



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



SILVANA BOLDRINI FRANCISCO

**EFEITO DE FORMULAÇÕES DE DENTIFRÍCIOS COM CaCO_3
versus SiO_2 NA INIBIÇÃO DA DESMINERALIZAÇÃO
DO ESMALTE DENTAL - ESTUDO *IN SITU***

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de Doutor
em Biologia e Patologia Buco - Dental.

**Piracicaba-SP
2000**

**UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SECÃO CIRCULANTE**





UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



SILVANA BOLDRINI FRANCISCO

**EFEITO DE FORMULAÇÕES DE DENTIFRÍCIOS COM CaCO_3
versus SiO_2 NA INIBIÇÃO DA DESMINERALIZAÇÃO
DO ESMALTE DENTAL - ESTUDO *IN SITU***

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do título de Doutor
em Ciências com área de concentração em
Biologia e Patologia Buco-Dental.

Orientador: Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

Banca Examinadora:

Prof.^a Dr.^a. Mônica Campos Serra
Prof.^a Dr.^a. Odila Pereira da Silva Rosa
Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem
Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen
Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a Resolução CCPG-036/83
CCPG, 19/12/2000

Assinatura do Orientador

Piracicaba-SP
2000

Ficha Catalográfica

F847e Francisco, Silvana Boldrini.
Efeito de formulações de dentifrícios com CaCO_3/MFP versus SiO_2/MFP na inibição da desmineralização do esmalte dental
– estudo *in situ*. / Silvana Boldrini Francisco. -- Piracicaba, SP :
– [s.n.], 2000.
130 p. : il.

Orientador : Prof. Dr. Jaime Aparecido Cury.
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas,
Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. *Streptococcus mutans*. 2. Carbonato de cálcio. 3. Abrasivos.
4. Dentifrício. 5. Cáries dentárias. I. Cury, Jaime Aparecido. II.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de
Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da
Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 25 de Setembro de 2000, considerou a candidata SILVANA BOLDRINI FRANCISCO aprovada.

1. Prof. Dr. JAIME APARECIDO CURY

2. Profa. Dra. ODILA PEREIRA DA SILVA ROSA

3. Prof. Dr. ALBERTO CARLOS BOTAZZO DELBEM

4. Profa. Dra. MONICA CAMPOS SERRA

5. Prof. Dr. PEDRO LUIZ ROSALEN

Dedico este trabalho

À Deus, por ser a luz que ilumina meu caminho.

À memória de meu pai, vivo em minhas lembranças.

À minha mãe, batalhadora incansável, pelo otimismo, estímulo, dedicação, companheirismo e carinho despendidos em todos os momentos .

Aos meus filhos Felipe e Manuella, por me fazerem acreditar num futuro melhor e serem as razões de uma vida mais feliz .

Ao meu marido, Marco Antônio, meu grande companheiro de viagem, por tantas demonstrações de amor, dedicação e apoio .

Aos meus queridos irmãos Benito, Humberto e Adriana exemplos de luta, dedicação e integridade .

Aos meus sogro, sogra, cunhados , cunhadas e sobrinhos, pelo amor e amizade.

Agradecimentos Especiais

Ao Prof. Dr. **Jaime Ap. Cury**, pela capacidade de ver mais longe e, com grande senso de justiça, dedicação, disciplina, integridade, servir de norte para tantos .

À Profa. Dra. **Cínthia Machado P. Tabchoury**
minha gratidão, por todas as valiosas
sugestões e ajuda , dedicação, durante
a realização deste trabalho .

À Profa. Dra. **Altair A. Del Bel Cury**
Minha grande admiração, pela sua força
de trabalho, e por toda colaboração e dedicação
durante e execução do experimento.

Os agradecimentos que agora expresso são suficientes apenas para destacar a imensa dívida que acumulei com vocês , nestes anos de trabalho e convivência .

Agradecimentos Especiais

"A interdependência é um bem mais valioso que a independência"

Aos voluntários participantes, que com tanta seriedade e participação foram responsáveis pela realização deste trabalho.

Celso Queiroz

Dr^a . Cínthia P.M. Tabchoury

Gustavo S. Nunes Simões

José Alfredo da Silva

Marcelo Boriollo

Mitsue Fujimaki

Patrick Wilson K. Baltieri

Viviane Maia B. de Oliveira

Ynara Bosco de O. Lima

Aos preciosos técnicos do Laboratório de Bioquímica Oral, FOP-Unicamp nas pessoas de: Mariza de Jesus Carlos Soares, Waldomiro Vieira Filho e José Alfredo da Silva, por todas as valiosas contribuições, por tanta dedicação , atenção , carinho e amizade .

Meus sinceros agradecimentos

Agradecimentos

Ao Magnífico Reitor da UNICAMP, Prof. Dr. Hermano de Medeiros Ferreira Tavares.

Ao Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum, Diretor da FOP – UNICAMP.

À Prof^a. Dr^a. Altair A. Del Bel Cury, que, com muita seriedade e competência é Coordenadora Geral da Pós-Graduação da FOP – UNICAMP.

À Prof^a Dr^a Darcy Tosello, Cordenadora do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental da FOP-UNICAMP.

À Prof^a.Dr^a. Mônica Campos Serra, Professora da Disciplina de Dentística, por toda a sua atenção e dedicação.

À Prof^a.Dr^a. Odila Pereira da Silva Rosa, Professora da Disciplina de Microbiologia, da Faculdade de Odontologia de Bauru, por toda atenção e dedicação .

Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, Professor da Disciplina de Odontopediatria - UNESP - Araçatuba, por toda amizade, atenção e dedicação.

À Prof^a.Dr^a. Márcia Mayer, Professora da Disciplina de Microbiologia da Faculdade de Odontologia - USP- São Paulo, pela atenção e dedicação .

Ao Prof. Dr. José Francisco Höfling, Professor da disciplina de Microbiologia, FOP UNICAMP, sempre pronto a ajudar, pela atenção , dedicação, amizade. Minha gratidão .

À Prof^a. Dr^a. Gláucia Bovi Ambrosano, Professora da Disciplina de Estatística da FOP-Unicamp, pelo acompanhamento de todo o trabalho, orientando nas análises estatísticas, sempre com muita dedicação e atenção. Muito obrigada.

Ao Prof. Dr. Celso Paulino da Costa, Professor da Disciplina de Imunologia- FOP- Unicamp, por todo o seu espírito alegre , seu incentivo e amizade e colaboração.

Ao Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen, Professor de Farmacologia da FOP - Unicamp, por estar sempre pronto a ajudar, exemplo de educação e dedicação.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves, Professor da Disciplina de Microbiologia e Imunologia - FOP - Unicamp, por toda a sua constante atenção.

À Prof^a. Dr^a. Renata Rodrigues, Disciplina de Prótese Parcial Removível, FOP- Unicamp, por toda atenção e amizade.

À Prof^a. Dr^a. Marinês Nobre dos Santos, Professora da Disciplina de Odontopediatria - FOP - Unicamp, por sua constante atenção, dedicação e amizade.

À Prof^a. Dr^a. Vânia Siqueira, Professora da Disciplina de Ortodontia - FOP - Unicamp, por seu carinho e amizade.

Às Professoras da disciplina de Fisiologia, Dr^a. Fernanda, Dr^a. Cecília e Dr^a. Cláudia, pela constante ajuda e atenção.

Ao Prof. Dr. Alexandre e Fábio, por todas as suas preciosas colaborações e atenções.

Ao Professor de inglês e amigo Jorge Valério, meus agradecimentos, por toda a sua ajuda e atenção.

À minha secretária do lar, Marlene Luiz, pela sua grande e sempre pronta colaboração, ajuda, carinho, sem os quais, este trabalho, não seria realizado. Minha eterna gratidão.

Ao Gustavo Setem Nunes Simões, Aluno de Graduação de Odontologia - FOP- Unicamp, por toda a sua preciosa colaboração, senso de responsabilidade, luta e dedicação. Minha gratidão.

À minha querida amiga Dr^a. Eliane Melo Franco, por toda a sua ajuda, atenção, carinho e amizade.

À minha querida Família do Laboratório de Bioquímica, queridos amigos e companheiros de pós-graduação, Celso, Ana Maria, Mitsue, Ynara, Adriana, Rosane, Léa, Paulo Perez, Augusta Rebelo, Michel, Raquel Gerlach, obrigada por todas as colaborações e pelos momentos tão felizes, nestes anos de convivência.

À técnica do Laboratório de Prótese Parcial Removível, FOP- Unicamp, Sra. Joselena Casati Lodi, por toda a sua colaboração, sempre muito atenciosa e prestativa .

Ao doutorando em Odontologia (Prótese Parcial Removível) José Antônio Nunes de Mello, minha admiração, por todo o seu trabalho, sua amizade e colaboração, na confecção das fotos .

À técnica Raquel Simões do Laboratório de Microbiologia da UNIRARAS, meus sinceros agradecimentos, por toda a sua colaboração, carinho e amizade .

Às minhas companheiras e amigas do Curso de Biologia e Patologia Buco-Dental, nas pessoas de: Miralva, Rosana Boni, Andréa, Rosana, meus agradecimentos, por toda colaboração , carinho e amizade .

Aos alunos de Graduação e estagiários do Laboratório de Bioquímica, Carolina Aires, Carla, Tatiana, Carolina Carraro, Danilo, Aline pela nossa convivência, amizade e por toda ajuda .

Ao doutorando em Fisiologia Oral, Franco, por toda sua atenção e amizade .

Ao graduando em Odontologia Fábio Bianchi, por toda colaboração e amizade.

Aos alunos de pós-graduação da disciplina de Microbiologia e Imunologia, FOP- Unicamp, Meire, Edivaldo, Marcelo, Janaína, meus agradecimentos por toda ajuda e atenção .

Às funcionárias da Biblioteca da FOP- Unicamp, nas pessoas de: Doralice Nascimento L. Romano, Luciane Ap. Duarte Sattolo, Heloísa Maria Cecotti, Marilene Girello, Cidinha Ap. Cassieri da Cruz e Lourdes Fernandes Marin, obrigada pela constante atenção e colaboração .

Aos funcionários do Laboratório de Fisiologia Oral - FOP - Unicamp, nas pessoas de Sra. Shirlei Rosana M. Sbravati, Carlos Alberto Feliciano e Kelly Roberta de Souza Cunha, pela constante atenção e colaboração .

Aos funcionários Elisa e José Carlos, da disciplina de Farmacologia - FOP- Unicamp, obrigada por toda a atenção e colaboração .

À Secretaria da Pós-Graduação, nas pessoas de: Érica Pinho, e Sra. Sônia Lordello Arthur, por toda colaboração, informação e atenção .

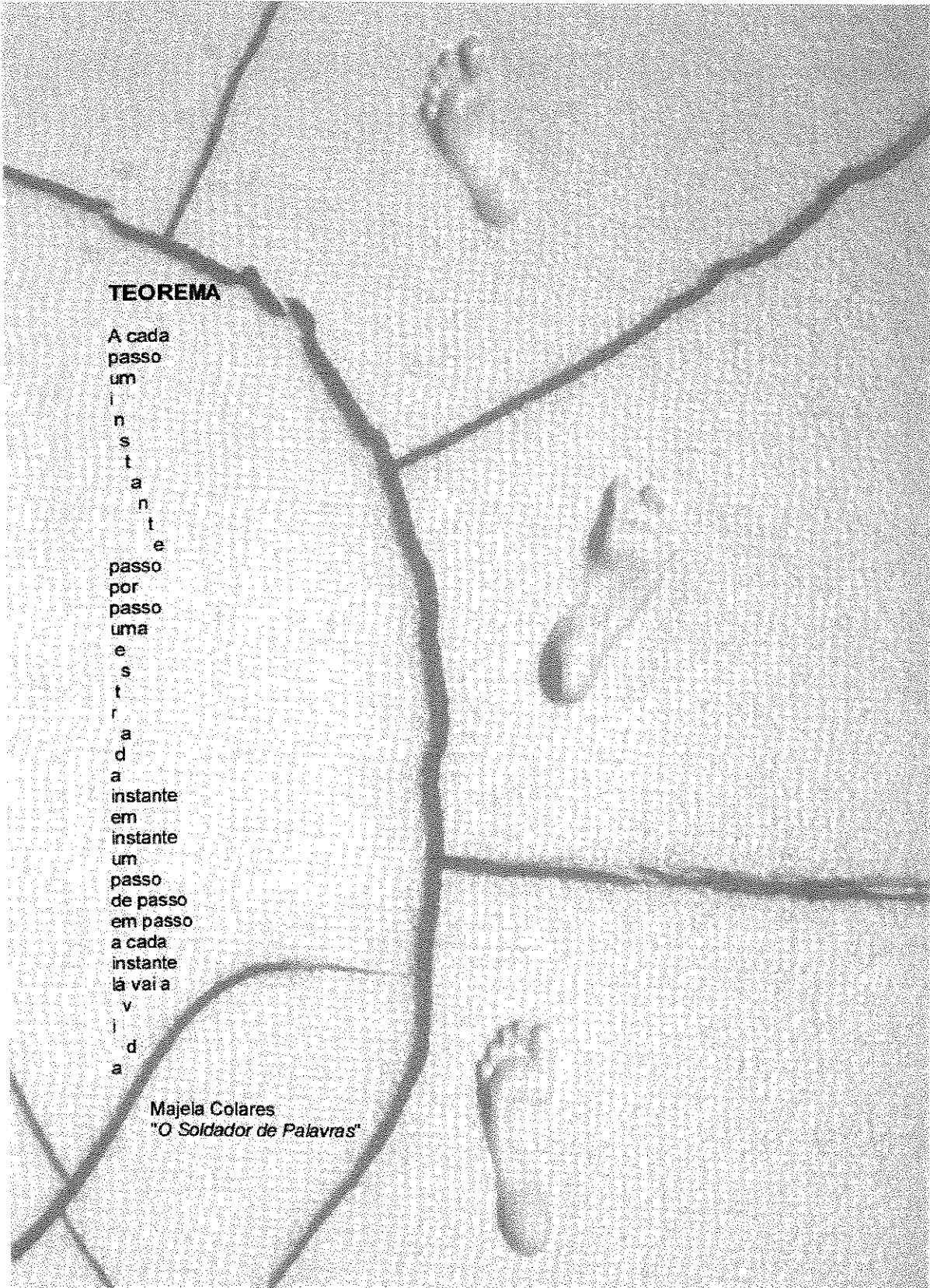
À todos os funcionários da FOP-Unicamp, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

À CAPES -pela concessão de bolsa e auxílio tese.

À FAPESP (Proc. 99/2230-1) Bolsa de Iniciação Científica para o aluno de graduação do curso de Odontologia Gustavo Setem Nunes Simões.

À Kolynos do Brasil pela formulação do dentifrício com sílica.

Meus sinceros agradecimentos



TEOREMA

A cada
passo
um
i
n
s
t
a
n
t
e
passo
por
passo
uma
e
s
t
r
a
d
a
instante
em
instante
um
passo
de passo
em passo
a cada
instante
lá vai a
v
i
d
a

Majela Colares
"O Soldador de Palavras"

SUMÁRIO

	P.
LISTA DE ILUSTRAÇÕES	1
LISTA DE ABREVIATURAS	4
RESUMO	7
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1. Dentifrícios na forma de MFP <i>versus</i> abrasivos à base de carbonato	14
2.2. Hidrólise do MFP	21
2.3. Estudo <i>in situ</i> de curta duração, utilizando dispositivo intra-oral palatino – características da placa bacteriana natural e artificial - desafio cariogênico – desmineralização	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1. Delineamento Experimental	37
3.1.1. Avaliação <i>in situ</i> da inibição da desmineralização do esmalte dental bovino	37
3.2. Informações relativas aos indivíduos participantes da pesquisa	39
3.3. Dentes Incisivos Bovinos	40
3.4. Dentifrícios	41
3.4.1. Formulações Industriais	41
3.4.2. Dentifrício Comercial	41
3.5. Fase preparatória	41
3.5.1. Confecção dos blocos de esmalte dental bovino	41
3.5.2. Planificação da dentina	42

	p.
3.5.3. Polimento e acabamento do esmalte	43
3.5.4. Seleção dos Blocos Dentais e Análise da Microdureza Superficial do esmalte	45
3.6. Preparação dos dispositivos intra-orais palatinos e seus respectivos suportes para acomodação dos blocos de esmalte	46
3.7. Análise de flúor nos dentifrícios	47
3.8. Preparação da “placa artificial” composta por <i>S. mutans</i> IB 1600	49
3.8.1. Distribuição da cultura de <i>S. mutans</i> IB 1600 nos suportes	53
3.8.2. Retirada dos dispositivos intra orais após o tratamento	55
3.9 Análise da concentração de Flúor (iônico e total) na placa artificial	55
3.10. Análise da Microdureza Superficial do Esmalte após Tratamento	56
3.11. Análise da Concentração de Flúor no Esmalte	57
3.12. Análise Estatística	59
3.12.1. Análise de perda de dureza superficial	59
3.12.2. Análise da concentração de flúor total , iônico e concentração de flúor na forma de MFP na “placa artificial” nos diferentes tratamentos	59
3.12.3. Análise da concentração de flúor no esmalte	60
3.12.4. Correlação entre flúor total, iônico e flúor na forma de MFP na “placa artificial” e flúor do esmalte	60
4. RESULTADOS	61
4.1. Concentração de flúor nos dentifrícios	61
4.2. Concentração de Flúor na “Placa Artificial”	74
4.3. Porcentagem de Perda de Dureza Superficial	61
4.3.1. Aspecto microscópico de esmalte dental do Grupo III - Controle	65

	p.
4.4. Concentração de flúor no esmalte	67
4.5. Correlações entre flúor da placa e flúor do esmalte	67
5. DISCUSSÃO	71
6. CONCLUSÃO	77
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
ANEXOS	91
APÊNDICES	103

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figuras

Figura	p.
1. Representação das sequências de preparo dos blocos de esmalte dental bovino. Sequência do preparo dos blocos de esmalte dental bovino (Fig. 1A). Sequência da planificação da dentina do bloco de esmalte (Fig. 2A).	44
2. Representação esquemática das impressões iniciais realizadas nos blocos de esmalte.	45
3. Dispositivo intra-oral palatino.	46
4. Dimensões do “holder” de acrílico utilizado no teste <i>in situ</i> de curta duração, mostrando a área onde foi colocada a “placa artificial”.	47
5. Preparação da “placa artificial” <i>S. mutans</i> (IB 1600).	52
6. Sequência do preparo dos dispositivos intra-orais. Na foto 6A, sequência, preparo e distribuição da “placa artificial” e montagem dos blocos no holder. Na foto 6B, dispositivo intra-oral palatino, fixação do holder. Na foto 6C, vista lateral dos blocos com as impressões voltadas para a parte interna do dispositivo.	53
7. Esquema demonstrando as impressões realizadas após os tratamentos, comparadas com as impressões iniciais.	57
8. Representação gráfica da concentração de FT, F (MFP) e FI na “placa artificial” em função dos diferentes tratamentos.	62
9. Representação gráfica das porcentagens de perdas de dureza superficial do esmalte dental.	63
10. Aspecto microscópico de esmalte dental do Grupo III - Controle (KCl) e as impressões realizadas. I – dureza inicial; T – dureza pós-tratamento	65

11.	Aspecto microscópico de esmalte dental do Grupo II (MFP/SiO ₂) e as impressões realizadas. I – dureza inicial; T – dureza pós-tratamento.	65
12.	Aspecto microscópico de esmalte dental do Grupo I (MFP/CaCO ₃) e as impressões realizadas. I – dureza inicial; T – dureza pós-tratamento.	65
13.	Representação gráfica da correlação entre flúor iônico da placa e flúor do esmalte.	68
14.	Representação gráfica da correlação entre flúor total da "placa artificial" e flúor do esmalte.	68
15.	Representação gráfica da correlação entre flúor total da "placa artificial e flúor no esmalte.	69

Tabelas

Tabela	p.
1. Médias e Desvio Padrão da Concentração das diferentes formas de flúor solúvel encontrados nos dentifrícios.	61
2. Médias (desvio padrão) das concentrações de flúor total (FT) e nas formas de MFP e iônica (FI) na "placa artificial" em função dos tratamentos.	62
3. Médias e desvios padrão da porcentagem da perda de dureza superficial (%PDS) do esmalte dental em função dos tratamentos e da distância (µm) da borda do bloco dental.	63
4. Médias e desvio padrão das concentrações de flúor (ppm) no esmalte dental e distância da superfície (µm) em função dos tratamentos.	67
5. Correlação entre tipos de flúor na placa e flúor no esmalte.	67

Fluxogramas**Fluxograma**

	p.
1. Representação do delineamento experimental	39
2. Análise de flúor nos dentifrícios.	48
3. Análise da concentração de Flúor (iônico e total) na "placa artificial".	56
4. Determinação da concentração de flúor incorporado ao esmalte.	59

Anexos

Anexo	p.
1. Termo de compromisso e consentimento para pesquisa	91
2. Certificado de aprovação do Comitê de Ética	101
3. Mapa individual dos voluntários	102

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGNIFICADOS

%.....	Por cento
°C.....	Graus Ceulsius
±	Mais ou menos
F ⁻	Ion flúor, fluoreto (termo genérico para definir as formas iônica, ionizável e não ionizável do elemento flúor.
µg	Micrograma (s)
µg F/g.....	Micrograma flúor por grama
µg/cm ²	Micrograma por centímetro quadrado
µm	Micrômetro(s)
PDS	Porcentagem de Dureza Superficial
MFP	Monofluorfosfato (Na ₂ FPO ₃)
NaF	Fluoreto de Sódio
SiO ₂	Sílica
CaCO ₃	Carbonato de Cálcio
KCl.....	Cloreto de Potássio
ppm.....	Partes por milhão
nm	Nanômetro(s)
mL	Mililitro
g	Grama
n°	Número
h	Hora(s)
min.	Minuto(s)
pH.....	potencial hidrogeniônico
mm.....	Milímetro(s)
FT	Flúor Total
FI.....	Flúor Iônico
mV	milivolt

N	Normal
M.....	Molar
H ₂ O	Água
L	Litro
HCl.....	Ácido clorídrico
NaOH.....	Hidróxido de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
rpm	Rotação por minuto
<i>et al.</i>	e outros (abreviatura de “et alii”)
CDTA.....	Ciclohexilenodiaminotetracético
TISAB II	<i>Total Ionic Strenght Adjustor Buffer</i> (tampão de ajuste de pH, Iônica e descomplexante). Composição: tampão acetato 1M, pH 5,0, contendo NaCl 1M, CDTA 0,4% e NaOH 0,5M .
TISAB III	<i>Total Ionic Strenght Adjustor Buffer</i> (tampão de ajuste de pH, força iônica e descomplexante). Composição: água deionizada, cloreto de amônia, acetato de amônia, CDTA e <i>vermelho de cresol</i>

RESUMO

Carbonato de cálcio precipitado (CaCO_3) é o principal abrasivo usado nos dentífricos comercializados no Brasil. Devido suas propriedades tamponante e alcalinizante, ele poderia reduzir a acidogenicidade bacteriana, potencializando o efeito do flúor no desenvolvimento da cárie dental. Utilizando-se o modelo intra-oral de curta duração (ZERO *et al.* J Dent Res.71: 871-8, 1992), avaliou-se o efeito do CaCO_3 , na redução da desmineralização do esmalte dental. Blocos de esmalte (5 x 5 mm), de microdureza superficial pré-determinada, foram cobertos por uma camada de bactérias ("placa artificial") obtidas a partir de uma cultura de *S. mutans*, e colocadas em placas palatinas confeccionadas para os voluntários (aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FOP - UNICAMP). O estudo foi do tipo cruzado e os 10 voluntários foram submetidos a três grupos de tratamento: Controle (escovação sem dentífrico), com dentífrico contendo 1500 ppm de F (MFP) à base de sílica (SiO_2) ou carbonato (CaCO_3). Ao mesmo tempo que os voluntários escovaram seus dentes com os dentífricos, os dispositivos ficaram mergulhados na suspensão (1:3) dos mesmos, sendo que o grupo controle ficou imerso em tampão bicarbonato 20 mM, pH 7,0. Imediatamente após a escovação os dispositivos foram colocados na boca. Esperou-se 20 minutos para ação dos dentífricos na "placa artificial" após o que a sacarose a 20% foi bochechada. Decorridos 45 minutos da metabolização da sacarose pela "placa artificial", os dispositivos foram removidos para análises. No esmalte foi determinada a microdureza superficial e calculada a porcentagem

de perda de dureza em relação à inicial (%PDS) , assim como a incorporação de flúor pelo esmalte. Na “placa artificial”, foram analisadas as concentrações de flúor iônico (FI) e ionizável (MFP) Os resultados (médias $\pm$ desvio padrão) , respectivamente para os Grupos controle, MFP/SiO₂ e MFP/CaCO₃ em termos da média das distâncias foram: % PDS: 24, 75 $\pm$ 3,33a ; 7,70 $\pm$ 0,32b; 3,54 $\pm$ 0,32c .. Concentrações de flúor (ppm) no esmalte: 1273,22 $\pm$ 267,2a; 1713,64 $\pm$ 426,0a; 1565,03 $\pm$ 351,3a. Flúor na placa ((μ g/g): FI= 0,02 $\pm$ 0,0b; 0,93 $\pm$ 0,6ab; 1,36 $\pm$ 1,0a.; MFP = 0,14 $\pm$ 0,1a; 1,78 $\pm$ 1,26b; 1,40 $\pm$ 0,9b. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si (p<0,05). Os resultados mostraram que CaCO₃ reduz a desmineralização do esmalte, sugerindo que o abrasivo pode contribuir para um maior efeito do flúor de dentifrício no controle da cárie dental .

ABSTRACT

Precipitated calcium carbonate (CaCO_3) is the main abrasive used in dentifrices commercialized in Brazil. It may reduce bacterial acidogenicity, potentiating the effect of fluoride in the development of dental caries due to its alkaline and buffering capacities. The effect of CaCO_3 on the reduction of enamel demineralization was evaluated by using the short-term intra-oral model (Zero *et al.*, J Dent Res. 71: 871 - 8, 1992). Enamel blocks (5 x 5 mm), with known surface microhardness, were covered with a layer of bacteria ("test plaque") obtained from a culture of *S. mutans*, and were placed on palatal appliances manufactured for the volunteers (approved by the Research and Ethics Committee of FOP-UNICAMP). This study had a crossover design and 10 volunteers were submitted to 3 treatment groups: control (brushing without dentifrice), with dentifrice containing 1500 ppm F (MFP) and silica (SiO_2) or carbonate (CaCO_3). At the same time that the volunteers brushed their teeth with the dentifrices, the appliances were placed in a suspension of the same dentifrice (1:3). In the control group, the appliance was immersed in 20 mM bicarbonate buffer, pH 7. Immediately after the toothbrushing the appliances were put back in the mouth. After 20 minutes of dentifrice action on "artificial plaque", 20% sucrose solution was rinsed. After 45 minutes of sucrose fermentation by "artificial plaque", the appliances were removed. Enamel surface microhardness and the percentage of change in relation to baseline (%SMC) were calculated, as well as fluoride uptake in enamel. In artificial plaque, the concentration of ionic fluoride (FI) and fluoride as monofluorophosphate was determined (MFP). The results (means $\pm$ s.d.) respectively for the

control, MFP/SiO₂ and MFP/CaCO₃ in terms the media at the distances were: %SMC: 24.75± 3.33a ; 7.70±0.32b; 3.54±0.32c .. Fluoride concentration in enamel was:: 1273.22 ± 267.2a; 1713.64 ± 426.0a; 1565.03 ± 351.3a. Fluoride in plaque ((µg/g): FI= 0.02 ± 0.0b; 0.93 ± 0.6ab; 1.36 ± 1.0a.; MFP = 0.14 ± 0.1a; 1.78 ± 1.26b; 1.40 ± 0.9b. Means followed by distinct letters differ from each other (p<0.05). The results showed that CaCO₃ reduces enamel demineralization, suggesting that the abrasive may contribute to a higher effect of fluoride present in the dentifrice on dental caries control .

1

Introdução

Há um consenso mundial de que o efeito do flúor (F) no controle da cárie dental é essencialmente físico-químico, reduzindo a desmineralização e ativando a remineralização do esmalte-dentina (tEN CATE & REMPT, 1986, DAWES tEN CATE 1990).

Assim, substâncias que interfiram com a formação de placa dental cariogênica ou reduzam a acidogenicidade bacteriana poderiam potencializar o efeito físico-químico do flúor. Estas substâncias poderiam ser encontradas nos dentifrícios associadas ao flúor, o qual tem sido considerado um dos principais responsáveis pelo declínio de cárie constatada neste século (RÖLLA, *et al.*, 1991).

Nos dentifrícios, o flúor pode estar na forma de NaF/sílica ou MFP/CaCO₃ (FORWARD, 1980), sendo esta combinação importante em termos de compatibilidade química para garantir flúor solúvel no produto, para interferir com a progressão de cárie dental (ERICSSON, 1961). No Brasil, cujo declínio de cárie também é um fato (NARVAI *et al.*, 1999), 92% dos dentifrícios vendidos contêm MFP/CaCO₃ (DUARTE *et al.*, 1999) sendo que o MFP é considerado uma forma de flúor eficiente no controle da cárie (VOLPE *et al.*, 1995). Em acréscimo, CaCO₃ é um agente alcalinizante e tamponante (DUKE,

1986a; IGNÁCIO *et al.*, 1999) o qual embora apresente uma pequena solubilidade em pH neutro, quando ocorrem quedas no pH da placa, em função de desafio cariogênico, a solubilidade do CaCO_3 aumenta. Deste modo, partículas de CaCO_3 pequenas e densas que ficam depositadas na placa por várias horas após o pré-tratamento com dentifrício contendo carbonato de cálcio (DUKE, 1986b) poderiam ter efeito na acidogenicidade da placa dental. Este efeito, poderia potencializar o efeito físico-químico do flúor, neutralizando os ácidos produzidos na placa dental quando do consumo de açúcar.

Tendo em vista que os dados da literatura não demonstraram até o momento que o efeito tamponante e alcalinizante do carbonato se traduz na redução da desmineralização do esmalte, o objetivo deste trabalho foi testar esta hipótese.

2

Revisão da Literatura

A revisão da literatura foi subdividida em alguns itens:

2.1. Dentifrícios na forma de MFP e abrasivo à base de carbonato

2.2. Hidrólise do MFP

2.3. Estudo *in situ* de curta duração, utilizando dispositivo intra-oral palatino - características da placa bacteriana natural e artificial - desafio cariogênico - desmineralização

Esta revisão não tem como finalidade esgotar o assunto em todos os itens, mas sim, introduzir o leitor nos seus aspectos mais relevantes.

2.1. Dentifrícios na forma de MFP e abrasivos à base de carbonato

Todos os estudos até hoje realizados indicam o flúor¹ como o principal elemento quando se tem por objetivo atingir grandes massas populacionais, buscando prevenção. Embora seu uso isolado não impeça o desenvolvimento da cárie, mas somente reduza sua progressão (CURY, 2000). Além disto a promoção da saúde bucal pode ser obtida através do controle da placa dental e dieta.

Atualmente, há um consenso de que o F⁻ importante é aquele mantido constante na cavidade bucal, o qual é capaz de interferir com a dinâmica do processo cárie, reduzindo a quantidade de mineral perdido quando do fenômeno de desmineralização e ativando a quantidade repostada quando da remineralização salivar (CURY 2000).

O F também apresenta a capacidade de influenciar na formação de cárie, em parte por seu impacto na ecologia da placa e no metabolismo do ácido (BOWEN,1990), ou seja, os estudos em cultura contínua mostraram que as mudanças no meio ambiente das bactérias, inclusive pela adição de fluoreto (HAMILTON, 1990) pode influenciar as quantidades e tipos de ácidos produzidos, assim como, na elevação do pH ou modificação na composição da matriz da placa. Deste modo um dentifrício contendo carbonato de cálcio como abrasivo, pode contribuir para um efeito aditivo do flúor de dentifrício, aumentando seu efeito cariostático, comparado a um dentifrício contendo somente flúor .

¹ Termo genérico para definir as formas químicas iônica (fluoreto ou íon flúor), ionizável (mineralizada, na forma de MFP) e não ionizável (ligado covalentemente) do elemento flúor.

Dentre as opções para o controle da doença cárie que estão disponíveis para a população, podemos citar os dentifrícios fluoretados. Desta forma, quando a população tem o hábito de escovar os dentes o flúor proveniente dos dentifrícios é tão abrangente quanto a água fluoretada em termos de saúde pública com relação ao efeito cariostático (CURY, 1989). As principais formas de flúor usado nos dentifrícios são o NaF e o MFP. Ambos são considerados eficientes no controle da cárie tendo em vista dezenas de estudos clínicos. Entretanto a ação anticárie depende do sistema abrasivo em termos de estabilidade química (ERICSSON, 1961; CURY 1986). O MFP é fundamental para o Brasil, considerando que os dentifrícios populares contêm cálcio que inativaria grande parte do flúor do dentifrício se estivesse na forma de NaF.

O MFP é compatível com o cálcio contido no sistema abrasivo carbonato de cálcio (CaCO_3), pois o flúor está ligado covalentemente ao fosfato e não reage de imediato com o cálcio, permanecendo solúvel para exercer seu efeito cariostático. Em acréscimo, um possível efeito aditivo do cálcio solúvel (Ca) na atividade de monofluorofosfato (MFP) foi relatado na década de 80, por (MELLBERG & CHOMICKI 1982), os quais estudaram o efeito do cálcio solúvel, na forma de cloreto de cálcio na incorporação de flúor através de solução ou suspensão de dentifrício (MFP) pelo esmalte bovino rígido, desmineralizado por ácido ou com lesão de mancha branca. A incorporação de flúor pelo esmalte hígido diminuiu na presença de cálcio, enquanto que no esmalte superficialmente ou com lesão de mancha branca a presença de cloreto de cálcio aumentou a incorporação de flúor, sendo a proporção entre $\text{Ca:MFP} = 0,5$. Concluíram que o flúor nos dentifrícios inibe a cárie dental pela interação com a mancha branca ou nos estágios iniciais do ataque ácido e na presença

de cálcio solúvel tanto da saliva quanto do dentifrício poderia reforçar o efeito anti-cárie do MFP. Em 1984, MELLBERG & MALLON verificaram, “*in vitro*”, que um dentifrício tendo sílica como abrasivo e contendo $\text{Ca:MFP} = 0,5$ era capaz de remineralizar o esmalte dental em 50,6%, comparado com 31,5% de um dentifrício contendo só MFP. Em 1985 MELLBERG *et al.* estudaram *in vivo* o efeito de um dentifrício contendo MFP e o abrasivo fosfodicálcio diidratado (DCPD) na remineralização de esmalte e demonstraram que a formulação MFP/DCPD do dentifrício foi efetiva, onde o abrasivo poderia ser possível fonte de cálcio. Posteriormente, (APONTE-MERCED *et al.* 1987) relataram que o Ca proveniente de formulação contendo abrasivo fosfodicálcio diidratado (DCPD), podia ser encontrado nos dentes de ratos tratados com este dentifrício. Assim, surgiu a hipótese de que o cálcio dos sistemas abrasivos poderia exercer um efeito aditivo ao MFP de dentifrícios, pois como relatam alguns trabalhos, este efeito dos abrasivos a base de cálcio, exercem ação alcalinizante e tamponante na placa .

Em um estudo *in vitro* realizado por (MORENO, 1993), foi mostrado o papel e o aspecto químico dos íons cálcio (Ca), fósforo (P) e flúor (F), na prevenção da cárie, sendo que foi destacado o papel do abrasivo fosfodicálcio diidratado (DCPD), como um agente tamponante importante, pois como demonstrou *in vitro*, a presença deste composto químico, melhorou de maneira considerável a ação do flúor.

O trabalho pioneiro de (STEPHAN 1944) demonstrou claramente a relação entre a atividade cariosa e a capacidade de diminuição do pH da placa dental. A placa de indivíduos com alta atividade cariosa apresentam um pH basal baixo interior e uma diminuição maior e mais prolongada do pH após o desafio com açúcar do que a placa de

indivíduos com baixa ocorrência de cárie. O mais notável nas curvas de Stephan (pH/tempo) é que há um desvio negativo de toda a curva para os grupos com alta prevalência de cárie ativa.

A relação entre a ingestão frequente de alimentos que contêm açúcar e a cárie dental está bem estabelecida (BOWEN & BIRKHED, 1986). A sacarose fornece energia para as bactérias se multiplicarem e produzirem PEC polissacarídeos extracelulares. Assim, a sacarose facilita a formação de placa, a qual sendo mais porosa devido a esta rede (matriz) de polissacarídeos se torna mais cariogênica. Isto facilita a difusão de açúcares por esta matriz levando a quedas mais acentuadas de pH na interface dente-placa. Adicionalmente, a placa dental formada na presença de sacarose tem menores concentrações inorgânicas de cálcio, fosfato e flúor (CURY *et al.*, 1997), isto porque toda vez que o açúcar é ingerido, é convertido em ácido levando a uma queda instantânea do pH. Atingidos os pH críticos para esmalte ou dentina estes perderão cálcio (Ca) e fosfato (P) sofrendo desmineralização. O pH permanece crítico por um tempo de aproximadamente 20 minutos a horas, mas retorna ao normal.

O tempo de reversão do pH depende de vários fatores, mas em termos de efeito ou ação alcalinizante e tamponante dos abrasivos à base de cálcio, (DUKE 1986a) mostrou a eficácia do carbonato de cálcio em neutralizar os ácidos produzidos na placa dental, quando realizado desafio cariogênico, após bochecho com solução sacarose 10%. O trabalho, envolveu a participação de 13 voluntários, os quais escovaram seus dentes com pastas livres de flúor, sendo que uma pasta, continha 45% do abrasivo carbonato de cálcio (CaCO_3) e a outra pasta, 50% de alumina triidratada como abrasivo. Após escovação,

bochecharam solução sacarose 10% e pode-se concluir a eficiência do carbonato em se incorporar à placa, o que contribuiu para redução de sua acidogenicidade . Teoricamente como relatou DAVIS & FELLOWES, (1981), o carbonato de cálcio fica armazenado na matriz da placa como pequenas e densas partículas. E que o seu efeito pode permanecer por horas após o pré-tratamento, com pasta contendo carbonato de cálcio, como foi descrito por (DUKE 1986 b) .

(KASHKET & YASKELL 1990) desenvolveram estudo com um modelo de desmineralização intra-oral para determinar se cálcio e fosfato inorgânico (Pi) acumulavam na placa durante a desmineralização ativa do esmalte, mostrando que Ca e Pi estavam parcialmente ligados à macromoléculas complexas, e eventualmente recrystalizavam minerais na placa. (LAMMERS *et al.*, 1991), mostraram *in vitro*, que a composição de uma substância remineralizadora, com respeito à concentração de flúor e carbonato, é importante para o processo de remineralização.

(GAFFAR *et al.* 1993) realizaram uma revisão sobre a associação de MFP e Ca e relataram que os resultados dos estudos laboratoriais, de animais e *in vivo* indicaram que a presença de DCPD aumentou a eficácia do MFP em termos de efeitos cariostáticos. (KASHKET & YASKELL 1992) realizaram um estudo *in situ*, utilizando dispositivo intraoral, contendo blocos de esmalte bovino, recobertos com *Streptococcus mutans* IB 1600 . Voluntários bochecharam sacarose 10% , acrescida com diferentes concentrações de lactato de cálcio (25mM, 100mM) sendo que uma parte dos voluntários bochechou lactato de cálcio 100mM, 15 minutos antes do bochecho de sacarose. Puderam concluir que: quando o lactato de cálcio foi dado um tempo antes do bochecho da sacarose, houve uma

redução de 25% na desmineralização. Quando houve a mistura de lactato de cálcio 100mM + sacarose, a redução na desmineralização foi mais efetiva, aproximadamente 55% , e mesmo o lactato estando misturado à sacarose, numa pequena concentração (25 mM), houve na placa, um efeito protetor do mesmo , durante o período máximo de acidogenicidade.

Comparando *in situ* formulações de dentifrícios contendo CaCl_2 / MFP ou só MFP, (KOO & CURY,1998) mostraram que embora o Ca tenha ativado tanto a incorporação de flúor como a remineralização do esmalte, o aumento da última não atingiu significância estatística. Porém, (DE PAOLA 1993), mostrou através de estudos, *in vitro* e *in situ* de que os dentifrícios com formulações contendo Ca / MFP aumentam a remineralização e apresentam maior presença de cálcio e flúor na placa. A elevação nos níveis de cálcio na saliva e no fluido da placa, a princípio, podem induzir um efeito cariostático por aumento no grau de saturação do esmalte, da saliva e fluido da placa (BLAKE-HASKINS *et al.*, 1994).

(KOO & CURY, 1999), realizaram um estudo no qual demonstraram que o dentifrício contendo MFP / DCPD foi efetivo não apenas na incorporação do flúor pelo esmalte dental, mas também na remineralização da lesão cariosa quando comparado ao dentifrício placebo de flúor e cálcio tendo como abrasivo sílica.

A comparação da remineralização, *in situ*, de esmalte bovino, foi realizada por (ZHANG *et al* 1995), usando um dentifrício na forma de MFP/ SiO_2 ou MFP/DCPD. Os resultados mostraram que o uso do abrasivo contendo cálcio no dentifrício MFP aumentou a remineralização das lesões de cárie. Os estudos de (MURPHY *et al.*1990), (YASKELL.

*et al.*1996) e (BANOCZY 1997) avaliaram dentifrício, contendo alta concentração de bicarbonato e verificaram um efeito compensador do bicarbonato de sódio na queda de pH da placa até por volta de 60 minutos após seu uso. (IGNÁCIO *et al.*, 1999), verificaram que embora dentifrício fluoretado contendo bicarbonato de sódio a 14% tivesse apresentado, coletivamente, uma tendência a influenciar positivamente nos diversos fatores relacionados à cárie dental, como contagem de estreptococos do grupo mutans, acidogenicidade da placa na presença de desafio cariogênico, concentração de polissacarídeos insolúveis e concentração de flúor solúvel em ácido na placa dental, essa diferença não alcançou nível de significância estatística, quando comparada aos dentifrícios contendo carbonato de cálcio ou sílica como abrasivo. (SULLIVAN *et al.*1997), relataram, que DCPD marcado com ^{44}Ca , contido em dentifrício, foi incorporado no esmalte e detectado na placa 18 horas pós-tratamento. As conclusões deste estudo, mostram que escovação com dentifrício contendo DCPD, introduz Ca exógeno na cavidade oral, o qual favorece um aumento da remineralização do dente, em combinação com o flúor.

(SHEMEHORN *et al.*1997), utilizando dentifrício no qual os componentes ficavam em dois compartimentos, sendo que um compartimento continha 1.150 ppm de flúor, 2.500 ppm de cálcio e 25.000 ppm de fósforo e no outro os estabilizantes compararam este novo dentifrício com um dentifrício convencional. Após 15 ciclagens de pH em solução desmineralizadora e remineralizadora, pelas análises de microdureza e biópsia observaram maior remineralização com o novo dentifrício contendo cálcio e fósforo do que com o dentifrício contendo somente flúor. (BLAKE-HASKINS *et al.*1997) mostraram que o uso de dentifrício fluoretado contendo bicarbonato, usado antes e após

bochecho com sacarose 10%, resultou em menor queda do pH da placa, do que o tratamento com dentifício fluoretado, sem abrasivo. Coletivamente, estes resultados indicaram que o bicarbonato no dentifício foi um efetivo agente tamponante para neutralizar os ácidos da placa dental, estabilizando o pH da mesma. Entretanto estes autores não avaliaram este efeito na desmineralização do esmalte. Sendo que (KASHKET *et al.* 1994), utilizando modelo intra-oral de “curta duração”, mostraram a efetividade de dentifício contendo bicarbonato de sódio, na redução da desmineralização na superfície do esmalte, embora o dentifício utilizado, apresentasse em sua composição peróxido.

(KOO & CURY, 1998) mostraram que o dentifício contendo 1.450 ppm de flúor na forma de (SMFP) contendo 0,45% de CaCl_2 ativou tanto a incorporação de flúor como a remineralização do esmalte, sugerindo que o cálcio solúvel, provavelmente aumentou o mecanismo de ação do flúor.

2.2. Hidrólise do MFP

Enquanto o efeito cariostático de dentifícios contendo flúor na forma de MFP está bem estabelecido (MELLBERG, 1991), seu modo de ação é controverso, sendo que a interação MFP-esmalte, foi originariamente postulada por (ERICSSON 1963), e (INGRAM 1972) os quais foram os primeiros a investigar a incorporação de flúor pela hidroxiapatita a partir de soluções de MFP e propuseram que haveria uma troca do ânion MFP pelo grupo fosfato seguido de mudança intracristalina, a qual resultaria na troca do íon OH^- pelo F^- no interior do cristal. Logo após, (ERICSSON 1967) relatou a hidrólise biológica dos íons monofluorofosfato, utilizando tecidos homogeneizados e esmalte dental.

Foi analisada a liberação dos íons F^- e ortofosfato. Utilizou intestino, fígado e rins de rato homogeneizados e observou que o fígado e rins hidrolisaram frações consideráveis do MFP. Após a ação enzimática da fosfatase aquecidos-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 qualquer ação hidrolítica sobre o íon monofluorofosfato 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, (INGRAM 1973) observou que o o-fosfato causava inibição da incorporação de MFP, o que se tornava 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 20mM 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. 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°C, com o pH variando de 4 a 10. O ponto máximo de atividade ficou entre pH 7,6 - 8,6. A saliva controle foi aquecida a 100°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 .

(JACKSON 1982) investigou a hidrólise do MFP em suspensões de placa supragengival natural e placa artificial composta por *Streptococcus mutans* K1R . 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, liberando 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 7,0 em placa natural e artificial constituída por *Streptococcus mutans* K1R, constatou-se que o MFP hidrolisado por esta foi baixo, um resultado intrigante pois é evidente que estes microrganismos 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). Constataram que as placas tratadas com NaF e

flúor aminado continham 72 e 190 ppm F, 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 foi maior em pH 8,0 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 microbiota mista da saliva, placa dental e culturas puras de *Streptococcus mutans*. (ROLLA 1983) apresentou algumas conclusões, que puderam 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. Concluindo-se

que os estudos "*in vitro*" não são bons indicadores da eficácia clínica do MFP contra as cáries.

(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 4,0 a 9,0. Os autores constataram que a atividade máxima da monofluorfosfatase 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 na hidrólise do MFP que a mistura de uma variedade de estreptococos, presentes na placa dental natural, é mais ativa que qualquer espécie única presente na placa formada "*in vitro*".

Bactérias da saliva hidrolisam MFP rapidamente, pois durante os primeiros minutos, após a escovação com dentifício MFP, cerca de 40% do MFP são convertidos em F⁻ (BRUUN *et al.* 1984). Entretanto, na placa dental onde os microrganismos formam um ecossistema microbiano heterogêneo, a hidrólise do MFP, acontece mais intensamente.

(HELLWIG *et al.* 1987), realizaram um estudo *in situ*, a fim de se avaliar *in vivo*, a influência da placa no mecanismo de hidrólise do NaF e MFP. Voluntários, utilizando dispositivos contendo blocos de esmalte a saber: (1) blocos desmineralizados, recobertos com placa artificial; (2) blocos desmineralizados sem placa; (3) blocos hígidos recobertos com placa artificial; (4) blocos hígidos sem placa, faziam bochechos com soluções contendo 1000 ppm de MFP ou NaF, três vezes ao dia. A determinação do ganho

ou perda do flúor foi verificada após o período experimental de 5 dias, concluíram que após bochecho, com NaF, o bloco de esmalte, apresentou maior ganho de flúor, quando comparado com o bloco de esmalte hígido, sendo que a placa apresentou menor ganho de flúor. Concluindo, que na desmineralização do esmalte uma maior quantidade de flúor estava presente, para ambas as soluções: NaF e MFP. Na placa, após bochecho com MFP, houve uma quantidade muito maior de flúor.

(TAHMASSEBI *et al.*, 1994) determinaram a efetividade de um dentifício contendo carbonato de cálcio na capacidade de tampou seja reforçando mais uma vez, a influência do carbonato na aumento do pH da placa. Este efeito tamponante da placa aumentou, quando se associou ao carbonato 0,3% de triclosan, é conhecido por sua ação antimicrobiana e efetivo na redução de bactérias Gram positivas e Gram negativas.

(PEARCE & DIBDIN 1995) ao avaliar a hidrólise enzimática e difusão do monofluorofosfato na placa dental, puderam concluir que, tanto o pH, quanto a espessura da placa, foram essencialmente importantes para que ocorresse a hidrólise do MFP, ou seja, um pH mais ácido e uma placa com uma espessura de 1,0 mm são mais efetivos.

2.3. Estudo *in situ* de curta duração, utilizando dispositivo intra-oral palatino - características da placa bacteriana natural e artificial - desafio cariogênico - desmineralização

Desde a introdução de modelos intra-orais de cariogenicidade por (KOULOURIDES & VOLKER 1964), uma variedade de modelos têm sido planejados e

usados, para investigação da dinâmica de cárie de esmalte e dentina, assim como para o estudo e avaliação da efetividade de agentes terapêuticos, como o flúor e outros (VERNON *et al.* 1992). Modelos intra-orais contribuem significativamente para estudos dos processos de cárie, pois a cavidade bucal oferece condições fisiológicas favoráveis. Um tipo de modelo intra-oral, pode ser o modelo *in situ*, no qual blocos ou secções de esmalte dental ou dentina são colocados em dispositivos ou placas palatinas, usados durante o experimento e posteriormente removidos (KOLOURIDES *et al.*, 1974; BRUDEVOLD *et al.*, 1984; STOOKEY *et al.*, 1985; CREANOR *et al.*, 1986.; WEFEL *et al.*, 1987; ZERO, 1992). Estes modelos de estudo, podem ser de curta ou longa duração. Um modelo especial foi introduzido por um grupo de Boston (BRUDEVOLD *et al.* 1984), no qual, placa natural ou placa artificial, constituída por células de *Streptococcus mutans* foi aplicada em blocos de esmalte bovino com medida de dureza determinadas, em dispositivo palatino. Normalmente se os estudos são de curta duração, são utilizadas placas artificiais, que podem ser compostas por linhagens de estreptococos cultivados *in vitro* ou no caso de estudos mais longos, de dias ou semanas, placas naturais podem ser formadas sobre os blocos de esmalte ou dentina. Com relação à placa dental, esta pode variar muito, quanto à composição e à espessura e assim, deve ser considerada como um ecossistema microbiano heterogêneo, no qual a difusão de solutos resulta na segregação de placa em microambientes individualizados. Os gradientes na concentração dos nutrientes, níveis de oxigênio, cátions, produtos finais do metabolismo de ácido e de base, potencial de óxido-redução e pH afetam o crescimento e o metabolismo de microrganismos encontrados em extratos de determinada placa (MARSH, 1986).

LUOMA *et al.*, 1983, desenvolveram um experimento avaliando a dureza do esmalte bovino e sua concentração de Ca, P, Mg e F modificada por placa dental artificial (*Streptococcus mutans*) e flúor. Para isto, uma camada de células a partir de uma suspensão de *Streptococcus mutans* (pH 5,8), com ou sem sacarose, foi centrifugada e colocada sobre a superfície de blocos de esmalte bovino. Foi adicionado flúor a uma parte das amostras (F final 25 ppm). Amostras para testes e controles foram incubadas a 37°C por 18 horas. O pH da placa fermentante caiu para 4,15. Quando o flúor estava presente, o pH final foi 4,45. Durante a fermentação, cálcio foi liberado pelo esmalte, mas somente para o fluido e uma menor liberação ocorreu na presença de flúor. A relação por peso de Ca e P liberados pela fermentação do açúcar foi: 3,14 e 1,91 quando o flúor estava presente, a concentração de flúor na superfície do esmalte foi somente levemente aumentada (130 ppm) pelo flúor na água destilada sozinha sendo que a subsuperfície do esmalte ganhou mais flúor (280 ppm). A adição de F aumentou a concentração de flúor em uma maior extensão sob placa fermentante, 680 ppm na superfície e 400 ppm na subsuperfície do esmalte, comparados aos valores do esmalte sob a placa não fermentante.

A espessura, as características de difusão e a atividade metabólica da placa determinam grandemente qual a quantidade de substrato de carboidrato que atinge a camada mais interna da placa adjacente ao dente. Esse meio muda com frequência e rapidez, principalmente devido à flutuação na disponibilidade de carboidrato e aos hábitos dietéticos ao hospedeiro. (DAWES & DIBDIN 1986) utilizaram um modelo matemático para simular as inter-relações da concentração de sacarose na saliva. A concentração de açúcar salivar é o principal determinante da espessura ideal da placa, nesse modelo,

previram que as placas muito finas e muito grossas produziam menor desafio ácido para o dente.

O trabalho de (ZERO *et al.*, 1992), utilizando modelo intra-oral para teste de desmineralização, uma modificação do modelo original de (BRUDEVOLD *et al.*, 1984), abordou a questão da espessura da placa e difusão de açúcar com o modelo citado. O modelo consistiu de um aparelho palatino, que prendia 8 blocos de esmalte bovino revestidos por uma placa teste, preparada pela coleta de cultura de *Streptococcus mutans* IB-1600. A espessura da placa foi estabelecida pelas dimensões de um suporte de plástico que tinha 5 mm de largura. O acesso da saliva à placa em teste foi através de um recesso de 0,5 mm em ambos os lados do suporte de plástico. Os resultados mostraram, que comparando dois diferentes tipos de placa teste, em termos de espessura e das propriedades de difusão da placa, com glicano foi preparada com o mesmo caldo, suplementado com sacarose a 2,0%. A alteração na microdureza da superfície de esmalte bovino foi usada como medida indireta da extensão da desmineralização do esmalte que ocorreu nos locais que correspondiam às placas de espessuras diferentes (0,5mm, 1,5mm e 2,5 mm). Para a placa sem glicano, que é principalmente um agrupamento de células de *S. mutans*, a desmineralização foi detectada apenas no local onde a espessura era de 0,5mm, enquanto a placa com glicano resultou em desmineralização em uma camada mais espessa (2,5 mm). A desmineralização máxima ocorreu no local onde a espessura era de 0,5 mm, após bochechos com glicose a 10%, idêntica à prevista pelo modelo de DAWES & DIBDIN, mencionado anteriormente. Num outro trabalho realizado por FU *et al.*, 1991 utilizaram a análise HPLC das amostras de placa teste, coletada nas camadas superficial e mais

profunda, demonstrando que a presença de glicano na placa resultou em velocidade maior de difusão da glicose e assim, em produção de ácido em camadas mais profundas da placa.

Os achados acima fornecem evidência experimental direta sobre o efeito da espessura da placa na desmineralização. Além disto, confirmam e expandem os relatos anteriores que atribuem o potencial de desmineralização ampliado da placa que contém glicano (ZERO *et al.*, 1986) à maior penetração de glicose (VAN HOUTE *et al.*, 1989).

O papel do material da matriz extracelular (MME) sintetizado a partir da sacarose (S) por *Streptococcus mutans* IB-1600 na alteração do potencial de desmineralização de placa artificial foi avaliado com um teste intraoral de desmineralização do esmalte (TIDE) por ZERO *et al.* 1986. As amostras de placa artificial foram preparadas a partir de células cultivadas em meio Todd-Hewitt (THB) suplementado com várias concentrações de sacarose e pela mistura de células crescidas em THB com proporções crescentes de MME (THB aquecido + S + células cultivadas). As amostras foram ainda avaliadas para densidade celular (conteúdo de DNA) e acidogenicidade *in vitro* (pH), assim como para alterações no pH *in situ* durante um teste intra-oral após um bochecho de glucose 10%. Um aumento na proporção de MME relativo à densidade da célula foi associado com um aumento na desmineralização do esmalte. Isso tendeu a modificar quando o índice de células foi menor do que 1:19. Os dados do pH intra-oral sugerem que a presença de MME pode aumentar a desmineralização do esmalte pela alteração das propriedades de difusão da placa.

Com relação à condição de adaptação de diferentes espécies de estreptococos do grupo mutans, ZERO *et al.*, (1990 1991), estudaram a atividade glicolítica de duas

cepas de estreptococos do grupo mutans, *S. mutans* IB-1600 e *S. sobrinus* 6715-13, que cresceram em cultura, com diferentes condições de pH. O pH ambiental durante o crescimento foi diminuído pela redução da capacidade tamponante do meio básico TTY (HAMADA & TORI, 1978). O meio modificado continha 1/8 da concentração dos sais encontrados no meio básico. A atividade glicolítica das suspensões celulares lavadas das linhagens em teste foi medida em níveis constantes de pH, de 7,0 e 5,0, com pH estacionário. foram estudadas tanto as culturas de fase estacionária 18 h como as de fase logarítmica. Como mostraram os resultados, o crescimento em condições de pH baixo ampliou a atividade glicolítica das cepas em teste dos *S. mutans*, confirmando os resultados de um estudo anterior, no qual foram usadas culturas contínuas (HAMILTON & ELLWOOD, 1978).

Estudos mais recentes mostrados por ZERO *et al* e, SATOU *et al.*(1992), mostraram que células de *S. mutans* adaptadas ao ácido readaptam-se rápido quando crescem em condições de pH neutro. Assim, a maior atividade glicolítica parece fazer parte de uma adaptação fisiológica ao crescimento em pH baixo. Surpreendentemente, a atividade glicolítica da cepa testada não foi influenciada pela condição do pH de crescimento e, sim, foi ampliada quando cultivada em meio que continha sacarose, comparada ao crescimento em meio que continha glicose. Uma possível explicação, foi que esta linhagem específica de *S. mutans* não tinha a capacidade de tolerar o crescimento em pH baixo, a menos que o crescimento fosse acompanhado pela síntese de glicano, que pudesse garantir proteção às células contra um meio ácido.

ZERO *et al.*, 1986, desenvolveram um experimento no qual blocos de esmalte bovino foram cobertos por uma camada de placa bacteriana (crescida em meio de cultura) e montados em dispositivos palatinos de voluntários humanos, para estudar os efeitos da produção de ácido a partir de substratos bacterianos endógenos sobre o pH da placa e desmineralização do esmalte. As variáveis foram células com e sem substrato endógeno, bochechos com solução de glicose 10% ou sacarose 10%, ou não uso de bochechos e o tipo de microrganismo. A produção de ácido a partir de substrato endógeno por *Streptococcus mutans* IB-1600, devido, pelo menos em parte, à degradação intracelular do glicogênio, causou uma marcada e prolongada queda de pH e significativa desmineralização do esmalte. Um similar, mas menos pronunciado efeito foi obtido com espécies de *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis* e *Actinomyces viscosus*. Assim, a produção de ácido a partir de fontes endógenas pelas bactérias da placa pode ser importante na etiologia da cárie dental.

COCOLA *et al.*, 1996, avaliaram o efeito de diferentes proporções *S. mutans* e *S. sanguis* constituindo a placa teste e, através da microdureza, a porcentagem de perda mineral, ou desmineralização. Participaram do estudo 5 voluntários, os quais utilizaram dispositivos intra-orais palatinos, contendo 8 blocos de esmalte dental bovino cada um recobertos com placa teste crescida em caldo de Todd Hewitt, constituída por 2 linhagens de estreptococos, *S. mutans* e *S. sanguis*, as quais foram misturadas nas seguintes proporções: 1:0, 1:1, 1:3, 1:9 e 0:1. Os voluntários fizeram bochecho com glicose 25% por 1 minuto e após, permaneceram com o dispositivo por 45 minutos. A porcentagem de perda mineral permaneceu maior e mais intensa, onde a quantidade de *S. mutans* era maior em relação à linhagem de *S. sanguis*.

Um estudo realizado por (ZERO 1996), para análise da composição, espessura da placa e desmineralização *in situ* por diferentes concentrações de sacarose, utilizando-se modelo de desmineralização intra-oral (Zero *et al.*, 1992), o qual com 5 voluntários participantes, os quais utilizaram dispositivo intra-oral contendo 8 blocos de esmalte dental bovino. Os blocos foram recobertos por uma placa teste, constituída por *Streptococcus mutans*, sendo considerada placa sem glicano preparada a partir de caldo Todd Hewitt (THB) e uma outra com glicano foi preparada com o mesmo caldo, suplementado com sacarose a 2,0%. No início do teste, cada voluntário bochechou por 1 minuto, diferentes concentrações de solução sacarose (S) a saber: 0, 5%, 10%, 20% e 40%. Ao final de 45 minutos, os blocos foram analisados, no sentido de se determinar a perda de dureza, sendo feitas 10 impressões, a partir da borda do bloco de esmalte, nas seguintes distâncias: 50, 75, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 1500 e 2500 μm . Os resultados mostraram uma forte influência entre a concentração de sacarose, a espessura e composição da placa teste. Os blocos de esmalte que foram recobertos com placa teste sem glicano, apresentaram na distância de 50 μm uma intensa perda mineral, que foi decrescendo rapidamente. Quando se bochechou sacarose 40% alcançaram níveis de insignificância na distância de 1500 μm e com bochecho de sacarose 5% notou-se perda na distância de 400 μm . A desmineralização foi significativamente maior quando as placas testes foram crescidas em caldo suplementado com 2,0% de sacarose ou placa com glicano. Concluíram então, que o processo da cárie, pode ser modificado por uma complexa interação entre composição da placa, espessura e mudanças nas concentrações do substrato.

KASHKET & YASKELL, em 1997, avaliaram a desmineralização intra-oral do esmalte através das mudanças na porosidade, ou penetrabilidade do iodo. Assim, voluntários utilizaram dispositivos contendo oito blocos de esmalte bovinos (5x5 mm) cobertos com uma camada de *Streptococcus mutans* IB-1600, e cada um consumiu uma porção de 5 g de biscoito específico (contendo diferentes níveis de sacarose, a saber: 4%, 20% e 33% ; e ainda adicionados com lactato de cálcio (LC) na concentração máxima de 3,2% ou bochechou com 15 mL de sacarose 10% por 1 minuto. A desmineralização foi determinada após 45 minutos, através das mudanças na penetrabilidade do íon iodo no esmalte (BRUDEVOLD *et al.*, 1984) ou mudanças na microdureza superficial do esmalte. A penetrabilidade do iodo nos blocos dentais foi determinada antes e após a exposição intra-oral, e as diferenças (delta Ip) foram calculadas. A média para os oito blocos foi calculada e expressa como unidades de delta Ip. A microdureza do esmalte foi determinada com um penetrador de diamante tipo Knoop e as diferenças (delta KMH) foram calculadas a partir de medidas realizadas antes e após exposição intraoral. O pH final das placas estreptocóccicas foi determinado com microeletrodo. O LC 3,2% (p/p) reduziu delta Ip de $12,9 \pm 1,7$ para $6,1 \pm 0,9$ unidades, ou seja , 52,7%. A desmineralização foi reduzida progressivamente com o aumento da concentração de LC adicionado , e o LC foi mais efetivo nos biscoitos mais doces. A placa reteve $32,4 \pm 6,0$ e $17,1 \pm 4,2$ mM de cálcio após 1 e 5 minutos, respectivamente. Os cálculos mostraram que a placa foi saturada em relação ao esmalte durante os primeiros 5-10 minutos após ingestão do alimento, apesar da progressiva queda no pH da placa. O presente estudo demonstrou a redução do potencial cariogênico do alimento sólido pela concentração de LC. Os autores sugerem que esses

efeitos parecem estar relacionados à habilidade do alimento em manter altos níveis de cálcio na placa durante o período de ativa acidogênese.

3.1. Delineamento Experimental

3.1.1. Avaliação *in situ* da inibição da desmineralização do esmalte dental bovino

Foi realizado um estudo cruzado *in situ*, utilizando-se um modelo intra-oral de curta duração (Zero *et al.* 1992). O objetivo do estudo, foi avaliar, o efeito do carbonato de cálcio (CaCO_3), na inibição da desmineralização do esmalte dental. Blocos de esmalte dental bovino (5x5x2 mm), com microdureza superficial pré-determinada, foram cobertos por uma camada de bactérias ("placa artificial") obtidas a partir de uma cultura de *Streptococcus mutans* Ingbritt-1600 Sorotipo C (*S. mutans*) - (BRUDEVOLD et al, 1984), e colocados em placas palatinas confeccionadas para os voluntários. Participaram deste estudo cruzado 10 voluntários, os quais foram divididos em três (3) grupos de tratamento a saber:

Grupo I: Dentifrício a base de CaCO_3 contendo 1500 ppm de flúor na forma de MFP.

Grupo II: Dentifrício a base de SiO_2 contendo 1500 ppm de flúor na forma de MFP.

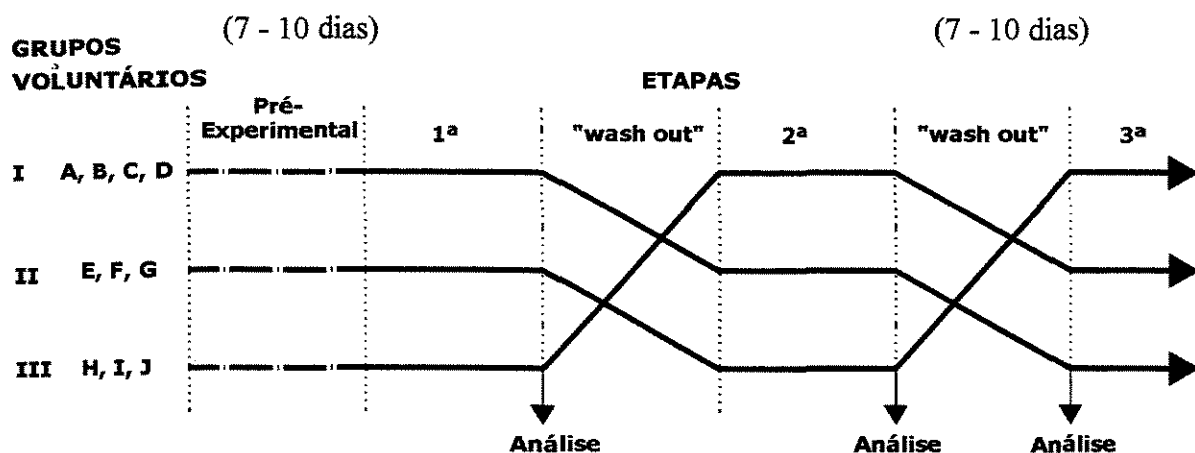
Grupo III: Controle (escovação sem dentifrício), utilizando tampão bicarbonato de potássio 20 mM , pH 7,0, contendo KCl 100 mM.

Grupo I - CaCO / MFP: os voluntários escovaram seus dentes por 1 minuto com dentifrício contendo flúor na forma de MFP e CaCO₃ como abrasivo. Ao mesmo tempo, os dispositivos intra-orais, contendo os blocos de esmalte dental bovino, foram imersos por 1 minuto no mesmo dentifrício diluído 1:3 em água destilada deionizada, ou seja, 30 g de dentifrício diluído em 10 mL de água deionizada. Depois de escovarem seus dentes, os voluntários enxaguaram suas bocas por 10 segundos com 15 ml de água destilada e deionizada e os dispositivos foram imediatamente introduzidos na boca. Após 20 minutos, sem conversar, beber ou comer, os voluntários bochecharam vagarosamente 15 ml de uma solução de sacarose 20% por 1 minuto sem retirar o dispositivo. Após o bochecho, os voluntários utilizaram os dispositivos por mais 45 minutos.

Grupo II - SiO₂/MFP: Foram seguidos todos os passos do Grupo I, porém usando dentifrício com sílica.

Grupo III - Controle: Foram seguidos todos os passos dos Grupos I e II, porém não foi utilizado nenhum dentifrício para escovar os dentes e a escova foi molhada em tampão KHCO₃ 20mM, pH 7,0, contendo KCl 100mM. Enquanto os dentes eram escovados, os dispositivos ficaram mergulhados no referido tampão por 1 minuto, o qual estava refrigerado $\pm 8^{\circ}\text{C}$.

O fluxograma (1) descreve o delineamento experimental:



Fluxograma 1. Representação do delineamento experimental.

3.2. Informações relativas aos indivíduos participantes da pesquisa

Após informações aos indivíduos participantes da pesquisa clínica, sobre a necessidade de procedimentos como: moldagem para confecção e uso dos dispositivos intra-orais contendo blocos de esmalte dental bovino, juntamente com "placa artificial" composta por bactérias (*S. mutans*) e utilização de bochecho de solução sacarose 20%, para simular desafio cariogênico, cientes os voluntários assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido para a pesquisa clínica em seres humanos, atendendo a Resolução nº 196 de dez (10) de março de 1996, do Conselho Nacional de Saúde / Ministério da Saúde Brasília, DF (ANEXO 1). O experimento teve aprovação pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP – UNICAMP, proc. 25/99 (ANEXO 2). Desta forma, dez (10) voluntários adultos, residentes em Piracicaba, SP, com bom estado de saúde oral geral, apresentando um fluxo salivar normal $\geq 1,0$ mL/ min participaram

deste estudo. Durante o período de pré-tratamento e o período Washout, os voluntários receberam orientações por escrito, enfatizando, a necessidade da não utilização de produtos contendo flúor, ou qualquer agente antimicrobiano que pudesse interferir no experimento, exceto água ou placebo, para a escovação habitual dos dentes. E também, os voluntários, foram instruídos para que permanecessem em jejum 2 horas antes do experimento.

3.3. Dentes Incisivos Bovinos

Foram utilizados dentes incisivos inferiores bovinos, os quais mostram certas vantagens em relação ao dentes humanos:

a) apresentam uma maior homogeneidade de composição em relação aos dentes humanos;

b) o esmalte apresenta menor curvatura, facilitando a obtenção de superfícies planas (ZERO, 1995);

c) apresentam níveis baixos de flúor na superfície do esmalte e grande porosidade, permitindo assim, que ocorram reações mais rápidas (BRUDEVOLD & SOREMAIK, 1967; EDMUNDS *et al.*, 1988);

d) existe uma maior disponibilidade de amostras como também uma maior área de esmalte, facilitando a obtenção de blocos de esmalte com microdureza superficial padronizada (CURY, 1995).

3.4. Dentifrícios

3.4.1. Formulações Industriais

- Dentifrício contendo flúor na forma de MFP (1500 ppm de flúor) tendo como abrasivo SiO_2 , o qual foi preparado pela Kolynos do Brasil, São Bernardo do Campo, seguindo orientações prévias.

- Dentifrício sem agregação de flúor (placebo) Usado durante o período de pré-tratamento e wash out, e também preparado pela Kolynos do Brasil.

3.4.2. Dentifrício Comercial

Bisnagas do dentifrício Sorriso® foram adquiridas no comércio de Piracicaba, sendo este dentifrício escolhido, devido a sua composição, os quais são formulados com flúor na forma de MFP (1500 ppm de flúor), tendo como abrasivo carbonato de cálcio (CaCO_3), e também pela sua representatividade de venda ($\pm 50\%$), apresentando como data de fabricação: Agosto/1999 e com validade até Agosto / 2002. Um outro lote utilizado também, apresentou data de fabricação: setembro/1999 com validade até setembro/2002.

3.5. Fase preparatória

3.5.1. Confeção dos blocos de esmalte dental bovino

Foram utilizados blocos de esmalte obtidos de incisivos bovinos, os quais foram mantidos em formol a 2% pH 7,0 por um mês para esterilização (TATE & WHITE, 1991).

* Partículas de 2,5 - 3,3 μm segundo informações pessoais da Kolynos Brasil.

Para a obtenção dos blocos de esmalte (5x5x2mm) os dentes foram seccionados com disco diamantado (nº 11-4244 série 15 HC-Diamond BUEHLER®) acoplado à uma cortadeira elétrica (BUEHLER® - ISOMET) e tiveram suas porções radiculares seccionadas com cortadeira elétrica BUEHLER® - ISOMET, aparelhada com um disco diamantado dupla face. Após a secção da porção radicular, as coroas dentais foram fixadas com cera pegajosa em placas acrílicas para secção da porção palatina da coroa com o mesmo disco .

Para a obtenção dos blocos de esmalte (5x5 mm) a porção vestibular da coroa foi fixada à placa de acrílico. Para a remoção da fatia central, foram utilizados 02 discos diamantados separados por um espaçador (disco de acrílico com 5,0 mm de espessura) para conferir ao bloco as dimensões desejadas. Foi realizado o corte no sentido longitudinal, e então a placa de acrílico foi reposicionada no suporte da cortadeira, para a realização do corte no sentido transversal (Fig. 1A). Os cortes foram feitos sob refrigeração com água destilada deionizada.

3.5.2. Planificação da dentina

Após obtenção dos blocos de esmalte, foi necessário o ajuste da dentina visando a obtenção de superfícies paralelas para facilitar os procedimentos de polimento do esmalte. Os blocos foram fixados na porção central de um disco de resina acrílica pré-fabricado (3,0 cm de diâmetro e 8,0 mm de espessura), com a superfície do esmalte voltada para baixo, e então levados a uma politriz APL-4 AROTEC® (modificada e contendo sistema de polimento múltiplo) com lixa de granulação 320 em baixa rotação, sob refrigeração a água, utilizando um (1) peso padrão (86g) durante 10 segundos .

3.5.3. Polimento e acabamento do esmalte

Para planificações e polimento da superfície do esmalte, os blocos foram reposicionados no centro do disco de resina acrílica, com a superfície de esmalte voltada para cima (corpos de prova), e levados à politriz com lixa de granulação 600 e dois pesos durante 2 minutos com o objetivo de planificá-lo e remover uma camada de esmalte, de modo que uma área abrangendo toda a extensão de esmalte fosse removida. Em seguida, os corpos de prova foram lavados no ultra-som (T7, THORNTON, 50 Watts), imersos em água deionizada (200 ml para 12 corpos de prova), durante dois (2) minutos. A seguir, os blocos de esmalte foram levados à politriz, em baixa rotação, lixa de granulação 1200 com dois (2) pesos, durante 2 minutos e novamente os blocos de esmalte foram lavados no ultra-som, conforme descrito anteriormente. Para o acabamento final, utilizou-se a politriz com feltro (Polishing Cloth BUEHLER nº 40-7618) e suspensão de diamante (BUEHLER-METADI Diamond Suspension 1 micron - Water Base nº 40-6530), baixa velocidade, dois (02) pesos padrão, durante um (1) minuto (Fig. 1B). Após isso, os corpos de prova foram lavados em água corrente deionizada, durante três (3) minutos. A seguir os corpos de prova foram submetidos ao ultra-som, durante dois minutos, imersos em solução (ULTRAMET SONIC Cleaning Solution nº 75-5000-032 BUEHLER) diluída na proporção 20:1, em água deionizada. Finalmente, os corpos de prova foram lavados em água deionizada corrente, durante três (3) minutos, identificados e conservados em ambiente úmido a 4°C.

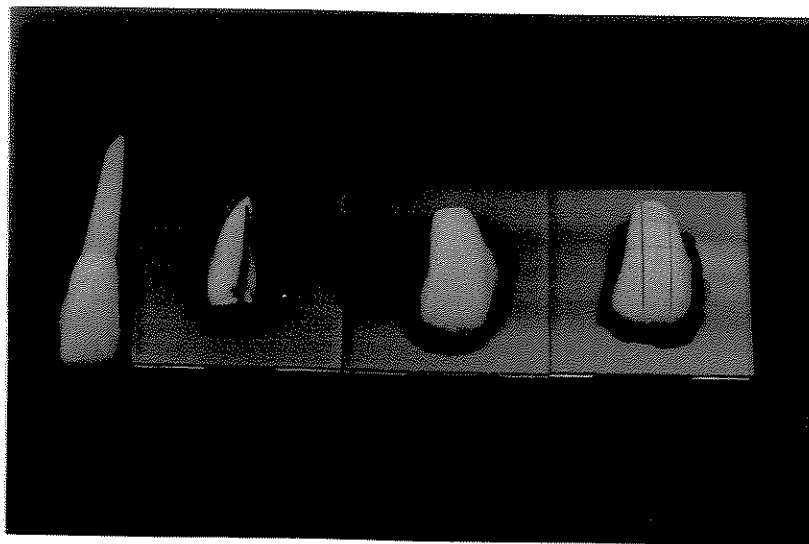


Figura 1A

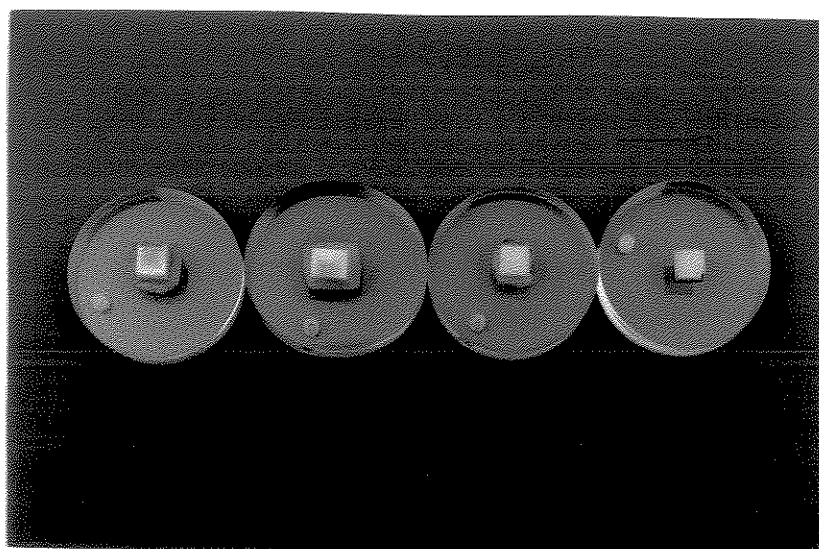


Figura 1 B

Figura 1. Representação das seqüências do preparo dos blocos de esmalte dental bovino. Sequência de cortes do bloco de esmalte (Fig. 1A). Sequência para planificação da dentina do bloco de esmalte (Fig 1B).

3.5.4. Seleção dos Blocos Dentais e Análise da Microdureza Superficial Inicial do esmalte

Para análise da microdureza superficial foi utilizado o microdurômetro Future Tech modelo FM-7 acoplado a um software, e penetrador tipo KNOOP com carga estática de 50 gramas (carga de penetração) e tempo de cinco (5) segundos. Em sequência foram realizadas oito (8) indentações, no meio do bloco, sendo que a primeira indentação foi feita, a partir de 50 μm da borda de uma das bordas (a qual foi identificada), seguindo-se as distâncias de: 75, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 μm (Fig 2).

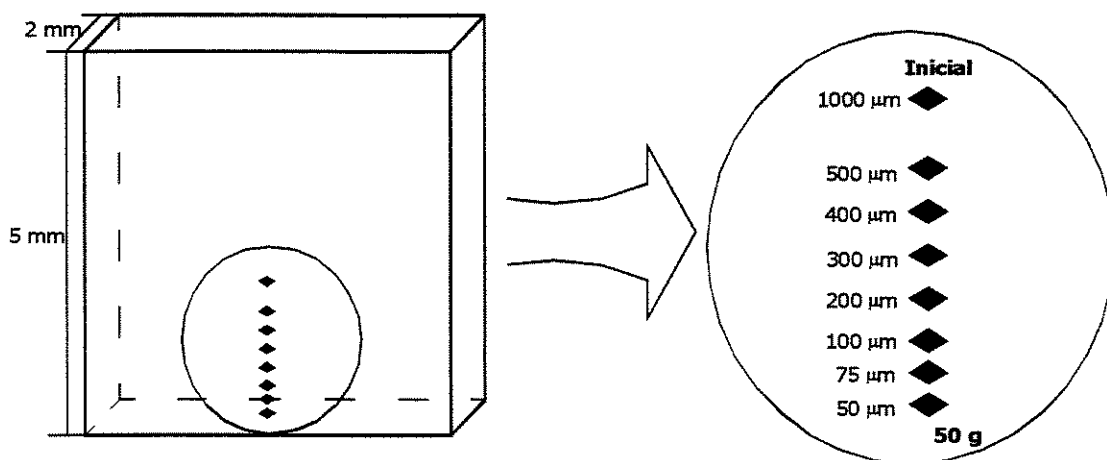


Figura 2. Representação esquemática das impressões iniciais realizadas nos blocos de esmalte.

Esta análise foi realizada previamente à colocação dos blocos de esmalte nos suportes, presos aos dispositivos intra-orais, sendo selecionados apenas os blocos que apresentaram comprimento de indentação de 43 ± 3 , sendo descartados os demais, servindo também para conhecer o valor inicial médio da microdureza superficial inicial do esmalte e determinação da sua variação após o experimento.

3.6. Preparação dos dispositivos intra-orais palatinos e seus respectivos suportes) para acomodação dos blocos de esmalte

Para cada voluntário, foi confeccionado (1) um dispositivo intra-oral palatino (Fig 3) no qual foi preparada uma cavidade de cada lado, a fim de encaixar os “holders”, os quais serviram de suporte para os blocos de esmalte bovino. Estes “holders” ou suportes apresentaram as seguintes medidas: 28,0 mm de comprimento x 5,0 mm de largura x 1,5 mm de altura, sendo que cada suporte acomodou 4 (quatro) blocos de esmalte dental bovino (5 x 5x 2 mm), em um espaço de 3,0 mm (Fig. 4). Em cada espaço para acomodação dos blocos de esmalte, foi deixada uma altura de 0,5 mm de profundidade para a colocação da massa de bactéria (“placa artificial”) contendo *S. mutans* IB 1600.

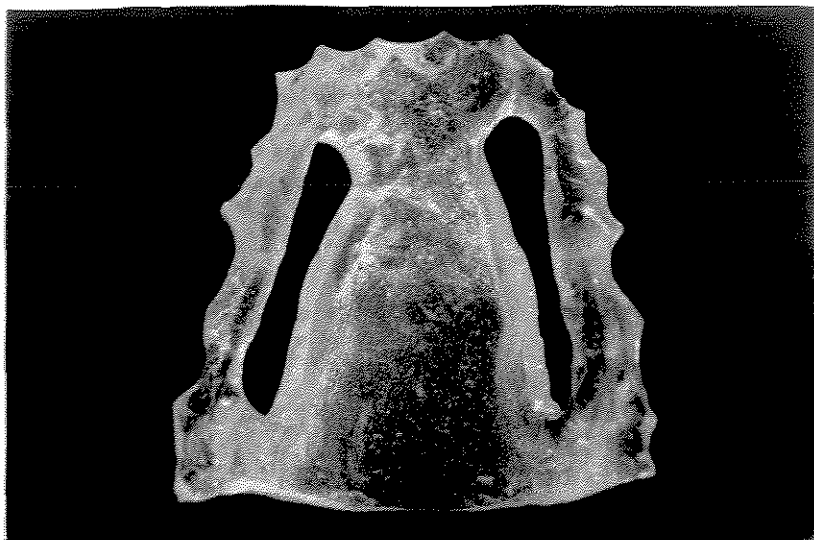


Figura 3. Dispositivo intra-oral palatino.

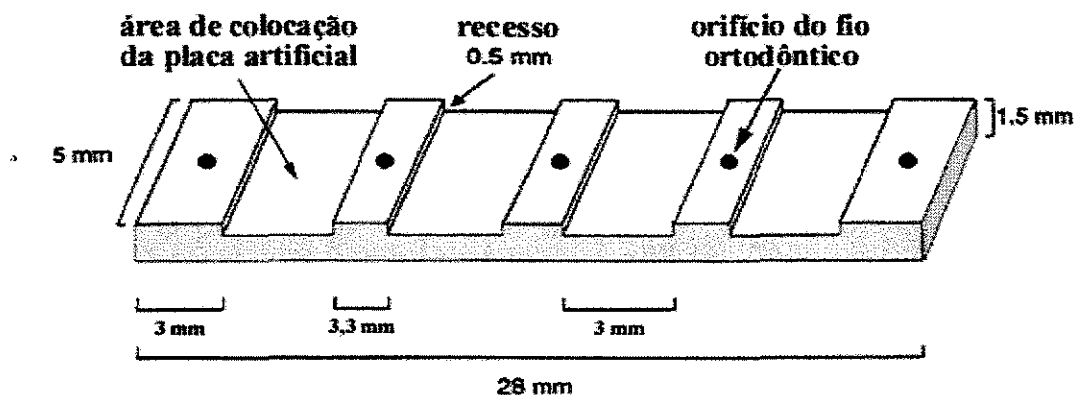


Figura 4. Dimensões do suporte de acrílico utilizado no teste *in situ* de curta duração, mostrando a área onde foi colocada a placa bacteriana.

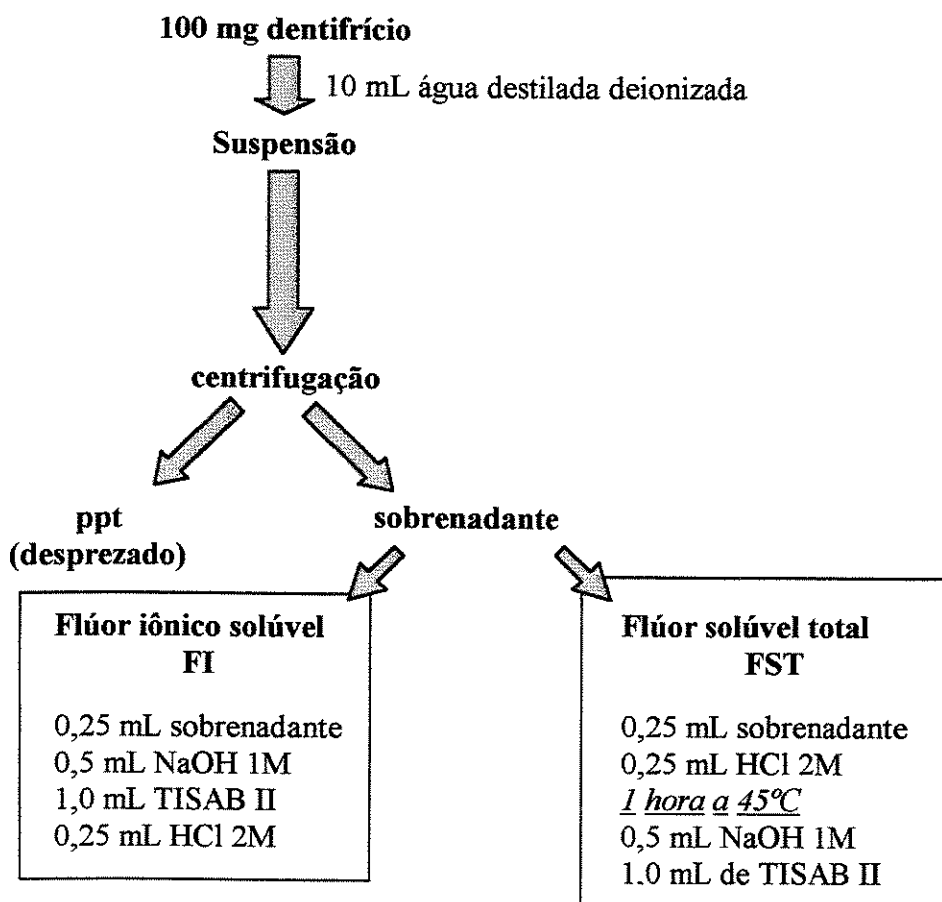
3.7. Análise de flúor nos dentifrícios

Os dentifrícios utilizados, tanto para as escovações como para mergulhar os dispositivos, tiveram suas concentrações flúor iônico (FI) e de flúor solúvel total (FST) determinadas (Fluxograma 2).

Dosagem de Flúor Iônico (FI) e Flúor Total (FT) nos Dentifrícios

Para a determinação do flúor iônico nos dentifrícios, submeteu-se a amostra (100,0 mg de dentifrícios + 10,0 mL de água destilada deionizada) à centrifugação por 5 minutos a 3500 rpm e do sobrenadante. A 0,25 mL do sobrenadante, foi acrescentado 0,5 mL de NaOH M e 1,0 mL de TISAB II e 0,25 mL de HCl 2,0 M. As concentrações de flúor iônico (FI) nos dentifrícios, foram determinadas utilizando-se eletrodo específico ORION 96-09 acoplado a um analisador de íons EA 940, calibrados com padrões contendo 0,5 a 4,0 µg F/mL preparado com TISAB com 50%, NaOH e HCl 0,25 M. (Apêndice 1). A concentração de flúor na forma de MFP foi obtido pela diferença de FST-FI.

Para a determinação do FT nos dentifrícios, utilizaram 100,0 mg dos dentifrícios: (MFP/CaCO₃ / MFP/SiO₂), para a quantidade de 10,0 mL de água deionizada, submetidos à centrifugação por 5 minutos a 7500 rpm aos 0,25 mL do sobrenadante foram acrescentados o 0,25 mL de HCl 2M, incubando-se durante 1 hora a 45°C em banho-maria e após este tempo, adicionou-se 0,5 ml de NaOH 1M e 1,0 mL de TISAB II. As concentrações de FI e flúor solúvel total (FST) nos dentifrícios, foram determinadas utilizando-se eletrodo específico para íon flúor 96-09) acoplado a um analisador de íons EA 940 (ORION RESEARCH INC., CAMBRIDGE, MA, USA).



Fluxograma 2. Análise de flúor nos dentifrícios.

3.8. Preparação da placa artificial composta por *S. mutans* IB 1600

Foi utilizada uma linhagem de *Streptococcus mutans* Ingbritt-1600 sorotipo C (*S. mutans*), cedido gentilmente pelo - Department of Oral Sciences, Eastman Dental Center - Rochester, estocada a -27° C em tubo de microcentrífuga com capacidade para 1,5 mL, contendo 1,0 mL de Bacto Tryptic Soy Broth (TSB) w/o dextrose DIFCO # 0862-17-8.

Foi preparado também o caldo BHI (Brain Heart Infusion) DIFCO # 0037-17, esterilizado em autoclave por 15 minutos a 121°C em frascos da marca pyrex, contendo tampas de rosca, e assepticamente distribuídos em tubos com tampas de rosca da marca pyrex nº 9825 no interior da câmara de fluxo laminar, com chama acesa. Vinte µL do inóculo estoque do *S. mutans* IB 1600 foram inoculados em 10 mL de BHI e os tubos incubados em estufa marca Jouan - modelo IG 150 acoplada a um torpedo de CO₂, regulada com 10% de CO₂, com temperatura de 37°C, por 18 a 24 horas, pois os *S. mutans* são capnófilos,. Posteriormente após o crescimento das bactérias no caldo, foi realizada a bacterioscopia, utilizando-se a coloração de Gram para a comprovação da pureza da cultura, ou seja, presença somente de cocos arranjados em cadeia Gram-positivos, que são as características microscópicas deste gênero bacteriano .

Após a bacterioscopia foi utilizado ágar sangue - Blood agar Base nº 2 DIFCO #0696-17 .

À base do meio de ágar sangue, fundido e resfriado a cerca de 45°C , adicionou-se 5% de sangue de carneiro desfibrinado, EBE-FARMA – (Araras –SP), para tornar o meio enriquecido e diferencial, ou seja, para um melhor desenvolvimento dos *S.*

mutans e para a melhor visualização das zonas de alfa hemólise, produzidas pela bactéria . O sangue foi adicionado com seringas descartáveis, de modo lento, para que não ocorresse hemólise, misturado e distribuído assepticamente em placas de Petri na câmara de fluxo laminar com chama acesa, posteriormente comprovando-se a esterilidade das placas não semeadas, durante 24 horas na estufa a 37° C . Após este tempo, por técnica de semeadura por esgotamento, utilizando-se alça de platina esterilizada, inoculou-se as placas com a bactéria em estudo. Foram incubadas por 18 horas a 37°C em estufa de CO₂, observando-se as características macroscópicas e hemolíticas específicas à linhagem. Após a comprovação de que a cultura estava pura, algumas colônias isoladas de *S. mutans* foram “pescadas” com fio de platina esterilizado e repicadas assepticamente em tubos com rosca, contendo o meio de Bacto Thioglycollate Medium w/o Dextrose or Indicator - DIFCO - #0430-17- 1 acrescido de:

- Extrato de carne (BBL #12303) 12,0 g
- Carbonato de cálcio (CaCO₃) 15,0 g
- 0,5% de glicose 0,5g/100mL

E também, o tioglicolato acrescido com as substâncias descritas acima, pode servir como um meio de estocagem de *S. mutans* que pode ser armazenado em geladeira, por até duas semanas e servindo como inóculo estoque de curta duração e para obtenção do inóculo.

Inoculando-se em meio THB + 1% sacarose, o qual foi utilizado para o preparo da “placa artificial” no estudo intra-oral. Após a semeadura de *S. mutans*, os tubos foram

fechados à meia rosca, para facilitar a entrada do gás, quando incubados em estufa, Jouan IG 150 (França) com 10% de CO₂ 18 horas de incubação, a 37°C, o inóculo foi semeado em frascos contendo 500mL, Bacto Todd Hewitt Broth (THB) Difco # 0492-17-6, distribuídos em frascos marca Schott Duran com tampas de rosca, para 1.000 mL, sendo que as mesmas continham 500 mL de meio de autoclavado a 121°C por 15 minutos, para obtenção de placa artificial.

Acrescido de:

- Sacarose 10,0 g

Para a obtenção da placa artificial, as garrafas contendo 500mL de THB cada, foram inoculadas com uma quantidade de 8,0 mL do inóculo constituído por tioglicolato suplementado + *S* mutans, a cultura foi incubada a 37°C por 18 horas em estufa de CO₂ a 10%. Em seguida, transferiu-se o inóculo por partes em garrafas de vidro esterilizadas, especiais para a centrífuga utilizada, ou seja, centrífuga refrigerada International Centrifuge mod PR-2, e centrifugada a 2500 rpm - 4°C por 30 minutos para obtenção do sedimento ou “placa artificial”. O sobrenadante foi desprezado e o sedimento lavado 2 vezes com tampão bicarbonato de potássio 20 mM contendo KCl 100 mM, com pH final 7,0, gelado e filtrado, e foi utilizado o triturador de tecidos - Potter-Elvehlem (Wheaton, Millville, NJ) esterilizado, fazendo-se ± 10 movimentos de rotação para desagregação e homogeneização do sedimento ou placa artificial. Com a ajuda de uma espátula esterilizada a amostra foi colocada sobre papel filtro (Whatman, Inglaterra) esterilizado, a fim de se retirar o excesso de umidade, em condições assépticas, espatulando e trocando o papel filtro várias vezes, ao final, a placa artificial pronta, foi colocada sobre um pedaço de parafilm

mantido sobre gelo protegido por papel alumínio, para maior viabilidade das bactérias, e menor ressecamento da amostra, sendo que ao mesmo tempo, outros frascos contendo o mesmo inóculo foram centrifugados, lavados e homogeneizados, para que a placa artificial, utilizada no experimento, não ficasse muito exposta ao ambiente. (Diagrama da Fig. 5).

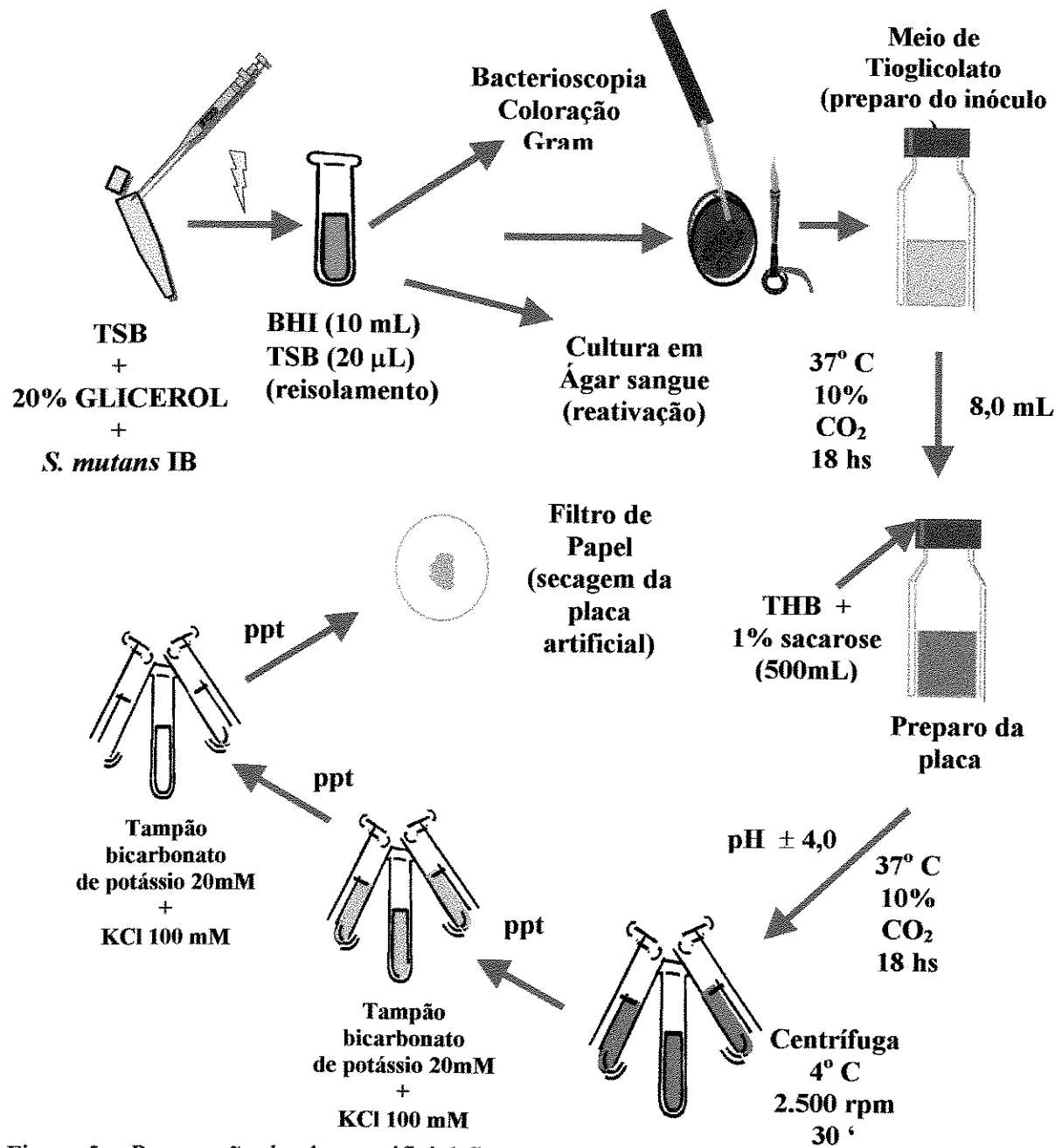


Figura 5. Preparação da placa artificial *S. mutans* (IB 1600)

3.8.1. Distribuição da cultura de *S. mutans* IB 1600 nos suportes

Inicialmente foi passado um pedaço de fio ortodôntico nº 3 nos suportes; a seguir a "placa artificial" composta por *S. mutans* IB 1600 foi transferida para os espaços, que acomodam os blocos de esmalte. A superfície do esmalte foi colocada em contato direto sobre a placa (Fig. 6A), de maneira que as bordas, onde foram feitas as indentações, e que foram identificadas, ficassem todas voltadas para o mesmo lado, isto é para o centro do palato, para que ocorresse a difusão da sacarose. Os fios ortodônticos foram torcidos, de modo que o dente não se movesse ou ficasse inclinado. Os suportes foram fixados nos dispositivos com cera pegajosa (Fig. 6B e C).

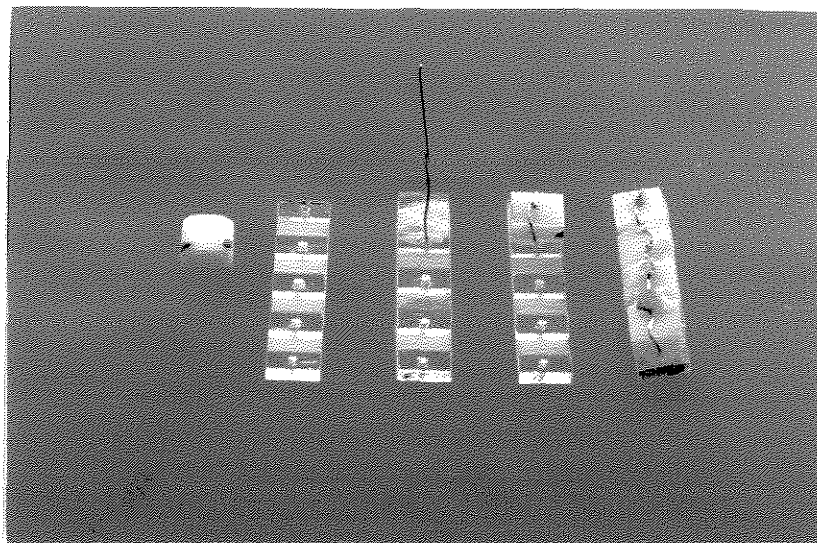


Figura 6A

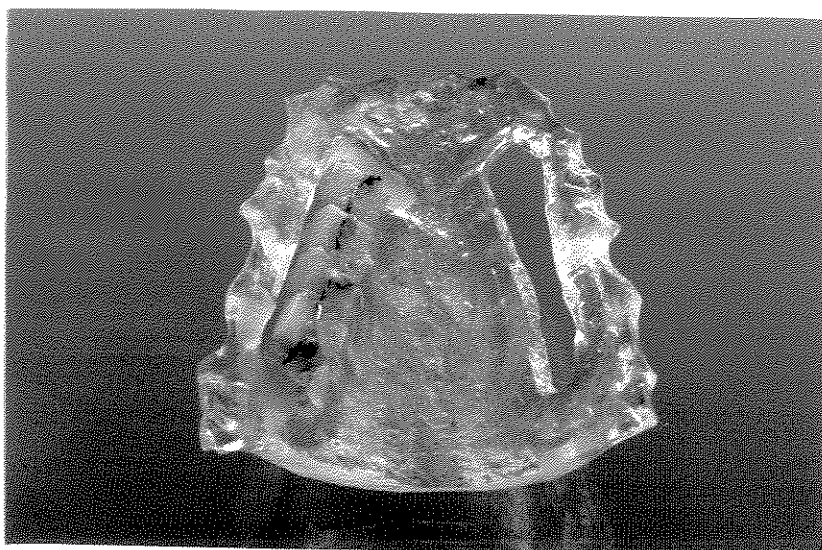


Figura 6B

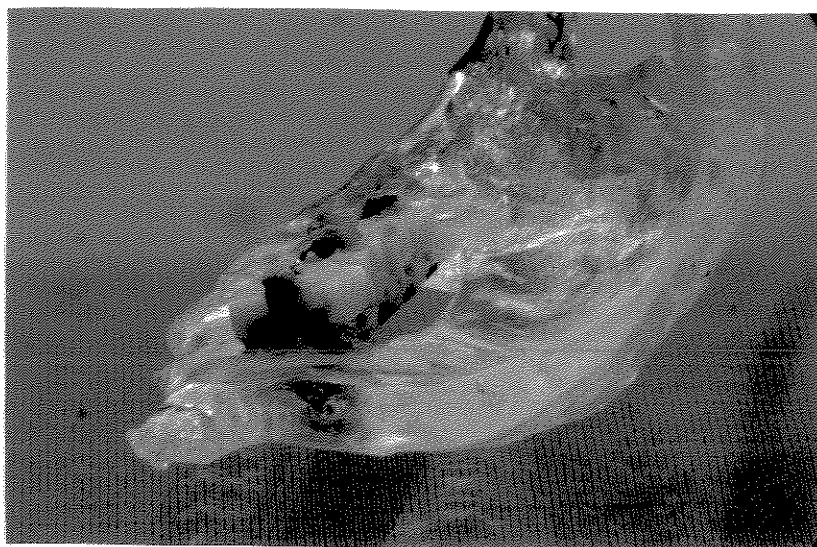


Figura 6C

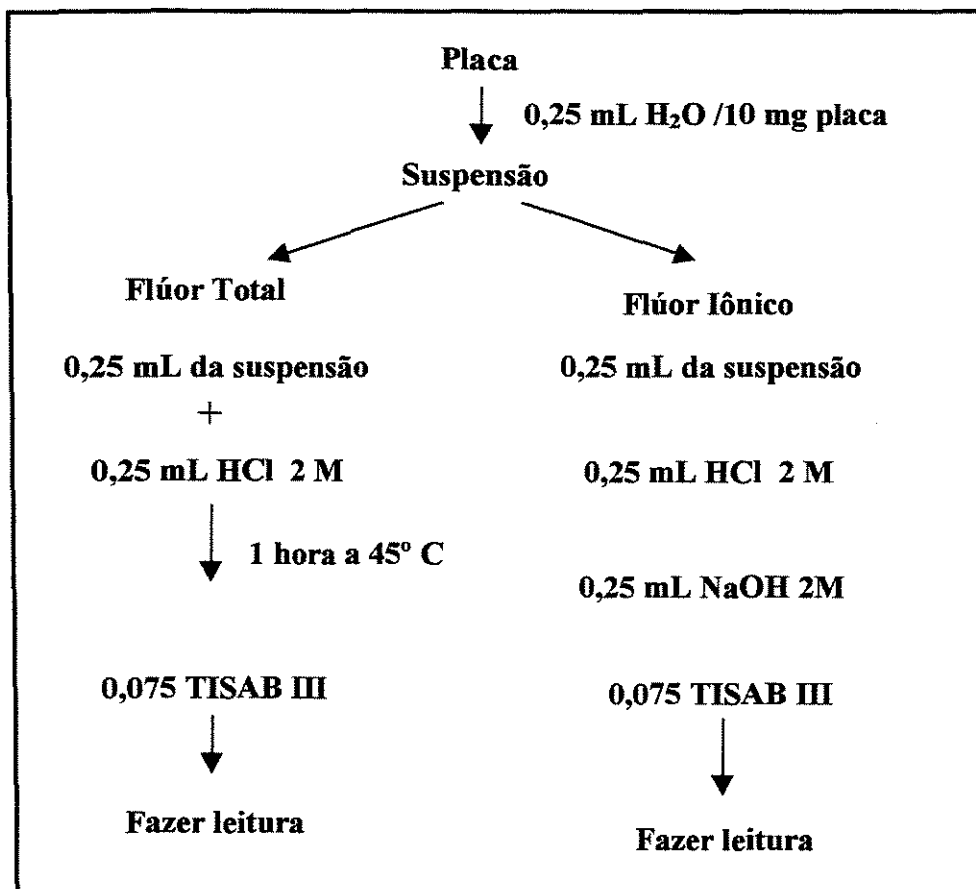
Figura 6. Sequência do preparo dos dispositivos intra-orais. Na foto 6A, sequência, preparo e distribuição da “placa artificial” e montagem dos blocos no suporte. Na foto 6B, dispositivo intra-oral palatino, fixação do suporte. Na foto 6C, vista lateral dos blocos com as identificações voltadas para o centro do palato .

3.8.2 Retirada dos dispositivos intra-orais após os tratamentos

Depois da sequência observada pelos três grupos, conforme descrito no item 3.1.1 os dispositivos intra-orais foram retirados da boca dos voluntários, lavados com água deionizada, e as amostras de "placa teste", foram removidas para a determinação da concentração de flúor total e iônico. Os blocos de esmalte foram retirados, lavados e remontados nos acrílicos na mesma posição inicial, seguindo algumas marcações. (ANEXO 3).

3.9. Análise da concentração de Flúor (iônico e total) na placa artificial

A placa teste foi pesada e para cada 10,0 mg de placa foram acrescentados 0,25 mL de água destilada e deionizada. Para a dosagem de flúor total, foram acrescentados 0,25 mL de HCl a 2M a 0,25 mL da suspensão de placa. Esta amostra foi aquecida a 45°C durante 1 hora e, em seguida, foram acrescentados 0,25 mL de NaOH 2M e 0,075 mL de TISAB III pH 5,0. Após agitação, foi determinado a concentração de flúor total, utilizando-se potenciômetro ORION EA-940 com um eletrodo específico para flúor ORION 96-09, utilizando-se para a curva de calibração padrões de 0,025 a 0,800 µgF/mL preparados com TISAB III pH 5,0. As leituras das amostras foram expressas em milivolt (mV) as quais foram transformadas em µgF⁻/mL através de regressão linear da curva de calibração, utilizando-se para tal, o software Excel. O resultado foi expresso em µg F⁻/g de placa teste. Para a dosagem de flúor iônico, foram acrescentados 0,25 mL da suspensão de placa a 0,25 mL HCl 2 M , 0,25 mL de NaOH 2 M e 0,075 mL de TISAB III, e realizada leitura como descrita acima, para a análise de flúor iônico (Fluxograma 3).



Fluxograma 3. Análise da concentração de Flúor (iônico e total) na placa artificial.

3.10. Análise da Microdureza Superficial do Esmalte após Tratamento

Os blocos de esmalte dental bovino foram removidos dos suportes, lavados somente com água destilada e deionizada e novamente submetidos à análise de microdureza superficial após os tratamentos (Fig. 2), sendo as indentações realizadas em duplicata, 100 μ m a direita e a esquerda das indentações iniciais (baseline). A porcentagem da perda de dureza superficial (PDS) foi calculada pela fórmula:

$$\%PDS = \frac{\text{inicial} - \text{pós tratamento}}{\text{inicial}} \times 100$$

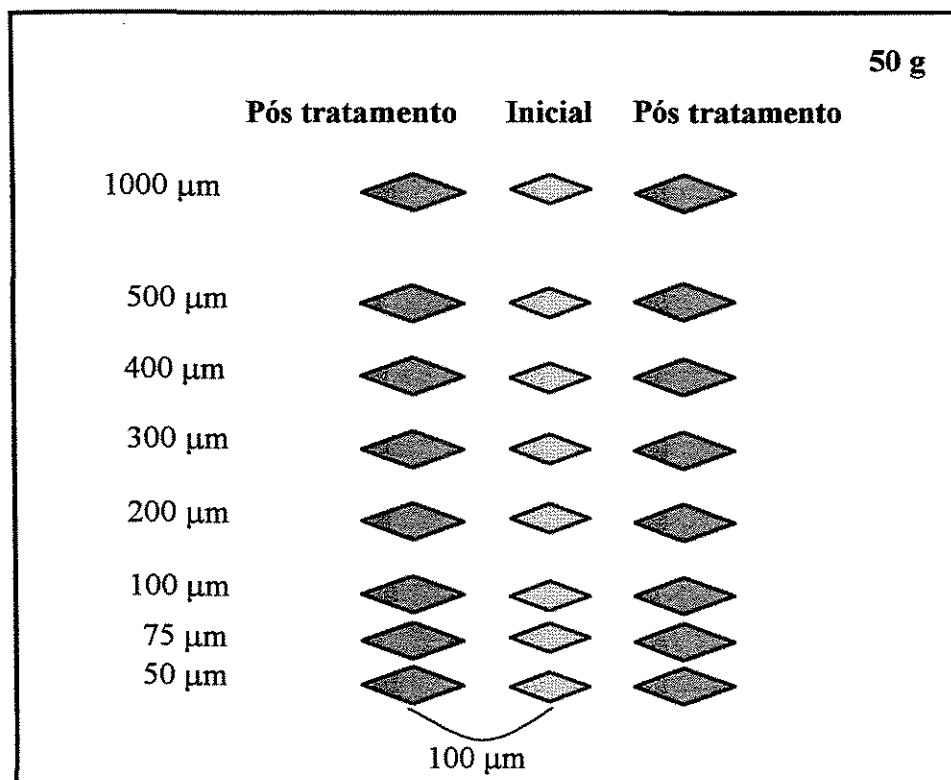


Figura 7. Esquema demonstrando as impressões realizadas após os tratamentos, comparadas com as impressões iniciais.

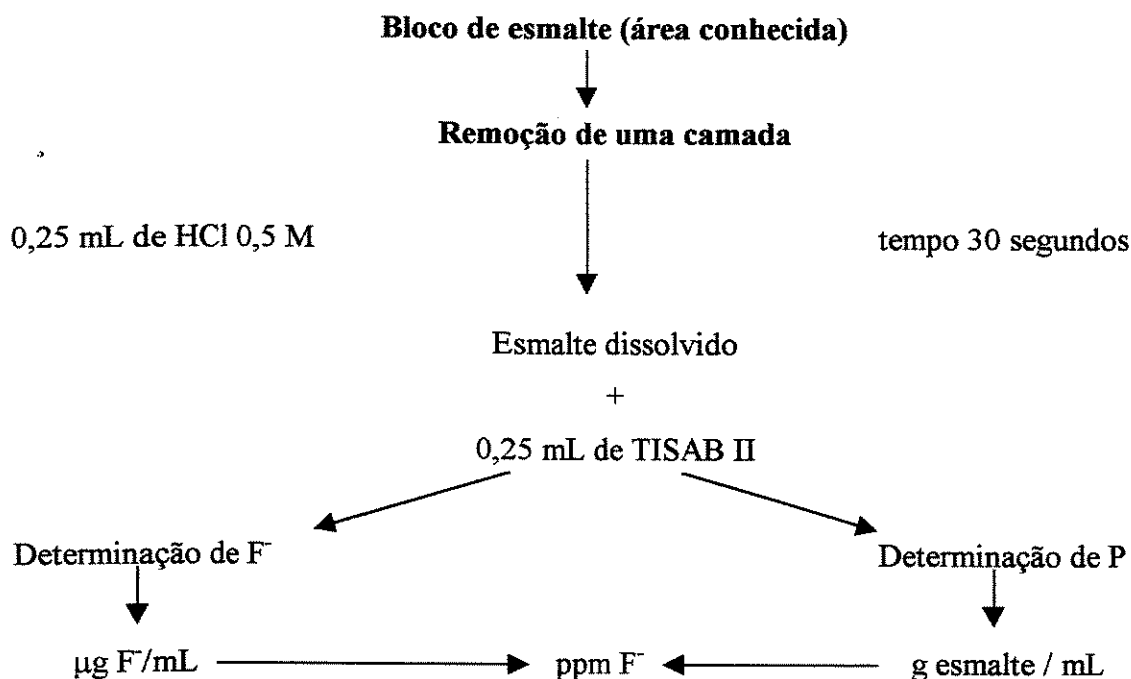
As imagens das indentações nos blocos de esmalte foram "salvas" em disquete e impressas para ilustração dos resultados (Figs. 10,11 e 12)

3.11. Análise da Concentração de Flúor no Esmalte

Após a conclusão da análise de microdureza superficial do esmalte , foram realizadas as análises de flúor incorporado ao esmalte dental. Para a análise, primeiramente o bloco de esmalte (5,0 x 5,0 mm) foi seccionado a 1,0 mm da margem lateral, a partir do local onde foram feitas as medidas iniciais de dureza (baseline) e pós tratamentos. Posteriormente com paquímetro digital MAUSER JR, cada bloco teve sua medida confirmada e anotada, posteriormente, para isolar a porção de esmalte a ser analisada, todas

as partes do bloco, foram protegidas com aplicação de uma fina camada de esmalte de unhas de cor vermelha resistente a ácido. Após secagem do esmalte de unhas, a área exposta, foi submetida à limpeza com cotonetes umedecidos em água deionizada, para remoção de algum resíduo e observados em lupa estereoscópica para melhor visualização. A seguir os blocos devidamente isolados e limpos foram colocados em tubos plasticos com tampas, identificados, aos quais foram adicionados 0,25 ml de HCl 0,5 M no tempo de 30 segundos , sob agitação, para a remoção de uma camada de esmalte. Um volume igual de TISAB II pH 5,0 (20g NaOH/l) foi adicionado a cada solução contendo a camada de esmalte dissolvido, com a finalidade de neutralização imediata da reação. A concentração de flúor presente na única camada de esmalte removida, foi determinada utilizando-se eletrodo específico ORION 96-09 acoplado a um analisador de ions ORION 940. Previamente foram preparadas curvas de calibração de 0,125 a 5,0 ppm F⁻. As leituras das amostras em milivolt (mV) foram transformadas em µg F⁻ /mL através de regressão linear da curva de calibração, utilizando-se para tal o software Excel.

A quantidade (g) de esmalte removido pelo ataque ácido foi calculada a partir da dosagem colorimétrica na solução, para a qual utilizou-se o método de FISKE e SUBBAROW (1925), assumindo-se haver no esmalte bovino 17% de Fósforo. Para o cálculo da espessura de esmalte removido, assumiu-se que a densidade do esmalte bovino é de 2,92 (Fluxograma 4).



Fluxograma 4. Determinação da concentração de flúor incorporado ao esmalte.

3.12. Análise Estatística

3.12.1. Análise de perda de dureza superficial

Para análises de perda de dureza superficial, em diferentes distâncias, nos diferentes tratamentos, foi utilizado o teste de Newman Keuls, com nível de significância de 5%.

3.12.2. Análise da concentração de flúor total , iônico e concentração de flúor na forma de MFP na “placa teste” nos diferentes tratamentos

Para análises de flúor total e iônico na placa e flúor na forma de MFP, foi utilizado o teste de Friedman e teste não paramétrico de comparações múltiplas, com nível de significância de 5%.

3.12.3. Análise da concentração de flúor no esmalte

Para análise da concentração de flúor no esmalte, foi utilizado o teste de Friedman.

* Para as análises estatísticas acima citadas, utilizou-se o software Bioestat.

3.12.4. Correlação entre flúor total, iônico e flúor na forma de MFP na “placa teste” e flúor do esmalte

Para análise da correlação entre flúor total da placa, iônico e MFP e flúor do esmalte, foi utilizado o teste de correlação única (Pearson), analisada pelo programa estatístico SAS, com nível de significância de 5%.

" Para a análise estatística utilizou-se o software Statistical Analysis Systems SAS¹.

¹ SAS Institute Inc. - SAS User's Guide Statistics, version 5 Edition. Cary, NC: SAS Institute Inc., 1985.

4

Resultados

4.1. Concentração de flúor nos dentifrícios

Na tabela 1 estão expressas as concentrações médias de flúor solúvel total (FST), flúor iônico solúvel (F^-) e o na forma ionizável (MFP) encontradas nos dentifrícios.

Tabela 1. Médias e desvios padrão da concentração das diferentes formas de flúor solúvel encontradas nos dentifrícios (n=3) .

DENTRIFÍCIOS	FORMAS SOLÚVEIS DE FLÚOR (ppm F)		
	FST	F^-	MFP
Controle	20,2 (0,8)	17,8 (2,2)	2,4 (0,9)
MPF / SiO_2	1490,0 (37,6)	109,6 (4,1)	1380,4 (54,2)
MPF / $CaCO_3$	1198,1 (84,6)	117,9 (3,5)	1080,2 (91,5)

4.2. Concentração de Flúor na “Placa artificial”

Na tabela 2 são expressas as médias e os respectivos desvios padrão da concentrações de flúor total (FT), na forma de MFP e na forma iônica (FI) na placa artificial por tratamento ($\mu g F / g$ de peso úmido da placa). Os resultados da tabela 2 estão ilustrados na figura 8.

Tabela 2. Médias (desvios padrão) das concentrações de flúor total (FT) e nas formas de MFP e iônica (FI) na “placa artificial” em função dos tratamentos.

TRATAMENTOS	$\mu\text{g F}^-/\text{g}$		
	FT	F (MPF)	FI
Controle	0,16 (0,1) b	0,14 (0,1) a	0,02 (0,0) b
MFP / SiO_2	2,71 (1,8) a	1,78 (1,26) b	0,93 (0,6) ab
MFP / CaCO_3	2,74 (1,8) a	1,40 (0,9) b	1,36 (1,0) a

Tratamentos cujas médias são seguidas de letras distintas, diferem estatisticamente. ($p < 0,05$)

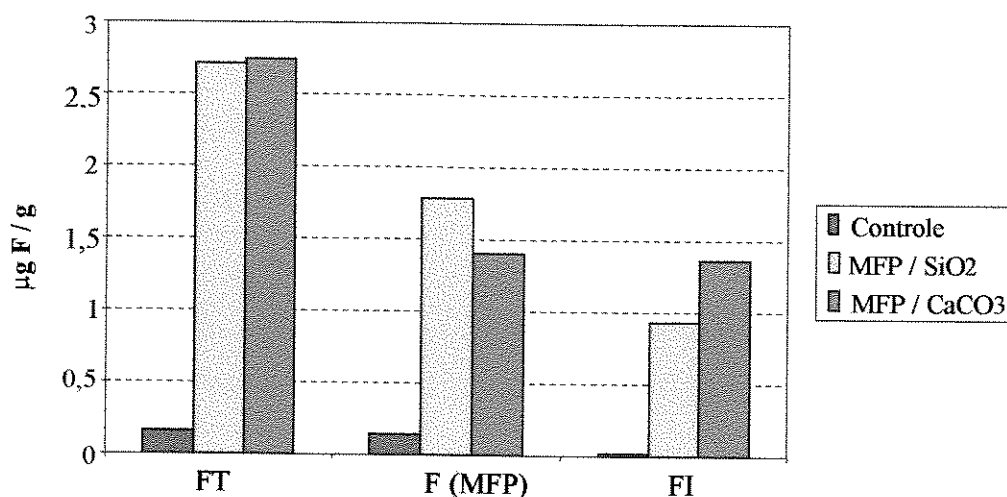


Figura 8. Representação gráfica da concentração de FT, F (MFP) e FI na placa artificial em função dos diferentes tratamentos.

4.3. Porcentagem de Perda de Dureza Superficial

Na tabela 3 são apresentadas as médias das porcentagens de perda de dureza superficial (% P.D.S.) esmalte obtida através da comparação da microdureza inicial (esmalte íntegro) e microdureza após diferentes tratamentos. Os resultados da tabela 3 estão ilustrados na figura 9. As figuras 10, 11 e 12 demonstram os aspectos

Tabela 3. Médias e desvio padrão da porcentagem de perda de dureza superficial (% PDS) do esmalte em função dos tratamentos e da distância (μm) da borda do bloco dental.

Distância (μm)	Tratamentos		
	Controle	SiO ₂	CaCO ₃
50	18,97 (6,53) a	7,79 (3,37) b	3,14 (2,05) c
75	20,60 (6,77) a	7,24 (3,50) b	3,05 (2,18) c
100	23,05 (8,92) a	7,26 (3,47) b	3,04 (2,53) c
200	26,41 (9,56) a	7,51 (3,27) b	3,45 (3,04) c
300	27,49 (9,51) a	7,88 (3,59) b	4,02 (3,61) c
400	28,18 (8,32) a	8,13 (4,27) b	3,87 (3,21) c
500	28,37 (8,36) a	8,07 (4,18) b	3,69 (3,87) c
1000	24,95 (6,42) a	7,75 (4,88) b	3,65 (3,69) c

Tratamentos cujas médias são seguidas de letras distintas diferem estatisticamente ($p < 0,05$)

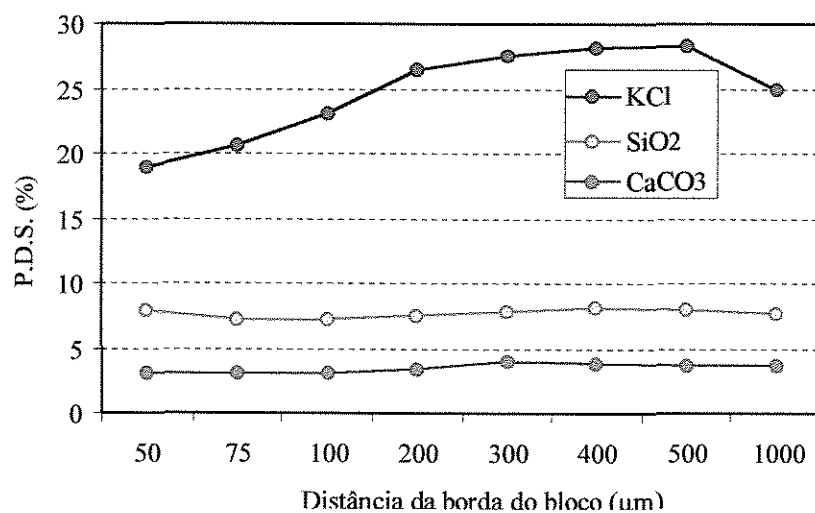


Figura 9. Representação gráfica das porcentagens de perdas de dureza superficial do esmalte dental.

4.3.1. Aspecto microscópico de esmalte dental

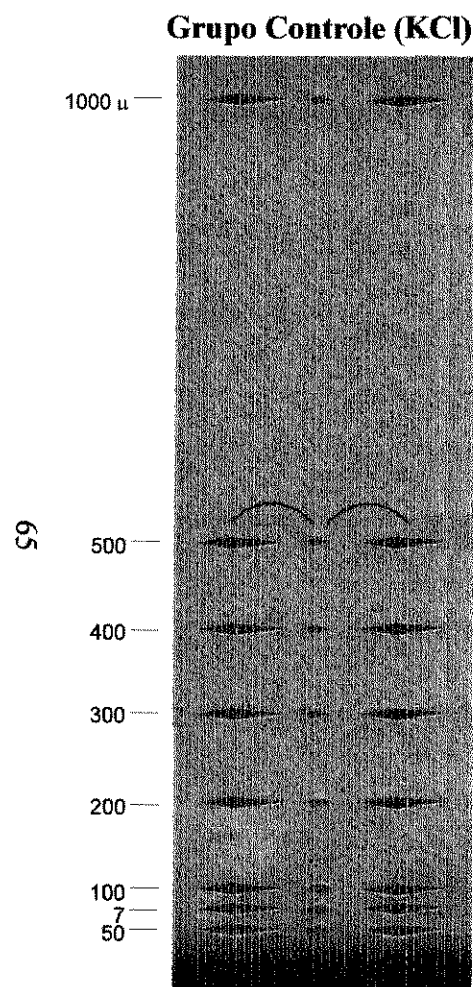


Figura 10. Aspecto microscópico de esmalte dental do Grupo Controle (KCl) e as impressões realizadas.

I – dureza inicial; T – dureza pós-tratamento

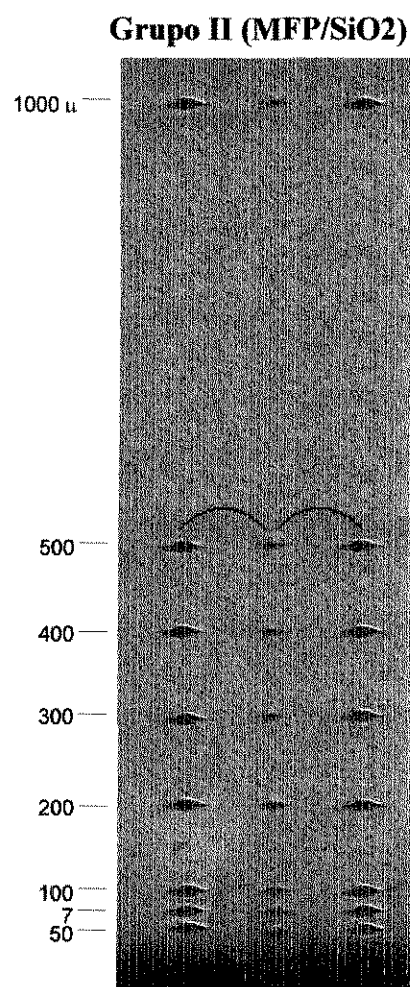


Figura 11. Aspecto microscópico de esmalte dental do Grupo II (MFP/SiO₂) e as impressões realizadas.

I – dureza inicial; T – dureza pós-tratamento

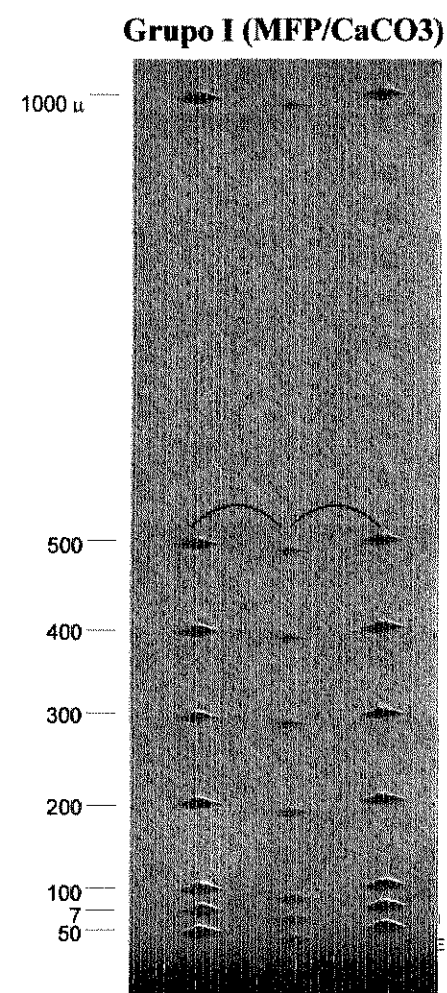


Figura 12. Aspecto microscópico de esmalte dental do Grupo I (MFP/CaCO₃) e as impressões realizadas.

I – dureza inicial; T – dureza pós-tratamento

4.4. Concentração flúor no esmalte

Na tabela 4 são expressas as médias e os respectivos desvios padrão da concentração de flúor no esmalte dental (ppm F). Os resultados da tabela 4 estão ilustrados na figura 15.

Tabela 4. Médias e desvio padrão das concentrações de flúor (ppm) no esmalte dental e distância da superfície (μm) em função dos tratamentos

Tratamentos	ppm F ⁻	μm
KCl	1378,13 (267,2) a	19,20 (1,9) a
SiO ₂ / MFP	1713,64 (426,0) a	20,88 (4,8) a
CaCO ₃ / MFP	1565,03 (351,3) a	17,65 (2,7) a

Tratamentos cujas médias são seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Friedman ($p>0,05$).

4.5. Correlações entre flúor da placa e flúor do esmalte

A tabela 5 mostra as correlações (Pearson) encontradas entre as diferentes formas de flúor na placa e o flúor no esmalte, assim como a significância estatística.

Tabela 5. Correlação entre tipos de flúor na placa e flúor no esmalte

FLUOR NA PLACA	r^2	P
FT	0,48	0,0078
F (MFP)	0,46	0,0104
FI	0,40	0,0261

Estas correlações estão ilustradas nas figuras 13 a 15.

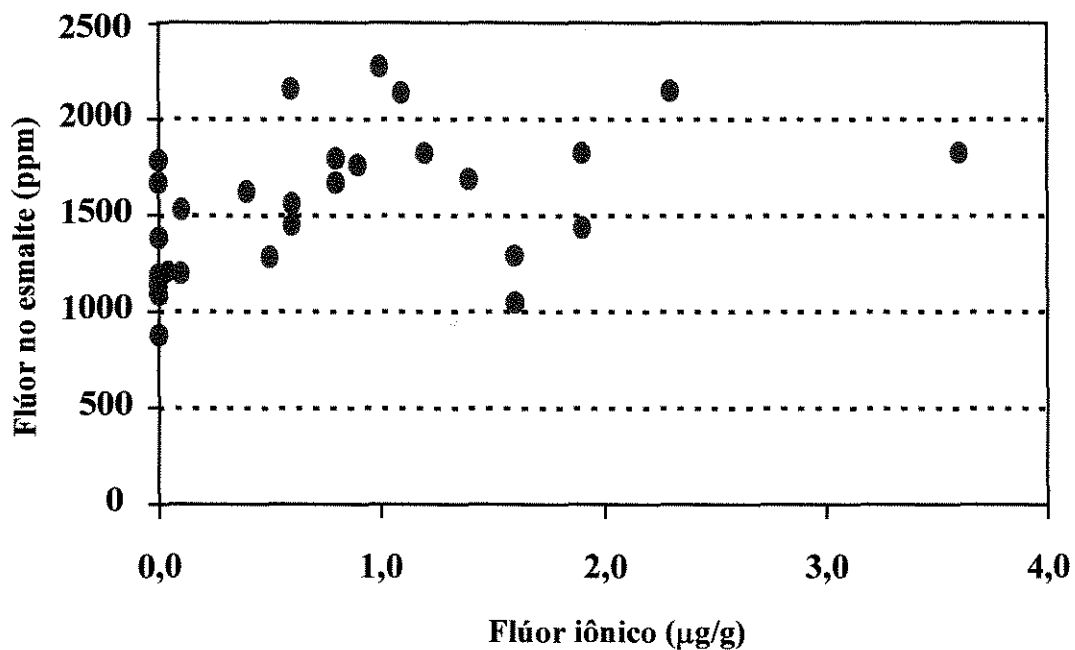


Figura 13. Representação gráfica da correlação entre flúor iônico da placa e flúor do esmalte.

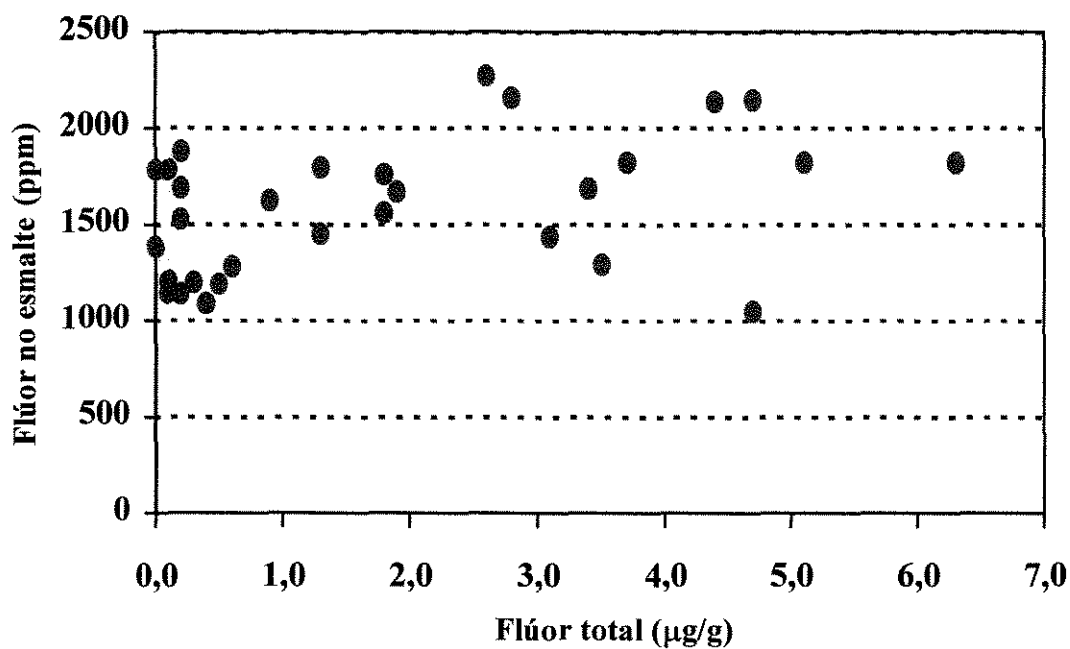


Figura 14. Representação gráfica da correlação entre flúor total da "placa artificial" e flúor do esmalte.

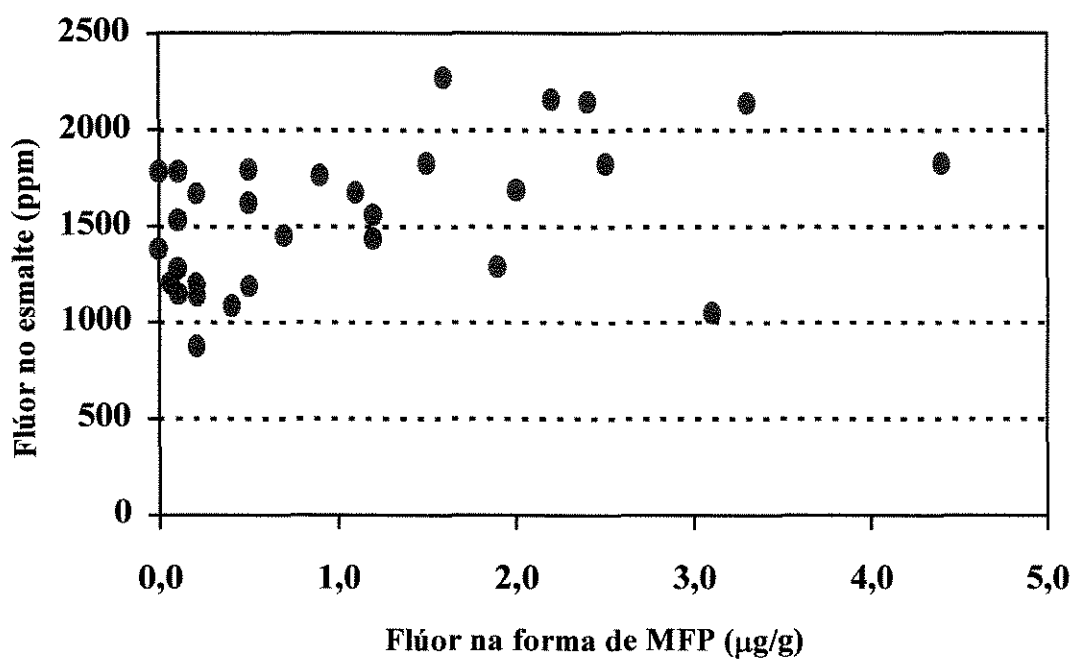


Figura 15. Representação gráfica da correlação entre flúor total da "placa artificial e flúor no esmalte.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SECÃO CIRCULANTE

5

DISCUSSÃO

O trabalho pioneiro de STEPHAN (1944) mostrando que o pH na placa dental decrescia imediatamente após a exposição a carboidratos fermentáveis, não só confirmou os postulados de MILLER (1905) sobre a teoria acidogênica da cárie dental como levou à busca de meios para reduzir a produção de ácidos por bactérias da placa dental e dessa forma prevenir esta doença. Assim, substâncias alcalinizantes e/ou tamponantes poderiam reduzir o efeito dos ácidos produzidos pelas bactérias na desmineralização do esmalte dental. Carbonato de cálcio é uma substância utilizada em dentifrícios como abrasivo de importância tecnológica para o Brasil. Embora seu poder de neutralizar os ácidos produzidos pela placa dental quando da exposição a açúcar seja cientificamente reconhecido, o efeito conseqüente reduzindo a perda de mineral pelo esmalte não havia ainda sido demonstrado.

Os resultados do presente trabalho mostram (tabela 3) que o esmalte dental sob placa-artificial, tratado com o dentifrício contendo CaCO_3 teve menor perda de dureza ($p < 0,05$) que nos demais tratamentos quando da posterior exposição à sacarose. Isto poderia ser, a princípio, explicado pela capacidade alcalinizante e tamponante do CaCO_3 pois como foi demonstrado por DUKE (1986ab) há menor queda de pH na placa dental exposta a açúcar quando a mesma é pré-tratada com dentifrício contendo este abrasivo em relação a alumina. Embora, no presente trabalho não tenha sido determinado o pH inicial da placa-artificial, o qual indicaria o poder alcalinizante do dentifrício, nem a variação de pH que

seria o indicador diferencial do seu poder tamponante há o respaldo na literatura. Assim, o dentifrício com CaCO_3 utilizado neste trabalho apresenta um pH de 9,4 contra 6,8 do com sílica (IGNÁCIO *et al.*, 1999), valores estes semelhantes aos relatados mundialmente (TAHMASSEBI *et al.*, 1994). Esta alcalinidade do dentifrício com CaCO_3 por si só já poderia aumentar o pH da placa dental. Isto tem sido mostrado comparando dentifrício com CaCO_3 em relação a alumina (DUKE, 1986ab), tendo a placa dental exposta ao primeiro um pH relativamente maior (0,22 a 0,37 unidades). Entretanto, a diferença de 0,11 unidades de pH em comparação com sílica não foi significativa (IGNÁCIO *et al.* 1999). Esta pequena diferença, aliada a problemas metodológicos, nos leva a assumir que a alcalinidade do CaCO_3 não deve ser o fator primordial na neutralização dos ácidos decorrentes da fermentação bacteriana de açúcar, sugerindo ser mais relevante seu poder tamponante. Em acréscimo, se o efeito fosse simplesmente de neutralização ele seria perdido rapidamente após a primeira exposição a ácidos, e (DUKE 1986b) mostrou que o efeito do CaCO_3 se mantinha mesmo após a quarta exposição da placa dental a sacarose. Por outro lado, este efeito tamponante residual do CaCO_3 seria difícil de ser explicado, pois este sal é de baixa solubilidade e portanto ele estaria mais nas partículas do abrasivo do que na solução. De fato, (IGNÁCIO *et al.* 1999) mostraram que o poder tamponante da suspensão (contendo o abrasivo) do dentifrício com CaCO_3 , usado no presente trabalho, é 57 x maior que o seu sobrenadante (porção solúvel). Deste modo, o poder tamponante deve ser decorrente de partículas do abrasivo que teriam impregnado a placa-artificial e evidências experimentais disto foram preliminarmente relatadas por DAVIS & FELLOWES (1981). Isto também está respaldado no trabalho de (IGNÁCIO *et al.* 1999),

evidências experimentais disto foram preliminarmente relatadas por DAVIS & FELLOWES (1981). Isto também está respaldado no trabalho de (IGNÁCIO *et al.* 1999), pois o poder tamponante solúvel do dentifrício com CaCO_3 usado no presente trabalho não difere do contendo sílica, enquanto o total é 76 x maior. Por outro lado para o abrasivo penetrar na placa dental o tamanho da partícula seria fundamental e segundo com (DAVIS & FELLOWES, 1980) deveria ser menor que 10 μm de diâmetro. De acordo com informações obtidas o tamanho das partículas de CaCO_3 do dentifrício utilizado é de 2,5 a 3,3 μm o que respaldaria os resultados obtidos.

Deste modo, os dados sugerem que o efeito do dentifrício com CaCO_3 em reduzir a desmineralização do esmalte provocada pelos ácidos produzidos pela placa artificial quando da exposição a sacarose deve ser atribuído ao poder tamponante deste abrasivo. Em acréscimo, ao se utilizar este modelo experimental desenvolvido por (ZERO *et al.* 1992) de avaliar a desmineralização do esmalte é possível fazer outras inferências. Assim, com o uso deste modelo, ZERO (1995) demonstrou experimentalmente a importância da matriz da placa dental rica em glucano na maior difusão do açúcar pela placa dental e conseqüente maior desmineralização do esmalte. Por isto no presente trabalho, foram feitas medidas desde 50 a 1000 μm da borda do bloco, simulando diferentes espessuras de placa dental. Deste modo, os dados do presente trabalho mostram que em acréscimo o efeito do carbonato não se limitaria a superfície da placa dental, mas sim atingiria profundidades de até 1,0 mm e provavelmente maior. Este efeito foi maior que o controle e o do dentifrício com sílica. Por outro lado, o dentifrício com sílica foi mais eficiente que o controle. Isto poderia ser explicado por uma ação tamponante do mesmo

(fosfato) ou antibacteriana de agentes conservantes. Entretanto, o efeito de dentifrícios na acidogenicidade bacteriana da placa dental está mais associada a substâncias antimicrobianas específicas (triclosan) que a conservantes (TAHMASSEBI *et al.* 1994). Assim, um efeito físico-químico do flúor do dentifrício com sílica deve ser considerado.

Por outro lado, embora os dados apontem para um efeito do abrasivo em si que, impregnado na placa dental, ao ser dissolvido durante as quedas de pH neutralizaria os ácidos produzidos, não deve ser descartado o efeito do ion Ca no meio. Assim, a desmineralização do esmalte é muito mais função das concentrações de Ca, P e F na placa dental que a queda de pH em si. Deste modo, se produto iônico destes minerais na placa dental continuar superior ao produto de solubilidade do esmalte independente do pH atingido, não ocorrerá dissolução mineral. Trabalho futuro poderá numa visão mais ampla de cárie dental contemplar esta suposição.

Embora o objetivo principal deste trabalho tenha sido testar a hipótese se o CaCO_3 como abrasivo de dentifrício teria efeito na redução da desmineralização do esmalte, outras análises foram feitas na tentativa de responder outras questões. Assim, embora MFP seja considerada uma forma de flúor eficiente na redução de cárie dental há ainda dúvida sobre seu mecanismo de ação. Há hoje um consenso que o princípio ativo do MFP é na realidade o íon flúor decorrente da hidrólise do MFP por fosfatases da saliva-placa dental. Neste contexto decidimos avaliar se este modelo *in situ* poderia ser utilizado com este propósito. Em primeiro lugar, a tabela 2 mostra que o MFP se incorporou à placa-artificial e a concentração de flúor total é maior quando dos tratamentos com os dentifrícios em relação ao controle. Deve ser enfatizado que esta alta quantidade de flúor na placa dental, encontrada mesmo após mais de 1h da exposição aos dentifrícios, poderia ter

um efeito na redução da perda de mineral pelo esmalte. Esta seria mais pelo efeito físico-químico que antibacteriano, pois a concentração é inferior a necessária para inibir a acidogenicidade bacteriana (ROLLA *et al.* 1991). Ainda com relação ao flúor na placa dental, chama a atenção o fato que embora os dentifrícios diferissem na concentração de flúor (tabela 1), tendo o com sílica 24% a mais de flúor solúvel que o com CaCO_3 , na placa-artificial não houve diferença no flúor total. Isto sugere fortemente que o abrasivo contendo flúor insolúvel está impregnando a “placa-artificial”. Isto é respaldado na diferença, embora não estatisticamente significativa, da maior concentração de flúor como MFP na placa tratada com o dentifrício contendo sílica que CaCO_3 . Coincidentemente na placa-teste tratada com o dentifrício contendo sílica há 1,27 x mais flúor como MFP que na tratada com CaCO_3 (tabela 2), sendo que esta mesma relação é encontrada nos dentifrícios (tab. 1). Com relação ao flúor na forma iônica presente na placa dental, os resultados mostram que o MFP sofreu hidrólise e esta foi maior quando do tratamento com o dentifrício com CaCO_3 . Assim, no dentifrício com sílica havia 7% de flúor na forma iônica e no com CaCO_3 10% (tab. 1). Por outro lado, enquanto na placa-artificial tratada com sílica foi encontrado 31% de flúor iônico, na tratada com CaCO_3 50% foi observado (tabela 2). Estes dados mostram que as fosfatases do *S. mutans* da placa-artificial foram ativadas pelo dentifrício contendo CaCO_3 . Isto pode ser explicado pelo maior pH da placa-artificial tratada com o dentifrício contendo CaCO_3 (DUKE, 1986ab) em relação ao contendo sílica e ou um efeito do Ca^{++} como ativador enzimático. Também não há um consenso sobre o tipo de fosfatase envolvida na hidrólise do MFP e seus parâmetros cinéticos em termos de K_m , pH ótimo e cofatores (PEARCE & DIBDIN, 1995). Por outro lado, o presente trabalho mostrou que o MFP foi hidrolisado independente da presença de lauril sulfato de sódio nos

dentifrícios, contrariando as suspeitas de ROLLA (1983) e confirmando os dados de MELLBERG & CHOMICKI (1984). Neste aspecto, os dados deste trabalho confirmam as previsões de ZERO *et al* (1992) que este modelo *in situ* poderia ser no futuro utilizado para estudos básicos e aplicados. Em acréscimo, este modelo foi preconizado para avaliar efeitos no esmalte, particularmente a sua desmineralização. Por outro lado, quando de um desafio cariogênico e presença de flúor na placa dental este pode interferir com o desenvolvimento da cárie dental reduzindo a quantidade de mineral perdido quando das quedas de pH e desmineralização do esmalte e ativando a reposição pela remineralização quando do retorno do pH a normalidade. Nas duas situações a consequência é um enriquecimento do esmalte por flúor. Assim, os dados do presente trabalho (tabela 4) mostram maior concentração de flúor no esmalte tratado com os dentifrícios que o controle, não atingindo entretanto nível de diferença estatística a 5%. Um aumento da concentração de flúor no esmalte sob placa dental a partir de MFP tem sido relatado KLIMEK *et al.*, (1982) e atribuído ao íon F liberado do MFP (HELWIG *et al.*, 1987). A diferença talvez atingisse nível de significância estatística se uma camada menor de esmalte tivesse sido removida, pois ocorre maior incorporação na porção mais superficial do esmalte. A este respeito poderia parecer contraditório, embora não estatisticamente significativa, a menor concentração no esmalte tratado com CaCO_3 que sílica. Entretanto, considerando o aspecto físico-químico de troca de hidroxiapatita por fluorapatita pelo próprio processo de cárie dental o resultado não é surpreendente pois houve menor perda de mineral quando do tratamento com CaCO_3 e portanto menor rearranjo mineral. Assim, os dados deste trabalho mostram que dentifrícios contendo CaCO_3 como abrasivo podem aperfeiçoar o efeito físico-químico do flúor como MFP no controle da carie dental.

6

Conclusão

Tendo em vista os resultados deste trabalho, conclui-se que:

O dentifrício com MFP contendo carbonato de cálcio como abrasivo foi mais eficiente que o dentifrício com MFP / sílica na redução da desmineralização do esmalte provocado por *S. mutans* e sacarose, sugerindo-se que este abrasivo pode contribuir para um efeito aditivo do flúor de cremes dentais no controle da cárie.

Referências Bibliográficas*

1. APONTE-MERCED, L. et al. Uptake of ^{45}Ca from a topically-applied monofluorophosphate sodium fluoride calcium hydroxide dentifrice by rate enamel. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.32, n.1, p.17-20, Jan. 1987.
2. AYRES, M. et al. **BioEstat : aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Manaus : Sociedade Civil Mamirauá, 1998. 193p. [Acompanha Software em CD-ROM].
3. BANOCZY, J. et al. The effect of bicarbonate/fluoride dentifrice slurries on human plaque pH. **J Dent Res**, Washington, v. 76, p.36, Mar. 1997. [Abstract 180].
4. BLAKE-HASKINS, J.C., ZHANG, Y.P., SULLIVAN, R.J. Effect of MFP/DCPD and NaF/Silica dentifrices on the cariogenic potential of plaque fluid. **J Dent Res**, Washington, v.73, p.240, Mar. 1994. [Abstract 1107].
5. _____. et al. The effect of bicarbonate/fluoride dentifrices on human plaque pH. **J Clin Dent**, Yardley, v.8, n.6, p.173-177, 1997.
6. BOWDEN, G.H.W. Effects of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. **J Dent Res**, Washington, v.69, p.653-659, Feb. 1990. [Special Issue].
7. BOWEN, W.H., BIRKHED, D. Dental caries : dietary and microbiology factors. In: GRANATH, L., MC HUGH, W.D. **Systematized prevention of oral disease : therapy and practice**. Boca Raton : CRC, 1986. p.19-41. Apud ZERO, D.T. Adaptações na placa dental. In: BOWEN, W.H., TABAK, L.A. **Cariologia para a década de 90**. São Paulo : Santos, 1995. p.346.
8. BOWEN, W.H., TABAK, L.A. **Cariologia para a década de 90**. São Paulo :

8. BOWEN, W.H., TABAK, L.A. **Cariologia para a década de 90.** São Paulo : Santos, 1995. 462p.
9. BREWER, J.H. Clear liquid mediuns for the aerobic cultivation of anaerobes. **J Am Med Assoc**, Chicago, v.115, n.8, p.598-600, Aug. 1940. Apud **MANUAL DIFCO**. Op. Cit. Ref. 57. p.166.
10. BRUDEVOLD, F., SOREMAIK, R. Chemistry of the mineral phase of enamel. In: MILES, H.A.E.W., ed. **Structural and Chemistry Organization of Teeth.** New York : Academic Press, 1967.
11. _____. et al. Development of a new intraoral demineralization test. **Caries Res**, Basel, v.18, n.5, p.421-429, Sept./Oct. 1984.
12. BRUUN, C., GIVSKOV, H., THYLSTRUP, A. Whole saliva fluoride after toothbrushing with NaF and MFP dentifrices with different F concentrations. **Caries Res**, Basel, v.18, n.3, p.282-288, Mar./Apr. 1984.
13. COCOLA, K., et al., Comparison of different S. Mutans/S. Sanquis plaque ratios using an intraoral model. **J Dent Res**, Washington, v.76, p.375, Mar. 1997. [Abstract 2890]
14. CREANOR, S.L. et al. In situ appliance for the investigation of enamel de- and remineralization. A pilot study. **Caries Res**, Basel, v.20, n.5, p.385-391, Sept./Oct. 1986.
15. CURY, J.A. **Aprimoramento de metodologias analíticas em cariologia.** Rochester; Eastman Dental Center, 1995. [Relatório Técnico]. CNPQ; proc. 450685/95.
16. _____. Dentifrícios fluoretados no Brasil. **RGO**, Porto Alegre, v.37, n.2, p.139-142, mar./abr. 1989.

17. CURY, J.A. Estabilidade do flúor nos dentifrícios brasileiros. **RGO**, Porto Alegre, v.34, n.5, p.430-432, set./out. 1986.
18. _____. Uso do flúor e o controle de cárie como doença. In: BARATIERI, L.N. et al. **Dentística** : procedimentos preventivos e restauradores. 2.ed. São Paulo : Santos, 2000. Cap.2. [No prelo].
19. _____, REBELLO, M.A.B., DEL BEL CURY, A.A. In situ relationship between sucrose exposure and the composition of dental plaque. **Caries Res**, Basel, v.31, n.5, p.356-360, Sept./Oct. 1997.
20. DAVIS, W.B., FELLOWES, B.E. The retention of toothpaste mineral particles by plaque. **J Dent Res**, Washington, v.60, p.1169, June 1981. [Abstract 119].
21. DAWES, C., DIBDIN, G.H. A theoretical analysis of the effects of plaque thickness and initial salivary sucrose concentration on diffusion of sucrose into dental plaque and its conversion to acid during salivary clearance. **J Dent Res**, Washington, v.65, n.2, p.89-94, Feb. 1986.
22. DEPAOLA, F.P. Clinical studies on MFP/calcium containing abrasive. **Int Dent J**, Guildford, v.43, n.1, Suppl.1, p.89-96, Feb. 1993.
23. DUARTE, F.F., PISANESCHI, E., CURY, J.A. Avaliação do flúor dos dentifrícios mais consumidos no Brasil comercializados nas cinco regiões do país. **Rev ABOPREV** [No prelo].
24. DUKE, S.A. Effect of a chalk-based toothpaste on pH changes in dental plaque in vivo. **Caries Res**, Basel, v.20, n.3, p.278-283, May/June 1986a.
25. _____. Effect induced by a chalk-based toothpaste on the ph changes of plaque challenged by high sugar diet over an 8-hour period. **Caries Res**, Basel, v.20, n.4, p.381-384, July/Aug. 1986.

26. EDMUNDS, D.H., WHITTAKER, D.K., GREEN, R.M. Suitability of human bovine, equine, and ovine tooth enamel for studies of artificial bacterial carious lesions. **Caries Res**, Basel, v.22, n.6, p.327-336, Nov./Dec. 1988.
27. ERICSSON, Y. Biologic splitting of PO₃F ions. **Caries Res**, Basel, v.1, n.2, p.144-152, 1967.
28. _____. Fluorides in dentifrices : investigations using radioactive fluorine. **Acta Odontol Scand**, Oslo, v.19, n.1, p.41-77, 1961.
29. _____. The mechanism of the monofluorophosphate action on hydroxy apatite and dental enamel. **Acta Odontol Scand**, Oslo, v.21, n.5, p.341-358, 1963.
30. FISKE, C.H., SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **J Biol Chem**, Baltimore, v.66, p.375-400, 1925.
31. FORWARD, G.C. Action and interaction of fluoride in dentifrices. **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v.8, n.5, p.257-266, 1980.
32. FU, J. et al. Effect of plaque thickness on acid production. **J Dent Res**, Washington, v.69, p.318, Mar. 1990. [Abstract 1677].
33. _____. et al. Effect of plaque thickness on glucose retention and acid production. **J Dent Res**, Washington, v.70, p.1813, Apr. 1991. [Abstract 1815].
34. GAFFAR, A.; BLAKE-HASKINS, J., MELLBERG, J. In vivo studies with a dicalcium phosphate dihydrate/MFP system for caries prevention. **Int Dent J**, Guildford, v.43, n.1, Suppl.1, p.81-88, Feb. 1993.
35. HAMADA, S., TORII, M. Effect of sucrose in culture media on the location of glucosyltransferase of *Streptococcus mutans* and cell adherence to glass surfaces. **Infect Immun**, Washington, v.20, n.3, p.592-599, June 1978.

36. HAMILTON, I.R. Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. **J Dent Res**, Washington, v.69, p.660-667, Feb. 1990. [Special Issue]
37. _____, ELLWOOD, D.C. Effects of fluoride on carbohydrate metabolism by washed cells of *Streptococcus mutans* grown at various pH values in a chemostat. **Infect Immun**, Washington, v.19, n.2, p.434-442, Feb. 1978.
38. HELLWIG, E., KLIMEK, J., WAGNER, H. The influence of plaque on reaction mechanism of MFP and NaF in vivo. **J Dent Res**, Washington, v.66, n.1, p.46-49, Jan. 1987.
39. HUNTOON, F.M. Hormone medium simple medium employed as a substitute for cerom medium. **J Infect Dis**, Chicago, v.23, p.169-172, 1918. Apud **MANUAL DIFCO**. Op. Cit. Ref. 57. p.139.
40. IADR/ORCA. International Symposium on Fluorides : mechanisms of action and recommendation for use. **J Dent Res**, Washington, v.69, n.7, p. 1350-1452, July 1990.
41. IGNÁCIO, R.F., PEREZ, P.E.C., CURY, J.A. Effect of a fluoridated dentifrice containing baking soda on *mutans* acidogenicity and dental plaque composition. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v.13, n.1, p.43-49, jan./mar. 1999.
42. INGRAM, G.S. The reaction of monofluorophosphate with apatite. **Caries Res**, Basel, v.6, n.1, p.1-15, 1972.
43. _____. Some factors affecting the interaction of hydroxyapatite with sodium monofluorophosphate. **Caries Res**, Basel, v.7, n.4, p.315-323, 1973.

44. JACKSON, L.R. In vitro hydrolysis of monofluorophosphate by dental plaque microorganisms. **J Dent Res**, Washington, v.61, n.7, p.953-956, July 1982.
45. KASHKET, S., YASKELL, T. Effect of timing administered calcium lactate on the sucrose-induced intraoral demineralization of bovine enamel. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.37, n.3, p.187-191, Mar. 1992.
46. _____, YASKELL, T. Effectiveness of calcium lactate added to food in reducing intraoral demineralization of enamel. **Caries Res**, Basel, v.31, n.6, p.429-433, Nov.-Dec. 1997.
47. _____, et al. Validation of the intraoral delta Ip system and use of the system to test the efficacy of Mentadent dentifrice. **J Clin Dent**, Yardley, v.5, n.4, p.110-113, 1994.
48. 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.
49. _____, JUNG, M., JUNG, S. Interindividual differences in degradation of sodium monofluorophosphate by saliva in relation to oral health status. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.42, n.2, p.181-184, Feb. 1997.
50. KOO, R.H., CURY, J.A. Avaliação in situ de um dentifricio contendo MFP/DPCD na incorporação de flúor e remineralização do esmalte dental humano. **Rev Odontol Univ São Paulo**, São Paulo, v.13, n.3, p.245-249, jul./set. 1999.
51. _____, _____. Soluble calcium/SMFP dentifrice : effect on enamel fluoride uptake and remineralization. **Am J Dent**, San Antonio, v.11, n.4, p.173-176, Aug. 1998.

52. KOULOURIDES, T., VOLKER, J.F. Fortification of enamel by extracts of silicate cements and fluoride-containing solutions. **J Dent Res**, Washington, v.43, n.5, p.865, 1964. [Abstract 286].
53. _____. et al. An intraoral model used for studies of fluoride incorporation in enamel. **J Oral Pathol**, Copenhagen, v.3, n.4, p.185-196, 1974.
54. LAMMERS, P.C. et al. Influence of fluoride and carbonate on in vitro remineralization of bovine enamel. **J Dent Res**, Washington, v.70, n.6, p.970-974, June 1991.
55. LUOMA, A.R. et al. Bovine enamel hardness and its Ca-, P-, Mg- and F-contents modified by the bacterium *Streptococcus mutans*, artificial dental plaque and fluoride. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.28, n.4, p.347-352, Apr. 1983.
56. **MANUAL DIFCO** : medios de cultivo deshidratados y reactivos para microbiologia. 10.ed. Detroit : DIFCO Lab., 1984. 1166p.
57. MARSH, P.D., KEEVIL, C.W. Environment regulation of glycolysis in dental plaque. In : LEACH, S.A. (ed.) **Factors relating to demineralization and remineralization of the teeth**. Oxford : IRL, p.51-59. Apud ZERO, D.T. Adaptações na placa dental. In : BOWEN, W.H., TABAK, L.A. **Cariologia para a década de 90**. São Paulo : Santos, 1995. p.348.
58. MELLBERG, J.R. Relationship of original mineral loss in caries-like lesions to mineral changes in situ. Short communication. **Caries Res**, Basel, v.25, n.6, p.459-461, Nov./Dec. 1991.
59. _____, CHOMICKI, W.G. Effect of soluble calcium on fluoride uptake by enamel from sodium monofluorophosphate. **J Dent Res**, Washington, v.61, n.12, p.1394-1396, Dec. 1982.

60. MELLBERG, J.R., MALLON, D.E. Soluble calcium-enhanced remineralization of artificial caries lesions monofluorophosphate. **Caries Res**, Basel, v.18, n.5, p.416-420, Sept./Oct., 1984.
61. _____. et al. Remineralization in vivo of artificial caries lesions by a monofluorophosphate dentifrice. **Caries Res**, Basel, v.19, n.2, p.126-135, Mar./Apr. 1985.
62. MORENO, E.C. Role of Ca-P-F in caries prevention : chemical aspects. **Int Dent J**, Guildford, v.43, n.1, Suppl.1, p.71-80, Feb. 1993.
63. MURPHY, J., VAN HOUTE, J., KASHKET, S. Reduction of intraoral demineralization by bicarbonate-based dentifrices containing NaF. **J Dent Res**, Washington, v.69, p.373, Mar. 1990. [Abstract 2120].
64. NARVAI, P.C., FRAZÃO, P., CASTELLANOS, R.A. Declínio na experiência de cárie em dentes permanentes de escolares brasileiros no final do século XX. **Odontolol Sociedade**, São Paulo, v.1, n.1-2, p.25-29, 1999.
65. ORION RESEARCH INCORPORATED FLUORIDE. Combination fluoride electrodes instruction manual. Boston : Orion, 1991. p.30.
66. PEARCE, E.I.F., DIBDIN, G.H. The diffusion and enzymic hydrolysis of monofluorophosphate in dental plaque. **J Dent Res**, Washington, v.74, n.2, p.691-697, Feb. 1995.
67. _____, JENKINS, G.N. The decomposition of monofluorophosphate by enzymes in whole human saliva. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.22, n.4, p.405-407, 1977.

68. PEARCE, E.I.F., SCHAMSCHULA, R.G., COOPER, M.H. Increases in fluoride, calcium, and phosphate in dental plaque resulting from the use of a mineralizing mouthrinse containing urea and monofluorophosphate. **J Dent Res**, Washington, v.62, n.7, p.818-820, July 1983.
69. ROLLA, G. Interaction of monofluorophosphate with plaque and saliva. **Caries Res**, Basel, v.17, Suppl.1, p.91-101, 1983.
70. _____, OGAARD, B., CRUZ, R.A. Clinical effect and mechanism of cariostatic action of fluoride-containing toothpastes : a review. **Int Dent J**, Guildford, v.41, n.3, p.171-174, June 1991.
71. ROSENOW, E.C. Studies on elective localization : focal infection with special reference to oral sepsis. **J Dent Res**, Washington, v.1, n.3, p. 205-267, Sept. 1919. Apud **MANUAL DIFCO**. Op. Cit. Ref. 57. p.160.
72. RUSSELL, L., HADEN, M.A. Elective localization in the eye of bacteria from infected teeth. **Arch Internal Med**, Chicago, v.31, p.828-849, 1923. Apud **MANUAL DIFCO**. Op. Cit. Ref. 57. p.160.
73. SAOTOME, T., GERENCSEI, V.I., 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.
74. SAS INSTITUTE. **SAS/QC user's guide**. 5.ed. Cary : SAS Institute, 1986.
75. SATOU, N. et al. Acidogenicity of Streptococci grown at different chemostat pH conditions. **J Dent Res**, Washington, v.71, p.734, July 1992. [Abstract 1748].
76. SCHEMEHORN, B.R. et al. Remineralization by fluoride enhanced with calcium phosphate ingredients. **J Dent Res**, Washington, v.76, p.376, Mar. 1997. [Abstract 2897].

77. STEPHAN, R.M. Intra-oral hydrogen-ion concentrations associated with dental caries activity. **J Dent Res**, Washington, v.23, n.4, p.257-266, Aug. 1944.
78. STOOKEY, G.K. In situ fluoride uptake from fluoride dentifrices by carious amel. **J Dent Res**, Washington, v.64, n.6, p.900-903, June 1985.
79. SULLIVAN, R.J. et al. In vivo detection of calcium from dicalcium phosphate dihydrate dentifrices in demineralized human enamel and plaque. **Adv. Dent Res**, Washington, v.11, n.4, p.380-387, Nov. 1997.
80. TAHMASSEBI, J., DUGGAL, M.S., CURZON, M.E.J. Effect of a calcium carbonate-based toothpaste with 0,3% triclosan on pH changes in dental plaque in vivo. **Caries Res**, Basel, v.28, n.4, p.272-276, July/Aug. 1994.
81. TATE, W.H., WHITE, R.R. Disinfection of human teeth for educational purposes. **J Dent Educ**, Washington, v.55, n.9, p.583-585, Sept. 1991.
82. TEN CATE, J.M., REMPT, H.E. Comparison of the in vivo effect of a 0 and 1,500 ppmF MFP toothpaste on fluoride uptake, acid resistance and lesion remineralization. **Caries Res**, Basel, v.20, n.3, p.193-201, May/June 1986.
83. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. 20.ed. 1980. In : **MANUAL DIFCO**. Op. Cit. Ref. 57. p.1025.
84. UPDYKE, E.L., NICKLE, M.I. A dehydrated medium for the preparation of type specific extracts of group-A Streptococci. **Applied Microbiol**, v.2, n.2, p.117-118, 1954. Apud : **MANUAL DIFCO**. Op. Cit. Ref. 57. p.1004.
85. VAN HOUTE, J., RUSSO, J., PROSTAK, K.S. Increased pH-lowering ability of Streptococcus mutans cell masses associated with extracellular glucan-rich matrix material and the mechanisms involved. **J Dent Res**, Washington, v.68, n.3, 451-459, Mar. 1989.

86. VERNON, P.C. et al. The effect of study design on in situ treatment of carious enamel lesions. **J Dent Res**, Washington, v.71, p.814-818, Apr. 1992. [Special Issue].
87. VOLPE, A.R. et al. Clinical anticaries efficacy of NaF and SMFP dentifrices : overview and resolution of the scientific controversion. **J Clin Dent**, Yardley, v.6, p.1-28, 1995. [Special Issue].
88. WEFEL, J.S. et al. Development of an intra-oral single-section remineralization model. **J Dent Res**, Washington, v.66, n.9, p.1485-1489, Sept. 1987.
89. YASKELL, T., KASHKET, S., NELSON, B.J. Effects of high bicarbonate in a dentifrice on intraoral demineralization. **J Dent Res**, Washington, v.75, p.253, Mar. 1996. [Abstract 1885].
90. YOSHIOKA, M.; Kolynos do Brasil. **Declínio da cárie dental**. 1999. [Comunicação Pessoal].
91. ZERO, D.T. Etiology of dental erosion--extrinsic factors. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v.104, n.2 pt.2, p.162-177, Apr. 1996.
92. _____. In situ caries models. **Adv Dent Res**, Washington, v.9, n.3, p.214-234, Nov. 1995.
93. _____, ANNE, K.M., FU, J. Adaptative response of *S. mutans* to growth at low pH. **J Dent Res**, Washington, v.70, p.493, Apr. 1991. [Abstract 1814].
94. _____, VAN HOUTE, J., RUSSO, J. The intra-oral effect on enamel demineralization of extracellular matrix material synthesized from sucrose by *Streptococcus mutans*. **J Dent Res**, Washington, v.65, n.6, p.918-923, June 1986.

95. ZERO, D.T. et al. An improved intra-oral enamel demineralization test model for the study of dental caries. **J Dent Res**, Washington, v.71, p.871-878, Apr. 1992. [Special Issue].
96. _____. et al. Effect of grow at low pH on virulence of S. mutans. **J Dent Res**, Washington, v.69, p.318, Mar. 1990. [Abstract 1680].
97. ZHANG, Y.P. et al. Intra-oral remineralization of enamel with a MFP/DCPD and MFP/silica dentifrice using surface microhardness. **J Clin Dent**, Yardley, v.6, n.2, p.148-153, 1995.

ANEXO 1



MINISTERIO DA SAUDE
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP

FOLHA DE ROSTO PARA PESQUISA ENVOLVENDO SERES HUMANOS

Projeto de Pesquisa: Estudo in situ utilizando dispositivo intra-oral palatino para comparação do efeito de formulações com MFTW/CaCO_3 versus MFTW/SiO_2 na indução da remineralização e na atenuação da remineralização do esmalte dental.				
2. Área do Conhecimento (conforme relação no verso) 4. CIÊNCIAS DA SAÚDE		3. Código: 4.02		4. Nível: (Para áreas do conhecimento 2 a 4) P e T
5. Área(s) Temática(s) (Conforme relação no verso)		6. Código(s):		7. Fone: (Para área temática 3)
8. Uniformes: (3) dentário, cirúrgico dental, estudo in situ				
PESQUISADOR RESPONSÁVEL				
9. Nome: JAIME APARECIDO CURY				
10. Identidade: 4329-838		11. CPF.: 157.357.299-34		17. Endereço (Rua, n°): Rua Moraes Barros, 1510 apto 21
12. Nacionalidade: BRASILEIRO		13. Profissão: Professor Universitário		18. CEP: 13.416-740
14. Mãe: Tânia: Doutor		15. Cargo: Professor Titular		19. Cidade: PIRACICABA
		21. Fone: 433-4736		20. UF: SP
16. Instituição a que pertence: FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA		22. Fax: 433-4736		21. SP
		23. Email: jcury@fop.unicamp.br		
Termos de Compromisso: Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas Complementares e aceito as responsabilidades pela condução científica do projeto acima. Data: 05/04/99 Assinatura				
INSTITUIÇÃO ONDE SERÁ REALIZADO				
24. Nome: FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA - UNICAMP		25. Endereço (Rua, n°): AV. LIMEIRA, 901		
25. Unidade/Órgão: FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA		29. CEP: 13414-018		30. Cidade: PIRACICABA
26. Projeto Multicêntrico: Sim () Não (X)		32. Fone: 430-5302/5303		31. U.F. SP
Participação Estrangeira: Sim () Não (X)		33. Fax: 430-5218		E-mail: jcury@fop.unicamp.br
27. Outras instituições participantes, inclusive estrangeiras (Use folha anexa SN)				
Termos de Compromisso: Declaro que conheço e cumpro os requisitos da Res. CNS 196/96 e suas Complementares e como esta instituição tem condições para o desenvolvimento deste projeto, autorizo sua execução Nome: ANTONIO WILSON SALLUM Cargo: DIRETOR Data: ____/____/____ Assinatura				
PATROCINADOR				
34. Nome: KOLYNS DO BRASIL				
37. Endereço: Via Anchieta Km 14				
35. Responsável: MACHIKO YOSHIOKA		38. CEP: 09083-000		39. Cidade: São Bernardo do Campo
		41. Fone: (011) 457-1100		40. UF: SP
36. Cargo/Função: Diretora de Desenvolvimento de produtos		42. Fax: (011) 457-8176		
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP				
43. Data da Entrada:		44. Protocolo:		45. Conclusão: Aprovado ()
				Data: ____/____/____
46. Não Aprovado ()				
Data: ____/____/____				
47. Relatório(s) do Pesquisador responsável previsto(s) para:				

4. TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nome do voluntário: _____

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas por Silvana Boldrini Francisco (pós-graduanda - doutoramento), Prof. Dr. Jaime A. Cury (Orientador), Prof^ª Dra. Altair A. Del Bel Cury (Co-orientadora da parte clínica) e Prof^ª Dra. Cíntia P. Machado Tabchoury (Co-orientadora da parte laboratorial) objetivando firmar acordo escrito mediante o qual o voluntário da pesquisa autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

4.1 Título do Trabalho Experimental

Estudo *in situ* utilizando dispositivo intra-oral palatino para comparação do efeito de formulações com MFP/CaCO₃ versus MFP/SiO₂ na inibição da desmineralização e na ativação da remineralização do esmalte.

4.2 Objetivo

Comparar o efeito de formulações com MFP/CaCO₃ versus MFP/SiO₂ na inibição da desmineralização e ativação da remineralização do esmalte dental bovino.

4.3 Justificativa

Atualmente os dentifrícios são considerados terapêuticos com propriedades de redução de cárie, placa e gengivite, sendo que o flúor foi a primeira substância utilizada com finalidade anticárie. Entretanto, a eficiência anticárie de dentifrícios fluoretados depende do sistema abrasivo, componente das formulações em termos de estabilidade química (Ericsson, 1961; Cury, 1986). Para determinarmos outras propriedades dos dentifrícios contendo flúor na forma de MFP/CaCO₃ como efeito alcalinizante e tamponante do sistema abrasivo na desmineralização do esmalte dental, assim como a capacidade remineralizante do flúor, utilizaremos um modelo de estudo *in situ* desenvolvido por Zero et al (1992). Além do mais, este modelo permite avaliar a hidrólise do MFP requisito essencial para seu efeito anti-cárie (Bruun et al., 1987).

4.4 Procedimento da fase experimental

Estudo 1 - avaliação da inibição da desmineralização:

O estudo *in situ*, será do tipo cruzado, sendo que os voluntários serão divididos em 3 grupos de tratamentos nos quais 09 (nove) voluntários utilizarão dispositivos intra-orais contendo oito blocos de esmalte bovino, recobertos por uma massa bacteriana (“placa artificial”) de *S. mutans* IB-1600. O tratamento dos 3 grupos está descrito abaixo:

Os voluntários escovarão seus dentes por 1 minuto com o respectivo dentifrício (**Grupo 1 - MFP/CaCO₃** ou **Grupo 2 - MFP/SiO₂**). Ao mesmo tempo, os dispositivos intra-orais, contendo os blocos de esmalte dental bovino, serão imersos por 1 minuto no mesmo dentifrício diluído 1:3 em água destilada deionizada. Depois de escovarem seus dentes, os voluntários enxaguarão suas bocas por 10 segundos com 15 ml de água destilada e deionizada e os dispositivos serão imediatamente introduzidos na boca. Após 30 minutos, sem conversar, os voluntários bochecharão vagarosamente 15 ml de uma solução de sacarose 20% por 1 minuto e cuspirão. Após o bochecho com sacarose, os dispositivos permanecerão na boca por 45 minutos.

Grupo 3 - Controle: Os voluntários do grupo controle escovarão seus dentes sem dentifrício por 1 minuto, enquanto os dispositivos palatinos serão imersos ao mesmo tempo em tampão bicarbonato de potássio 20 mM pH 7,0 contendo KCl 100 mM. Após a escovação, os voluntários irão lavar a boca por 10 segundos com 15 ml de água destilada e deionizada e imediatamente após, os dispositivos serão colocados na boca. Após 30 minutos, sem conversar, os voluntários bochecharão vagarosamente 15 ml de uma solução de sacarose 20% por 1 minuto e cuspirão. Após o bochecho com sacarose, os dispositivos permanecerão na boca por 45 minutos.

Estudo 2 – avaliação da ativação da remineralização.

O estudo será do tipo cruzado, utilizando dispositivo intra-oral palatino para a avaliação da ativação da remineralização. Nove voluntários utilizarão os dispositivos contendo 2 suportes plásticos, com 4 blocos de esmalte bovino com lesão artificial de cárie em cada um dos suportes. Os blocos de esmalte estarão em contato com placa artificial, composta por *S. mutans* IB-1600. Os 3 tratamentos estão descritos a seguir:

Os voluntários escovarão seus dentes por 1 minuto com respectivo dentifrício (**Grupo 1 - MFP/CaCO₃** ou **Grupo 2 - MFP/SiO₂**). Ao mesmo tempo, os dispositivos intra-orais, contendo os blocos de esmalte dental bovino, serão imersos por 1 minuto no mesmo dentifrício diluído 1:3 em água destilada. Depois

de escovarem seus dentes, os voluntários enxaguarão suas bocas por 10 segundos com 15 ml de água destilada e deionizada e os dispositivos serão imediatamente introduzidos na boca. Os voluntários manterão os dispositivos na boca por 1 hora sem falar, comer ou beber. Após a 1ª hora, os voluntários poderão beber água deionizada, mas não poderão comer pelas 3 horas seguintes.

Grupo 3 - Controle: Os voluntários do grupo controle escovarão seus dentes sem dentifrício por 1 minuto, enquanto os dispositivos palatinos serão imersos ao mesmo tempo em tampão bicarbonato de potássio 20 mM pH 7,0 contendo KCl 100 mM. Após a escovação, os voluntários irão lavar a boca por 10 segundos com 15 ml de água destilada e deionizada. Os voluntários manterão os dispositivos na boca por 1 hora sem falar, comer ou beber. Após a 1ª hora, os voluntários poderão beber água deionizada, mas não poderão comer pelas 3 horas seguintes.

4.5 Desconforto ou riscos esperados e benefícios

O uso da sacarose será apenas durante o experimento, não implicando em qualquer aumento de cárie dental nos voluntários. O dispositivo intra-oral pode causar um leve desconforto, que é, entretanto, semelhante ao desconforto causado por um aparelho ortodôntico móvel e será utilizado apenas por algumas horas. A placa artificial poderá trazer um leve gosto de fermento de pão. O benefício será um auxílio indireto, contribuindo para a realização deste projeto e para a ciência como um todo.

4.6 Forma de acompanhamento e assistência

Haverá esclarecimento do experimento. Os pesquisadores envolvidos na pesquisa darão toda a assistência aos voluntários durante a pesquisa.

4.7 Garantia de esclarecimentos

O voluntário tem garantia de que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Também os pesquisadores supracitados assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando. Qualquer dúvida ou problema, por favor comunicar-nos com a maior brevidade possível.

Tel: 430-5303 (Laboratório de Bioquímica)
433-4736 (Profa. Altair/Prof. Jaime)
441-1161 (Silvana)

4.8 Retirada do consentimento

O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo sem prejuízo de ordem pessoal-profissional com os responsáveis pela pesquisa.

4.9 Garantia de sigilo

Os pesquisadores asseguram a privacidade dos sujeitos quanto aos dados confidenciais envolvidos na pesquisa.

4.10 Formas de ressarcimento

Os voluntários serão ressarcidos de eventuais despesas com o transporte para a participação no experimento.

4.11 Formas de indenização

Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa.

Eu _____, certifico que tendo lido as informações acima e suficientemente esclarecido(a) de todos os itens pela Pós-graduanda Silvana Boldrini Francisco, Prof. Dr. Jaime A. Cury (Orientador), Prof^a Dra. Altair A. Del Bel Cury (Co-orientadora da parte clínica) e Prof^a Dra. Cíntia P. Machado Tabchoury (Co-orientadora da parte laboratorial), estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, eu autorizo a execução do trabalho de pesquisa, exposto acima, em mim.

Piracicaba, ____ de _____ de 1999.

Nome(por extenso): _____

Assinatura: _____

1^a-via : Instituição

2^a via: Voluntário

FICHA DO VOLUNTÁRIO

NOME: _____

DATA DE NASCIMENTO: ____ / ____ / ____ IDADE: _____

ENDEREÇO: _____

TELEFONE: _____

OBSERVAÇÕES: _____

5. DECLARAÇÕES GERAIS

5.1 Declaração de Responsabilidade do Pesquisador Responsável

Eu, Silvana Boldrini Francisco, responsável pela pesquisa denominada " Estudo *in situ* utilizando dispositivo intra-oral palatino para comparação do efeito de formulações com MFP/CaCO₃ versus MFP/SiO₂ na inibição da desmineralização e na ativação da remineralização do esmalte bovino", declaro que:

- Assumo o compromisso de zelar pela privacidade e pelo sigilo das informações, que serão obtidas e utilizadas para o desenvolvimento da pesquisa;
- os materiais e as informações obtidas no desenvolvimento deste trabalho serão utilizados para se atingir o objetivo previsto na pesquisa;
- os materiais e os dados obtidos ao final da pesquisa serão arquivados sob a responsabilidade do Curso de Bioquímica Oral da FOP/UNICAMP;
- não há qualquer acordo restritivo à divulgação pública dos resultados;
- os resultados da pesquisa serão tornados públicos através de publicações em periódicos científicos e/ou em encontros científicos, quer sejam favoráveis ou não, respeitando-se sempre a privacidade e os direitos individuais dos sujeitos da pesquisa;
- o CEP-FOP/UNICAMP será comunicado da suspensão ou do encerramento da pesquisa, por meio de relatório apresentado anualmente ou na ocasião da suspensão do trabalho com a devida justificativa, embora não há risco envolvido que possa levar à suspensão ou encerramento da pesquisa .

Piracicaba, 24 de junho de 1999

Silvana Boldrini Francisco
RG 14.941.409
CIC 067.287.088-63

5.2 Declaração de Responsabilidade da Instituição

Declaro, a fim de viabilizar a execução do projeto de pesquisa intitulado "Estudo *in situ* utilizando dispositivo intra-oral palatino para comparação do efeito de formulações com MFP/CaCO₃ versus MFP/SiO₂ na inibição da desmineralização e na ativação da remineralização do esmalte bovino", sob a responsabilidade da pesquisadora Silvana Boldrini Francisco, que a Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, conforme Resolução CNS 196/96, assume a responsabilidade de zelar para que o pesquisador cumpra os objetivos do projeto, por meio de acompanhamento do departamento de origem do(s) pesquisador(es) e relatório anual enviado ao CEP/FOP.

Piracicaba, 24 de junho de 1999

De acordo
Ciente

Prof. Dr. Jaime A. Cury
Coordenador da Área

Profa. Dra. Maria
Cristina Volpato
Chefe de Departamento

Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum
CPF
No. Matrícula UNICAMP
DIRETOR

5.3 Termo de Compromisso do Pesquisador Responsável

Eu, Silvana Boldrini Francisco, responsável pela pesquisa denominada "Estudo *in situ* utilizando dispositivo intra-oral palatino para comparação do efeito de formulações com MFP/CaCO₃ versus MFP/SiO₂ na inibição da desmineralização e na ativação da remineralização do esmalte bovino" assumo o compromisso de cumprir os Termos da Resolução n.º 196/96, de 10 de Outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

Piracicaba, 24 de junho de 1999.

Silvana
Boldrini Francisco
RG 14.941.409
CIC 067.287.088-63

5.4 Termo de Compromisso da Instituição

Eu, Antônio Wilson Sallum, Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, para efeito da pesquisa denominada "Estudo *in situ* utilizando dispositivo intra-oral palatino para comparação do efeito de formulações com MFP/CaCO₃ versus MFP/SiO₂ na inibição da desmineralização e na ativação da remineralização do esmalte bovino" declaro o compromisso de fazer cumprir os Termos da Resolução n.º 196/96, de 10 de Outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, do Ministério da Saúde.

Piracicaba, 24 de junho de 1999

Prof. Dr. Antônio Wilson Sallum
CPF
No. Matrícula UNICAMP
DIRETOR



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba
CEP-FOP-UNICAMP



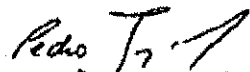
CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "Estudo in situ utilizando dispositivo intra-oral palatino para comparação do efeito de formulações com MFP/CaCO₃ versus MFP/SiO₂ na inibição da desmineralização e na ativação da remineralização do esmalte dental", sob o protocolo nº 25/99, do Pesquisador(a) **Silvana Boldrini Francisco**, sob a responsabilidade do Prof(a). Dr(a). **Jaime Aparecido Cury**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa - FOP.

Piracicaba, 08 de setembro de 1999

We certify that the research project with title "In situ study using introral palatal appliance to compare the effect of formulations with MFP/CaCO₃ versus MFP/SiO₂ on the inhibition of demineralization and the activation of remineralization of dental enamel", protocol nº 25/99, by Researcher **Silvana Boldrini Francisco**, responsibility by Prof. Dr. **Jaime Aparecido Cury**, is in agreement with the Resotion 196/96 from National Committee of Health/Health Department (BR) and was approved by the Ethical Committee in Research at the Piracicaba Dentistry School/UNICAMP (State University of Campinas).

Piracicaba, SP, Brazil, 08 september 99


Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen
Secretário - CEP/FOP/UNICAMP


Prof. Dr. Antonio Bento Alves de Moraes
Coordenador - CEP/FOP/UNICAMP

ANEXO 3

MAPA INDIVIDUAL DOS VOLUNTÁRIOS

POSIÇÃO DOS BLOCOS

DATA:	pH do meio de cultura:
-------	------------------------

Numeração do bloco que deve ser anotado como no esquema abaixo, no sentido horário

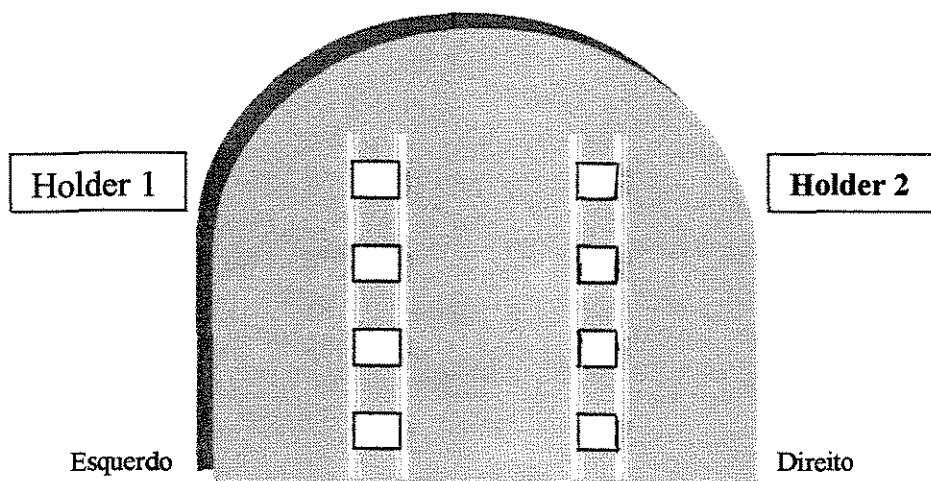
Bloco de esmalte dental bovino

Marca a partir da qual foram feitas as indentações no bloco. **Importante:** o lado do bloco que tem esta marca deve ficar posicionado no holder de forma a ficar voltado para a parte interna do dispositivo intra-oral.

VOLUNTÁRIO:	
TRATAMENTO:	

<u>HOLDER 1</u>	<u>HOLDER 2</u>
Número do bloco:	Número do bloco:
Número do bloco:	Número do bloco:
Número do bloco:	Número do bloco:
Número do bloco:	Número do bloco:

MAPA DOS APARELHOS



Obs.: Considerar o aparelho fora da boca, com a parte interna voltada para cima

Apêndice 1

Dosagens de Flúor em Dentífricos Fluoretados

Curva de Calibração / Alta Concentração

Material Utilizado: TISAB II pH 5,0
NaOH M
HCl 2M

Padrões Utilizados para a Curva de Calibração:

Conc. 0,5: 0,25 ml de padrão de 4,0 ppm
0,25 ml HCl 2M
0,5 ml NaOH M
1,0 ml de TISAB II pH 5,0

Conc. 1,0: 0,25 ml de padrão de 8,0 ppm
0,25 ml HCl 2M
0,5 ml NaOH M
1,0 ml de TISAB II pH 5,0

Conc. 2,0: 0,25 ml de padrão de 16 ppm
0,25 ml HCl 2M
0,5 ml NaOH M
1,0 ml de TISAB II pH 5,0

Conc. 4,0: 0,25 ml de padrão de 32 ppm
0,25 ml HCl 2M
0,5 ml NaOH M
1,0 ml de TISAB II pH 5,0

Blank: 0,25 ml de Água Deionizada
0,25 ml de HCl 2M
0,50 ml de NaOH M
1,0 ml de TISAB II

Teste: 0,25 ml de padrão 20,0 ppm
0,25 ml HCl 2M
0,5 ml NaOH M
1,0 ml de TISAB II pH 5,0

Código = Sorriso com Flúor = Fab.23-08-99 Val.08-2000 = S1 até S6 (Silvana)

Preparo das Amostras

- 100,0 mg (em torno de) de Dentífrico é pesado e é adicionado água até vol. de 10,0 mL
- Da suspensão retira-se amostra para Flúor Total (FT) obedecendo as seguintes medidas
Flúor total: 0,25 ml da suspensão
0,25 ml HCl 2M
1 h /45 graus em banho maria
0,5 ml de NaOH M
1,0 ml de TISAB II

- Submete-se a amostra à centrifugação e do sobrenadante retira-se amostra para FST e FI
Flúor Solúvel Total (FST): 0,25 ml do sobrenadante
0,25 ml HCl 2M
1 h /45 graus em banho maria
0,5 ml de NaOH M
1,0 ml de TISAB II

Flúor Iônico (FI): 0,25 ml do sobrenadante
1,0 ml de TISAB II
0,5 ml de NaOH M
0,25 ml HCl 2,0 M

FT=F+ MFP +Fins

FST=F+MFP (Flúor Solúvel iônico + Ionizável)

FI= F (Flúor Iônico Solúvel)

Fins.= FT - FST

MFP = FST - FI

Fins. = Flúor insolúvel ("ligado ao abrasivo")

Flúor Ionizável = MFP

Apêndice 1A

Curva de Calibração para Análise de Flúor em Dentifrício TISAB II 50%; HCL 0,25 M e NaOH 0,25 M

ppm F	vol. ml	F ug	log F	mV	log F calc.	ug F Calc.	% Variação
0,50	2,00	1,000	0,00000	100,8	0,0087266	1,02	1,99
1,00	2,00	2,000	0,30103	84,6	0,2854347	1,93	-3,66
2,00	2,00	4,000	0,60206	65,7	0,6082609	4,06	1,42
4,00	2,00	8,000	0,90309	48,4	0,9037578	8,01	0,15

	Primeira	Segunda	terceira	Média
Blanck	198,8	191,1	188,3	192,7
0,5	100,7	100,8	100,9	100,8
1,0	84,3	84,6	84,8	84,6
2,0	65,5	65,6	65,9	65,7
4,0	48,1	48,6	48,5	48,4
Teste	60,3	60,2	60,1	60,2

interc 1,730466 Inclinação -0,01708

RQuad. 0,9992093

Testes	mV	log F Calc	ug F Calc	ug F Esp.	ppmF obs	ppmF esp.	C.V %
Blanck	192,7	-1,5609941	0,027	0			
Teste	60,2	0,702205	5,037	5,00	20,15		
Teste	60,3	0,7004969	5,018	5,00	20,07	20,00	0,55
Média					20,11		

	FLÚOR IÔNICO SOLÚVEL (F-)					FLÚOR SOLÚVEL TOTAL (MFP + F-)				FLÚOR TOTAL (MFP + F + Fins.)			
AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs
S1	136	-0,592516	0,256	101	101,2	74,5	0,45795	2,870	1136,8	69,9	0,536522	3,440	1362,3
S2	136	-0,592516	0,256	101	101,2	74,3	0,461366	2,893	1145,8	68,2	0,565559	3,678	1456,5
S3	134,9	-0,573727	0,267	101	105,7	73,3	0,478447	3,009	1191,8	68,5	0,560435	3,634	1439,4
S4	135	-0,575435	0,266	103	103,2	74,2	0,463074	2,905	1128,0	69,3	0,54677	3,522	1367,7
S5	134,1	-0,560062	0,275	103	106,9	73,6	0,473323	2,974	1154,9	68,6	0,558727	3,620	1405,9
S6	134,6	-0,568603	0,270	103	104,9	73,5	0,475031	2,986	1159,5	68,2	0,565559	3,678	1428,2
				Média	103,9			Média	1152,8			Média	1410,0
				dp	2,4			dp	22,3			dp	38,6

Apêndice 1B

Curva de Calibração para Análise de Flúor em Dentífrício TISAB II 50%; HCL 0,25 M e NaOH 0,25 M

ppm F	vol. ml	F ug	log F	mV	log F calc.	ug F Calc.	% Variação	Blank	Primeira	Segunda	terceira	Média
0,50	2,00	1,000	0,00000	103,7	0,0058737	1,01	1,34	0,5	103,8	103	104,3	103,7
1,00	2,00	2,000	0,30103	86,7	0,2939502	1,97	-1,64	1,0	87	86,3	86,9	86,7
2,00	2,00	4,000	0,60206	68,7	0,5989724	3,97	-0,71	2,0	68,5	68,3	69,2	68,7
4,00	2,00	8,000	0,90309	50,5	0,9073837	8,08	0,98	4,0	50,6	50,3	50,7	50,5
								Teste	63,2	63	62,9	63,0

interc 1,7631402 Inclinação -0,016946

RQuad. 0,9997515

Testes	mV	log F Calc	ug F Calc	ug F Esp.	ppmF obs	ppmF esp.	C.V %
Blank	189,6	-1,44976	0,036	0			
Teste	62,9	0,6972573	4,980	5,00	19,92		
Teste	63	0,6955627	4,961	5,00	19,84	20,00	-0,59
Média					19,88		

		FLÚOR IÔNICO SOLÚVEL (F-)					FLÚOR SOLÚVEL TOTAL (MFP + F-)				FLÚOR TOTAL (MFP + F + Fins.)				
AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs		
S1	134,9	-0,522831	0,300	103	116,5	78,7	0,4295156	2,689	1044,1	72,5	0,534579	3,424	1329,8		
S1	135,3	-0,52961	0,295	103	114,7	77,4	0,451545	2,828	1098,4	72,5	0,534579	3,424	1329,8		
S2	135,1	-0,52622	0,298	97	122,8	78,7	0,4295156	2,689	1108,7	72,3	0,537968	3,451	1423,2		
S2	135,1	-0,52622	0,298	97	122,8	77,8	0,4447667	2,785	1148,3	71,9	0,544746	3,505	1445,6		
				Média	119,2					Média	1099,9			Média	1382,1
				dp	4,2					dp	43,0			dp	61,0

	FLUOR IÔNICO SOLÚVEL (F-)					FLUOR SOLÚVEL TOTAL (MFP + F-)				FLUOR TOTAL (MFP + F + Fins.)				
AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs	
KB-3020-1-19/01	136,5	-0,549944	0,282	109	103,4	69,1	0,5921941	3,910	1434,9	69,1	0,592194	3,910	1434,9	
KB-3020-1-19/02	136	-0,541472	0,287	109	105,5	68,8	0,5972778	3,956	1451,8	68,4	0,604056	4,018	1474,7	
KB-3020-1-19/03	137,8	-0,571974	0,268	102	105,1	70,4	0,5701647	3,717	1457,6	70,9	0,561892	3,645	1429,4	
KB-3020-1-19/04	137,8	-0,571974	0,268	102	105,1	70,2	0,5735539	3,746	1469,0	70,6	0,568776	3,688	1446,2	
com MFP/SiO2				Média	104,8				Média	1453,3			Média	1446,3
				dp	6,9				dp	14,2			dp	20,2

		FLUOR IÔNICO SOLÚVEL (F-)					FLUOR SOLÚVEL TOTAL (MFP + F-)				FLUOR TOTAL (MFP + F + Fins.)				
AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs		
S1	136	-0,593	0,2555549	101,0	101,2	74,5	0,458	2,8705	1136,8	69,9	0,537	3,4397	1362,3		
S2	136	-0,593	0,2555549	101,0	101,2	74,3	0,461	2,8931	1145,8	68,2	0,566	3,6776	1456,5		
S3	134,9	-0,574	0,2688536	101,0	105,7	73,3	0,478	3,0092	1191,8	68,5	0,560	3,6344	1439,4		
S4	135	-0,575	0,2658061	103,0	103,2	74,2	0,463	2,9045	1128,0	69,3	0,547	3,5218	1367,7		
S5	134,1	-0,560	0,2753834	103,0	106,9	73,6	0,473	2,9739	1154,9	68,6	0,559	3,6202	1405,9		
S6	134,6	-0,569	0,2700209	103,0	104,9	73,5	0,475	2,9856	1159,5	68,2	0,566	3,6776	1428,2		
S1	134,9	-0,523	0,3000328	103,0	116,5	78,7	0,4295156	2,6885	1044,1	72,5	0,534579	3,4244	1329,8		
S1	135,3	-0,530	0,2953863	103,0	114,7	77,4	0,452	2,8284	1098,4	72,5	0,535	3,4244	1329,8		
S2	135,1	-0,526	0,2977005	97,0	122,8	78,7	0,430	2,6885	1108,7	72,3	0,538	3,4512	1423,2		
S2	135,1	-0,526	0,2977005	97,0	122,8	77,8	0,445	2,7846	1148,3	71,9	0,545	3,5055	1445,6		
Sorriso Fab. Ag/99 val. Ag. 20000				Média	110,0					Média	1131,6	Média		1398,8	
				dp	8,5					dp	40,5			dp	47,7

Apêndice 1C

16-11-99

Curva de Calibração para Análise de Flúor em Dentífrício
TISAB II 50%; HCL 0,25 M e NaOH 0,25 M

ppm F	vol. ml	F ug	log F	mV	log F calc.	ug F Calc.	% Variação
0,50	2,00	1,000	0,00000	102,8	0,01288	1,03	2,92
1,00	2,00	2,000	0,30103	86,9	0,27995	1,91	-4,97
2,00	2,00	4,000	0,60206	67,3	0,60781	4,05	1,32
4,00	2,00	8,000	0,90309	49,5	0,90557	8,05	0,57
Interc		1,7330		Inclinação	-0,0167		
		RQuad.	0,9986				

16-11-99	Primeira	Segunda	terceira	Média
Blanck	189,5	184,9	184,6	186,3
0,5	102,5	103	103	102,8
1,0	87	87,4	86,2	86,9
2,0	67,5	67,6	66,7	67,3
4,0	49,8	49,4	49,2	49,5
Teste	61,4	61	60,9	61,1

Testes	mV	log F Calc	ug F Calc	ug F Esp.	ppmF obs	ppmF esp.	C.V %
Blanck	186,3	-1,383914	0,041	0			
Teste	61,1	0,7109655	5,14	5,00	20,56		
Teste	61,4	0,7059471	5,08	5,00	20,32	20,00	2,16
Média					20,44		

Amostra 1, 2 e 3 é a Sorriso (Tubo flexível) (MFP) Fab. Agosto de 1999 Val. Agosto de
Amostra 4,e 5 KB 3020-1-19-01 SiO2 (Silica)
Amostra 6 Placebo 54-965-E130

AMOSTRA	FLÚOR IÔNICO SOLÚVEL (F-)					FLÚOR SOLÚVEL TOTAL (MFP+F-)					FLÚOR TOTAL (MFP+F+Fins.)			
	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs	mV	log F Calc	ug F Calc	ppmF obs	
1	130,5	-0,449945	0,355	98	144,8	75,2	0,475103	2,986	1218,8	72	0,528632	3,378	1378,7	
1	130,5	-0,449945	0,355	98	144,8	74,5	0,486813	3,088	1252,1	72	0,528632	3,378	1378,7	
				Média	144,8			Média	1236,5			Média	1378,7	
2	130,4	-0,448272	0,356	98	145,4	76,5	0,453357	2,840	1159,3	73,6	0,501868	3,176	1296,3	
2	130,2	-0,444926	0,359	98	146,5	76,1	0,460048	2,884	1177,3	73,6	0,501868	3,176	1296,3	
				Média	146,0			Média	1168,3			Média	1296,3	
3	130,4	-0,448272	0,356	98	145,4	75,5	0,470085	2,952	1204,8	69,3	0,573797	3,748	1529,8	
3	130,3	-0,446599	0,358	98	146,0	75,1	0,476776	2,998	1223,5	69,8	0,565434	3,676	1500,6	
				Média	145,7			Média	1214,2			Média	1515,2	
				Média Final	146,7			Média Final	1197,5			Média Final	1401,9	
4	135,7	-0,536929	0,290	95	122,3	68,2	0,592198	3,910	1646,4	69,6	0,588779	3,705	1560,0	
4	136,1	-0,54362	0,286	95	120,4	68,4	0,588852	3,880	1633,8	70	0,562088	3,648	1536,1	
				Média	121,4			Média	1640,1			Média	1548,0	
5	132	-0,475036	0,335	111	120,7	63,9	0,664128	4,815	1662,9	65,2	0,642381	4,389	1581,7	
5	133,1	-0,493437	0,321	111	115,7	64,2	0,659109	4,562	1643,8	65,7	0,634018	4,305	1551,5	
				Média	118,2			Média	1653,3			Média	1566,6	
				Média Final	119,0			Média Final	1650,0			Média Final	1562,0	
6	178,2	-1,247861	0,057	98	23,1	133,2	-0,49511	0,320	130,5	127,2	-0,39474	0,403	164,5	
6	177,9	-1,242843	0,057	98	23,3	132,2	-0,47838	0,332	135,7	126,8	-0,38805	0,409	167,0	
				Média	23,2			Média	133,1			Média	165,7	

Apêndice 1D

17-11-99

Curva de Calibração para Análise de Flúor em Dentifício
TISAB II 50%; HCl 0,25 M e NaOH 0,25 M

ppm F	vol. ml	F ug	log F	mV	log F calc.	ug F Calc.	% Variação
0,25	2,00	0,500	-0,30103	120,3	-0,28928	0,51	2,87
0,50	2,00	1,000	0,00000	103,8	-0,01209	0,97	-2,82
1,00	2,00	2,000	0,30103	85,1	0,30204	2,00	0,23
2,00	2,00	4,000	0,60206	67,9	0,59097	3,90	-2,59
4,00	2,00	8,000	0,90309	48,7	0,91350	8,19	2,37

17-11-99	Primeira	Segunda	terceira	Média
Blank	184,1	188,2	186	186,8
0,25	117,8	122,6	120,5	120,3
0,5	102,9	104,4	104,2	103,8
1,0	84,6	85,9	84,8	85,1
2,0	68,4	68	67,4	67,9
4,0	47,4	50	48,8	48,7
Teste	61,9	60,4	61,4	61,2

Interco 1,7316

RQuad. 0,9994

Inclinação -0,0188

Testes	mV	log F Calc	ug F Calc	ug F Esp.	ppmF obs	ppmF esp.	C.V %
Blank	186,8	-1,408353	0,039	0			
Teste	61,9	0,8917594	4,92	5,00	19,67		
Teste	61,2	0,7035182	5,05	5,00	20,21	20,00	-0,30
Média					19,94		

Amostra 1, 2 e 3 é a Sorriso (Tubo flexível) (MFP) Fab. Set. de 1999 Val. Set. de 2002
Amostra 4, 5 e 6 KB 3020-1-19-01 SiO2 (Silica)
Amostra 7, 8 e 9 Placebo 64.965-E130

FLUOR IÔNICO SOLÚVEL (F-)					
AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
1	133,3	-0,507842	0,311	106	117,2
1	133	-0,502803	0,314	106	116,6
				Média	117,9
2	136,2	-0,556357	0,278	94	118,2
2	135,3	-0,541239	0,288	94	122,4
				Média	120,3
3	132	-0,485804	0,327	118	112,7
3	131,9	-0,484124	0,328	116	113,1
				Média	112,9
				Média Final	118,8
				dp	3,8

FLUOR SOLÚVEL TOTAL (MFP+F-)					
AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
1	71,1	0,537215	3,445	106	1300,1
1	71,2	0,535535	3,432	106	1295,1
				Média	1297,6
2	75,8	0,458282	2,873	94	1222,3
2	75,3	0,468662	2,929	94	1246,2
				Média	1234,3
3	69,8	0,582412	3,651	118	1259,0
3	69,8	0,582412	3,651	116	1259,0
				Média	1259,0
				Média Final	1253,9
				dp	31,9

FLUOR TOTAL (MFP+F+Fins.)					
AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
1	74,4	0,48178	3,032	106	1144,3
1	72,2	0,518736	3,302	106	1245,9
				Média	1195,1
2	74,4	0,48178	3,032	94	1290,4
2	73,6	0,495219	3,128	94	1330,8
				Média	1310,6
3	69,5	0,564092	3,685	118	1283,8
3	69,4	0,565772	3,679	116	1288,7
				Média	1286,3
				Média Final	1275,1
				dp	58,3

AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
4	133,8	-0,516041	0,305	108	112,9
4	133	-0,502803	0,314	108	116,4
				Média	114,6
5	132,3	-0,490844	0,323	115	112,3
5	132,2	-0,489164	0,324	115	112,8
				Média	112,6
6	134,4	-0,52812	0,298	108	110,3
6	133,8	-0,516041	0,305	108	112,9
				Média	111,6
				Média Final	112,4
				dp	1,6

AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
4	86,3	0,617847	4,148	108	1536,3
4	86,5	0,614487	4,116	108	1524,5
				Média	1530,4
5	85,1	0,638005	4,345	115	1511,4
5	84,7	0,644724	4,413	115	1534,9
				Média	1523,1
6	85,9	0,624568	4,213	108	1580,3
6	85,8	0,628246	4,229	108	1568,3
				Média	1563,3
				Média Final	1541,4
				dp	21,4

AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
4	87,6	0,592649	3,914	108	1449,7
4	71,3	0,533855	3,419	108	1286,2
				Média	1357,9
5	86,1	0,621208	4,180	115	1454,0
5	85,7	0,627926	4,245	115	1476,7
				Média	1465,3
6	86,1	0,58761	3,669	108	1433,0
6	87,2	0,602728	4,006	108	1463,8
				Média	1458,4
				Média Final	1447,0
				dp	60,1

AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
7	185,3	-1,381156	0,042	101	18,5
7	186,4	-1,389634	0,040	101	15,8
				Média	16,1
8	185,5	-1,384515	0,041	103	16,0
8	184,7	-1,371077	0,043	103	18,5
				Média	16,3
9	180,2	-1,295484	0,051	100	20,3
9	181	-1,308923	0,049	100	19,6
				Média	19,9
				Média Final	17,8
				dp	2,2

AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
7	188,9	-1,40803	0,039	101	15,5
7	188,8	-1,43895	0,036	101	14,4
				Média	14,9
8	185,6	-1,3882	0,041	103	16,0
8	191,2	-1,46027	0,033	103	12,9
				Média	14,4
9	190,5	-1,48851	0,034	100	13,6
9	189,9	-1,45643	0,035	100	13,9
				Média	13,8
				Média Final	14,2
				dp	0,6

AMOSTRA	mV	log F Calc	ug F Calc	Peso(mg)	ppmF obs
7	155,9	-0,86728	0,130	101	51,3
7	156	-0,88896	0,129	101	51,1
				Média	51,2
8	155	-0,87217	0,134	103	52,1
8	155,3	-0,87721	0,133	103	51,5
				Média	51,8
9	156,5	-0,89736	0,127	100	50,7
9	155,7	-0,88392	0,131	100	52,3
				Média	51,5
				Média Final	51,6
				dp	0,3

Tabela 1A

Concentração de Flúor Total na placa dental

		Tratamento	Tratamento	Tratamento
		KCl	CaCO ₃	SiO ₂
Voluntários		FT	FT	FT
1	Celso	0,0	1,3	0,2
2	Gustavo	0,1	3,5	4,4
3	Milene	0,3	4,7	6,3
4	Cinthia	0,1	1,8	2,8
5	Alfredo	0,1	4,7	3,1
6	Marcelo	0,2	1,9	1,3
7	Patrick	0,2	0,5	0,9
8	Viviane	0,2	0,5	1,8
9	Ynara	0,4	3,4	2,6
10	Silvana	0	5,1	3,7
Média		0,16	2,74	2,71
dp		0,1	1,8	1,8

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Média	0,16 Média	2,74 Média 2,71
Erro padrão	0,04 Erro padrão	0,557414687 Erro padrão 0,570487644
Mediana	0,16 Mediana	2,86 Mediana 2,7
Modo	0,1 Modo	4,7 Modo #N/D
Desvio padrão	0,128491108 Desvio padrão	1,762989949 Desvio padrão 1,803877088
Variação da amc	0,016 Variação da amc	3,107111111 Variação da a 3,254333333
Curtose	-0,026041867 Curtose	-1,994443877 Curtose 0,408600279
Assimetria	0,543516473 Assimetria	0,051774987 Assimetria 0,834604538
Intervalo	0,4 Intervalo	4,8 Intervalo 6,1
Mínimo	0 Mínimo	0,5 Mínimo 0,2
Máximo	0,4 Máximo	5,1 Máximo 6,3
Soma	1,6 Soma	27,4 Soma 27,1
Contagem	10 Contagem	10 Contagem 10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	2,74	0,16
Variação	3,107111111	0,016
Observações	10	10
gl	9	9
F	194,1944444	
P(F<=f) uni-caud	3,2178E-09	
F crítico uni-caud	3,178887146	

Tratamento	Tratamento	Tratamento
KCl	CaCO ₃	SiO ₂
FT	FT	FT
0	1,140175425	0,447213585
0,316227766	1,870828893	2,097617696
0,547722558	2,187948339	2,50986008
0,316227766	1,341840788	1,673332063
0,316227766	2,187948339	1,780881888
0,447213585	1,378404875	1,140175425
0,447213585	0,707108781	0,948863298
0,447213585	0,707108781	1,341840788
0,632465532	1,843908891	1,81245155
0	2,258317958	1,823538408

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	1,558338887	0,347050217
Variação	0,348200598	0,043951274
Observações	10	10
gl	9	9
F	7,878918341	
P(F<=f) uni-caudal	0,002555831	
F crítico uni-caudal	3,178887146	

	- 1 -	- 2 -	- 3 -
Soma dos Ranks =	100,000	250,000	250,000
Mediana =	0,3817	18,112	18,429
Média dos Ranks =	10,000	25,000	25,000
Média dos valores =	0,3471	15,583	15,455
Desvio padrão =	0,2098	0,5884	0,5975
Friedman (Fr) =	150,000	---	---
Graus de liberdade =	2	---	---
(p) =	0,0008	---	---
Comparações:	Diferença	(p)	---
Ranks 1 e 2 =	15	< 0,05	---
Ranks 1 e 3 =	15	< 0,05	---
Ranks 2 e 3 =	0	> 0,05	---

Correlação entre FT da placa e Fdo esmalte

		KCl	CaCO ₃
Voluntários		FT	ppmFesm
1	Celso	0,0	1782,45
2	Gustavo	0,1	1204,02
3	Milene	0,3	1197,87
4	Cinthia	0,1	1147,98
5	Alfredo	0,1	1782,04
6	Marcelo	0,2	1869,04
7	Patrick	0,2	1528,77
8	Viviane	0,2	1139,80
9	Ynara	0,4	1085,78
10	Silvana	0	1380,59
Média		0,18	1381,81
dp		0,1	282,7

FT	ppmFesm
0,0	1782,45
0,1	1204,02
0,3	1197,87
0,1	1147,98
0,1	1782,04
0,2	1869,04
0,2	1528,77
0,2	1139,80
0,4	1085,78
0	1380,59
1,3	1785,47
3,5	1291,97
4,7	2144,19
1,8	1761,59
4,7	1048,39
1,9	1671,98
0,5	1188,87
0,6	1278,9
3,4	1888,86
5,1	1824,79
0,2	876,51
4,4	2137,19
0,3	1824,47
2,8	2156,29
3,1	1437,87
1,3	1450,83
0,9	1821,82
1,8	1558,79
2,6	2273,97
3,7	1823,14

Tabela 2A

Concentração de flúor iônico na placa dental

	Tratamentos		
	KCl	CaCo3	SiO2
Voluntários	FI	FI	FI
1 Celso	0,0	0,8	0,0
2 Gustavo	0,04	1,8	1,1
3 Mitsue	0,1	2,3	1,9
4 Cinthia	0,0	0,9	0,6
5 Alfredo	0,0	1,8	1,9
6 Marcelo	0,0	0,8	0,6
7 Patrick	0,1	0,0	0,4
8 Viviane	0,0	0,8	0,6
9 Ynara	0,0	1,4	1,0
10 Silvana	0,0	3,6	1,2
Média	0,02	1,36	0,93
dp	0,0	1,0	0,6

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Média	0,024	Média 1,36
Erro pad	0,01327	Erro padrl 0,3211784
Mediana	0	Mediana 1,15
Modo	0	Modo 0,8
Desvio p	0,04185	Desvio pa 1,0156552
Varíanc	0,00178	Varíanc 1,0315556
Curtose	0,5303	Curtose 1,805629
Assimetr	1,47714	Assimetr 1,1526147
Intervalo	0,1	Intervalo 3,6
Mínimo	0	Mínimo 0
Máximo	0,1	Máximo 3,6
Soma	0,24	Soma 13,6
Contage	10	Contage 10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	1,36	0,024
Varíanc	1,03156	0,00178
Observa	10	10
gl	9	9
F	586,111	
P(F<=f)	2,3E-11	
F crítico	3,1789	

Raiz de X
Trans.dados

	Tratamentos		
	KCl	CaCo3	SiO2
FI	FI	FI	FI
0	0,8944272	0	0
0,2	1,2649111	1,048809	
0,318227766	1,5165751	1,378405	
0	0,9488833	0,774597	
0	1,2649111	1,378405	
0	0,8944272	0,774597	
0,318227766	0	0,632456	
0	0,7745967	0,774597	
0	1,183216	1	
0	1,8973668	1,095445	

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	1,0639114	0,083246
Varíanc	0,2534361	0,018967
Observações	10	10
gl	9	9
F	13,362046	
P(F<=f) uni-ca	0,0003347	
F crítico uni-ca	3,1788971	

	- 1 -	- 2 -	- 3 -
Soma dos Rar	115,000	285,000	220,000
Mediana =	0	10,659	0,8673
Média dos Rar	11,500	26,500	22,000
Média dos val	0,0832	10,639	0,8857
Desvio padrão	0,1377	0,5034	0,4021
Friedman (Fr)	118,500	---	---
Graus de libe	2	---	---
(p) =	0,0027	---	---
Comparações: Diferença (p)	---	---	---
Ranks 1 e 2 :	15	< 0,05	---
Ranks 1 e 3 :	10,5	> 0,05	---
Ranks 2 e 3 :	4,5	> 0,05	---

Correlação única (Pearson) nos diferentes tratamentos SaS.

Correlação entre FI placa e F esmalte				
	KCl		CaCo3	
	FI	ppmFesm	FI	ppmFesm
Voluntários				
1 Celso	0,0	1782,45	0,8	1795,47
2 Gustavo	0,04	1204,02	1,8	1291,97
3 Mitsue	0,1	1197,87	2,3	2144,19
4 Cinthia	0,0	1147,98	0,9	1761,59
5 Alfredo	0,0	1782,04	1,6	1048,39
6 Marcelo	0,0	1669,04	0,8	1671,98
7 Patrick	0,1	1528,77	0,0	1188,87
8 Viviane	0,0	1139,60	0,5	1278,9
9 Ynara	0,0	1085,78	1,4	1686,66
10 Silvana	0,0	1380,59	3,6	1824,79
Média	0,02	1391,81	1,35	1669,28
dp	0,0	262,7	1,0	347,3

FI	ppmFesm
#REF!	1782,45
0,04	1204,02
0,1	1197,87
0,0	1147,98
0,0	1782,04
0,0	1669,04
0,1	1528,77
0,0	1139,60
0,0	1085,78
0,0	1380,59
0,8	1795,47
1,6	1291,97
2,3	2144,19
0,9	1761,59
1,8	1048,39
0,8	1671,98
0,0	1188,87
0,5	1278,9
1,4	1686,66
3,6	1824,79
0,0	878,51
1,1	2137,19
1,9	1824,47
0,8	2156,29
1,9	1437,87
0,6	1450,83
0,4	1621,92
0,6	1558,79
1,0	2273,97
1,2	1823,14

Voluntários		KCl
		FI
1	Celso	0,0
2	Gustavo	0,1
3	Mitsue	0,3
4	Cinthia	0,1
5	Alfredo	0,1
6	Marcelo	0,2
7	Patrick	0,2
8	Viviane	0,2
9	Ynara	0,4
10	Silvana	0
Média		0,16
dp		0,1

KCl	CaCo3
Fna forma	Fna forma
MFP	MFP
0,0	0,5
0,06	1,9
0,2	2,4
0,1	0,9
0,1	3,1
0,2	1,1
0,1	0,5
0,2	0,1
0,4	2,0
0	1,5
0,14	1,40
0,1	0,9

Apêndice 2

% perda mineral na distância de 50 µm

	KCl	CaCO ₃	SiO ₂
Voluntários	50µm	50µm	50µm
Celso	17,56	0,00	14,08
Gustavo	24,89	0,00	8,28
Misue	26,23	3,62	1,12
Cinthia	20,51	6,29	11,00
Alfredo	9,91	1,61	4,78
Marcelo	27,19	3,70	7,91
Patrick	9,92	4,89	9,60
Viviane	12,79	5,81	7,68
Ynera	26,04	2,47	8,01
Silvana	14,85	2,97	5,30
Média	18,87	3,14	7,79
dp	6,53	2,05	3,37

KCl	CaCO3	SiO2
Média	18,970439 Média	3,136 Média 7,792
Erro padrão	2,1766885 Erro padrão	0,682634289 Erro padrão 1,122110908
Mediana	19,03586 Mediana	3,295 Mediana 7,96
Modo	#N/D Modo	0 Modo #N/D
Desvio padrão	6,8832933 Desvio padrão	2,159311619 Desvio padrão 3,548426255
Variação da amostra	47,379726 Variação da amostra	4,662626667 Variação da amostra 12,59132889
Curtose	-1,801048 Curtose	-0,79749143 Curtose 0,870862654
Assimetria	-0,132167 Assimetria	-0,13481732 Assimetria -0,16376802
Intervalo	17,279191 intervalo	6,29 intervalo 12,96
Mínimo	9,9125158 Mínimo	0 Mínimo 1,12
Máximo	27,191707 Máximo	6,29 Máximo 14,08
Soma	189,70439 Soma	31,36 Soma 77,92
Contagem	10 Contagem	10 Contagem 10

KCl	CaCO ₃	SiO ₂
50µm	50µm	50µm
4,190525163	0	3,752332608
4,989333355	0	2,877498914
5,121723176	1,802628759	1,058300524
4,528931336	2,507987241	3,31682479
3,148414802	1,345362405	2,181742423
5,214566788	1,923538406	2,812472222
3,14958921	2,185640783	3,098386677
3,57689082	2,410394159	2,803569154
5,102484433	1,571623365	2,63019434
3,853922869	1,723368794	2,302172887

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	18,97043939	3,136
Variação	47,37972632	4,662626667
Observações	10	10
df	9	9
F	10,18159554	
P(F<=f) uni-caudal	0,00097838	
F crítico uni-caudal	3,178897146	

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	4,285638194	1,55505449
Variação	0,670827403	0,7975617
Observações	10	10
df	9	9
F	0,841097814	
P(F<=f) uni-caudal	0,4003963	
F crítico uni-caudal	0,314575033	

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ
Tratamentos	2	37,586
Blocos	9	3,749
Erro	18	14,307

p (tratamentos) =	0 ---
F (blocos) =	0,524 ---
p (blocos) =	0,8387 ---

Médias (tratamentos):	
Média (Coluna 1) =	42,857 ---
Média (Coluna 2) =	15,551 ---
Média (Coluna 3) =	27,033 ---
Newman-Keuls	Q (p)
Médias (1 a 2) =	96,856 < 0,01
Médias (1 a 3) =	56,126 < 0,01
Médias (2 a 3) =	40,729 < 0,01

Apêndice 3

% de perda mineral na distância de 75µm

		KCl	CaCO3	SiO2
	Voluntários	75µm	75µm	75µm
Celso	1	18,88	0,00	13,39
Gustavo	2	27,78	0,65	9,11
Mitsue	3	28,48	3,69	0,08
Cinthia	4	22,91	5,57	9,95
Alfredo	5	10,24	0,93	4,81
Marcelo	6	17,51	3,58	9,58
Patrick	7	14,51	6,11	6,94
Viviane	8	15,24	7,75	6,22
Ynara	9	32,66	1,00	8,07
Silvana	10	17,76	3,18	4,20
	Média	20,60	3,25	7,24
	DP	6,77	2,49	3,50

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Média	20,5969	Média 3,046
Erro padrão	2,256	Erro padrão 0,7262586
Mediana	18,32132	Mediana 3,38
Modo	#N/D	Modo #N/D
Desvio padrão	7,134098	Desvio padrão 2,2966313
Variancia da amostra	50,89535	Variancia da amostra 5,2745156
Curtose	-0,83469	Curtose -1,679449
Assimetria	0,413881	Assimetria 0,0571168
Intervalo	22,42114	Intervalo 6,11
Mínimo	10,24239	Mínimo 0
Máximo	32,66353	Máximo 6,11
Soma	205,969	Soma 30,46
Contagem	10	Contagem 10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	20,5969	3,046
Variancia	50,89535	5,274515556
Observações	10	10
gl	9	9
F	9,649295	
P(F<=f) uni-caudal	0,001194	
F crítico uni-caudal	3,178897	

falta newman keus

N K com 3,45

KCl	CaCO3	SiO2
75µm	75µm	75µm
4,34518075	0	3,659235
5,270327522	0,806226	3,018278
5,336303092	1,920937	0,282843
4,786484043	2,360085	3,154362
3,200374157	0,964385	2,193171
4,183922518	1,892089	3,095158
3,809444095	2,471841	2,634388
3,903906434	2,783882	2,493993
5,715201889	1	2,840775
4,214502918	1,783255	2,04939

média

2,872330654

QM

0,949

0,97416631

Rqm/média

0,339155351

Teste-F: duas amostras para variâncias

Média	4,476565	1,598268
Variancia	0,61919	0,768377
Observações	10	10
gl	9	9
F	0,805841	
P(F<=f) uni-caudal	0,376512	
F crítico uni-caudal	0,314575	

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	42,202	21,101
Blocos	9	4,037	0,449
Erro	18	17,082	0,949

F (tratamentos) =	222,354	---	---
p (tratamentos) =	0,0001	---	---
F (blocos) =	0,4726	---	---
p (blocos) =	0,8743	---	---

Médias (tratamentos):			
Média (Coluna 1) =	44,765	---	---
Média (Coluna 2) =	16,321	---	---
Média (Coluna 3) =	25,422	---	---

Newman-Keula	Q	(p)	
Médias (1 a 2) =	92,334	< 0.01	---
Médias (1 a 3) =	62,793	< 0.01	---
Médias (2 a 3) =	29,541	> 0.05	---

Apêndice 6

% perda mineral na distância de 100µm

		KCL	CaCO3	SiO2
	Voluntários	100µm	100µm	µm
Celso	1	19,93	0,00	12,69
Gustavo	2	26,95	0,07	8,58
Mitsue	3	30,10	2,65	0,00
Cinthia	4	25,74	5,64	10,56
Alfredo	5	10,31	1,73	3,75
Marcelo	6	21,57	4,11	8,64
Patrick	7	15,29	4,20	6,52
Viviane	8	17,47	8,58	6,36
Ynara	9	44,06	2,31	9,95
Silvana	10	19,08	1,10	5,55
	Média	23,05	3,04	7,26
	D.P.	8,92	2,53	3,47

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Média	23,05023 Média	3,039 Média 7,26
Erro padrão	2,971952 Erro padrão	0,844389 Erro padrão 1,1574263
Mediana	20,74922 Mediana	2,48 Mediana 7,55
Modo	#N/D Modo	#N/D Modo #N/D
Desvio padrão	9,398139 Desvio padrão	2,670191 Desvio padrão 3,6601032
Variancia da amostra	88,32501 Variancia da amostra	7,129921 Variancia da amostra 13,396356
Curtose	2,066248 Curtose	0,69218 Curtose 0,5087417
Assimetria	1,155063 Assimetria	0,921358 Assimetria -0,599387
Intervalo	33,74978 Intervalo	8,58 Intervalo 12,69
Mínimo	10,31305 Mínimo	0 Mínimo 0
Máximo	44,06283 Máximo	8,58 Máximo 12,69
Soma	230,5023 Soma	30,39 Soma 72,6
Contagem	10 Contagem	10 Contagem 10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	23,05023	3,039
Variancia	88,32501	7,129921111
Observações	10	10
gl	9	9
F	12,38794	
P(F<=f) uni-caudal	0,000452	
F crítico uni-caudal	3,178897	

KCL	CaCO3	SiO2
100µm	100µm	µm
4,464496	0	3,562302626
5,190953	0,264575	2,929163703
5,486369	1,627882	0
5,073705	2,374868	3,249615362
3,211393	1,315295	1,936491673
4,643997	2,027313	2,939387691
3,910801	2,04939	2,553429067
4,17931	2,929164	2,521904043
6,637984	1,519868	3,154362059
4,367873	1,048809	2,355843798

média
2,917552

QM
0,966
0,982853

Rqm/média
0,336876

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	4,716688	1,515716487
Variancia	0,892319	0,824003925
Observaçõ	10	10
gl	9	9
F	1,082906	
P(F<=f) un	0,45375	
F crítico ur	3,178897	

FONTES [GL	SQ	QM
Tratament	2	53,597 26,799
Blocos	9	7,150 0,794
Erro	18	17,381 0,966

F (tratame)	277,536	---	---
p (tratame)	0	---	---
F (blocos)	0,8228	---	---
p (blocos)	0,6043	---	---

Médias (tratamentos):

Média (Col	47,166	---	---
Média (Col	15,157	---	---
Média (Col	25,203	---	---

Newman-K Q (p)

Médias (1	103,010	< 0.01	---
Médias (1	70,683	< 0.01	---

Médias (2 a 3) = 32,327 < 0.05

Apêndice 7

% perda mineral na distância de 200µm

		KCl	CaCO3	SiO2
	Voluntários	200µm	200µm	200µm
Celso	1	22,25	0,00	14,88
Gustavo	2	30,79	0,16	8,16
Mitsue	3	32,29	1,88	1,69
Cíntia	4	26,24	8,05	8,17
Alfredo	5	11,53	1,68	4,42
Marcelo	6	29,57	4,54	9,67
Patrick	7	18,43	7,22	7,21
Viviane	8	16,75	7,77	8,03
Ynara	9	47,61	0,58	7,16
Silvana	10	28,66	2,59	5,67
	Média	26,41	3,45	7,51
		9,56	3,04	3,27

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Média	26,41075	Média 3,447 Média 7,506
Erro padrão	3,186904	Erro padrão 1,0139264 Erro padrão 1,091021
Mediana	27,44979	Mediana 2,235 Mediana 7,62
Modo	#N/D	Modo #N/D Modo #N/D
Desvio padrão	10,07787	Desvio padrão 3,2063169 Desvio padrão 3,450112
Variação da amostra	101,5636	Variação da amostra 10,280468 Variação da amostra 11,90327
Curtose	1,281883	Curtose -1,563742 Curtose 2,16944
Assimetria	0,68834	Assimetria 0,519539 Assimetria 0,606862
Intervalo	36,07858	Intervalo 8,05 Intervalo 13,19
Mínimo	11,52787	Mínimo 0 Mínimo 1,69
Máximo	47,60643	Máximo 8,05 Máximo 14,88
Soma	264,1075	Soma 34,47 Soma 75,06
Contagem	10	Contagem 10 Contagem 10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	26,41075	3,447
Variação	101,5636	10,28046778
Observações	10	10
gl	9	9
F	9,879274	
P(F<=f) uni-caudal	0,001091	
F crítico uni-caudal	3,178897	

KCl	CaCO3	SiO2
200µm	200µm	200µm
4,716629	0,000000	3,857460
5,549138	0,400000	2,858571
5,682721	1,371131	1,300000
5,122578	2,837252	2,858321
3,395272	1,296148	2,102380
5,437524	2,130728	3,109862
4,292626	2,687006	2,685144
4,092370	2,787472	2,833725
6,899741	0,761577	2,675818
5,353389	1,609348	2,381176

média
3,102764

QM
0,966
0,98285299

Rqm/média
0,316766961

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	5,054199	1,588066
Variação	0,962029	1,027829
Observações	10	10
gl	9	9
F	0,935982	
P(F<=f) uni-caudal	0,461555	
F crítico uni-caudal	0,314575	

FONTES DE VARIAÇÃO GL	SQ	QM
Tratamentos	2 62,933	31,466
Blocos	9 4,510	0,501
Erro	18 17,381	0,966

F (tratamentos) =	325,870	---	---
p (tratamentos) =	0	---	---
F (blocos) =	0,519	---	---
p (blocos) =	0,8423	---	---

Médias (tratamentos):			
Média (Coluna 1) =	50,542	---	---
Média (Coluna 2) =	15,881	---	---
Média (Coluna 3) =	26,660	---	---

Newman-Keuls	Q	(p)	
Médias (1 a 2) =	111,544	< 0.01	---
Médias (1 a 3) =	76,855	< 0.01	---
Médias (2 a 3) =	34,690	< 0.05	---

Apêndice 8

% perda mineral na distância de 300µm

		KCl	CaCO3	SiO2
	Voluntários	300µm	300µm-	300µm
Celso	1	25,21	1,67	15,87
Gustavo	2	25,59	0,00	7,61
Mitsue	3	33,58	2,28	1,40
Cinthia	4	28,26	10,10	9,82
Alfredo	6	11,76	1,11	4,68
Marcelo	6	29,71	6,17	8,58
Patrick	7	21,27	9,50	9,18
Viviane	8	19,10	6,77	8,64
Ynara	9	49,51	0,00	5,34
Silvana	10	30,93	2,56	7,67
	Média	27,49	4,02	7,88
		9,51	3,61	3,59

Coluna1	Coluna2	Coluna3	Coluna4
Média	27,4922	Média	4,016
Erro padrão	3,17007	Erro padrão	1,197963
Mediana	26,9224	Mediana	2,42
Modo	#N/D	Modo	0
Desvio padrão	10,0246	Desvio padrão	3,810107
Variação da amostra	100,494	Variação da amostra	14,51692
Curtose	2,23475	Curtose	-1,24367
Assimetria	0,85595	Assimetria	0,616955
Intervalo	37,7444	Intervalo	10,1
Mínimo	11,7644	Mínimo	0
Máximo	49,5088	Máximo	10,1
Soma	274,922	Soma	40,16
Contagem	10	Contagem	10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	27,4922	4,016
Variação	100,494	14,51691556
Observações	10	10
gl	9	9
F	6,92252	
P(F<=f) uni-caudal	0,00409	
F crítico uni-caudal	3,1789	

KCl	CaCO3	SiO2
300µm	300µm-	300µm
5,021275349	1,292285	3,983717
5,058346805	0	2,758623
5,794801077	1,509967	1,183216
5,315818099	3,17805	3,133688
3,42992415	1,053565	2,163331
5,45077938	2,483948	2,929164
4,612102579	3,082207	3,029851
4,370259907	2,601922	2,939388
7,036250862	0	2,310844
5,561423726	1,6	2,769476

Média

3,188474142

QM

0,995

0,997496867

RQM/Média

0,312844584

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	5,165098	1,680194
Variação	0,904403	1,325496
Observações	10	10
gl	9	9
F	0,682313	
P(F<=f) uni-caudal	0,289075	
F crítico uni-caudal	0,314575	

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	64,012	32,006
Blocos	9	6,951	0,772
Erro	18	17,917	0,995

F (tratamentos) =	321,543	---	---
p (tratamentos) =	0	---	---
F (blocos) =	0,7759	---	---
p (blocos) =	0,6413	---	---

Médias (tratamentos):			
Média (Coluna 1) =	51,851	---	---
Média (Coluna 2) =	16,802	---	---
Média (Coluna 3) =	27,201	---	---

Newman-Keuls	Q	(p)	
Médias (1 a 2) =	110,457	< 0.01	---
Médias (1 a 3) =	77,495	< 0.01	---
Médias (2 a 3) =	32,962	< 0.05	---

Apêndice 9

% perda mineral na distância de 400µm

		KCL	CaCO3	SiO2
	Voluntários	400µm	400µm	400µm
Celso	1	31,44	1,10	18,51
Gustavo	2	21,53	0,37	8,28
Mitsue	3	34,35	2,12	1,83
Cinthia	4	31,57	9,54	9,05
Alfredo	5	13,91	2,36	3,83
Marcelo	6	28,47	5,62	8,24
Patrick	7	20,77	8,72	9,21
Viviane	8	21,61	5,74	10,40
Ynara	9	44,08	0,00	5,69
Silvana	10	34,06	3,15	6,23
Média		28,18	3,87	8,13
DP		8,32	3,21	4,27

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Média	28,17643884	Média 3,872 Média 8,127
Erro padrão	2,774848847	Erro padrão 1,0697433 Erro padrão 1,424735
Mediana	29,95560825	Mediana 2,755 Mediana 8,26
Modo	#N/D	Modo #N/D
Desvio padrão	8,77484252	Desvio padrão 3,3828252 Desvio padrão 4,505407
Variancia da amostra	76,99786124	Variancia da amostra 11,443507 Variancia da amostra 20,29869
Curtose	-0,114111935	Curtose -0,914085 Curtose 2,871204
Assimetria	0,129361143	Assimetria 0,632831 Assimetria 1,188868
Intervalo	30,14903805	Intervalo 9,54 Intervalo 16,68
Mínimo	13,90807778	Mínimo 0 Mínimo 1,83
Máximo	44,05711583	Máximo 9,54 Máximo 18,51
Soma	281,7643884	Soma 38,72 Soma 81,27
Contagem	10	Contagem 10 Contagem 10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	28,17643884	3,872
Variancia	76,99786124	11,44350867
Observações	10	10
gl	9	9
F	6,728519805	
P(F<=f) uni-caudal	0,004522904	
F crítico uni-caudal	3,178897146	

KCL	CaCO3	SiO2
400µm	400µm	400µm
5,607027903	1,048809	4,302325
4,640120927	0,608276	2,877499
5,861116144	1,458022	1,352775
5,61905378	3,088689	3,008322
3,729353534	1,536229	1,957039
5,335958638	2,370654	2,87054
4,557046354	2,952865	3,034798
4,648461795	2,39583	3,224903 CV
6,637553452	0	2,385372
5,835746713	1,774824	2,495997

Média
3,240443534

QM
0,841
0,917060521

RQM/Média

Média
0,283004629

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	5,247144	1,72323
Variancia	0,715466	1,002755
Observações	10	10
gl	9	9
F	0,713501	
P(F<=f) uni-caudal	0,311577	
F crítico uni-caudal	0,314575	

FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	65,684	32,842
Blocos	9	5,917	0,657
Erro	18	15,140	0,841

F (tratamentos) =	390,466	---	---
p (tratamentos) =	0	---	---
F (blocos) =	0,7816	---	---
p (blocos) =	0,6368	---	---

Médias (tratamentos):			
Média (Coluna 1) =	52,471	---	---
Média (Coluna 2) =	17,232	---	---
Média (Coluna 3) =	27,510	---	---
Newman-Keuls	Q	(p)	
Médias (1 a 2) =	121,507	< 0.01	---
Médias (1 a 3) =	86,071	< 0.01	---
Médias (2 a 3) =	35,437	< 0.05	---

Apêndice 10

% de perda mineral na distância de 500µm

		KCl	CaCO3	SiO2
	Voluntários	500µm	500µm	500µm
Celso	1	32,16	0,00	17,51
Gustavo	2	21,34	0,00	7,16
Mitsue	3	33,52	2,51	1,12
Cinthia	4	25,14	9,64	10,30
Alfredo	5	16,06	0,25	4,70
Marcelo	6	28,84	5,27	8,29
Patrick	7	21,75	10,38	9,93
Viviane	8	22,45	6,91	10,34
Ynara	9	45,54	0,00	5,24
Silvana	10	36,89	1,95	6,10
	Média	28,37	3,69	8,07
	DP	8,36	3,87	4,18

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Média	28,36949578	Média 3,691 Média 8,069
Erro padrão	2,785997245	Erro padrão 1,2915335 Erro padrão 1,3949301
Mediana	26,98708305	Mediana 2,23 Mediana 7,725
Modo	#N/D	Modo 0 Modo #N/D
Desvio padrão	8,810096851	Desvio padrão 4,0841875 Desvio padrão 4,4111562
Variância da amostra	77,61780652	Variância da amostra 16,680588 Variância da amostra 19,458299
Curtose	0,068362284	Curtose -1,141964 Curtose 1,7411814
Assimetria	0,634783627	Assimetria 0,710675 Assimetria 0,7539632
Intervalo	29,47656939	Intervalo 10,38 Intervalo 16,39
Mínimo	16,05869575	Mínimo 0 Mínimo 1,12
Máximo	45,53526513	Máximo 10,38 Máximo 17,51
Soma	283,6949578	Soma 36,91 Soma 80,69
Contagem	10	Contagem 10 Contagem 10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	28,36949578	3,691
Variância	77,61780652	16,68058778
Observações	10	10
gl	9	9
F	4,653181743	
P(F<=f) uni-caudal	0,015847205	
F crítico uni-caudal	3,178897146	

Raiz de X		
KCl	CaCO3	SiO2
500µm	500µm	500µm
5,671116582	0	4,184495
4,619986234	0	2,675818
5,790042923	1,584298	1,058301
5,013810206	3,104835	3,209361
4,007330252	0,5	2,167948
5,369904405	2,295648	2,879236
4,663978106	3,221801	3,151119
4,738547368	2,628688	3,215587
6,747982301	0	2,289105
6,07370354	1,396424	2,469818

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	5,269964	1,473169
Variância	0,667098	1,689747
Observações	10	10
gl	9	9
F	0,394792	
P(F<=f) uni-caudal	0,091205	
F crítico uni-caudal	0,314575	

FONTES DE VARIAÇÃO/ GL	SQ	QM	
Tratamentos	2	74,808	37,404 Média
Blocos	9	7,491	0,832 3,157631807
Erro	18	19,877	1,104 QM
			1,104
F (tratamentos) =	338,713	---	1,050,714
p (tratamentos) =	0	---	RQM/média
F (blocos) =	0,7537	---	0,332753
p (blocos) =	0,6591	---	
	---	---	
Médias (tratamentos):			
Média (Coluna 1) =	52,696	---	
Média (Coluna 2) =	14,732	---	
Média (Coluna 3) =	27,301	---	
	---	---	
Newman-Keuls	Q	(p)	
Médias (1 a 2) =	114,245	< 0.01	---
Médias (1 a 3) =	76,421	< 0.01	---
Médias (2 a 3) =	37,824	< 0.05	---

Apêndice 11

% perda mineral na distância de 1000µm

		KCL	CaCO3	SiO2
	Voluntário	1000 µm	1000µm	1000µm
Celso	1	28,80	2,77	19,64
Gustavo	2	17,06	0,00	9,09
Mitsue	3	36,38	1,68	1,52
Cinthia	4	26,71	5,69	10,64
Alfredo	5	22,17	0,00	1,99
Marcelo	6	24,62	4,81	6,07
Patrick	7	16,88	12,78	8,75
Viviane	8	16,94	5,98	8,66
Ynara	9	27,29	0,82	5,13
Silvana	10	32,63	1,99	5,97
	Média	24,95	3,65	7,75
	DP	6,42	3,69	4,88

Coluna1	Coluna2	Coluna3
Média	24,94793466	Média 3,652 Média 7,746
Erro padrão	2,14063573	Erro padrão 1,230888 Erro padrão 1,626836
Mediana	25,66312462	Mediana 2,38 Mediana 7,365
Modo	#N/D	Modo 0 Modo #N/D
Desvio padrão	6,769284547	Desvio padrão 3,892411 Desvio padrão 5,144506
Variância da amostra	45,82321328	Variância da amostra 15,15086 Variância da amostra 26,46594
Curtose	-0,89989813	Curtose 2,729072 Curtose 2,750403
Assimetria	0,211086914	Assimetria 1,531081 Assimetria 1,275919
Intervalo	19,49747162	Intervalo 12,78 Intervalo 18,12
Mínimo	16,87986909	Mínimo 0 Mínimo 1,52
Máximo	36,37734071	Máximo 12,78 Máximo 19,64
Soma	249,4793466	Soma 36,52 Soma 77,46
Contagem	10	Contagem 10 Contagem 10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	24,94793466	3,652
Variância	45,82321328	15,15086222
Observações	10	10
gl	9	9
F	3,024462411	
P(F<=f) uni-caudal	0,057369945	
F crítico uni-caudal	3,178897146	

Média 3,178897146

QM 0,822
0,906642157

RQM/média
0,285206509

KCL	CaCO3	SiO2
1000 µm	1000µm	1000µm
5,366852612	1,664331698	4,431704
4,130427658	0	3,014963
6,031363068	1,29614814	1,232883
5,168189945	2,385372088	3,261901
4,708173073	0	1,410674
4,961457643	2,19317122	2,463737
4,108511785	3,574912586	2,95804
4,115869952	2,445403852	2,942788
5,224333779	0,905538514	2,26495
5,712390516	1,410673598	2,443358

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	4,952757005	1,587555
Variância	0,464591901	1,25741
Observações	10	10
gl	9	9
F	0,36948336	
P(F<=f) uni-caudal	0,077074165	
F crítico uni-caudal	0,314575033	

FONTES DE VARIAÇÃO GL

	GL	SQ
Tratamentos	2	59,249
Blocos	9	8,326 QM
Erro	18	14,804 29,625
F (tratamentos) =	360,214	0,925
p (tratamentos) =	0	0,822
F (blocos) =	11,249	
p (blocos) =	0,3951	
Médias (tratamentos):		
Média (Coluna 1) =	49,528	
Média (Coluna 2) =	15,876	
Média (Coluna 3) =	26,425	
Newman-Keuls	Q	(p)
Médias (1 a 2) =	117,345	< 0.01
Médias (1 a 3) =	80,559	< 0.01
Médias (2 a 3) =	36,786	< 0.05

Apêndice 12

ANALISE DO FLÚOR NO BLOCO DE ESMALTE DENTAL (BIOPSIA).

(Perda Mineral)

Adicionar 0,25 mL de HCl 0,5M, coloca-se o bloco de esmalte denta e agita por 30 segundos, após esse tempo neutraliza com Tisab II pH5,0 (20g NaOH/L) estando assim pronto para análise potenciométrica.

FAZER CURVA DE CALIBRAÇÃO DE 0.0625 A 4.0 ppmF

Blank

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

1,0 mL de HCl 0,5M

Teste Baixa

0,5 mL de padrão de 1,0 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

Teste Alta

0,5 mL de padrão de 10,0 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

0,0625 ppm

0,5 mL de padrão de 0,25 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

0,250ppm

0,5 mL de padrão de 1,0 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

1,0 ppm

0,5 mL de padrão de 4,0 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

4,0 ppm

0,5 mL de padrão de 16,0 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

0,125 ppm

0,5 mL de padrão de 0,5 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

0,500 ppm

0,5 mL de padrão de 2,0 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

2,0 ppm

0,5 mL de padrão de 8,0 ppm

0,5 mL de HCl M

1,0 mL de Tisab II (20g NaOH/L)

APÓS A ANALISE DA BIOPSIA FAZER DOSAGEM DE FOSFORO

	Blank	Padrão	Padrão	Padrão	Padrão	Amostra
Água dest. e dionizada	2,3	2,2	2,1	1,9	1,5	2,2
Padrão Fosforo 3 mg %	-	0,1	0,2	0,4	0,8	-
Amostra	-	-	-	-	-	0,1
Ac. Molibdeo	0,5 mL em todos agitar e esperar 10 minutos					
R. Redutor	0,2 mL em todos agitar imediatamente e esperar 20 minutos e ler					
D.º 680 nm						
µg/mL	0	3	6	12	24	-

Calcule conforme o volume utilizado de amostra

Volume	Valor de calculo
0,05	5,88-5
0,1	2,94-5
0,2	1,47-5
0,25	1,176-5

Apêndice 13

Silvana
10-02-00
Biopsia

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

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

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %
0,0625	2	0,125	-0,90309	158,6	-0,897223	0,127	1,36
0,125	2	0,250	-0,60206	141,3	-0,60354	0,249	-0,34
0,25	2	0,500	-0,30103	124	-0,309857	0,490	-2,01
0,5	2	1,000	0	105,8	-0,000897	0,998	-0,21
1	2	2,000	0,30103	87,7	0,3063667	2,025	1,24
2	2	4,000	0,60206	69,3	0,6187228	4,156	3,91
4	2	8,000	0,90309	50,9	0,9310788	8,533	6,66
média							1,52

Para Curva de Baixa

Intercepção 1,79515
Inclinação -0,01698
Rquad 0,99984

Para Curva de Alta

Intercepção 1,74089
Inclinação -0,01644
Rquad 0,99998

	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.	ppm F esp.	C.V. %
Blanck	204,1	-1,66962	0,021	0			
T. Baixa	122,9	-0,29118	0,511	0,500	1,023	1,00	
T. Baixa	122,7	-0,28779	0,515	0,500	1,031	1,00	
				Média	1,027		-2,69
T. Alta	62,8	0,708427	5,110	5,000	10,220	10,00	
T. Alta	63	0,705139	5,072	5,000	10,143	10,00	
				Média	10,182		-1,82

mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada	Dist. Sup.
	1,740889	55,067		0,0000000			0	#DIV/0!	µm	µm
	1,740889	55,067		0,0000000			0	#DIV/0!	ppm F	#DIV/0!
	1,795151	62,395		0,0000000			0	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!

Camada

Dist. Sup.

Apêndice 14

Silvana
10-02-00
Biopsia

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

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

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %	
0,0625	2	0,125	-0,90309	158,6	-0,8911	0,128	2,80	
0,125	2	0,250	-0,60206	141,3	-0,60148	0,250	0,13	
0,25	2	0,500	-0,30103	124	-0,31186	0,488	-2,46	
0,50	2	1,000	0	105,8	-0,00717	0,984	-1,64	
1,00	2	2,000	0,30103	87,7	0,295838	1,976	-1,19	Média C.V.
2,00	2	4,000	0,60206	69,3	0,603873	4,017	0,42	-0,47
4,00	2	8,000	0,90309	50,9	0,911909	8,164	2,05	Média C.V.
								-0,09

Para Curva Total

Intercepção 1,764028
Inclinação -0,016741
Rquad 0,99983

Para Curva de Baixa

Intercepção 1,79515
Inclinação -0,01698
Rquad 0,99984

Para Curva de Alta

Intercepção 1,74089
Inclinação -0,01644
Rquad 0,99998

	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.	ppm F esp.	C.V. %
Blank	204,1	-1,65282	0,022	0			
T. Baixa	122,9	-0,29345	0,509	0,500	1,018	1,00	
T. Baixa	122,7	-0,2901	0,513	0,500	1,025	1,00	
			Média		1,022		-2,16
T. Alta	62,8	0,71269	5,160	5,000	10,321	10,00	
T. Alta	63	0,709342	5,121	5,000	10,242	10,00	
			Média		10,281		-2,81

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada µm	ppm F	Dist. Sup. µm
28 KCL	115,6	-0,17124	0,674	15,430	0,0004536	4,88	1,47	7,1736	0,093978	21,08	1486,11	21,08
20 CaCO3	112,9	-0,12604	0,748	18,590	0,0005465	4,95	1,90	9,405	0,079544	19,37	1368,79	40,45
22 CaCO3	121,5	-0,27001	0,537	17,590	0,0005171	5,19	1,77	9,1863	0,058459	18,77	1038,43	18,77
23 CaCO3	96,1	0,155213	1,430	22,530	0,0006624	5,08	1,99	10,1092	0,141415	21,84	2158,27	21,84
33 KCL	127,7	-0,3738	0,423	13,600	0,0003998	5,25	1,34	7,035	0,060108	18,95	1057,57	18,95

Apêndice 15

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

18-02-00

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

Biopsia

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %	Para Curva Total	
0,0625	2	0,125	-0,903089987	158,7	-0,883094086	0,131	4,71	Intercepção	1,760645
0,125	2	0,250	-0,602059991	140,3	-0,606404127	0,248	-1,00	Inclinação	-0,016871
0,25	2	0,500	-0,301029996	123,1	-0,316217096	0,483	-3,44	Rquad	0,99961
0,50	2	1,000	0	104,8	-0,007471593	0,983	-1,71		
1,00	2	2,000	0,301029996	86,7	0,297899643	1,986	-0,72	Média C.V.	-0,43
2,00	2	4,000	0,602059991	69	0,598522343	3,949	-1,27		
4,00	2	8,000	0,903089987	49,9	0,918764917	8,294	3,68	Média C.V.	0,00
									mV log F calc.
									Blank 202,7 -1,65918
									T. Balxa 122,5 -0,30609
									T. Balxa 122,3 -0,30272

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	µm	Camada
54 KCL	128,5	-0,407322327	0,391	10,720	0,0006303	5,12	2,34	11,9808	0,032673	17,54	
55KCL	85,5	0,318145249	2,080	9,170	0,0005392	5,26	1,94	10,2044	0,203872	17,61	
56KCL	90,6	0,232101421	1,706	9,113	0,0005358	5,21	1,72	8,9612	0,19043	19,93	
57KCL	124,2	-0,334775569	0,463	5,817	0,0003420	5,07	1,46	7,4022	0,062498	15,40	
58KCL	112,5	-0,137380903	0,729	12,830	0,0007544	5,48	2,19	12,0012	0,060729	20,95	
59KCL	107,1	-0,046275673	0,899	12,100	0,0007115	5,23	2,42	12,6566	0,071024	18,74	
60KCL	115,8	-0,193056322	0,641	12,470	0,0007332	5,16	2,27	11,7132	0,054735	20,87	
61KCL	102,5	0,031332487	1,075	8,545	0,0005024	5,16	1,96	10,1136	0,106274	16,56	
62CaCO3	109,2	-0,081705485	0,829	8,788	0,0005167	5,04	2,06	10,3824	0,079799	16,59	
63CaCO3	99,2	0,087007905	1,222	4,944	0,0002907	5,06	2,67	13,5102	0,090437	7,17	
64CaCO3	132,8	-0,479869085	0,331	9,000	0,0005292	4,91	2,11	10,3601	0,031972	17,03	
65CaCO3	78,3	0,43961889	2,752	10,220	0,0006009	5,87	2,54	14,9098	0,184564	13,43	
66CaCO3	123,5	-0,322965632	0,475	11,770	0,0006921	4,92	1,85	9,102	0,052227	25,35	Diet. Sup.
67CaCO3	112,2	-0,132319501	0,737	9,382	0,0005517	5,03	1,85	9,3055	0,079239	19,76	µm
68CaCO3	130,4	-0,439377871	0,364	9,482	0,0005575	4,97	2,06	10,2382	0,035514	18,15	17,54
69CaCO3	141,6	-0,628336868	0,235	9,596	0,0005642	5,20	1,70	8,84	0,02662	21,28	35,15
70SiO3	111,8	-0,125570966	0,749	14,480	0,0008514	5,27	2,23	11,7521	0,063726	24,15	19,93
71SiO3	110,1	-0,09688969	0,800	13,130	0,0007720	4,81	1,99	9,5719	0,083582	26,89	15,40
72SiO3	88,7	0,264156965	1,837	12,590	0,0007403	5,12	2,17	11,1104	0,165359	22,21	20,95
73SiO3	87,2	0,289463973	1,947	11,120	0,0006539	5,27	2,34	12,3318	0,15792	17,67	18,74
74SiO3	102,1	0,038081022	1,092	8,291	0,0004875	5,05	2,39	12,0696	0,090446	13,46	20,87
75SiO3	95,9	0,142683324	1,389	12,450	0,0007321	5,26	2,48	13,0448	0,106475	18,71	16,56
76SiO3	112,5	-0,137380903	0,729	11,320	0,0006656	5,30	2,04	10,812	0,067408	20,52	16,59
77SiO3	95,3	0,152806127	1,422	12,110	0,0007121	5,11	2,64	13,4904	0,105386	17,59	7,17
										17,03	
										13,43	

Estas dosagens de fósforo foram feitas com 0,050 ml de amostra

Apêndice 16

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

13-03-00 **TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M**

Biópsia

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.v. %
0,0625	2	0,125	-0,90309	168,1	-0,89681	0,127	1,46
0,125	2	0,250	-0,60206	140,8	-0,60549	0,248	-0,79
0,25	2	0,500	-0,30103	122,6	-0,29733	0,504	0,85
0,50	2	1,000	0	105,3	-0,0077	0,982	-1,76
1,00	2	2,000	0,30103	87,2	0,297094	1,982	-0,90
2,00	2	4,000	0,60206	69,3	0,598518	3,968	-0,81
4,00	2	8,000	0,90309	50,7	0,91173	8,161	2,01

Média C.V.

-0,23

Média C.V.

-0,37

Para Curva Total

Intercepção **1,785484**

Inclinação **-0,016839**

Rquad **0,99991**

Blanck

T. Baixa

T. Baixa

T. Alta

T. Alta

Para Curva de Baixa

Intercepção **1,78343**

Inclinação **-0,01698**

Rquad **0,99992**

mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.
197,4	-1,5586	0,028	0	
122,9	-0,30407	0,497	0,500	0,993
122,3	-0,29397	0,508	0,500	1,016
			Média	1,005
63,5	0,696186	4,968	5,000	9,936
62,9	0,70629	5,085	5,000	10,170
			Média	10,053

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

											Canada	Dist. Sup.
Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	µm	ppm F	µm
78CaCO3	108,9	-0,08832	0,854	9,065	0,0005330	5,21	1,97	10,2637	0,083249	17,31	1603,01	17,31
79CaCO3	118,9	-0,23671	0,580	7,011	0,0004122	5,36	1,72	9,2192	0,062892	14,91	1406,47	32,22
80CaCO3	113,7	-0,14915	0,709	8,023	0,0004718	5,00	1,74	8,7	0,081533	18,07	1503,62	18,07
81CaCO3	118,1	-0,18956	0,646	10,000	0,0005880	5,15	1,96	10,094	0,064029	19,42	1099,16	19,42
82CaCO3	123,4	-0,31249	0,487	9,160	0,0005386	5,18	1,81	9,3758	0,05194	18,15	904,14	19,15
83CaCO3	105,2	-0,00601	0,986	7,283	0,0004282	5,30	2,09	11,077	0,089036	12,89	2303,02	12,89
84CaCO3	106,4	-0,02622	0,941	10,530	0,0006192	4,82	2,05	9,881	0,095275	20,89	1520,45	20,89
85CaCO3	90	0,249944	1,778	7,101	0,0004175	5,23	2,19	11,4537	0,155238	12,15	4258,41	12,15
86KCL	105,6	-0,01275	0,971	9,936	0,0005842	4,81	1,98	9,7218	0,099886	20,03	1662,12	20,03
87KCL	115,5	-0,17946	0,662	8,195	0,0004819	5,05	2,15	10,8575	0,060927	14,79	1372,82	14,79
88KCL	114	-0,1542	0,701	8,456	0,0004972	4,95	1,86	9,207	0,076152	18,00	1410,12	18,00
89KCL	98	0,115229	1,304	9,943	0,0005846	5,01	1,87	8,3687	0,155839	23,29	2230,15	23,29
90KCL	128,1	-0,39163	0,406	11,670	0,0006862	4,78	2,00	9,56	0,042453	23,93	591,45	23,93
91KCL	127,5	-0,38153	0,415	9,684	0,0005894	4,97	1,89	9,3933	0,044223	20,21	729,52	20,21
92KCL	126,3	-0,38132	0,435	9,080	0,0005339	4,96	1,88	8,3328	0,052226	21,38	815,10	21,38
93KCL	119,8	-0,25187	0,560	11,800	0,0006821	4,92	2,10	10,332	0,054194	22,01	820,91	22,01
94SiO2	118,5	-0,22998	0,589	9,310	0,0005474	5,08	1,75	8,89	0,08624	20,53	1075,71	20,53
95SiO2	101,5	0,056291	1,138	9,530	0,0005804	5,06	2,10	10,626	0,107133	17,58	2031,52	17,58
96SiO2	119,4	-0,24513	0,569	7,368	0,0004332	5,09	1,89	8,6201	0,059114	15,01	1312,62	15,01
97SiO2	126,5	-0,36469	0,432	9,299	0,0005468	4,80	2,04	9,792	0,0441	18,61	789,78	18,61
98SiO2	96	0,148908	1,409	8,119	0,0004774	5,10	2,04	10,404	0,135428	15,30	2951,40	15,30
99SiO2	138,6	-0,56845	0,270	7,369	0,0004333	5,00	1,93	9,65	0,027991	14,97	623,40	14,97
100SiO2	117,2	-0,20809	0,619	8,465	0,0004977	4,97	2,09	10,3873	0,059623	15,97	1244,26	15,97
101SiO2	113,2	-0,14073	0,723	8,343	0,0004908	5,06	1,80	9,108	0,079405	17,95	1474,25	17,95
102SiO2	119,1	-0,24008	0,575	5,957	0,0003503	4,76	1,83	8,7108	0,086048	13,40	1642,53	13,40
103KCL	98,6	0,138804	1,377	10,130	0,0005956	5,12	2,16	11,0592	0,124475	17,95	2311,09	17,95
104KCL	124,3	-0,32765	0,470	9,388	0,0005520	4,73	2,00	9,46	0,049712	19,45	851,93	19,45
105KCL	104,3	0,009141	1,021	9,569	0,0005627	5,21	1,84	9,5864	0,106533	19,56	1815,09	19,56
106KCL	137,5	-0,54992	0,282	9,554	0,0005618	4,96	1,93	9,5728	0,029447	19,56	501,78	19,56
107KCL	122	-0,28891	0,514	7,988	0,0004685	5,01	1,85	9,2685	0,055472	16,85	1097,38	16,85
108KCL	134,3	-0,49804	0,319	8,562	0,0005034	5,20	1,89	9,828	0,032471	17,08	633,88	17,08
109KCL	138,4	-0,56508	0,272	6,348	0,0003733	5,17	1,71	8,8407	0,030792	14,07	729,30	14,07

Estas dosagens de fósforo foram feitas com 0,050 ml de amostra

Apêndice 17

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

18-03-00 TISAB II (20g NaOH/L) : HCl 0,5 M

Biópsia

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %
0,0625	2	0,125	-0,90309	156,5	-0,88926	0,129	3,24
0,125	2	0,250	-0,60206	139,9	-0,61036	0,245	-1,89
0,25	2	0,500	-0,30103	121,6	-0,3029	0,498	-0,43
0,50	2	1,000	0	104	-0,0072	0,984	-1,64
1,00	2	2,000	0,30103	96	0,295219	1,973	-1,33
2,00	2	4,000	0,60206	87,7	0,602679	4,006	0,14
4,00	2	8,000	0,90309	40,3	0,911819	8,162	2,03
				Média C.V.	-0,41		
				Média C.V.	-0,20		

Para Curva Total

Para Curva de Balça

Intercepção	1,740113	Intercepção	1,78780	
Inclinação	-0,016801	Inclinação	-0,01701	
Rquad	0,98983	Rquad	0,99979	
mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.
200,5	-1,82851	0,024	0	
121,3	-0,29786	0,504	0,500	1,007
121	-0,29282	0,510	0,500	1,019
			Média	1,013
62,4	0,691725	4,917	5,000	9,835
61,7	0,703485	5,052	5,000	10,105
			Média	9,970

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Canada	ppm F	Dist. Sup.
110CaCO3	96,2	0,123848	1,330	11,420	0,0006715	5,19	2,08	10,6914	0,124398	20,94	1980,64	20,94
111CaCO3	101	0,043203	1,105	9,145	0,0005377	5,31	2,01	10,8731	0,103493	18,79	2054,20	37,73
112CaCO3	120,1	-0,2777	0,528	10,580	0,0006221	5,15	2,01	10,3515	0,050988	20,03	848,08	20,03
113CaCO3	126,8	-0,39027	0,407	5,831	0,0003311	5,26	2,23	11,7298	0,034709	9,41	1229,62	9,41
114CaCO3	108	-0,0744	0,843	8,711	0,0005122	5,17	1,86	9,8162	0,087618	17,75	1644,94	17,75
115CaCO3	113,2	-0,16177	0,689	7,524	0,0004424	5,32	1,79	9,5228	0,072354	15,49	1557,41	15,49
116CaCO3	92	0,194413	1,565	9,856	0,0005795	5,12	1,83	9,3696	0,16699	20,62	2699,82	20,62
117CaCO3	112,7	-0,15337	0,702	8,080	0,0004751	4,92	2,47	12,1524	0,057805	13,03	1478,57	13,03
126CaCO3	84,3	0,15577	1,431	11,020	0,0006480	5,00	2,27	11,35	0,126117	19,03	2209,08	19,03
127CaCO3	104,8	-0,02064	0,954	7,322	0,0004305	5,14	2,52	12,9528	0,07362	11,08	2214,89	11,08
128CaCO3	123,3	-0,33146	0,468	8,283	0,0004859	4,92	2,20	10,824	0,043068	14,96	959,45	14,96
129CaCO3	106,4	-0,04752	0,898	8,723	0,0005129	4,99	1,98	9,7804	0,091847	17,48	1747,57	17,48
130CaCO3	133,4	-0,50115	0,315	10,050	0,0005909	5,17	1,94	10,0298	0,031445	19,64	533,71	19,64
131CaCO3	111,5	-0,13321	0,736	8,683	0,0005106	5,04	2,36	11,8944	0,061866	14,31	1441,27	14,31
132CaCO3	92,7	0,182652	1,523	10,920	0,0006421	5,10	2,14	10,914	0,13953	18,61	2371,66	18,61
133CaCO3	89,9	0,229695	1,697	10,000	0,0005880	5,45	2,02	11,009	0,154151	17,80	2888,14	17,80
134KCL	123,2	-0,32978	0,468	7,473	0,0004394	5,32	2,48	13,1936	0,03547	11,10	1064,99	11,10
135KCL	127,4	-0,40035	0,398	9,473	0,0005570	5,09	2,44	12,4198	0,032029	14,95	714,15	14,95
136KCL	119,2	-0,26258	0,546	7,955	0,0004878	5,10	2,14	10,914	0,050054	14,29	1167,90	14,29
137KCL	103,8	-0,00384	0,991	12,780	0,0007515	5,09	2,35	11,9815	0,082866	20,94	1319,02	20,94
138KCL	1273	-19,8477	0,000	12,940	0,0007809	5,29	2,36	12,4844	1,8E-21	20,32	0,00	20,32
139KCL	105,6	-0,03408	0,925	13,470	0,0007920	4,99	2,46	12,2754	0,075315	21,51	1167,27	21,51
140KCL	92,5	0,186012	1,535	9,838	0,0005785	5,14	2,50	12,85	0,119429	15,01	2652,94	15,01
141KCL	109,9	-0,10633	0,783	12,130	0,0007132	4,99	2,49	12,4251	0,063005	19,13	1097,58	19,13
142SiO2	108,1	-0,07608	0,839	9,434	0,0005547	5,25	1,96	10,29	0,081564	17,97	1513,01	17,97
143SiO2	122,2	-0,31298	0,486	7,742	0,0004552	4,97	2,09	10,3873	0,046829	14,61	1068,54	14,61
144SiO2	111,9	-0,13993	0,725	10,130	0,0005956	5,27	2,28	12,0156	0,060301	16,52	1216,42	16,52
146SiO2	93,2	0,174251	1,494	8,861	0,0004034	5,59	2,14	11,8628	0,124881	11,24	3702,43	11,24
146SiO2	100,5	0,051603	1,128	11,300	0,0006644	5,10	2,36	12,036	0,093567	18,40	1694,91	18,40
147SiO2	142	-0,64564	0,226	4,175	0,0002455	4,90	2,47	12,103	0,018684	6,76	921,14	6,76
148SiO2	132,5	-0,48603	0,327	8,194	0,0003642	5,00	2,46	12,3	0,02655	9,87	896,64	9,87
149SiO2	114,7	-0,18697	0,650	5,635	0,0003313	5,23	2,55	13,3365	0,046751	8,28	1962,26	8,28
150SiO2	87,9	0,263297	1,834	5,581	0,0003282	5,10	2,27	11,577	0,15838	9,45	5587,37	9,45
151SiO2	116,9	-0,22393	0,597	6,513	0,0003630	5,17	4,98	1,97	0,303109	4,96	1559,22	4,96
152SiO2	115,9	-0,20713	0,621	6,503	0,0003236	5,17	4,91	2,22	0,279585	4,25	1918,18	4,25

Apêndice 18

Silvana
20-03-00
Biopsia

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

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %	
0,0625	2	0,125	-0,90309	157,4	-0,89541	0,127	1,79	
0,125	2	0,250	-0,60206	139,3	-0,60345	0,249	-0,32	
0,25	2	0,500	-0,30103	122	-0,30482	0,496	-0,87	
0,50	2	1,000	0	104,1	-0,0062	0,988	-1,42	
1,00	2	2,000	0,30103	86,8	0,289104	1,991	-0,44	Média C.V.
2,00	2	4,000	0,60206	67,7	0,601068	3,991	-0,23	
4,00	2	8,000	0,90309	49,2	0,909705	8,123	1,53	Média C.V.

Para Curva Total		Para Curva de Baixa	
Intercepção	1,730514	Intercepção	1,74787
Inclinação	-0,018883	Inclinação	-0,01882
Rquad	0,99994	Rquad	0,99994
mV		log F calc.	µg F calc.
Blank	200,1	-1,60777	0,025
T. Baixa	121,2	-0,29148	0,511
T. Baixa	121,6	-0,29815	0,503
Média		Média	
Média		Média	
T. Alta	62	0,696162	4,968
T. Alta	62,1	0,694494	4,949
Média		Média	
Média		Média	

Biopsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada	µm	ppm F	Dist. Sup.
163SIO2	105,2	-0,02455	0,945	12,790	0,0007521	5,31	2,08	11,0448	0,085585	22,70	1256,62	22,70	
164SIO2	88,9	0,247387	1,768	14,030	0,0008250	4,93	2,24	11,0432	0,160083	24,90	2142,65	47,60	
165SIO2	77,4	0,439242	2,749	15,070	0,0008861	4,96	2,19	10,8624	0,253114	27,19	3102,78	27,19	
166SIO2	110,5	-0,11297	0,771	10,710	0,0006297	5,04	2,01	10,1304	0,076104	20,72	1224,24	20,72	
167SIO2	105,9	-0,03623	0,920	11,170	0,0006588	4,93	2,39	11,7827	0,078078	18,58	1400,69	18,58	
168KCL	111	-0,12131	0,756	10,740	0,0006315	5,13	2,26	11,5938	0,065233	18,16	1197,59	18,16	
169KCL	118,7	-0,24977	0,583	10,830	0,0008368	4,96	2,13	10,5648	0,053256	20,09	883,54	20,09	
160KCL	92	0,195669	1,569	11,400	0,0008703	5,17	2,12	10,9804	0,143167	20,38	2340,92	20,38	
161KCL	87,1	0,277418	1,894	8,461	0,0004975	5,21	2,64	13,7544	0,137713	12,08	3807,30	12,08	
162KCL	106	-0,03789	0,916	11,530	0,0006780	5,16	2,69	13,8804	0,088024	18,28	1351,76	18,28	
163KCL	102,9	0,013823	1,032	10,790	0,0008345	5,10	2,21	11,2710	0,091593	18,76	1627,14	18,76	
164KCL	122,9	-0,31884	0,479	9,764	0,0005741	5,20	1,80	9,36	0,051155	20,45	833,98	20,45	
165KCL	105,6	-0,03122	0,931	7,688	0,0004519	5,30	2,19	11,607	0,080179	12,98	2059,21	12,98	
166SIO2	105,9	-0,03623	0,920	11,100	0,0008527	5,05	2,19	11,0595	0,083184	19,67	1409,53	19,67	
167SIO2	104,8	-0,01787	0,960	13,390	0,0007873	5,06	2,58	13,0548	0,073511	20,10	1218,90	20,10	
168SIO2	100,1	0,080538	1,150	10,630	0,0006250	5,01	2,14	10,7214	0,107222	19,43	1839,18	19,43	
169SIO2	97,7	0,100575	1,281	12,450	0,0007321	5,32	2,25	11,97	0,105313	20,39	1721,98	20,39	
170SIO2	115,5	-0,19636	0,636	9,844	0,0005788	5,21	2,08	10,8368	0,05871	17,80	1099,18	17,80	
171SIO2	98,8	0,11559	1,305	14,480	0,0008514	4,98	2,35	11,703	0,111505	24,25	1532,65	24,25	
172SIO2	101,8	0,032175	1,077	9,602	0,0005646	4,96	2,22	11,0112	0,0978	17,09	1907,37	17,09	
173SIO2	119,5	-0,26312	0,548	10,570	0,0006215	5,10	2,21	11,271	0,048408	18,38	877,87	18,38	
174CaCO3	105,4	-0,02788	0,938	10,510	0,0006180	5,16	1,76	9,0816	0,103285	22,68	1517,52	22,68	
175CaCO3	127,8	-0,40159	0,397	13,070	0,0007685	5,03	1,99	10,0097	0,039627	25,59	516,13	25,59	
176CaCO3	100,3	0,057199	1,141	10,010	0,0005888	5,03	2,07	10,4121	0,109562	18,84	1938,15	18,84	
177CaCO3	100,2	0,058888	1,145	9,628	0,0005661	4,88	2,12	10,3456	0,110691	18,24	2022,81	18,24	
178CaCO3	98,6	0,08556	1,218	9,930	0,0005839	4,90	2,08	10,192	0,119482	19,10	2085,61	19,10	
179CaCO3	118,5	-0,24643	0,567	10,630	0,0006250	5,14	2,11	10,8454	0,052278	19,21	907,10	19,21	
180CaCO3	111,7	-0,13299	0,736	12,210	0,0007179	5,39	1,92	10,3488	0,071141	23,13	1025,46	23,13	
181CaCO3	134,2	-0,50836	0,310	24,150	0,0014200	5,12	2,01	10,2912	0,030142	45,99	218,45	45,99	
182CaCO3	103,9	-0,00286	0,993	13,550	0,0007967	4,90	2,12	10,388	0,085633	25,57	1246,88	25,57	
183CaCO3	83,4	0,339144	2,183	15,070	0,0008861	4,92	1,91	9,3972	0,232351	31,43	2484,07	31,43	
184CaCO3	76,9	0,447584	2,803	13,770	0,0008097	5,35	2,36	12,626	0,221982	21,38	3461,56	21,38	
185CaCO3	86,6	0,285758	1,931	13,980	0,0008220	5,06	1,88	9,5128	0,202978	28,80	2348,95	28,80	
186CaCO3	89,7	0,23404	1,714	9,715	0,0005712	5,14	2,03	1,97	0,870109	18,25	3000,88	18,25	
187CaCO3	96,5	0,120595	1,320	11,810	0,0008944	4,80	1,90	2,22	0,584623	25,38	1900,94	25,38	

Apêndice 19

Silvana
22-03-00
Biopela

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

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

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %	
0,0625	2	0,125	-0,90309	157,4	-0,89212	0,128	2,56	
0,125	2	0,250	-0,60206	139,8	-0,59738	0,253	1,08	
0,25	2	0,500	-0,30103	122,7	-0,31101	0,489	-2,27	
0,50	2	1,000	0	105	-0,01459	0,967	-3,30	
1,00	2	2,000	0,30103	86,3	0,298571	1,989	-0,56	Média C.V.
2,00	2	4,000	0,60206	68,1	0,603362	4,012	0,30	
4,00	2	8,000	0,90309	49,6	0,913176	8,188	2,35	Média C.V.

Para Curva Total
Intercepção 1,743815
Inclinação -0,016747
Rquad 0,99978

Para Curva de Baixa
intercepção 1,77742
Inclinação -0,01700
Rquad 0,98975

	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.
Blank	201,8	-1,63568	0,023	0	
T. Baixa	122,2	-0,30264	0,498	0,500	0,996
T. Baixa	120,9	-0,28087	0,524	0,500	1,048
				Média	1,022
T. Alta	63	0,68877	4,884	5,000	9,768
T. Alta	62,8	0,692119	4,922	5,000	9,843
				Média	9,806

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada µm	ppm F	Dist. Sup. µm
188CaCO3	102,1	0,033972	1,081	13,250	0,0007791	4,93	2,16	10,6488	0,101548	24,39	1387,97	24,39
189CaCO3	103,3	0,013876	1,032	13,080	0,0007691	4,96	2,14	10,6144	0,09727	24,15	1342,43	48,54
190KCL	88,6	0,260053	1,820	16,550	0,0009731	4,99	2,07	10,3293	0,17619	31,40	1870,16	31,40
191KCL	89	0,253354	1,792	13,570	0,0007979	5,29	2,09	11,0561	0,162089	24,06	2245,94	24,06
192KCL	90,8	0,22321	1,672	12,350	0,0007262	4,94	2,09	10,3246	0,161934	23,44	2302,32	23,44
193KCL	102,7	0,023924	1,057	12,200	0,0007174	4,92	1,88	9,2496	0,114235	25,85	1472,95	25,85
194KCL	93,3	0,181343	1,518	11,400	0,0006703	5,24	2,45	12,838	0,118262	17,40	2264,96	17,40
195KCL	111,2	-0,11842	0,761	12,990	0,0007638	4,96	2,23	11,0608	0,068832	23,02	996,76	23,02
196KCL	111,1	-0,11675	0,764	11,830	0,0006956	5,30	2,10	11,13	0,068668	20,83	1098,73	20,83
197KCL	114,5	-0,17369	0,670	10,360	0,0006092	5,21	2,08	10,8368	0,06186	18,74	1100,46	18,74
198CaCO3	101	0,052393	1,128	14,150	0,0008320	5,52	2,41	13,3032	0,084808	20,85	1356,00	20,85
199CaCO3	101,9	0,037321	1,090	14,410	0,0008473	5,03	2,07	10,4121	0,104661	27,13	1286,12	27,13
200CaCO3	97,3	0,114356	1,301	12,050	0,0007085	5,10	2,16	11,016	0,118122	21,44	1836,50	21,44
201CaCO3	125,4	-0,35623	0,440	9,624	0,0005659	5,11	1,90	9,709	0,045352	19,43	778,11	19,43

Apêndice 20

Silvana
23-03-00
Biopsia

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

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %
0,0625	2	0,125	-0,90309	156,4	-0,897	0,127	1,41
0,125	2	0,250	-0,60206	138,6	-0,5968	0,253	1,22
0,25	2	0,500	-0,30103	121,3	-0,30502	0,495	-0,92
0,50	2	1,000	0	103,8	-0,00988	0,978	-2,25
1,00	2	2,000	0,30103	85,9	0,292013	1,959	-2,05
2,00	2	4,000	0,60206	67,4	0,604024	4,018	0,45
4,00	2	8,000	0,90309	49,1	0,912661	8,178	2,23
							Média C.V. -0,41

Para Curva Total
Intercepção 1,7407543
Inclinação -0,0168654
Rquad 0,99986

Para Curva de Baixa
intercepção 1,77427
Inclinação -0,01712
Rquad 0,99987

	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.
Blank	201,9	-1,664378	0,022	0	
T. Baixa	121,4	-0,30671	0,494	0,500	0,987
T. Baixa	120,8	-0,296591	0,505	0,500	1,010
				Média	0,999
T. Alta	61,7	0,7001567	5,014	5,000	10,027
T. Alta	61,6	0,7018432	5,033	5,000	10,066
				Média	10,047

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Camada µm	ppm F	Dist. Sup. µm
202CaCO3	107,2	-0,06722	0,857	12,360	0,0007268	5,39	2,26	12,1814	0,070321	19,89	1178,65	19,89
203CaCO3	116	-0,21564	0,809	10,850	0,0006380	4,78	2,01	9,6078	0,063349	22,13	954,02	42,02
204CaCO3	99	0,071076	1,178	12,600	0,0007409	5,17	2,05	10,5985	0,11113	23,30	1589,75	23,30
205CaCO3	103,6	-0,00651	0,985	12,350	0,0007262	5,21	2,10	10,941	0,09004	22,12	1356,60	22,12
206SIO2	124,3	-0,35562	0,441	9,514	0,0005594	5,08	2,03	10,2718	0,042927	18,15	788,21	18,15
207SIO2	95,9	0,123359	1,328	9,926	0,0005836	5,22	1,90	9,918	0,133947	19,62	2276,18	19,62
208SIO2	131,2	-0,47199	0,337	6,679	0,0003927	4,72	1,35	6,372	0,052934	20,54	858,86	20,54
209SIO2	121,9	-0,31514	0,484	12,600	0,0007409	5,12	2,01	10,2912	0,047032	24,00	853,30	24,00
210SIO2	110,5	-0,12288	0,754	9,745	0,0005730	5,04	1,95	9,828	0,076676	19,43	1315,12	19,43
211SIO2	98,4	0,081195	1,206	10,800	0,0006350	4,83	1,79	8,6457	0,139442	24,48	1898,43	24,48
212SIO2	85,2	0,303819	2,013	8,922	0,0005246	5,26	1,89	9,9414	0,202475	17,59	3836,89	17,59
213SIO2	118,8	-0,26286	0,546	11,010	0,0006474	4,75	2,00	9,5	0,057467	22,72	843,29	22,72
214KCL	98,4	0,081195	1,206	11,050	0,0006497	5,18	2,12	10,9816	0,109782	19,72	1855,48	19,72
215KCL	110,8	-0,12794	0,745	9,270	0,0005451	5,15	2,15	11,0725	0,067269	16,41	1366,49	16,41
216KCL	90,2	0,219492	1,858	12,080	0,0007103	5,19	2,10	10,899	0,152092	21,72	2333,71	21,72
217KCL	130,3	-0,45681	0,349	9,443	0,0005552	5,14	1,78	9,1492	0,038177	20,23	629,07	20,23
218KCL	107,4	-0,07059	0,850	11,850	0,0006968	5,30	1,97	10,441	0,081407	22,24	1219,86	22,24
219KCL	100,5	0,045778	1,111	9,859	0,0005856	4,85	2,04	9,894	0,112307	19,73	1897,51	19,73
220KCL	104	-0,01325	0,970	9,745	0,0005730	5,14	1,86	10,0744	0,096279	18,96	1692,74	18,96
221KCL	115,5	-0,2072	0,621	8,544	0,0005024	5,24	1,84	9,6416	0,064365	17,37	1235,26	17,37
222CaCO3	123,3	-0,33875	0,458	9,694	0,0005700	4,91	2,09	10,2619	0,04467	18,52	804,20	18,52
223CaCO3	135,7	-0,54789	0,283	10,500	0,0006174	5,14	1,99	10,2286	0,027688	20,12	458,72	20,12
224CaCO3	105,7	-0,04192	0,908	11,540	0,0006786	5,34	2,10	11,214	0,080969	20,17	1338,12	20,17
226CaCO3	110,2	-0,11782	0,782	10,740	0,0006315	5,15	1,98	10,197	0,074767	20,64	1207,26	20,64
227CaCO3	112,3	-0,15323	0,703	8,238	0,0004844	4,76	1,75	8,33	0,084357	19,38	1450,66	19,38
228CaCO3	129,8	-0,44838	0,356	6,340	0,0003728	4,81	1,81	8,7061	0,040907	14,27	955,33	14,27
229CaCO3	111,1	-0,133	0,736	9,694	0,0005700	5,34	2,24	11,9616	0,061548	15,88	1291,59	15,88
230SIO2	127	-0,40116	0,397	6,492	0,0003817	4,88	2,12	10,3456	0,038378	12,30	1040,13	12,30
231SIO2	116,5	-0,22407	0,597	7,878	0,0004632	4,83	1,98	9,5634	0,062419	16,15	1288,66	16,15
232SIO2	104	-0,01325	0,970	8,284	0,0004871	5,10	2,33	11,883	0,081625	13,66	1991,27	13,66
233SIO2	85,5	0,298759	1,990	7,732	0,0004546	5,29	2,08	11,0032	0,180817	13,77	4376,13	13,77
234SIO2	123,3	-0,33875	0,458	8,695	0,0005113	5,23	1,89	9,8847	0,046375	17,24	896,60	17,24

Apêndice 21

Silvana
27-03-00
Biopsia

Curva de calibração p/ Análise de Flúor no Esmalte (biopsia).

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

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %	
0,0625	2	0,125	-0,90309	156,6	-0,89562	0,127	1,73	
0,125	2	0,250	-0,60206	139,1	-0,60014	0,251	0,44	
0,25	2	0,500	-0,30103	121,3	-0,29969	0,502	0,33	
0,50	2	1,000	0	104,3	-0,01254	0,972	-2,65	
1,00	2	2,000	0,30103	88,3	0,291384	1,956	-2,20	Média C.V. -0,51
2,00	2	4,000	0,60206	68	0,600377	3,985	-0,39	
4,00	2	8,000	0,90309	49,3	0,916124	8,244	3,05	Média C.V. -0,60

Para Curva Total

Intercepção 1,748547
Inclinação -0,016885
Rquad 0,99961

Para Curva de Baixa

Intercepção 1,78444
Inclinação -0,01716
Rquad 0,99994

	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.
Blank	202,2	-1,66557	0,022	0	
T. Baixa	121,4	-0,30127	0,500	0,500	0,999
T. Baixa	120,9	-0,29283	0,510	0,500	1,019
				Média	1,009
T. Alta	62	0,701686	5,031	5,000	10,063
T. Alta	61,9	0,703375	5,051	5,000	10,102
				Média	10,082

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

verificar

Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. P	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	µm	ppmF	Dist. Sup. µm
236SIO2	84,1	0,328531	2,131	9,383	0,0005517	4,80	2,17	10,416	0,204564	17,66	3862,00	17,66
236SIO2	125,9	-0,37726	0,420	12,450	0,0007321	5,31	1,70	9,027	0,048473	27,03	573,06	44,69
237SIO2	128,4	-0,41947	0,381	11,400	0,0006703	5,04	1,87	9,4248	0,040389	23,71	567,87	23,71
238CaCO3	115,4	-0,19996	0,631	6,567	0,0003661	4,91	2,07	10,1637	0,062065	12,66	1634,15	12,66
239CaCO3	106	-0,04125	0,909	7,084	0,0004154	4,81	1,95	9,3795	0,096966	14,76	2189,40	14,76
240CaCO3	98,2	0,090455	1,232	9,970	0,0005962	4,75	1,95	9,2625	0,132962	21,10	2100,79	21,10
241CaCO3	115,8	-0,20672	0,621	8,766	0,0005154	2,00	0,68	1,36	0,456817	126,33	1205,32	126,33
242CaCO3	107,3	-0,0632	0,865	8,104	0,0004765	4,88	1,85	9,028	0,095766	17,59	1814,37	17,59
243CaCO3	107,3	-0,0632	0,865	8,276	0,0004866	5,22	1,87	9,7614	0,088571	16,62	1776,66	16,62
244CaCO3	107,7	-0,06995	0,851	9,826	0,0005778	4,93	2,02	9,9686	0,085477	19,34	1473,31	19,34
245CaCO3	117,6	-0,23711	0,579	8,336	0,0004902	5,00	1,50	7,5	0,077237	21,78	1181,83	21,78

Apêndice 22

Silvana
29-03-08
Biópsia

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

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.v. %
0,0625	2	0,125	-0,90309	156,5	-0,88925	0,129	3,24
0,125	2	0,250	-0,60206	130,3	-0,59957	0,251	0,58
0,25	2	0,500	-0,30103	122,2	-0,31157	0,488	-2,40
0,50	2	1,000	0	104,1	-0,00674	0,985	-1,54
1,00	2	2,000	0,30103	88,8	0,287995	1,941	-2,96
2,00	2	4,000	0,60206	68,2	0,597883	3,962	-0,96
4,00	2	8,000	0,90309	49	0,921246	8,342	4,27

Média c.v.

-0,62

Média c.v.

-0,30

Para Curva Total
Intercepção 1,748493
Inclinação -0,016842
Rquad 0,99986

Para Curva de Baixa
Intercepção 1,76289
Inclinação -0,01728
Rquad 0,99990

	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.
Blank	197	-1,57134	0,027	0	
T. Baixa	121,3	-0,29642	0,505	0,500	1,011
T. Baixa	120,6	-0,28463	0,519	0,500	1,038
				Média	1,025
T. Alta	62,1	0,700618	5,019	5,000	10,038
T. Alta	61,8	0,705671	5,078	5,000	10,155
				Média	10,097

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

por 50 segundos										Camada	Dist. Sup.	
Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. F	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	µm	ppm F	µm
246KCL	149,3	-0,76799	0,171	8,524	0,0005012	5,24	1,63	8,5412	0,019975	19,56	340,40	19,56
247KCL	135,4	-0,53388	0,292	8,810	0,0005180	5,15	1,85	9,5275	0,0307	18,12	564,63	37,68
248KCL	140,2	-0,61473	0,243	9,959	0,0005856	5,08	2,01	10,2108	0,02378	19,12	414,85	19,12
249KCL	123,5	-0,33347	0,464	8,400	0,0004939	4,81	1,94	9,3314	0,049726	17,64	939,46	17,64
250KCL	117,2	-0,22736	0,592	8,012	0,0004711	5,02	1,96	9,8392	0,060211	15,96	1267,53	15,96
251KCL	103,6	0,001684	1,004	7,280	0,0004281	5,21	1,84	9,5864	0,10472	14,88	2345,18	14,88
252KCL	100,3	0,057262	1,141	10,120	0,0005951	4,98	2,14	10,6572	0,107058	18,61	1917,36	18,61
253KCL	113,8	-0,1701	0,676	8,594	0,0005053	4,87	1,95	9,4965	0,071176	17,74	1337,60	17,74
254KCL	124,9	-0,35705	0,439	9,431	0,0005545	5,00	1,88	9,4	0,046755	19,66	792,54	19,66
255KCL	129,5	-0,43452	0,368	8,147	0,0004790	4,80	2,02	9,696	0,037922	16,47	767,55	16,47
256KCL	111,8	-0,13642	0,730	11,390	0,0006897	4,90	1,90	9,31	0,078457	23,98	1090,64	23,98
257KCL	117,2	-0,22736	0,592	12,670	0,0007450	4,97	2,25	11,1825	0,052978	22,21	795,21	22,21
258KCL	125,1	-0,36041	0,438	11,010	0,0006474	4,91	1,78	8,7398	0,049898	24,69	673,63	24,69
259KCL	103,8	-0,00168	0,996	8,131	0,0004781	5,39	1,90	8,7398	0,113976	18,23	2083,50	18,23
260KCL	100,9	0,047157	1,115	11,090	0,0006521	5,29	2,30	10,241	0,108847	21,22	1709,42	21,22
261KCL	121,2	-0,29473	0,507	11,150	0,0006556	5,34	1,92	12,167	0,041695	17,96	773,78	17,96
262SiO2	119,1	-0,25936	0,550	11,600	0,0006821	5,17	1,86	10,2528	0,053678	22,18	806,87	22,18
263SiO2	100,3	0,057262	1,141	7,970	0,0004686	4,88	1,64	9,6162	0,118647	16,24	2434,59	16,24
264SiO2	97,5	0,104419	1,272	10,730	0,0006309	4,82	2,00	8,0032	0,158912	26,28	2015,77	26,28
265SiO2	116,2	-0,21052	0,616	11,120	0,0006539	4,96	2,13	9,64	0,063885	22,61	941,88	22,61
266SiO2	98,3	0,090946	1,233	12,820	0,0007538	5,00	1,95	10,5648	0,116704	23,78	1635,61	23,78
267SiO2	109,8	-0,10273	0,789	11,810	0,0006944	5,24	1,72	9,75	0,080958	23,74	1136,68	23,74
268SiO2	99,6	0,069051	1,172	8,709	0,0005121	5,09	2,06	9,0128	0,130074	18,94	2289,32	18,94
268SiO2	88,4	0,257879	1,810	9,260	0,0005445	5,44	1,84	10,4854	0,172621	17,31	3324,23	17,31
270CaCO3	134,1	-0,51199	0,308	9,432	0,0005546	5,02	1,64	10,0096	0,030732	18,47	554,66	18,47
271CaCO3	119,6	-0,26778	0,540	10,700	0,0006292	4,81	2,06	8,2328	0,065564	25,47	857,94	25,47
272CaCO3	101,8	0,031999	1,076	8,711	0,0005122	4,89	1,87	9,9086	0,108639	17,23	2101,62	17,23
273CaCO3	67,6	0,607988	4,055	11,610	0,0006827	5,18	1,97	9,1443	0,443443	24,89	5939,90	24,89
274CaCO3	90,1	0,229048	1,695	11,050	0,0006497	5,12	2,28	10,2046	0,166055	21,22	2608,01	21,22
275CaCO3	103,9	-0,00337	0,992	13,560	0,0007973	5,29	2,41	11,6736	0,085002	22,77	1244,50	22,77
276CaCO3	133,8	-0,50694	0,311	10,180	0,0005986	5,01	2,19	12,7489	0,024411	15,65	519,92	15,65
277CaCO3	98,5	0,087577	1,223	10,070	0,0005921	5,00	2,01	10,9719	0,111505	17,99	2066,19	17,99
278KCL	116,1	-0,20884	0,618	8,678	0,0005103	5,22	2,38	10,05	0,061517	16,92	1211,62	16,92
279KCL	96	0,129682	1,348	8,090	0,0004757	5,29	2,21	12,4236	0,108501	12,76	2833,71	12,76
280KCL	115,2	-0,19368	0,640	11,000	0,0006468	4,97	2,09	11,6909	0,054761	18,44	989,80	18,44
281KCL	112,2	-0,14316	0,719	14,700	0,0008644	4,95	2,19	10,3873	0,069238	27,74	832,05	27,74
282KCL	131,9	-0,47494	0,335	10,580	0,0006221	5,02	2,07	10,8405	0,030904	19,13	538,52	19,13
283KCL	90,4	0,223996	1,675	13,360	0,0007856	5,25	2,26	10,3914	0,161184	25,20	2132,12	25,20
284KCL	98,7	0,084209	1,214	12,130	0,0007132	5,02	2,12	11,865	0,102315	20,04	1702,04	20,04
285KCL	121,2	-0,29473	0,507	10,720	0,0006303	5,15	2,43	10,6424	0,047668	19,74	804,82	19,74
286SiO2	122,2	-0,31157	0,488	12,050	0,0007085	5,24	1,99	12,5145	0,038995	18,87	688,75	18,87
287SiO2	112,4	-0,14652	0,714	9,316	0,0005478	4,88	1,85	10,4276	0,068437	17,51	1302,78	17,51
288SiO2	113,3	-0,16168	0,689	11,230	0,0006803	5,44	1,97	9,028	0,076336	24,38	1043,67	24,38

Apêndice 23

Silvana
30-03-00
Biopsia

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

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

ppm F	vol.	µg F	log F	mV	log F calc.	µg F calc.	c.V. %
0,0625	2	0,125	-0,90309	158,7	-0,90589	0,124	-0,64
0,125	2	0,250	-0,60206	140	-0,59587	0,254	1,43
0,25	2	0,500	-0,30103	122,1	-0,29912	0,502	0,44
0,50	2	1,000	0	104,4	-0,00568	0,987	-1,30
1,00	2	2,000	0,30103	85,9	0,301015	2,000	0,00
2,00	2	4,000	0,60206	68	0,597768	3,961	-0,98
4,00	2	8,000	0,90309	49,3	0,907783	8,087	1,09

Média C.V. -0,01
Média C.V. -0,30

Para Curva Total
intercepção 1,726098
inclinação -0,016678
Rquad 0,99995

Para Curva de Baixa
intercepção 1,72625
inclinação -0,01661
Rquad 0,99991

	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F ob.
Blank	201,9	-1,62207	0,024	0	
T. Baixa	121,3	-0,28586	0,518	0,500	1,036
T. Baixa	121,6	-0,29083	0,512	0,500	1,024
				Média	1,030
T. Alta	61,6	0,703869	5,057	5,000	10,113
T. Alta	61,9	0,698896	4,999	5,000	9,998
				Média	10,056

Biópsia: 0,25ml HCl 0,5M neutralizado com 0,25ml Tisab II pH 5,0 (20gNaOH / L)
por 30 segundos

Amostra	mV	log F calc.	µg F calc.	Conc. F	g. Esmalte	compr.	larg.	area	µgF/cm2	Canada µm	ppm F	Dist. Sup. µm
289SiO2	133,5	-0,48811	0,325	7,768	0,0004568	4,92	1,97	9,6924	0,033532	15,71	711,54	15,71
290SiO2	132,9	-0,47817	0,333	10,060	0,0005915	5,32	1,91	10,1612	0,032726	19,40	562,16	35,11
291SiO2	117,2	-0,21789	0,605	9,947	0,0005849	5,00	2,05	10,25	0,059073	19,02	1035,25	19,02
292SiO2	135,8	-0,52624	0,298	8,173	0,0004806	4,85	1,42	6,887	0,043224	23,26	619,44	23,26
293SiO2	119	-0,24773	0,565	9,169	0,0005391	5,61	1,85	10,3785	0,054468	17,32	1048,51	17,32
294CaCO3	111,6	-0,12505	0,750	9,216	0,0005419	5,23	1,62	8,4726	0,088498	21,32	1383,67	21,32
295CaCO3	137,5	-0,55443	0,279	6,343	0,0003730	4,94	2,14	10,5716	0,02639	11,76	748,00	11,76
296CaCO3	130,3	-0,43506	0,367	5,590	0,0003287	5,04	1,78	8,9712	0,040934	12,21	1117,24	12,21
297CaCO3	123,7	-0,32565	0,472	8,967	0,0005273	4,92	1,67	8,2164	0,057501	21,39	896,04	21,39
298CaCO3	97,1	0,115338	1,304	10,500	0,0006174	5,29	2,04	10,7916	0,120852	19,07	2112,38	19,07
299CaCO3	138,1	-0,56437	0,273	8,644	0,0005083	5,14	1,72	8,8408	0,030841	19,16	536,46	19,16
300CaCO3	124,3	-0,33559	0,462	8,030	0,0004722	5,01	1,87	9,3687	0,049286	16,80	977,94	16,80
301CaCO3	109,5	-0,09023	0,812	7,944	0,0004671	5,28	1,66	8,7648	0,092688	17,76	1739,20	17,76
302SiO2	121,1	-0,28254	0,522	4,596	0,0002702	5,09	1,84	9,3656	0,055709	9,62	1930,64	9,62
303SiO2	105,8	-0,02889	0,936	8,154	0,0004795	4,89	2,02	9,8778	0,094721	16,18	1951,45	16,18
304SiO2	129,4	-0,42014	0,380	7,029	0,0004133	4,84	1,91	9,2444	0,041113	14,90	919,57	14,90
305SiO2	106,3	-0,03718	0,918	9,186	0,0005401	4,96	1,93	9,5728	0,095891	18,81	1699,47	18,81
306SiO2	93,4	0,176678	1,502	7,788	0,0004579	4,87	1,82	8,8634	0,169464	17,22	3280,01	17,22
307SiO2	90,9	0,218124	1,652	8,247	0,0004849	5,05	1,94	9,797	0,168687	16,50	3407,61	16,50
308SiO2	100,6	0,057314	1,141	7,082	0,0004164	5,24	1,76	9,2224	0,123729	15,05	2740,19	15,05
309SiO2	122,5	-0,30575	0,495	7,198	0,0004232	4,91	1,84	9,0344	0,054746	15,62	1168,58	15,62
310SiO2	128,9	-0,41185	0,387	6,866	0,0004037	4,85	1,67	8,0995	0,047829	16,62	959,54	16,62
311SiO2	94,5	0,158442	1,440	8,003	0,0004706	5,22	1,95	10,179	0,141494	15,41	3060,63	15,41
312SiO2	115,9	-0,19634	0,636	9,845	0,0005789	4,89	1,86	9,0954	0,069959	21,22	1099,19	21,22
313SiO2	111,6	-0,12505	0,750	5,676	0,0003337	5,25	1,83	9,6075	0,078044	11,58	2246,63	11,58
314SiO2	104,7	-0,01066	0,976	8,818	0,0005185	5,33	2,16	11,5128	0,084754	15,01	1881,89	15,01
315SiO2	102,3	0,029131	1,069	8,348	0,0004909	5,26	2,00	10,52	0,101652	15,55	2178,57	15,55
316SiO2	91,4	0,209835	1,621	7,223	0,0004247	5,21	1,86	9,6906	0,167295	14,61	3817,15	14,61
317SiO2	112,8	-0,14494	0,716	6,238	0,0003668	4,96	1,76	8,7296	0,082047	14,01	1952,70	14,01

Apêndice 24

Biopsia do esmalte ppm flúor

	Voluntários	KCI	CaCo3	SiO2
Celso	1	1782,45	1795,47	851,94
Gustavo	2	1174,58	1249,43	2137,19
Mitsue	3	1197,87	2144,19	1824,47
Cíntia	4	1147,98	1761,59	2156,29
Alfredo	5	1782,04	1048,39	1437,87
Marcelo	6	1669,04	1671,98	1450,83
Patrick	7	1528,77	1188,87	1621,92
Viviane	8	1139,60	1278,90	1558,79
Ynara	9	1085,78	1686,66	2273,97
Silvana	10	1273,22	1824,79	1823,14
Média		1378,13	1565,03	1713,64
d.p.		267,2	351,3	426,0

Coluna1		Coluna2		Coluna3	
Média	1378,133092	Média	1565,027	Média	1713,641
Erro padrão	89,08200003	Erro padrão	111,0935103	Erro padrão	134,7265969
Mediana	1235,54625	Mediana	1679,32	Mediana	1722,53
Modo	#N/D	Modo	#N/D	Modo	#N/D
Desvio padrão	281,7020186	Desvio padrão	351,3085257	Desvio padrão	426,0429077
Variação da amostra	79356,02729	Variação da amostra	123417,6802	Variação da amostra	181512,5592
Curtose	-1,661709122	Curtose	-1,049192176	Curtose	0,509756664
Assimetria	0,582953805	Assimetria	-0,036289881	Assimetria	-0,814472811
Intervalo	696,6721721	Intervalo	1095,8	Intervalo	1422,03
Mínimo	1085,78	Mínimo	1048,39	Mínimo	851,94
Máximo	1782,452172	Máximo	2144,19	Máximo	2273,97
Soma	13781,33092	Soma	15650,27	Soma	17136,41
Contagem	10	Contagem	10	Contagem	10

Teste-F: duas amostras para variâncias

	Variável 1	Variável 2
Média	1713,641	1378,133092
Variação	181512,6	79356,02729
Observações	10	10
gl	9	9
F	2,287319	
P(F<=f) uni-caudal	0,116819	
F crítico uni-caudal	3,178897	

FONTES DE VARIAÇÃO GL

	GL	SQ	QM
Tratamentos	2	565,27 e+03	
Blocos	9	480,34 e+03	
Erro	18	297,82 e+04	
	---	---	282,64 e+03
F (tratamentos) =	17,082	---	53,371,058
p (tratamentos) =	0,2082	---	165,46 e+03
F (blocos) =	0,3226	---	---
p (blocos) =	0,9562	---	---