúor pelo esmalte a partir do MFP é menor do que aquela a partir do NaF, porém em experimentos "in vivo" com um período de tratamento mais longo, a incorporação de flúor pelo esmalte é a mesma para as 2 formas. Um dos métodos mais utilizados para estudar a ação anticárie do flúor é a incorporação pelo esmalte ou reatividade. Na maioria destes estudos, o MFP não deposita tanto flúor no esmalte quanto o flúor iônico, porém é igualmente efetivo clinicamente.

Isto ocorre porque os tratamentos "in vitro" não refletem condições de tratamento "in vivo"; desta forma, não deve ser esperado que os experimentos "in vitro" sejam bons indicadores clínicos, apenas guias no esforço de entender e melhorar as preparações.

Em artigo de revisão sobre a interação do MFP com a placa e a saliva, RÖLLA (1983) fez algumas conclusões que podem ajudar na descoberta do mecanismo de ação cariostática do monofluorofosfato. O autor relatou que a placa e a saliva são capazes de liberar flúor do MFP sob a ação de enzimas bacterianas e que o MFP parece ser hidrolisado no meio extracelular. A hidrólise do monofluorofosfato parece ser um pré-requisito essencial para a função remineralizante do MFP. Conclui-se então, que os estudos "in vitro" não são bons indicadores da eficácia clínica do MFP contra as cáries.

DUKE & FORWARD (1985) demonstraram uma correlação entre a atividade anticárie de dentifrícios à base de MFP e o desempenho laboratorial dos mesmos em relação à hidroxiapatita fluoretada formada a partir da reatividade "in vitro" em condições simulando o ato de escovação (pré-tratamento de 1 minuto em presença de saliva). Segundo os autores, quando o experimento for desenvolvido sob condições similares àquelas ocorridas na superfície dental durante procedimentos normais de escovação, ele possui valor na previsão da eficácia do potencial anticárie de um dentifrício. Foi estabelecida a seguinte equação:

$$\% \text{ Redução CDS} = 0,17 (\text{ppmF na forma de FHA}) - 1,80$$

sendo, CDS = faces dentais cariadas e obturadas.

FHA = forma álcali insolúvel de F formado na hidroxiapatita.

Avaliando a reatividade de dentifrícios fluoretados comercializados no Brasil, TEIXEIRA & CURY (1986) concluíram que todos os dentifrícios reagiram com o esmalte dental formando de 2 a 4 vezes mais flúor no mesmo.

O mecanismo de ação cariostática do MFP não é totalmente conhecido. Uma das teorias diz que o ion  $F^-$  liberado do MFP, através de degradação química, quebra enzimática pelas fosfatases na saliva, na placa e em certos microorganismos orais, seria o responsável pela ação cariostática. SAOTOME et al. (1987) estudaram a habilidade de estreptococos orais, placa com estreptococos formada "in vitro", placa dental natural e saliva em hidrolisar o MFP, com o pH variando de 4 a 9. Os autores constataram que a atividade máxima da monofluorofosfatase ocorreu em pH 5,0, um pH baixo que pode ser constatado especialmente após ingestão de açúcar. Outro fato relatado foi a maior hidrólise do MFP na presença de células do que na presença da placa. Isto pode ser explicado pela idade das células presentes, isto é, na placa estariam presentes as células metabolicamente menos ativas do que aquelas presentes nas suspensões de células. Também foi constatado que a mistura de uma variedade de estreptococos presente na placa dental natural é mais ativa que qualquer espécie única presente na placa formada "in vitro", na hidrólise do MFP.

Em 1991, RAVEN et al. realizaram um estudo comparando 3 métodos de avaliação da eficácia anticárie de dentifrícios à base de MFP. Os métodos utilizados foram: remineralização "in situ" utilizando enxertos de esmalte, incorporação "in vitro" de fluoreto no esmalte higido e desmineralizado e farmacocinética oral de flúor, medindo o nível de flúor na saliva após o uso de dentifrício fluoretado. Os autores constataram que a incorporação de flúor pelo esmalte higido foi maior para os dentifrícios à base de MFP do que para o placebo, porém não apresentou diferença quando a concentração de flúor do dentifrício foi aumentada. A causa mais provável seria a ausência de enzimas capazes de hidrolisar MFP.

Também foi verificado uma relação entre a concentração de flúor presente nos dentifrícios e o aumento da remineralização, isto é, os dentifrícios contendo 1.000 e 1.500  $\mu\text{g/g}$  de F mostraram sucessivos aumentos da remineralização. Os autores concluíram que os 2 métodos intra-orais correlacionaram-se bem com os dados clínicos, porém o método "in vitro" com esmalte hígido não é capaz de reproduzir as condições que influenciam a situação "in vivo".

PROPOSIÇÃO

## PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi estabelecer uma correlação entre a estabilidade do flúor de dentifrícios armazenados a temperatura ambiente comparado com o envelhecimento precoce. Assim, tentou-se estabelecer uma condição laboratorial de horas de duração que pudesse antecipar o que aconteceria após 1 ano em condições ambientais.

## MATERIAL E MÉTODOS

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1 - MATERIAIS

1. DENTIFRÍCIOS : Foram formulados dentifrícios contendo 1.200 ppm F na forma de NaF e MFP e dentifrício placebo, tendo como abrasivo carbonato de cálcio.
2. PÓ DE ESMALTE : Foram utilizadas partículas de tamanho entre 0,074-0,105 mm.
3. SALIVA HUMANA ESTIMULADA : Foi obtida através da mastigação de goma base.
4. ANALISADOR DE IONS ORION EA 940 E ELETRODO ESPECÍFICO 96-09.

### 2 - MÉTODOS

#### 1. OBTENÇÃO DO PÓ DE ESMALTE

Foram utilizados dentes humanos. Os dentes foram limpos com jato de bicarbonato. As coroas dentais foram seccionadas das raízes. A seguir, as coroas foram pulverizadas utilizando-se moinho de bola (MICROYEUR QUANTITATIF DANGOMOU, PROLABO, PARIS) e as partículas fraccionadas em jogo de tamiz (Telatest). As partículas de tamanho entre 0,074-0,105 mm foram separadas. Purificou-se o esmalte de acordo com ASGAR (1956). O pó de esmalte-dentina (0,074-0,105) foi adicionado a funil de separação contendo solução de bromofórmio-acetona (92:8),  $d=2,7$ , na proporção de 1 g de pó para 7,0 ml de solução. Aguardou-se o tempo necessário para a sedimentação do esmalte ( $d \simeq 2,95$ ), que foi coletado livre da dentina ( $d \simeq 2,14$ ). Os solventes foram eliminados por evaporação em capela sob exaustão e completado em

estufa. O pó obtido foi lavado várias vezes com água deionizada até obter-se um sobrenadante límpido. A seguir o esmalte dental foi filtrado à vácuo em funil de placa porosa, lavado com metanol e colocado em estufa para desidratar.

## 2. ANÁLISE DOS DENTIFRÍCIOS

Bisnagas dos dentifrícios contendo NaF e MFP foram armazenadas no laboratório a temperatura ambiente e submetidas a 45°C em estufa. Os dentifrícios contendo MFP também foram submetidos a 55°C em estufa. Os dentifrícios foram analisados antes do armazenamento. As bisnagas dos dentifrícios que foram deixadas envelhecer a temperatura ambiente foram analisadas 44, 90, 179 e 358 dias após. As bisnagas dos dentifrícios que foram submetidas a 45°C ou 55°C foram analisadas 24, 48, 96, 192 e 384 horas após. Para cada período foram feitas análises de 6 bisnagas de cada tipo de dentifrícios, isto é, para aqueles contendo NaF e aqueles contendo MFP. Para os dentifrícios placebo foi feita apenas a determinação da reatividade com pó de esmalte.

### 2.1. DETERMINAÇÃO DE FLUOR NOS DENTIFRÍCIOS

Foi pesado 0,25 g do dentifrício e dissolvido em água deionizada, sendo o volume final completado para 5,0 ml.

#### 2.1.1. DETERMINAÇÃO DE FLUOR TOTAL (FT)

Foi transferido 0,25 ml da suspensão descrita acima para um tubo de ensaio, ao qual acrescentou-se 0,25ml de HCl 2M. Após 1 hora em banho-maria a 45°C, adicionou-se 2,0 ml de citrato 0,5 M e foi feita a leitura potenciométrica.

#### 2.1.2. DETERMINAÇÃO DE FLUOR SOLÚVEL (Fs)

A suspensão foi centrifugada por 10 minutos a 3.500 rpm e 0,25 ml do sobrenadante foi transferido para um tubo de ensaio.

Acrescentou-se 0,25 ml de HCl 2M e, após 1 h em banho-maria a 45°C, adicionou-se 2,0 ml de citrato 0,5 M. Então, foi feita a leitura potenciométrica. Esta análise compreende a soma de flúor na forma iônica (Fi) mais ionizável (FMFP), e foi realizada apenas com os dentifrícios contendo MFP.

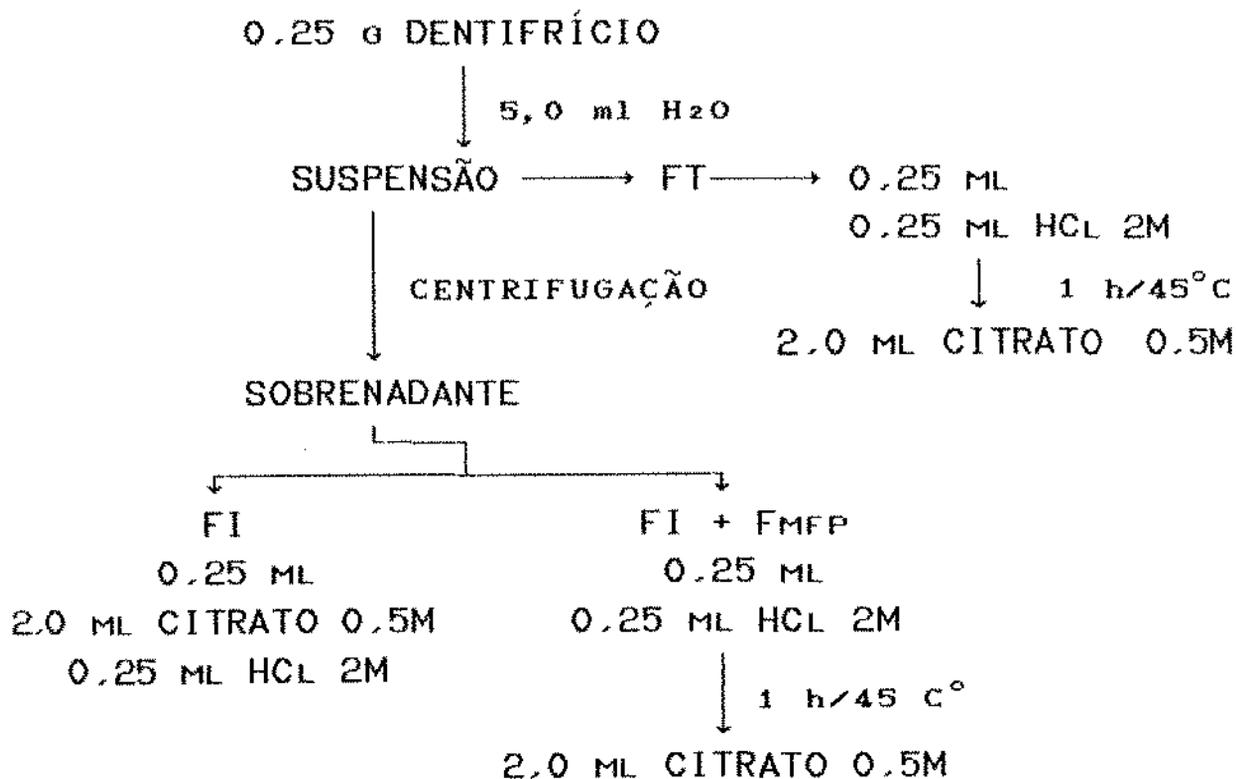
### 2.1.3. DETERMINAÇÃO DO FLUOR IÔNICO (Fi)

Foi transferido 0,25ml do sobrenadante para um tubo de ensaio, ao qual acrescentou-se 2,0 ml de citrato 0,5 M. Em seguida, adicionou-se 0,25 ml de HCl 2M e foi feita a leitura potenciométrica.

Para as leituras potenciométricas utilizou-se eletrodo específico ORION 96-09, analisador de íons ORION EA 940, previamente calibrado com padrões contendo de 0,25 a 10,0 µg F/ml, preparados em HCl 0,2 M e citrato 0,4 M.

O diagrama anexo resume as análises feitas:

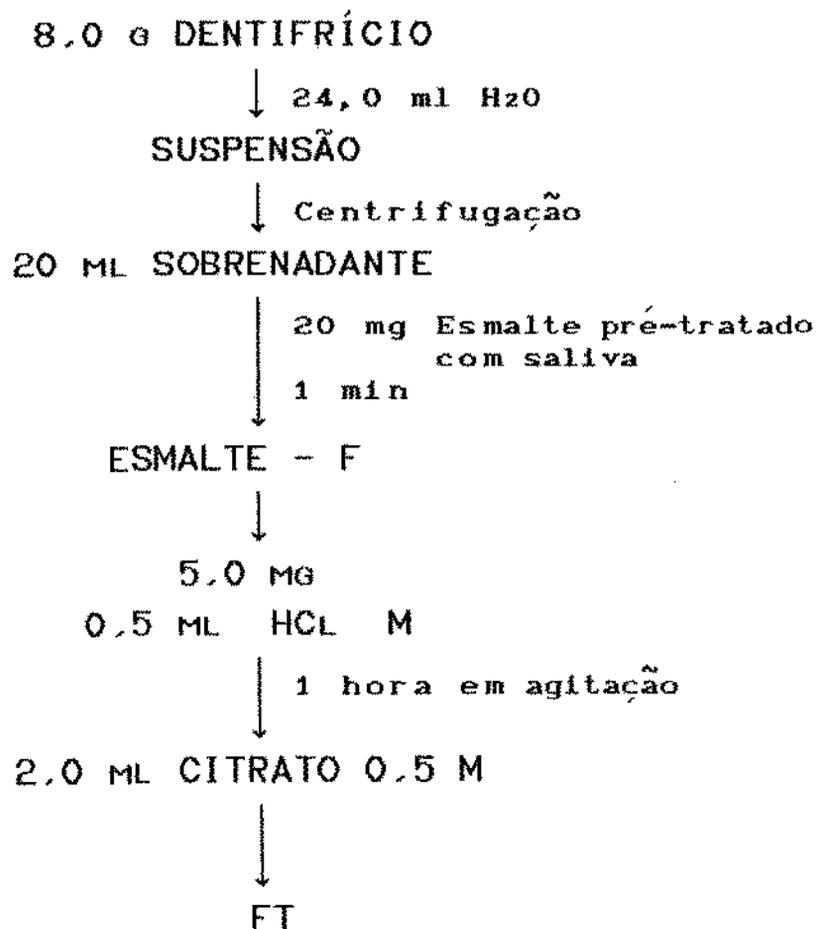
## ANÁLISE DE F NOS DENTIFRÍCIOS



## 2.2. REATIVIDADE DOS DENTIFRÍCIOS COM O PÓ DE ESMALTE

Amostras de 20,0 mg de pó de esmalte foram tratadas por 1 minuto com o sobrenadante da suspensão de dentifrício(1p) em água deionizada (3p), após um pré-tratamento de 1 minuto com 2,0 ml de saliva humana estimulada. Estas amostras foram filtradas à vácuo. O esmalte retido foi lavado com água deionizada e metanol, sendo levado a estufa a 90°C por 1 hora. Foi determinado o flúor total (FT) de acordo com o procedimento descrito por CURY (1987). Pesou-se 5,0 mg de esmalte tratado com os dentifrícios. Adicionou-se 0,5 ml de HCl M e, após 1 hora em agitação, adicionou-se 2,0 ml de citrato 0,5 M. Para a leitura potenciométrica utilizou-se eletrodo específico ORION, 96-06, analisador de íons ORION EA 940, previamente calibrado com padrões contendo de 0,1 a 1,0 µgF/ml, preparados em HCl 0,2 M e citrato 0,4 M. O fluxograma abaixo resume a análise:

### REATIVIDADE :



### 3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos da análise dos dentifrícios foram analisados pela análise de Variância e teste de Dunnett. Os resultados obtidos da reatividade do dentifrício com o pó de esmalte foram analisados pelo teste de TUKEY a 5%.

## RESULTADOS

## RESULTADOS

### 1 - Estabilidade do flúor nos dentifrícios

#### 1.1 - Dentifrícios à base de NaF

Na tabela 1 estão expressas as concentrações médias de flúor total, flúor solúvel iônico e flúor insolúvel nos dentifrícios à base de NaF, contendo  $\text{CaCO}_3$  como abrasivo, quando formulados e dias após o armazenamento em condições ambientais.

Tabela 1. Concentração de Flúor Total (Fr), solúvel iônico (Fi) e insolúvel (FINS) nos dentifrícios contendo NaF/ $\text{CaCO}_3$  dias após o armazenamento em condições ambientais.

TEMPO (dias)	FORMAS DE FLÚOR* (ppm F)		
	Fr	Fi	FINS
0	1162,0	549,7	612,3
44	1208,0	432,5	776,3
90	1227,5	421,2	801,8
179	1190,2	403,2	787,0
358	1230,0	362,3	867,7

\* média de 6 determinações

As tabelas 1.1, 1.2 e 1.3 mostram, respectivamente, as análises de variância realizadas para flúor total, solúvel iônico e insolúvel presentes nos dentifrícios à base de NaF quando armazenados em condições ambientais.

Tabela 1.1. Análise de Variância para Fr.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
DIAS	4	19239,133	4809,783	2,0982	0,11047
RESIDUOS	25	57309,167	2292,367		
TOTAL	29	76548,300			

Tabela 1.2. Análise de Variância para Fr.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
DIAS	4	117793,33	29448,383	90,6681	0,00001
RESIDUOS	25	8119,83	324,793		
TOTAL	29	125913,36			

Tabela 1.3. Análise de Variância para FINS.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
DIAS	4	214412,13	53603,033	20,8654	0,00001
RESIDUOS	25	64224,83	2568,993		
TOTAL	29	278636,96			

De acordo com a Tabela 1.1, não houve diferença significativa quanto ao Fr presente quando da formulação e após o armazenamento em condições ambientais. Entretanto, a análise de variância realizada para Fr e FINS, revela uma diferença significativa; o Fr sofreu um decréscimo, enquanto que a concentração de FINS aumentou.

Os resultados da tabela 1 estão ilustrados na figura 1. Pode-se ter, então, uma melhor visualização do que ocorre com as diversas formas de flúor presente nos dentifrícios à base de NaF após o armazenamento em condições ambientais.

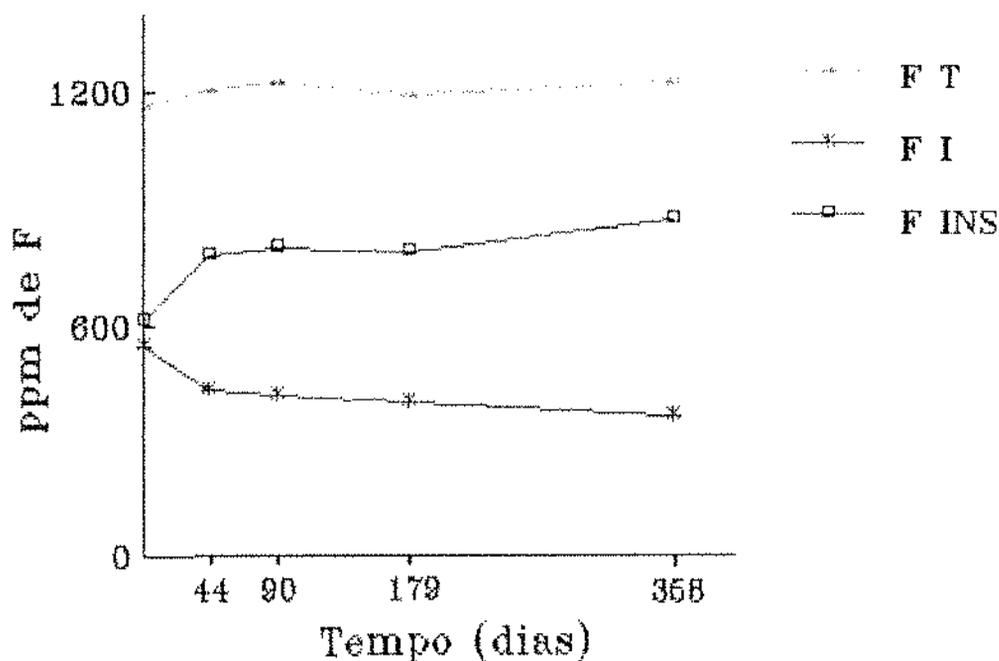


Figura 1. Concentração média de Flúor total (Fr), iônico (Fi) e insolúvel (FINS) nos dentifrícios contendo NaF/CaCO<sub>3</sub> dias após o armazenamento em condições ambientais.

Na tabela 2 estão expressas as concentrações médias de flúor total, flúor solúvel iônico e flúor insolúvel nos dentifrícios à base de NaF, contendo CaCO<sub>3</sub> como abrasivo, horas após o armazenamento em estufa a 45°C.

Tabela 2. Concentração de Flúor Total (Fr), solúvel iônico (Fi) e insolúvel (FINS) nos dentifrícios contendo NaF/CaCO<sub>3</sub> horas após o armazenamento a 45°C.

TEMPO (h, 45°C)	FORMAS DE FLÚOR* (ppm F)		
	Fr	Fi	FINS
24	1150,17	495,34	654,83
48	1154,66	439,00	715,67
96	1099,66	399,00	700,67
192	1186,34	383,00	803,33
384	1188,16	321,34	866,83

\* média de 6 determinações

As tabelas 2.1, 2.2 e 2.3 mostram, respectivamente, as análises de variância realizadas para flúor total, solúvel iônico e insolúvel.

Tabela 2.1. Análise de Variância para Fr.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCAS	4	30983,13	7745,783	2,6853	0,05396
RESIDUOS	25	72111,67	2884,467		
TOTAL	29	103094,80			

Tabela 2.2. Análise de Variância para Fi.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCAS	4	100824,80	25206,200	97,6581	0,00001
RESIDUOS	25	6452,67	258,107		
TOTAL	29	107277,47			

Tabela 2.3. Análise de Variância para FINS.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCAS	4	174892,20	43723,050	16,3356	0,00001
RESIDUOS	25	66913,67	2676,547		
TOTAL	29	241805,87			

Conforme análise da Tabela 2.1, não houve diferença significativa quanto ao Fr. Pela análise das tabelas 2.2 e 2.3, houve diferença significativa quanto ao Fr e FINS. A análise estatística revela que houve um decréscimo da concentração de flúor iônico e um aumento da concentração de flúor insolúvel, à medida que o tempo de armazenamento aumentava.

Para uma melhor visualização dos resultados da tabela 2, estes estão ilustrados na figura 2, demonstrando o que ocorre com as diversas formas de flúor presente nos dentifrícios à base de NaF após o armazenamento em estufa a 45°C.

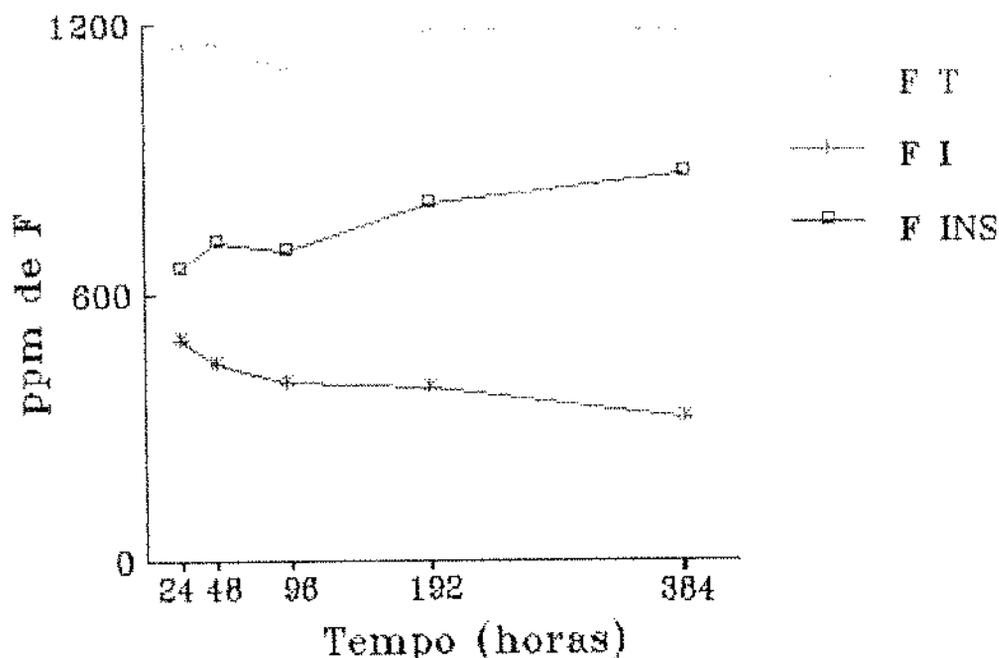


Figura 2. Concentração média de Flúor total (Fr), iônico (Fi) e insolúvel (FINS) nos dentifrícios contendo NaF/CaCO<sub>3</sub> horas após o armazenamento a 45°C.

Em decorrência do objetivo do presente trabalho, em tentar estabelecer uma condição laboratorial correspondente a 1 ano a temperatura ambiente, realizou-se o teste Bilateral de Dunnett, considerando o tempo de 358 dias como testemunha e comparando com este os diversos tempos de armazenamento a 45°C. Isto foi feito para cada forma de flúor presente, nos dentifrícios à base de NaF e está expresso nas tabelas 3.1, 3.2 e 3.3.

Tabela 3.1. Teste Bilateral de Dunnett para Fr.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	1230,00		
24 h	1150,167	NS	NS
48 h	1154,667	NS	NS
96 h	1099,667	**	**
192 h	1186,333	NS	NS
384 h	1188,167	NS	NS

Tabela 3.2. Teste Bilateral de Dunnett para Fr.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	362,33		
24	495,33	**	**
48	439,33	**	**
96	399,00	**	**
192	383,00	NS	NS
384	321,00	**	**

Tabela 3.3. Teste Bilateral de Dunnett para FINS.

NOME	MEDIAS	5%	1%
358 D	867,67		
24 h	654,83	**	**
48 h	715,67	**	**
96 h	700,67	**	**
192 h	803,33	NS	NS
384 h	866,83	NS	NS

\*\* - Tratamentos que diferem da testemunha

NS - Tratamentos que não diferem da testemunha

Para uma melhor visualização destes resultados, na figura 3 estão presentes as concentrações de flúor solúvel iônico nos dentifrícios contendo NaF/CaCO<sub>3</sub> horas após o armazenamento em condições ambientais e em estufa a 45°C.

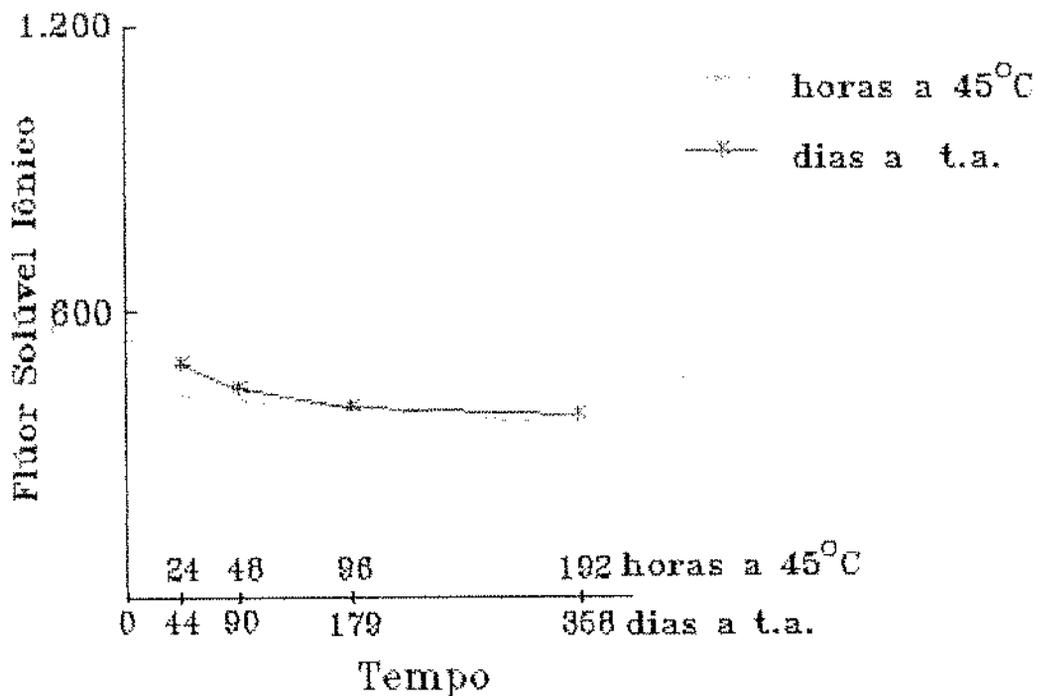


Figura 3. Concentração média de flúor solúvel iônico nos dentifrícios contendo NaF/CaCO<sub>3</sub> horas após o armazenamento em condições ambientais e a 45°C.

De acordo com os dados apresentados, pode-se constatar que o  $F_T$  presente nos diversos tempos a  $45^\circ\text{C}$  não diferiu da testemunha, isto é, 358 dias em condições ambientais, exceto o tempo de 96 horas. O mesmo não ocorreu para o  $F_I$  e  $F_{INS}$ . Para o  $F_I$ , o tempo de 192 horas a  $45^\circ\text{C}$  não apresentou diferença significativa quando comparado com 358 dias em condições ambientais. Em todos os outros tempos houve diferença. Para o  $F_{INS}$ , os tempos de 192 e 384 horas a  $45^\circ\text{C}$  não diferiram significativamente da testemunha.

### 1.2 - Dentifrícios à base de MFP

Na tabela 4 estão expressas as concentrações médias de flúor total, solúvel, iônico, ionizável e insolúvel nos dentifrícios à base de MFP, contendo  $\text{CaCO}_3$  como abrasivo, quando formulados e dias após o armazenamento em condições ambientais.

Tabela 4. Concentração de Flúor Total ( $F_T$ ), Solúvel ( $F_S$ ), Iônico ( $F_I$ ), Ionizável ( $F_{MFP}$ ) e Insolúvel ( $F_{INS}$ ) nos dentifrícios contendo MFP/ $\text{CaCO}_3$  dias após o armazenamento em condições ambientais.

TEMPO (dias)	FORMAS DE FLÚOR* (ppm F)				
	$F_T$	$F_S$	$F_I$	$F_{MFP}$	$F_{INS}$
0	1144,16	1084,84	103,4	981,43	59,33
44	1145,00	1033,5	172,18	861,32	111,5
90	1181,84	986,83	239,5	747,33	195,0
179	1102,16	913,83	284,83	629,0	188,3
358	1116,6	779,0	346,6	432,4	337,6

\* média de 6 determinações

As tabelas 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5 mostram, respectivamente, as análises de variância realizadas para flúor total, solúvel, iônico, ionizável e insolúvel presentes nos dentifrícios à base de MFP quando armazenados em condições ambientais.

Tabela 4.1. Análise de Variância para Fr.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
DIAS	4	22030,5068966	5507,6267241	2,1730	0,10205
RESIDUOS	24	60829,7000000	2534,5708333		
TOTAL	28	82860,2068966			

Tabela 4.2. Análise de Variância para Fs.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
DIAS	4	305842,1379310	76460,5344828	48,1262	0,00001
RESIDUOS	24	38130,0000000	1588,7500000		
TOTAL	28	343972,1379310			

Tabela 4.3. Análise de Variância para Fr.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
DIAS	4	202129,4726975	50532,3681744	313,3923	0,00001
RESIDUOS	24	3869,8363167	161,2431799		
TOTAL	28	205999,3090143			

Tabela 4.4. Análise de Variância para F<sub>MFP</sub>.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
DIAS	4	985374,8305293	246343,7076323	239,9681	0,00001
RESIDUOS	24	24637,6497404	1026,5687392		
TOTAL	28	1010012,4802697			

Tabela 4.5. Análise de Variância para FINS.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
DIAS	4	239994,0816092	59998,5204023	43,4177	0,00001
RESIDUOS	24	33165,3666667	1381,8902778		
TOTAL	28	273159,4482759			

De acordo com a tabela 4.1, não houve diferença significativa quanto ao Fr. A análise de variância realizada para as outras formas de flúor revela que houve diferença significativa para todas. O Fs e o FMFP sofreram um decréscimo, em contraste com o Fi e o FINS que tiveram suas concentrações aumentadas.

Com o objetivo de uma melhor visualização do que ocorre com as diversas formas de flúor presentes nos dentifrícios à base de MFP após o armazenamento em condições ambientais, os resultados da tabela 3 estão ilustrados na figura 4.

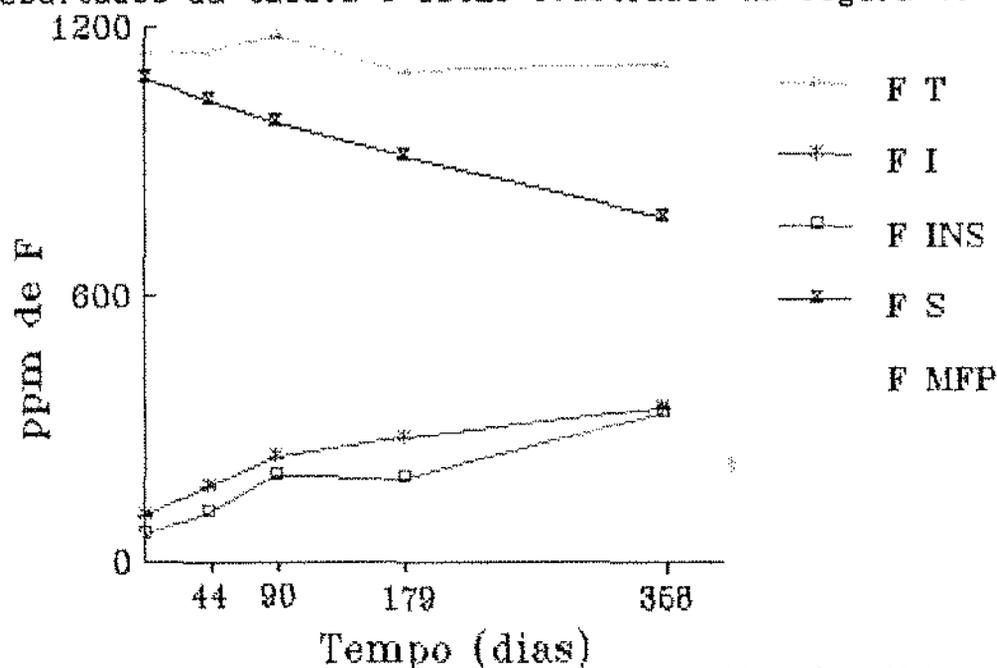


Figura 4. Concentração média de flúor total (FT), solúvel (FS), iônico (FI), ionizável (FMFP) e insolúvel (FINS) nos dentifrícios contendo MFP/CaCO<sub>3</sub> dias após o armazenamento em condições ambientais.

Na tabela 5 estão expressas as concentrações médias de flúor total, solúvel, iônico, ionizável e insolúvel nos dentifrícios à base de MFP, contendo  $\text{CaCO}_3$  como abrasivo, horas após o armazenamento em estufa a  $45^\circ\text{C}$ .

Tabela 5. Concentração de Flúor Total ( $F_T$ ), Solúvel ( $F_S$ ), Iônico ( $F_I$ ), Ionizável ( $F_{MFP}$ ) e Insolúvel ( $F_{INS}$ ) nos dentifrícios contendo MFP/ $\text{CaCO}_3$  horas após o armazenamento a  $45^\circ\text{C}$ .

TEMPO (h, $45^\circ\text{C}$ )	FORMAS DE FLÚOR* (ppm F)				
	$F_T$	$F_S$	$F_I$	$F_{MFP}$	$F_{INS}$
24	1142,5	1012,69	188,12	824,55	129,83
48	1159,84	985,33	242,00	743,33	174,50
96	1176,66	976,50	242,17	736,33	203,17
192	1089,00	857,40	377,67	480,00	231,80
384	1127,84	815,83	365,17	450,66	312,00

\* média de 6 determinações

As análises de variância realizadas para flúor total, solúvel, iônico, ionizável e insolúvel estão demonstradas nas tabelas 5.1, 5.2, 5.3, 5.4 e 5.5, respectivamente.

Tabela 5.1. Análise de Variância para  $F_T$ .

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	26937,6667	6734,4167	2,7319	0,05102
RESIDUOS	25	61626,5000	2465,0600		
TOTAL	29	88564,1667			

Tabela 5.2. Análise de Variância para Fs.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	177870,9724138	44467,7431034	85,5821	0,00001
RESIDUOS	24	12470,2000000	519,5916667		
TOTAL	28	190341,1724138			

Tabela 5.3. Análise de Variância para Ft.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	168386,0400528	42096,5100132	172,0491	0,00001
RESIDUOS	25	6116,9314026	244,6772561		
TOTAL	29	174502,9714554			

Tabela 5.4. Análise de Variância para Fmfp.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	662478,9846838	165619,7461710	246,4828	0,00001
RESIDUOS	24	16126,3764404	671,9323517		
TOTAL	28	678605,3611242			

Tabela 5.5. Análise de Variância para Fins.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	111195,2747126	27798,8186782	10,5455	0,00013
RESIDUOS	24	63265,9666667	2636,0819444		
TOTAL	28	174461,2413793			

De acordo com as análises de variância, não houve diferença significativa quanto ao Fr. Porém, as outras formas de flúor apresentaram diferença significativa; as concentrações de Fs e de FMFP decresceram, à medida que, o Fr e o FINS sofreram aumento nas suas concentrações.

A fim de se obter uma melhor visualização do que ocorre com as diversas formas de flúor presentes nos dentifrícios à base de MFP após o armazenamento em estufa a 45°C, os resultados da tabela 5 estão ilustrados na figura 5.

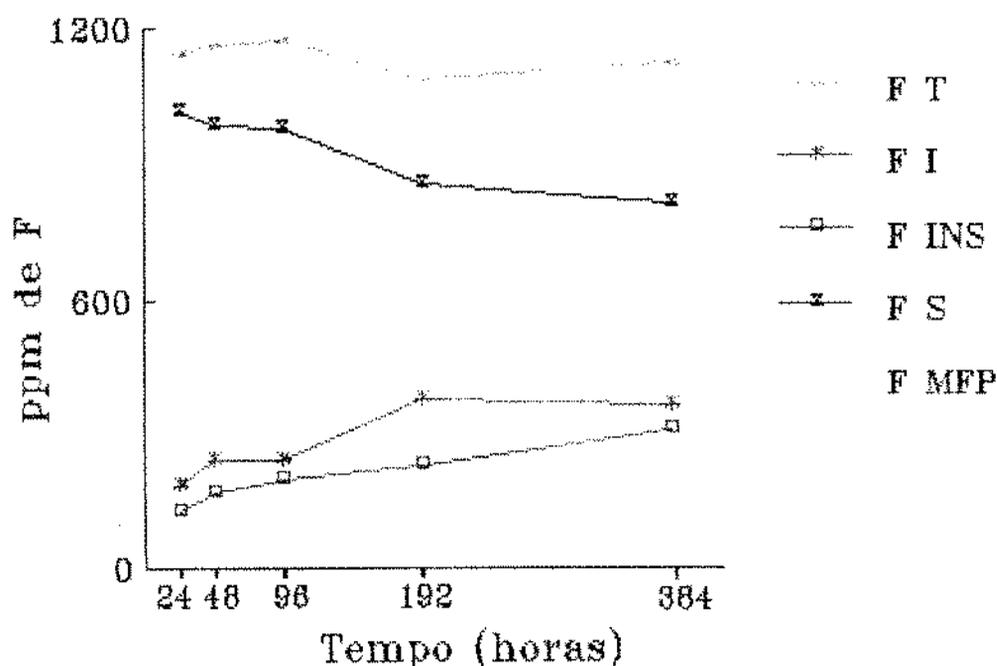


Figura 5. Concentração média de flúor total (Fr), solúvel (Fs), iônico (Fi), ionizável (FMFP) e insolúvel (FINS) nos dentifrícios contendo MFP/CaCO<sub>3</sub> dias após o armazenamento à 45°C.

Foi realizado, então, o teste Bilateral de Dunnett, considerando o tempo de 358 dias como testemunha e comparando com este os diversos tempos de armazenamento a 45°C. Isto foi realizado para cada forma de flúor presente, nos dentifrícios à base de MFP e está expresso nas tabelas 6.1, 6.2, 6.3, 6.4 e 6.5.

Tabela 6.1. Teste Bilateral de Dunnett para Fr.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	1116,60		
24 h	1142,50	NS	NS
48 h	1159,83	NS	NS
96 h	1176,67	NS	NS
192 h	1089,00	NS	NS
384 h	1127,83	NS	NS

Tabela 6.2. Teste Bilateral de Dunnett para Fs.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	779,00		
24	1012,67	**	**
48	985,33	**	**
96	978,50	**	**
192	857,40	**	**
384	815,83	**	NS

Tabela 6.3. Teste Bilateral de Dunnett para Fr.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	346,6		
24 h	188,12	**	**
48 h	242,00	**	**
96 h	242,17	**	**
192 h	377,67	**	NS
384 h	365,17	NS	NS

Tabela 6.4. Teste Bilateral de Dunnett para FMFP.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	432,40		
24 h	824,55	**	**
48 h	743,33	**	**
96 h	736,33	**	**
192 h	480,00	**	NS
384 h	450,67	NS	NS

Tabela 6.5. Teste Bilateral de Dunnett para FINS.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	337,60		
24 h	129,83	**	**
48 h	174,50	**	**
96 h	203,17	**	**
192 h	231,80	**	NS
384 h	312,00	NS	NS

\*\* - Tratamentos que diferem da testemunha

NS - Tratamentos que não diferem da testemunha

Pode-se constatar que o  $F_T$  presente nos diversos tempos a  $45^\circ\text{C}$  não diferiu da testemunha. O flúor solúvel presente nos diversos tempos a  $45^\circ\text{C}$  diferiu da testemunha, exceto no tempo de 384 h a um nível de 1%. O  $F_I$ ,  $FMFP$  e  $FINS$  não diferiram da testemunha no tempo de 384h a um nível de 5% e no tempo de 192 h a um nível de 1%.

Para uma melhor visualização destes resultados, na figura 6 estão presentes as concentrações de flúor solúvel (iônico + ionizável) nos diversos tempos em condições ambientais e em estufa a  $45^\circ\text{C}$ .

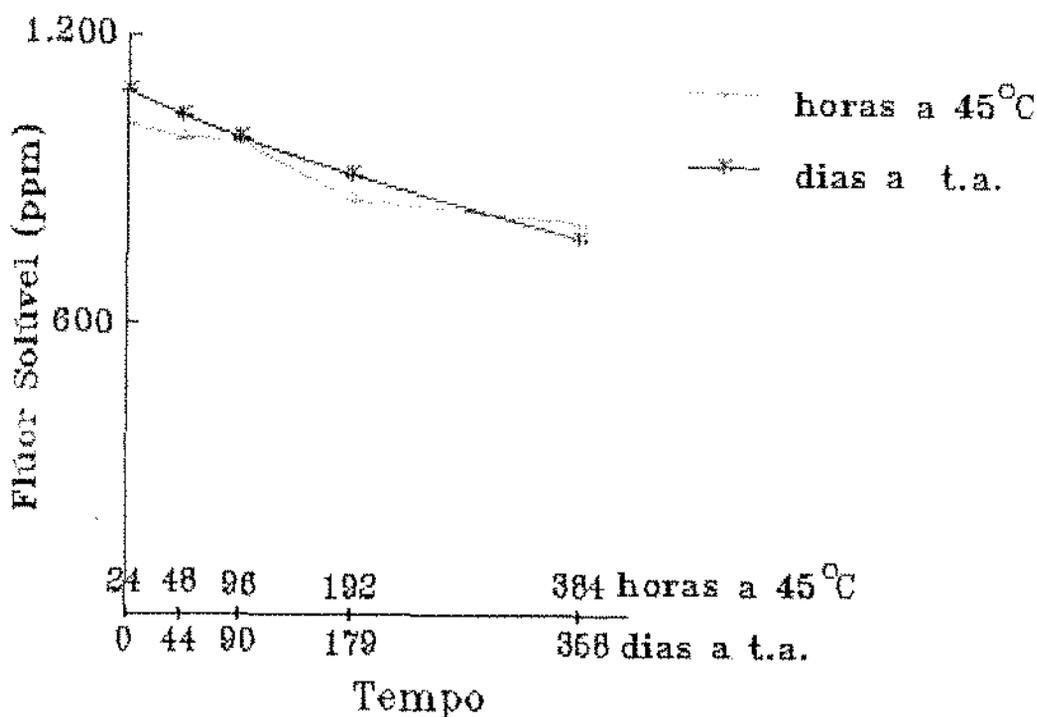


Figura 6. Concentração média de flúor solúvel nos dentifrícios contendo MFP/CaCO<sub>3</sub> horas após o armazenamento em condições ambientais e a 45°C.

Na tabela 7, estão expressas as concentrações médias de flúor total, solúvel, iônico, ionizável e insolúvel presentes nos dentifrícios à base de MFP, horas após o armazenamento em estufa a 55°C.

Tabela 7. Concentração de Flúor Total (Fr), Solúvel (Fs), Iônico (Fi), Ionizável (FMFP) e Insolúvel (FINS) nos dentifrícios contendo MFP/CaCO<sub>3</sub> horas após o armazenamento a 55°C.

TEMPO (h, 55°C)	FORMAS DE FLÚOR* (ppm F)				
	Fr	Fs	Fi	FMFP	FINS
24	1139,66	990,83	205,60	785,24	148,83
48	1128,66	951,83	230,83	721,00	176,83
96	1057,00	845,50	282,00	563,50	211,50
192	1112,66	873,33	370,50	502,83	239,33
384	1188,50	791,17	456,66	334,50	397,34

\* média de 6 determinações

As análises de variância realizadas para flúor total, solúvel, iônico, ionizável e insolúvel estão expressas nas tabelas 7.1, 7.2, 7.3, 7.4 e 7.5, respectivamente.

Tabela 7.1. Análise de Variância para Fr.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCAS	4	54218,80	13554,70	7,4595	0,00064
RESIDUOS	25	45427,50	1817,10		
TOTAL	29	99646,30			

Tabela 7.2. Análise de Variância para Fs.

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	156092,13	39023,033	32,4593	0,00001
RESIDUOS	25	30055,33	1202,213		
TOTAL	29	186147,47			

Tabela 7.3. Análise de Variância para  $F_x$ .

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	258709,2475208	64677,3118802	551,2674	0,00001
RESIDUOS	25	2933,1190861	117,3247634		
TOTAL	29	261642,3666069			

Tabela 7.4. Análise de Variância para  $F_{MFP}$ .

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	770934,1530742	192733,5382686	298,8760	0,00001
RESIDUOS	25	16121,5316552	644,8612662		
TOTAL	29	787055,6847295			

Tabela 7.5. Análise de Variância para  $F_{INS}$ .

C. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	P>F
EPOCA	4	226385,533	56596,383	102,6797	0,00001
RESIDUOS	25	13779,833	551,193		
TOTAL	29	240165,367			

Conforme a tabela 7.1, houve uma diferença significativa quanto ao  $F_r$  presente após o armazenamento em estufa a 55°C. Da mesma forma, a análise de variância revelou uma diferença significativa para as outras formas de flúor; enquanto as concentrações de  $F_s$  e  $F_{MFP}$  sofreram um decréscimo, as concentrações de  $F_i$  e  $F_{INS}$  aumentaram.

Os resultados da Tabela 7 estão ilustrados na figura 7. Pode-se ter, então, uma melhor visualização do que ocorre com as diversas formas de flúor presentes nos dentifrícios à base de MFP após o armazenamento em estufa a 55°C.

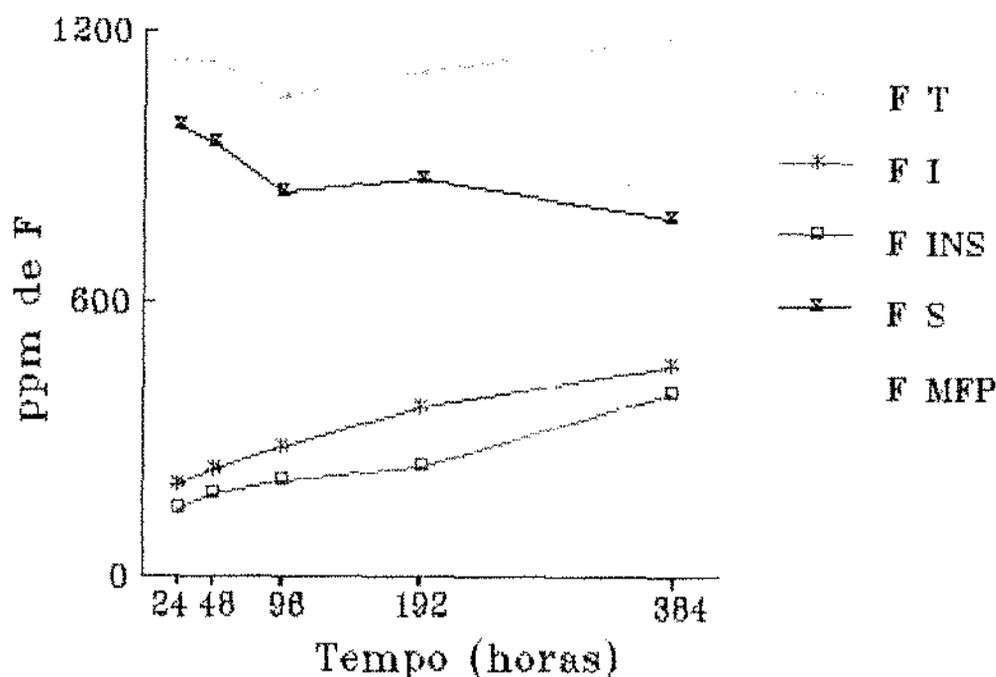


Figura 7. Concentração média de flúor total (FT), solúvel (FS), iônico (FI), ionizável (FMFP) e insolúvel (FINS) nos dentifrícios contendo MFP/CaCO<sub>3</sub> dias após o armazenamento à 55°C .

Foi realizado, então, o teste Bilateral de Dunnett, considerando o tempo de 358 dias como testemunha e comparando com este os diversos tempos de armazenamento a 55°C. Isto foi realizado para cada forma de flúor presente, nos dentifrícios à base de MFP e está expresso nas tabelas 8.1, 8.2, 8.3, 8.4 e 8.5.

Tabela 8.1. Teste Bilateral de Dunnett para Fr.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	1116,6		
24 h	1139,67	NS	NS
48 h	1128,67	NS	NS
96 h	1057,00	NS	NS
192 h	1112,67	NS	NS
384 h	1188,50	NS	NS

Tabela 8.2. Teste Bilateral de Dunnett para Fs.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	779,00		
24	990,833	**	**
48	951,833	**	**
96	845,500	**	**
192	873,333	**	**
384	791,167	NS	NS

Tabela 8.3. Teste Bilateral de Dunnett para Fr.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	346,600		
24 h	205,596	**	**
48 h	230,833	**	**
96 h	282,000	**	**
192 h	370,500	**	**
384 h	456,667	**	**

Tabela 8.4. Teste Bilateral de Dunnett para FMFP.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	432,40		
24 h	785,239	**	**
48 h	721,000	**	**
96 h	563,500	**	**
192 h	502,833	**	**
384 h	334,500	**	**

Tabela 8.5. Teste Bilateral de Dunnett para FINS.

NOME	MÉDIAS	5%	1%
358 D	337,60		
24 h	148,83	**	**
48 h	176,83	**	**
96 h	211,50	**	**
192 h	239,33	**	**
384 h	397,33	**	**

\*\* - Tratamentos que diferem da testemunha

NS - Tratamentos que não diferem da testemunha

Pode-se constatar que o Fr presente nos diversos tempos a 55°C não diferiu da testemunha. O flúor solúvel não diferiu da testemunha, no tempo de 384 h a 55°C a um nível de 5%. O Fr, FMFP e FINS diferiram da testemunha em todos os tempos.

Para uma melhor visualização de resultados, na figura 8 estão presentes as concentrações de flúor solúvel (iônico + ionizável) nos diversos tempos em condições ambientais e em estufa a 55°C.

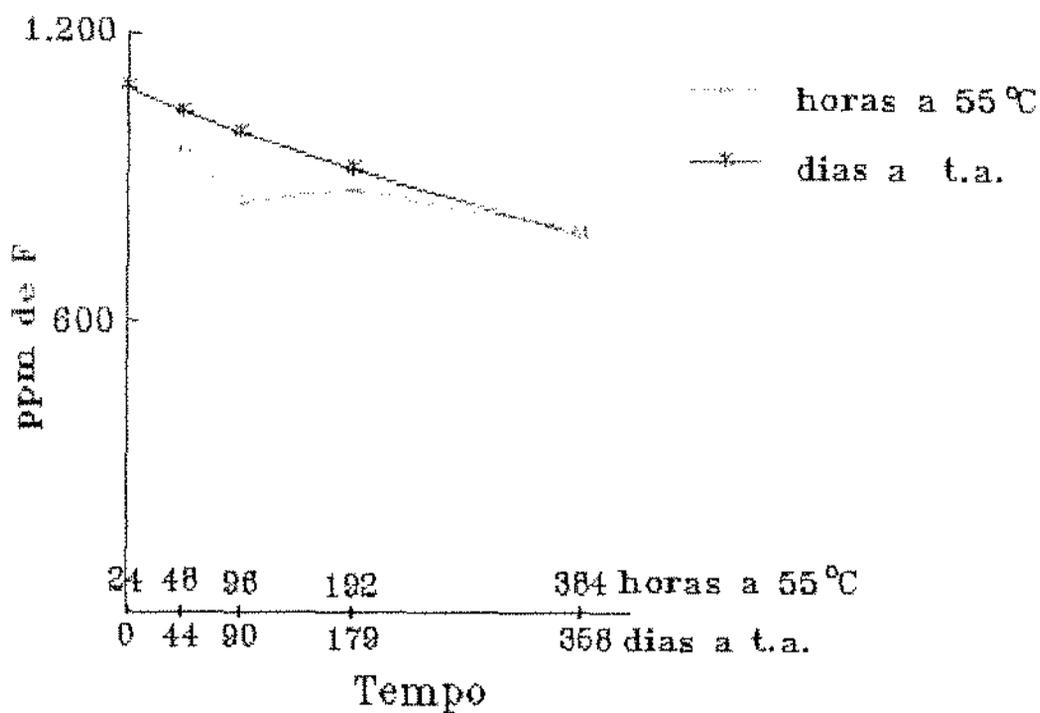


Figura 8. Concentração média de flúor solúvel nos dentifrícios contendo MFP/CaCO<sub>3</sub> horas após o armazenamento em condições ambientais e a 55°C.

## 2 - Reatividade com o pó de esmalte.

### 2.1 - Dentifrícios à base de NaF

Na tabela 9 estão representados os resultados da reatividade dos dentifrícios à base de NaF com o pó de esmalte dental humano, quando formulados e dias após o armazenamento em condições ambientais.

Tabela 9. Concentração média de Flúor Total (Fr) adquirido pelo esmalte após a reação com os dentifrícios dias após o armazenamento em condições ambientais.

TEMPO (dias)	Fr* (ppmF)
0	20,72 ( 9,89)
44	27,01 ( 6,52)
90	35,90 ( 9,27)
179	29,86 (13,44)
358	20,94 ( 5,52)

\* média e desvio padrão de 6 determinações

Na tabela 9.1, estão expressos os resultados do teste de TUKEY, que foi aplicado com o objetivo de verificar se houve diferença significativa na quantidade de flúor adquirida pelo pó de esmalte a partir dos dentifrícios, nos diversos tempos de armazenamento.

Tabela 9.1. Teste de TUKEY para Fr.

TEMPO (dias)	TUKEY
0	I*
44	I
90	I
179	I
358	I

\* - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

A análise dos dados revela que não houve diferença significativa quanto ao Fr adquirido pelo esmalte quando este reagiu com os dentifrícios quando formulados e após o armazenamento em condições ambientais.

Na tabela 10 estão expressos os resultados da reatividade dos dentifrícios à base de NaF com o pó de esmalte dental humano, horas após o armazenamento em estufa a 45°C.

Tabela 10. Concentração média de Flúor Total (Fr) adquirido pelo esmalte após a reação com os dentifrícios horas após o armazenamento a 45°C.

TEMPO (horas)	Fr* (ppmF)
24	18,55 (9,80)
48	34,35 (8,39)
96	21,72 (7,80)
192	20,67 (7,60)
384	20,94 (5,52)

\* média e desvio padrão de 6 determinações

A tabela 10.1, mostra o teste de TUKEY, realizado para o Fr adquirido pelo pó de esmalte dental a partir dos dentifrícios à base de NaF armazenados em estufa a 45°C.

Tabela 10.1. Teste de TUKEY para Fr.

TEMPO (horas)	TUKEY
24	I*
48	II
96	I II
192	I II
384	I II

\* - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

De acordo com a tabela 10.1, houve diferença significativa quanto ao Fr adquirido pelo esmalte a partir dos dentifrícios armazenados em estufa a 45°C durante 24 e 48 horas. Porém, estes 2 tratamentos não apresentaram diferenças significativas em relação aos outros (96, 192 e 384 h).

## 2.2 - Dentifrícios à base de MFP

A tabela 11 mostra os resultados da reatividade dos dentifrícios à base de MFP com o pó de esmalte dental humano, quando formulados e dias após o armazenamento em condições ambientais.

Tabela 11. Concentração média de Flúor Total (Fr) adquirido pelo esmalte após a reação com os dentifrícios dias após o armazenamento em condições ambientais.

TEMPO (dias)	Fr <sup>x</sup> (ppmF)
0	23,12 ( 6,63)
44	14,84 ( 9,83)
90	30,43 (15,02)
179	51,61 (16,71)
358	48,52 ( 6,74)

\* média e desvio padrão de 6 determinações

A tabela 11.1 mostra o teste de TUKEY realizado para o Fr adquirido pelo pó de esmalte dental humano a partir dos dentifrícios à base de MFP armazenados em condições ambientais.

Tabela 11.1. Teste de TUKEY para Fr.

TEMPO (dias)	TUKEY
0	I*
44	I
90	I II
179	III
358	II III

\* - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

A análise dos dados revela que houve diferença significativa quanto ao Fr adquirido pelo pó de esmalte a partir dos dentifrícios à base de MFP quando formulados e após 179 e 358 dias de armazenamento em condições ambientais; houve um aumento da quantidade de Fr adquirido.

A tabela 12 mostra os resultados da reatividade dos dentifrícios à base de MFP com o pó de esmalte dental humano, horas após o armazenamento em estufa a 45°C.

Tabela 12. Concentração média de Flúor Total (Fr) adquirido pelo esmalte após a reação com os dentifrícios horas após o armazenamento a 45°C.

TEMPO (horas)	Fr* (ppmF)
24	13,39 ( 4,17)
48	24,22 (13,04)
96	24,18 (10,00)
192	25,08 ( 6,17)
384	40,35 (13,68)

\* média e desvio padrão de 6 determinações

Na tabela 12.1, estão expressos os resultados do teste de TUKEY realizado para o Fr adquirido pelo pó de esmalte dental humano a partir dos dentifrícios à base de MFP armazenados em estufa a 45°C.

Tabela 12.1. Teste de TUKEY para Fr.

TEMPO (horas)	TUKEY
24	I*
48	I II
96	I II
192	I II
384	II

\* - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

Conforme tabela 12.1, houve diferença significativa apenas quanto ao Fr adquirido pelo pó de esmalte a partir dos dentifrícios à base de MFP armazenados em estufa a 45°C durante 24 e 384 horas. Porém, estes 2 tratamentos não apresentaram diferenças significativas em relação aos outros (96, 192 e 384 h).

Na tabela 13, estão expressos os resultados da reatividade dos dentifrícios à base de MFP com o pó de esmalte dental humano, horas após o armazenamento em estufa a 55°C.

Tabela 13. Concentração média de Flúor Total (Fr) adquirido pelo esmalte após a reação com os dentifrícios horas após o armazenamento a 55°C.

TEMPO (horas)	Fr* (ppmF)
24	34,96 ( 7,38)
48	27,57 (11,07)
96	29,14 ( 3,67)
192	36,27 (13,14)
384	36,16 ( 8,99)

\* média e desvio padrão de 6 determinações

Na tabela 13.1, estão expressos os resultados do teste de TUKEY realizado para o Fr adquirido pelo pó de esmalte dental humano a partir dos dentifrícios à base de MFP armazenados em estufa a 55°C.

Tabela 13.1. Teste de TUKEY para Fr.

TEMPO (horas)	TUKEY
24	I*
48	I
96	I
192	I
384	I

\* - Tratamentos seguidos do mesmo algarismo romano não diferem estatisticamente.

A análise dos dados revela que não houve diferença significativa apenas quanto ao Fr adquirido pelo pó de esmalte a partir dos dentifrícios à base de MFP armazenados em estufa a 55°C.

## DISCUSSÃO

## DISCUSSÃO

Os dentifrícios já provaram ser o método mais efetivo contra a cárie (ROLLA, 1991). Esta efetividade, entretanto, pode ser afetada pela combinação do flúor com o cálcio presente em alguns abrasivos. Vários autores já comprovaram que o flúor presente nos dentifrícios é capaz de se combinar com o cálcio e desta forma, tornando-se insolúvel, perder sua atividade (ERICSSON, 1961; BUSHEE, 1971; BIRKERLAND, 1971; HAGEN, 1972; NOREN & HARSE, 1974; PEARCE & MORE, 1974; ATHANASSOULI & PAPASTATHOPOULOS, 1978; CURY et al., 1980; CURY et al., 1981; ALHAIQUE et al., 1982; DE FREITAS, 1984; CURY, 1986; FADVAI-RUSDARI et al., 1987; HATTAB, 1989; CURY, 1989). Também foi verificado que a quantidade de flúor insolúvel presente nos dentifrícios é capaz de aumentar com o armazenamento em temperatura ambiente.

Desta forma, a Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária estabeleceu normas de controle de qualidade para os dentifrícios. Entretanto, não foi estabelecido um teste de envelhecimento precoce que pudesse antecipar o que ocorreria após um ano ou mais. Uma lei estabelecida por Van't Hoff indica que um aumento de  $10^{\circ}\text{C}$  na temperatura de armazenamento duplica a velocidade da reação. Entretanto, existem experimentos comprovando que muitas vezes o aumento da temperatura de armazenamento não corresponde exatamente ao que esta lei afirma (HOLZNER, 1974). Atualmente, como teste de envelhecimento para dentifrícios, utiliza-se o armazenamento a  $45^{\circ}\text{C}$  durante 72 horas, o mesmo utilizado para medicamentos (PANZERI et al., 1979). No presente trabalho, verificou-se que tal condição não reflete o que realmente acontece após 1 ano.

Além disso, o NaF e o MFP não se comportam da mesma forma. O MFP é mais estável e se combina com o cálcio em uma extensão menor que o NaF. Isto acontece porque o NaF prontamente se dissocia, originando o flúor iônico que se combina com o cálcio.

O MFP, porém, necessita sofrer hidrólise e então, liberar o flúor iônico. Devido a estas observações, já era esperado que o tempo ou a temperatura do teste de envelhecimento precoce, fosse maior para os dentifrícios à base de MFP.

Como já foi descrito na literatura, o flúor total presente tanto nos dentifrícios à base de NaF como MFP não sofre alteração. Entretanto, os dentifrícios à base de MFP armazenados a 55°C apresentaram uma diferença significativa que só pode ser explicada por problemas técnicos. O flúor iônico, presente nos dentifrícios à base de NaF quando da aquisição, correspondia a apenas 47% do flúor total. Houve uma diminuição do flúor iônico com simultâneo aumento da forma insolúvel. Estes resultados estão de acordo com NDREN & HARSE, 1974; PEARCE, 1974; CURY, 1986; HATTAB, 1989.

Através dos resultados, comparando-se, nos dentifrícios com NaF, a quantidade de flúor iônico presente após um ano de armazenamento a temperatura ambiente com os diversos tempos de avaliação a 45°C, pode-se verificar que o envelhecimento por 192 horas apresenta uma certa correspondência com o armazenamento após um ano (Figura 3).

Os dentifrícios à base de MFP apresentaram o mesmo comportamento descrito pela literatura. Houve um aumento do flúor iônico, devido a hidrólise do flúor ionizável que apresentou uma diminuição. O flúor solúvel (iônico + ionizável) sofreu uma diminuição com um simultâneo aumento de flúor insolúvel.

Quando comparou-se, nos dentifrícios com MFP, a quantidade de flúor presente após um ano de armazenamento a temperatura ambiente com o armazenamento a 45°C durante 384 horas, verificou-se que em relação ao flúor solúvel, não houve diferença significativa apenas a nível de 1%. Quando a quantidade de flúor presente após um ano a temperatura ambiente foi comparada com aquela presente após o armazenamento a 55°C durante 384 horas, verificou-se que em relação ao flúor solúvel, não houve diferença significativa a nível de 1 e 5%.

Como a Portaria nº 22 da SNVS estabelece que o dentifrício deve manter no mínimo 600 ppm de flúor solúvel dentro de um ano de fabricação, o flúor solúvel presente nos dentifrícios armazenados, foi o utilizado para se estabelecer uma condição de envelhecimento precoce. Desta forma, o armazenamento a 55°C durante 384 horas apresenta uma certa correspondência com o armazenamento durante um ano a temperatura ambiente (Figura 8), para dentifrícios com MFP.

Deve ser observado que estes dentifrícios possuem carbonato de cálcio como abrasivo e que a temperatura ambiente mencionada refere-se àquela verificada em Piracicaba no período de julho de 1991 a junho de 1992, que foi em média 22,19°C. (Apêndice).

Sabe-se que o flúor iônico presente nos dentifrícios à base de NaF é o responsável pela sua ação cariostática. Entretanto, atualmente, ainda se encontra em discussão qual seria a forma de flúor, iônica ou ionizável, responsável pela ação cariostática dos dentifrícios à base de MFP. INGRAM (1973) afirmou que o monofluorofosfato é incorporado pelo esmalte nesta forma. Porém, outros autores (ERICSSON, 1967; PEARCE & MORE, 1975) relataram que o flúor iônico seria o responsável pela ação cariostática dos dentifrícios à base de MFP.

O MFP pode ser hidrolisado sob ação de fosfatases não-específicas, presentes na saliva, placa natural e artificial e suspensões de *Streptococcus mutans*, originando flúor iônico (ERICSSON, 1967; PEARCE & JENKINS, 1977; JACKSON, 1982; SAOTOME, 1987). Existem divergências quanto ao pH no qual ocorreria a atividade máxima da monofluorofosfatase. PEARCE & JENKINS (1977) constataram que o ponto máximo de atividade desta enzima ficou entre pH 7,2 a 8,6, sugerindo que as fosfatases alcalinas são mais importantes do que as ácidas. Porém, SAOTOME (1987) observou que a atividade máxima da enzima ocorreu em pH 5,0.

A reatividade é um dos métodos mais utilizados para estudar a ação anticárie do flúor. Os métodos *in vivo* são demorados e muito dispendiosos. Porém, os experimentos *in vitro* não refletem condições de tratamento *in vivo*. E, especialmente, neste caso, as condições *in vivo*, tais como, saliva, placa e microorganismos orais são extremamente importantes. KLIMEK et al. (1982) comprovaram isto no seu trabalho. O esmalte sem estar coberto por placa incorporou flúor a partir do NaF, entretanto o MFP foi capaz apenas de aumentar o flúor presente no esmalte insignificamente. O esmalte coberto por placa incorporou mais flúor a partir das soluções fluoretadas, porém o MFP apresentou a diferença mais pronunciada.

Existem divergências quanto à capacidade do método de reatividade ser um bom indicador da efetividade clínica de um dentifrício. BOLDERSON et al. (1977) relataram que a concentração de hidroxiapatita fluoretada é capaz de prever o desempenho clínico de dentifrícios. DUKE & FORWARD (1985) sugerem que o <sup>o</sup> experimento *in vitro* possui algum valor na previsão da efetividade clínica de um dentifrício. No entanto, RAVEN et al. (1991) afirmam que os métodos *in vitro* não são bons indicadores do potencial cariostático de um dentifrício.

Os resultados deste trabalho revelam que os dentifrícios à base de NaF, quando adquiridos, já apresentavam cerca de 52% do flúor total na forma insolúvel. A quantidade de flúor solúvel que se combinou com o abrasivo, após um ano de armazenamento, cerca de 18%, foi insuficiente para demonstrar uma diminuição da incorporação do flúor pelo esmalte. Isto ocorre porque a relação existente entre a concentração de flúor iônico e a incorporação deste pelo esmalte não é linear, e sim, logarítmica (DUKE & FORWARD, 1978), e assim, diferenças só seriam observadas se a porcentagem de flúor insolúvel quando da formulação dos dentifrícios não tivesse sido tão alta.

Em oposição a estes resultados, os dentifrícios à base de MFP, após o envelhecimento a temperatura ambiente e a 45°C, foram capazes de aumentar a incorporação de flúor pelo esmalte. Estes resultados intrigantes poderiam indicar que os dentifrícios à base de MFP, após um ano de fabricação, seriam mais eficazes do que aqueles quando formulados. Porém, isto não é verdadeiro. Com o envelhecimento houve um aumento do flúor iônico devido à hidrólise do MFP. O flúor solúvel (iônico + ionizável) apresentou sua concentração diminuída à medida que os dentifrícios envelheciam. O aumento da incorporação do flúor pelo esmalte a partir do dentifrício envelhecido ocorreu porque o método da reatividade é mais sensível ao flúor iônico e, sendo, um método *in vitro* não possui as condições necessárias para a hidrólise do MFP. Entretanto, em relação aos dentifrícios à base de MFP envelhecidos a 55°C, não houve diferença significativa quanto à incorporação de flúor pelo esmalte nos diversos tempos após o armazenamento, apesar de o aumento do flúor iônico ter sido significativo. Estes dados demonstram que o teste da reatividade empregado não é um método adequado para se avaliar a efetividade de um dentifrício com MFP após o seu envelhecimento.

## CONCLUSÕES

## CONCLUSÕES

1 - Em termos de estabilidade do flúor, para os dentifrícios à base de NaF, contendo carbonato de cálcio como abrasivo, o envelhecimento a 45°C durante 192 horas corresponde ao armazenamento a temperatura ambiente durante 1 ano.

2 - Em termos de estabilidade do flúor, para os dentifrícios à base de MFP, contendo carbonato de cálcio como abrasivo, o envelhecimento a 55°C durante 384 horas corresponde ao armazenamento a temperatura ambiente durante 1 ano.

3 - O teste de reatividade "in vitro" com partículas de esmalte demonstrou não ser um método adequado para se avaliar a diminuição da efetividade de dentifrícios contendo MFP, após seu envelhecimento.

## RESUMO

## RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi estabelecer uma condição laboratorial que correspondesse ao armazenamento a temperatura ambiente após 1 ano. Para tal, foram utilizados dentifrícios contendo 1200 ppm F, um deles na forma de NaF e o outro na forma de  $\text{Na}_2\text{PO}_3\text{F}$ , contendo carbonato de cálcio como abrasivo. Bisnagas destes dentifrícios foram armazenadas a temperatura ambiente ou submetidas a  $45^\circ\text{C}$  (envelhecimento precoce). Os dentifrícios à base de MFP também foram armazenados a  $55^\circ\text{C}$ . Os dentifrícios armazenados a temperatura ambiente foram analisados após 44, 90, 179 e 358 dias, e aqueles armazenados a  $45$  e  $55^\circ\text{C}$ , 24, 48, 96, 192 e 384 horas após. Assim que formulados, analisou-se nos dentifrícios as concentrações de flúor solúvel na forma iônica e ionizável e o total (solúvel + insolúvel). Determinou-se também a capacidade dos mesmos em reagir com o esmalte dental humano, avaliando-se o flúor total. Para as análises de flúor utilizou-se eletrodo específico ORION 96-09. Concluiu-se que para os dentifrícios contendo NaF/  $\text{CaCO}_3$ , o armazenamento a  $45^\circ\text{C}$  durante 192 horas corresponde ao armazenamento a temperatura ambiente por um ano. Para os dentifrícios contendo MFP/  $\text{CaCO}_3$ , o armazenamento a  $55^\circ\text{C}$  durante 384 horas corresponde ao armazenamento a temperatura ambiente por um ano. Em relação à reatividade, pode-se concluir que o teste *in vitro* com partícula de esmalte não é método adequado para se avaliar a diminuição da atividade de dentifrícios com MFP após seu envelhecimento.

## SUMMARY

## SUMMARY

The purpose of the present study was to establish a relationship between storage of sodium fluoride and sodium monofluorophosphate dentifrices at room temperature for one year and storage at elevated temperatures. Sodium fluoride and sodium monofluorophosphate dentifrices at 1200 ppm F were stored at room temperature and at 45°C. MFP dentifrices were also stored at 55°C. The free ionic fluoride, the total fluoride, the fluoride as monofluorophosphate, the total soluble fluoride and insoluble fluoride contents were periodically determined. The uptake of total fluoride in dental enamel was also analysed.

Fluoride was determined with a specific electrode ORION 96-09. The results showed that the storage of NaF dentifrices at 45°C for 192 hours simulates the storage at room temperature for one year. And the storage of MFP dentifrices at 55°C for 384 hours simulates the storage at room temperature for one year. Fluoride uptake test showed not to be a good predictor of the loss of clinical efficacy of aged MFP dentifrices.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALHAIQUE, F. et al. Is fluoride in dentifrices available? Boll. chim.-farm., Milano, v.121, n.11, p.573-578, 1982.
2. ASGAR, K. Chemical analysis of human teeth. J. dent. Res., Washington, v.35, n.5, p.742-748, Oct. 1956.
3. ATHANASSOULI, T.M., PAPASTATHOPOULOS, D.S. A laboratory evaluation of fluoride dentifrices used in Greece. Comm. dent. oral Epidemiol., Copenhagen, v.6, n.4, p.185-190, July, 1978.
4. AYUKAMA, S.Y. Dentifrícios fluoretados no Brasil. Trabalho vencedor do Prêmio Colgate Nacional de Prevenção de 1990.
5. BIRKERLAND, J.M. Fluoride ion activity "in vitro" and "in vivo" of two sodium fluoride dentifrices. Caries Res., Basel, v.5, p.193-201, 1971.
6. BOLDEPERSON, I., DUKE, S., FORWARD, G.C. Can the clinical performance of fluoride toothpastes be predicted? Caries Res., Basel, v.11, n.2, p.126, Mar./Apr. 1977.
7. BUSHEE, E.J., GRISSOM, D.K., SMITH, D.R. An analysis of various fluoride prophylaxis products for free fluoride ion concentrations. J. Dent. Child., Chicago, v.38, n.4, p.279-281, July/Aug. 1971.
8. COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS. Guidelines for the acceptance of fluoride-containing dentifrices. J. Am. dent. Ass., Chicago, v.110, n.4, p.545-547, Apr. 1985.
9. CURY, J.A. Avaliação de um gel dentifrício contendo xilitol e flúor. Revta bras. Odont., Rio de Janeiro, v.46, n.4, p.36-40, jul./ago. 1987.

10. CURY, J.A. Dentifrícios fluoretados no Brasil. Revta gaúcha Odont., Porto Alegre, v.37, n.2, p.139-142, mar./abr. 1989.
11. \_\_\_\_\_. Estabilidade do flúor nos dentifrícios brasileiros. Revta gaúcha Odont., Porto Alegre, v.34, n.5, p.430-432, set./out. 1986.
12. \_\_\_\_\_. et al. Análise de dentifrícios fluoretados: concentração e formas químicas de fluoretos encontrados em produtos brasileiros. Revta Ass. paul. Cirurg. dent., São Paulo, v.35, n.2, p.142-147, mar./abr. 1981. 81.
13. \_\_\_\_\_. et al. Análise de dentifrícios fluoretados: formas químicas de fluoretos encontrados, estabilidade e relação com prevenção de cárie dentária. Revta Ass. paul. Cirurg. dent., São Paulo, v.34, n.1, p.44-45, jan/fev. 1980.
14. DE FREITAS, J.F. Fluoride stability in toothpastes. Aust. dent. J., Saint Leonards, v.29, n.1, p.30-35, Feb. 1984.
15. DE PAOLA, P.F. Clinical studies of monofluorophosphate dentifrices. Caries Res., Basel, v.17, suppl., p.119-135, Oct. 1983.
16. DUCKWORTH, R.M. The release of soluble fluoride "in vitro" by dentifrices containing stannous fluoride. Br. dent. J., London, v.125, n.6, p.261-269, Sept. 1968.
17. DUKE, S.A., FORWARD, G.C. Calcium fluoride and fluoridated hydroxyapatite formation in relation to the acid dissolution rate of enamel mineral. Caries Res., Basel, v.12, n.1, p.12-20, 1978.
18. \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_. The relationship between anticaries activity of monofluorophosphate dentifrices and their performances in laboratory tests. Caries Res., Basel, v.19, n.3, p.284-288, May/June, 1985. 985.

19. ERICSSON, Y. Biologic splitting of PO<sub>3</sub>F ions. Caries Res., Basel, v.1, p.144-152, 1967.
20. \_\_\_\_\_. Fluorides in dentifrices: investigations using radioactive fluorine. Acta odont. scand., Oslo, v.19, n.1, p.41-77, 1961.
21. FADVAI-RUSDARI, S. et al. Influence of age on fluoride concentration in dentifrices. J. Pedod., Birmingham, v.12, n.1, p.48-62, 1987.
22. FORWARD, G.C. Action and interaction of fluoride in dentifrices. Comm. dent. oral Epidemiol., Copenhagen, v.8, n.5, p.257-266, 1980.
23. \_\_\_\_\_. Role of toothpaste in the cleaning of teeth. Int. dent. J., Surrey, v.41, n.3, p.164-170, June, 1991.
24. FOULK, M.E., PICKERING, E. A history of dentifrices. J. Am. pharm. Ass., v.24, n.11, p.975-981, Nov. 1935.
25. GRON, P., BRUDEVOLD, F. The effectiveness of NaF dentifrices. J. Dent. Child., Chicago, v.34, n.2, p.122-127, Mar. 1967.
26. HAGEN, A.R. The state of fluorine in dentifrice systems. Acta odont. scand., Oslo, v.30, n.2, p.167-186, May, 1972.
27. HATTAB, F.N. The state of fluorides in toothpastes. J. Dent., Surrey, v.17, n.2, p.47-54, Apr. 1989.
28. HOLZNER, G. How accurate is an accelerated test? Cosmet. Perfum., v.89, p.37-46, Oct. 1974.
29. INGRAM, G.S. Some factors affecting the interaction of hydroxyapatite with sodium monofluorophosphate. Caries Res., Basel, v.7, n.4, p.315-323, 1973. 973.

30. JACKSON, L.R. "In vitro" hydrolysis of MFP by dental plaque microorganisms. J. dent. Res., Washington, v.61, n.7, p.953-956, July 1982.
31. KLIMEK, J., HELLWIG, E., AHRENS, G. Fluoride taken up by plaque, by the underlying enamel and by clean enamel from three fluoride compounds "in vitro". Caries Res., Basel, v.16, n.2, p.156-161, Mar./Apr. 1982.
32. \_\_\_\_\_. Monofluorophosphate utilization in oral preparations: laboratory evaluation. Caries Res., Basel, v.17, suppl., p.102-118, Oct. 1983.
33. MINISTÉRIO DA SAÚDE - Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria n.º 22 de 20/12/89.
34. NOREN, B., HARSE, C. The stability of the monofluorophosphate and fluoride ions in dentifrice containing calcium carbonate. J. Soc. cosmet. Chem., London, v.25, p.3-11, 1974.
35. PANZERI, H. et al. Avaliação de dentifrícios: 1ª parte - consistência, densidade, pH, "vida útil" e perda de água. Odontlg mod., Rio de Janeiro, v.6, n.2, feb. 1979.
36. PEARCE, E.I.F. Biochemistry of monofluorophosphate. Caries Res., Basel, v.17, suppl., p.21-35, Oct. 1983
37. \_\_\_\_\_. A laboratory evaluation of New Zealand fluoride toothpastes. N. Z. dent. J., Auckland, v.70, p.98-108, Apr. 1974. 974.

38. \_\_\_\_\_, JENKINS, G.N. The decomposition of MFP by enzymes in whole human saliva. Archs oral Biol., Oxford, v.22, n.6, p.405-407, 1977. 977.
39. PEARCE, E.I.F., MORE, R.D. Uptake of fluoride by the enamel from monofluorophosphate dentifrices. Caries Res., Basel, v.9, n.6, p.459-474, 1975.
40. RAVEN, S.J. et al. Comparison between evaluation methods for the anti-caries efficacy of MFP-containing dentifrices. Caries Res., Basel, v.25, n.2, p.130-137, Mar./Apr. 1991.
41. RÖLLA, G. Interaction of MFP with plaque and saliva. Caries Res., Basel, v.17, suppl., p.91-101, Oct. 1983.
42. \_\_\_\_\_, ØGAARD, B., CRUZ, R.A. Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpaste: a review. Int. dent. J., Surrey, v.41, n.3, p.171-174, June, 1991.
43. SAOTOME, T., GEREMCSER, V.F., LIM, J.K. Sodium monofluorophosphate degradation by oral streptococci, plaque and saliva. Caries Res., Basel, v.21, n.2, p.97-103, Mar./Apr. 1987.
44. STANDARDS ASSOCIATION OF AUSTRALIA. Draft Australian Standards for Toothpastes. 1983 Apud HATTAB, F.N. op. cit. ref. 25.
45. TEIXEIRA, R.N., CURY, J.A. Reatividade dos dentifricios fluoretados comercializados no Brasil com o esmalte dental humano. Revta gaúcha odont., Porto Alegre, v.34, n.5, p.381-383, set./out. 1986.
46. US Food and Drug Administration. Establishment of a Monograph on anticaries Drug Products for Over-the-Counter Human Use; Proposed Rulemaking (Part IV). Apud HATTAB, F.N. op.cit. ref. 25.
47. WHITE, E.W. Monofluorophosphate - Its beginning. Caries Res., Basel, v.17, suppl., p.2-8, Oct. 1983. 983.

## APÊNDICE

## APÊNDICE

Temperatura média mensal da cidade de Piracicaba durante o armazenamento a temperatura ambiente dos dentifrícios.

ANO	MÊS	TEMPERATURA MÉDIA (°C)
1991	JULHO	17,69
1991	AGOSTO	20,08
1991	SETEMBRO	20,77
1991	OUTUBRO	22,86
1991	NOVEMBRO	24,47
1991	DEZEMBRO	24,72
1992	JANEIRO	24,71
1992	FEVEREIRO	24,64
1992	MARÇO	23,94
1992	ABRIL	21,96
1992	MAIO	20,71
1992	JUNHO	19,70